



ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาคผนวกที่ 1 การแยกเชื้อจากเมล็ดพืช (Isolation from infected seed)

เชื้อสาเหตุโรคพืชที่สามารถถ่ายทอดผ่านเมล็ดได้นั้น เป็นเชื้อที่อาจติดไปกับเมล็ด ได้หลายทาง เช่น อาจติดไปกับผิวภายนอกเมล็ด หรือเชื้อเข้าไปอาศัยอยู่ภายในเมล็ด หรือเชื้ออาจปนเปื้อนไปกับเศษซากพืช ภาชนะบรรจุเมล็ด เป็นต้น ซึ่งกรณีหลังไม่นับว่าเป็น Seed borne pathogen ดังนั้นในการให้คำจำกัดความของเชื้อสาเหตุโรคพืชที่เป็น Seed borne pathogen นั้นจะหมายถึงเชื้อสาเหตุที่สามารถถ่ายทอดโรคได้โดยเชื้อมีการติดไปบนหรือในเมล็ดเท่านั้น ในการแยกเชื้อกลุ่มนี้ มีวิธีการแยกเชื้อได้หลายวิธี ในกรณีของเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียอาจใช้การเพาะเมล็ดบนวุ้น (Agar method) หรือกระดาษซับ (Blotter method) ซึ่งทั้งสองวิธีนี้สามารถชักนำให้เชื้อที่ติดมาทั้งบนและในเมล็ดเจริญออกมาได้อย่างดี และเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการตรวจหาเชื้อที่ติดมากับเมล็ดกันอย่างกว้างขวาง

1. Blotter method

วิธีการนี้เป็นวิธีที่ให้ผลดีและประหยัดค่าใช้จ่าย ส่วนใหญ่มักใช้ในการตรวจสอบหาเชื้อที่ติดมากับเมล็ดในจำนวนเมล็ดปริมาณมาก วิธีปฏิบัติอาจมีการประยุกต์เพื่อความเหมาะสมและความสะดวกแล้วแต่กรณี แต่โดยทั่วไปมีวิธีการดังนี้

1.1 นำกระดาษซับที่ค่อนข้างหนาซ้อนกัน 2-3 ชั้น จุ่มลงในน้ำกลั่นให้เปียกทั้งหมด ยกขึ้นให้น้ำส่วนเกินไหลออกไป จากนั้นนำกระดาษบรรจุลงในถุงพลาสติก หรือห่อด้วย Aluminum foil นำไปฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมากรูในภาชนะ เช่น กล่องพลาสติก งานแก้ว หรืออื่น ๆ ที่ฆ่าเชื้อแล้ว

1.2 นำเมล็ดที่ต้องการแยกเชื้อ (เมล็ดนั้นอาจผ่านการฆ่าเชื้อที่ผิวหรือไม่แล้วแต่วัตถุประสงค์ของการทดลอง) วางลงไปบนกระดาษซับ โดยวางให้เมล็ดห่างกันประมาณ 2 ซม. นำภาชนะไปเก็บไว้ในที่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา ที่ประมาณ 25°C เป็นเวลาประมาณ 7-15 วัน

2. Agar method

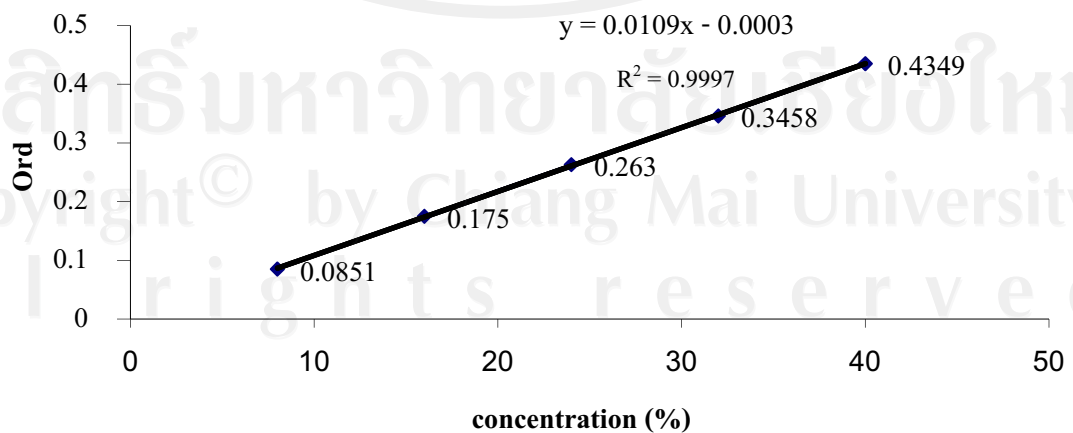
วิธีการนี้มักใช้ในการจำแนกชนิดของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดที่สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อ วิธีการโดยทั่วไปทำได้โดย

2.1 นำเมล็ดมาฆ่าเชื้อที่ผิว (หากใช้ Selective media ขั้นตอนนี้อาจไม่จำเป็นต้องใช้) โดยแช่เมล็ดใน Disinfectant เช่น 1-3 % NaClO นาน 3-5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 1-2 ครั้ง

2.2 นำเมล็ดไปวางบนผิวอาหาร หากไม่ต้องการให้โคโลนีของเชื้อราเจริญมากนักอาจเติม 50 ไมโครกรัม/มล. ของ Rose Bengal หรือ 1% Oxgall ลงไปในอาหาร นอกจากนั้นการเติมสารปฏิชีวนะ เช่น 100 ไมโครกรัม/มล ของ Streptomycin sulfate ลงไปจะช่วยในการป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียได้ และควรระมัดระวังถึงผล pH ของอาหารที่จะมีต่อลักษณะของโคโลนีของเชื้อ ซึ่งอาจมีผลต่อการจำแนกชนิดของเชื้อได้ภายหลัง นอกจากนี้จะมีปัญหาของการปนเปื้อนของเชื้อที่เป็น Saprophyte เช่น *Neurospora*, *Rhizopus* หรือ *Trichoderma* ค่อนข้างสูงแล้ววิธีการนี้นับว่ายุ่งยากและสิ้นเปลืองมากกว่าการใช้ Blotter method



ภาคผนวกที่ 2 สารละลายอะมิโลสที่มีความเข้มข้นต่างๆ ในการสร้างกราฟมาตรฐาน
standard amylose



ภาคผนวกที่ 3 มาตรฐานระหว่างปริมาณอะมิโลสและค่าดูดกลืนแสง (A_{620})

ภาคผนวกที่ 4 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อเมื่อตรวจด้วยวิธีเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ของเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์หลังจากผ่านการให้คลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิต่างกัน

Source	DF	SS	MS	F	P
treatment	6	31629.2	5271.53	294	0.0000
Error	21	376.2	17.91		
Total	27	32005.4			
Grand Mean		= 17.871			
CV (%)		= 23.68			

ภาคผนวกที่ 5 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อเมื่อตรวจด้วยวิธีเพาะบนกระดาษขึ้นของเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์หลังจากผ่านการให้คลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิต่างกัน

Source	DF	SS	MS	F	P
treatment	6	33893.3	5648.89	18608	0.0000
Error	21	6.4	0.3		
Total	27	33899.7			
Grand Mean		= 14.786			
CV (%)		= 3.73			

ภาคผนวกที่ 6 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์หลังจากผ่านการให้คลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิต่างกัน

Source	DF	SS	MS	F	P
treatment	6	2.78524	0.46421	4	0.0079
Error	21	2.43635	0.11602		
Total	27	5.22159			
Grand Mean		= 15.141			
CV (%)		= 2.25			

ภาคผนวกที่ 7 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของเปอร์เซ็นต์การแตกตัวของเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์
หลังจากผ่านการให้คลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิต่างกัน

Source	DF	SS	MS	F	P
treatment	6	599.27	99.8783	4.35	0.0053
Error	21	482.63	22.9825		
Total	27	1081.9			

Grand Mean = 29.419

CV (%) = 16.30

ภาคผนวกที่ 8 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของเปอร์เซ็นต์อะมิโลสของเมล็ดข้าวโพดเลี้ยงสัตว์หลังจาก
ผ่านการให้คลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิต่างกัน

Source	DF	SS	MS	F	P
treatment	6	33.5197	5.58662	2.67	0.0439
Error	21	43.9829	2.09442		
Total	27	77.5026			

Grand Mean = 26.092

CV (%) = 5.55

ภาคผนวกที่ 9 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของเปอร์เซ็นต์ปริมาณโปรตีนของข้าวโพดหลังจากผ่าน
การให้คลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิต่างกัน

Source	DF	SS	MS	F	P
treatment	6	0.48544	0.08091	0.84	0.5583
Error	14	1.3454	0.0961		
Total	20	1.83084			

Grand Mean = 7.5006

CV (%) = 4.13

ภาคผนวกที่ 10 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของระยะทางการไหลของแป้งข้าวโพดหลังจากผ่านการให้คลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิต่างกัน

Source	DF	SS	MS	F	P
treatment	6	3193.38	532.229	13.4	0.0000
Error	21	833.44	39.688		
Total	27	4026.81			
Grand Mean	= 39.625				
CV (%)	= 15.90				

ภาคผนวกที่ 11 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความหนืดสูงสุดของแป้งข้าวโพดหลังจากผ่านการให้คลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิต่างกัน

Source	DF	SS	MS	F	P
treatment	6	361.38	60.2304	0.87	0.5319
Error	21	1451.25	69.1072		
Total	27	1812.63			
Grand Mean	= 62.458				
CV (%)	= 13.31				

ภาคผนวกที่ 12 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความคงทนต่อการกวนของแป้งข้าวโพดหลังจากผ่านการให้คลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิต่างกัน

Source	DF	SS	MS	F	P
treatment	6	101.124	16.8539	1.55	0.212
Error	21	228.861	10.8981		
Total	27	329.984			
Grand Mean	= 9.4941				
CV (%)	= 34.77				

ภาคผนวกที่ 13 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่าของความหนืดสุดท้ายของแป้งข้าวโพดหลังจากผ่าน
การให้คลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิต่างกัน

Source	DF	SS	MS	F	P
treatment	6	1496.11	249.351	1.88	0.1317
Error	21	2783.86	132.565		
Total	27	4279.96			

Grand Mean = 110.78

CV (%) = 10.39

ภาคผนวกที่ 14 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่าความหนืดจากการคืนตัวของแป้งข้าวโพดหลังจาก
ผ่านการให้คลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิต่างกัน

Source	DF	SS	MS	F	P
treatment	6	1041.97	173.661	4.55	0.0042
Error	21	800.8	38.133		
Total	27	1842.77			

Grand Mean = 57.815

CV (%) = 10.68

ภาคผนวกที่ 15 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่าอุณหภูมิเริ่มต้นของความหนืดของแป้งข้าวโพด
หลังจากผ่านการให้คลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิต่างกัน

Source	DF	SS	MS	F	P
treatment	6	20.3555	3.39259	0.97	0.4712
Error	21	73.7037	3.5097		
Total	27	94.0593			

Grand Mean = 79.286

CV (%) = 2.36

ภาคผนวกที่ 16 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของการกระจายตัวในแป้งข้าวโพดหลังจากผ่านการให้
คลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิต่างกัน

Source	DF	SS	MS	F	P
treatment	6	46509.4	7751.57	6.4	0.0006
Error	21	25432.7	1211.08		
Total	27	71942.1			

Grand Mean = 89.429

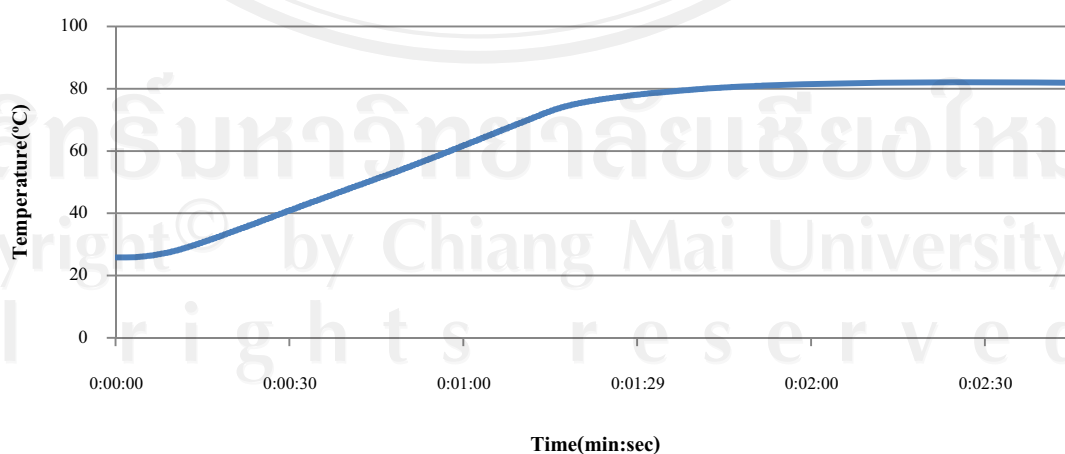
CV (%) = 38.91

ภาคผนวกที่ 17 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของขนาดแป้งข้าวโพดหลังจากผ่านการให้คลื่นความถี่
วิทยุที่อุณหภูมิต่างกัน

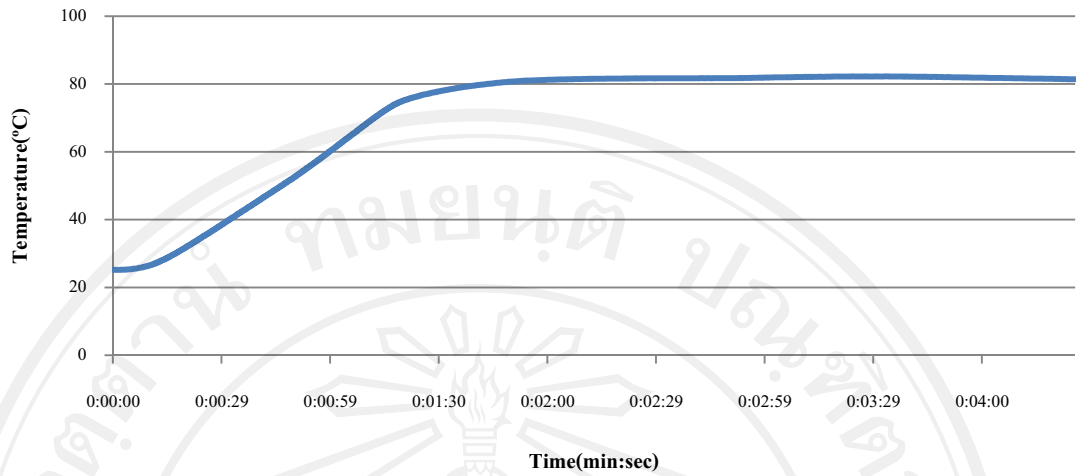
Source	DF	SS	MS	F	P
treatment	6	167.134	27.8557	31.7	0.0000
Error	693	609.91	0.8801		
Total	699	777.044			

Grand Mean = 6.2671

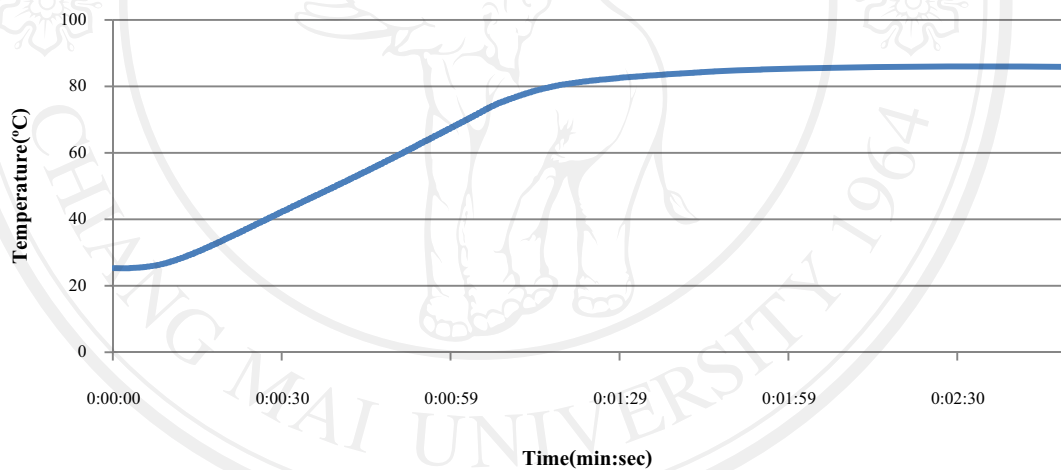
CV (%) = 14.97



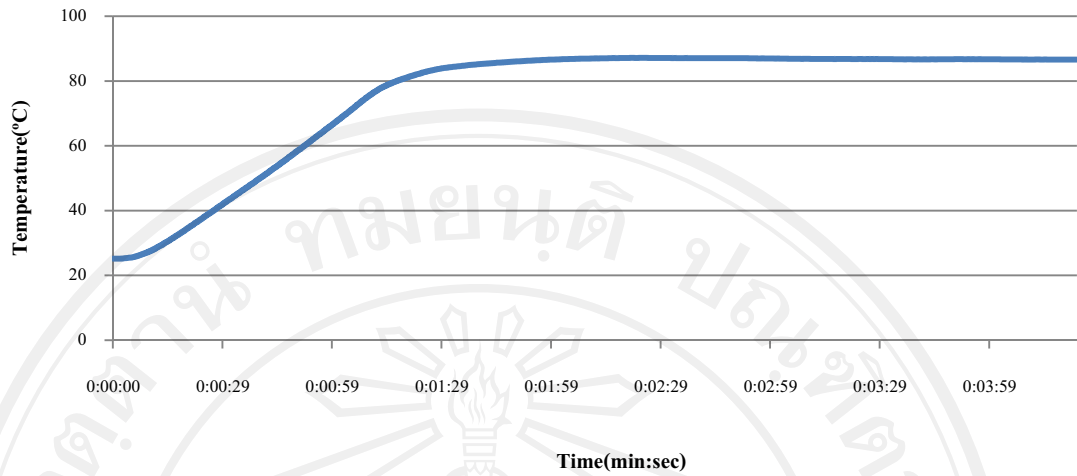
ภาคผนวกที่ 18 เวลาและอุณหภูมิเมื่อให้คลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิ 80°C ระยะเวลา 1 นาที



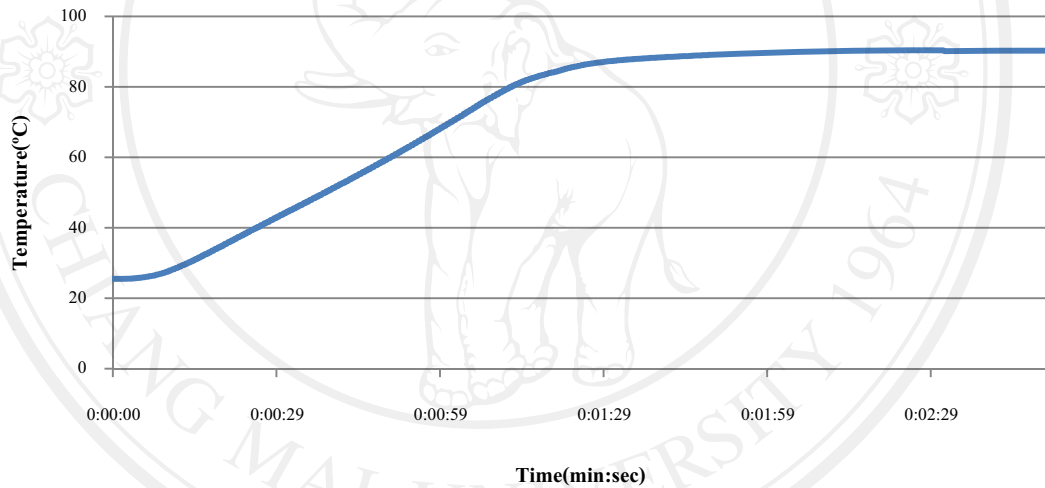
ภาคผนวกที่ 19 เวลาและอุณหภูมิเมื่อให้คลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิ 80°C ระยะเวลา 3 นาที



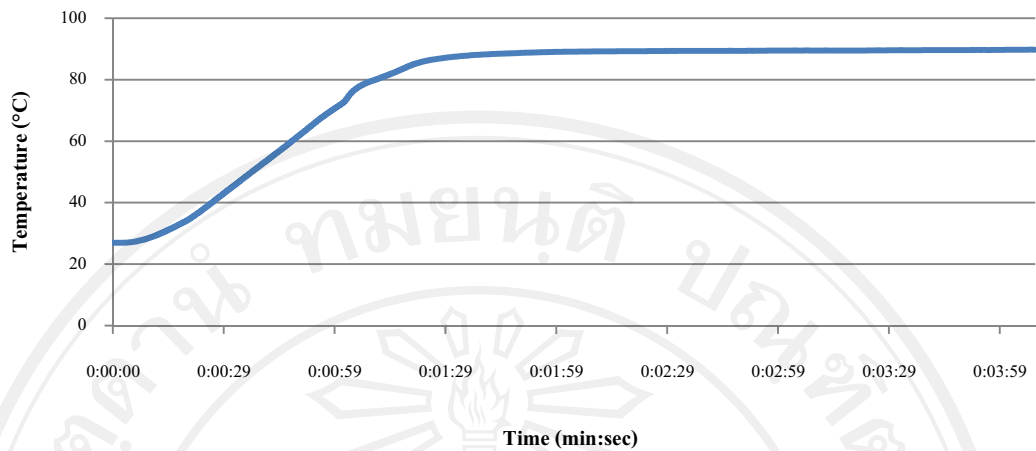
ภาคผนวกที่ 20 เวลาและอุณหภูมิเมื่อให้คลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิ 85°C ระยะเวลา 1 นาที



ภาคผนวกที่ 21 เวลาและอุณหภูมิเมื่อให้คลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิ 85°C ระยะเวลา 3 นาที



ภาคผนวกที่ 22 เวลาและอุณหภูมิเมื่อให้คลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิ 90°C ระยะเวลา 1 นาที



ภาคผนวกที่ 23 เวลาและอุณหภูมิเมื่อให้คลื่นความถี่วิทยุที่อุณหภูมิ 90°C ระยะเวลา 3 นาที

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright© by Chiang Mai University
 All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	นางสาวกุลธิดา ไชยสถิตวานิช
วัน เดือน ปี เกิด	22 ธันวาคม 2527
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสามัคคี วิทยาคม ปีการศึกษา 2545 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชา โรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2550

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved