

รุ่งนภา ทองเครื่อง 2557: การพัฒนาชุดตรวจเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้ (*Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*) อย่างรวดเร็ว ปริญญาวิทยาศาสตร มหาบัณฑิต (โรคพืช) สาขา โรคพืช ภาควิชาโรคพืช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก:อาจารย์สุจินต์ ภัทรภูวคณ, Ph.D. 77 หน้า

โรคใบจุดสีน้ำตาลของกล้วยไม้ พบการระบาดในกล้วยไม้สกุลแวนดา ฟาแลนนอปซิส แคทลียา และมีอคการ่าในแหล่งปลูกกล้วยไม้จังหวัดนครปฐม ราชบุรี และสมุทรสาคร เมื่อแยกเชื้อจากตัวอย่างกล้วยไม้ แวนดาและฟาแลนนอปซิส ที่แสดงอาการใบจุดสีน้ำตาลได้เชื้อแบคทีเรียจำนวน 10 ไอโซเลท ซึ่งมีรูปร่างเป็น ท่อนตรงดิดสี่แกรมลบ เคลื่อนที่ได้ โคลนนิ่งกลมูนชอบเรียบสีขาวขุ่นไม่สร้างเมือกสีเรืองแสงเมื่อเลี้ยงบนอาหาร King's B ทดสอบการเกิดโรคโดยปลูกเชื้อบนใบกล้วยไม้ที่ทำให้เกิดแผลด้วยเข็ม แสดงอาการของโรค จุดสีน้ำตาลแผลน้ำ หลังจากการปลูกเชื้อแล้ว 5-7 วัน ไม่พบอาการดังกล่าวในกล้วยไม้ ที่ปลูกเชื้อควบคุมด้วยน้ำกลั่น นำไปจำแนกเชื้อแบคทีเรียด้วยระบบ Biolog MicroStation™ โดยเปรียบเทียบการใช้แหล่งคาร์บอนเป็นแหล่ง พลังงานบนอาหารGN2 (Biolog Inc., Hayward, CA, USA) จำแนกได้ว่าเป็นเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* และเมื่อตรวจเชื้อด้วยเทคนิค Polymerase chain reaction (PCR) โดยใช้คู่ไพรเมอร์ที่จำเพาะซึ่งเป็น บริเวณ Intergenic spacer region (ISR) ระหว่างยีน 16S-23S rDNA ของเชื้อ *Acidovorax avenae* คือ SEQ ID NO: 1 และ SEQ ID NO: 2 พบว่าเชื้อแบคทีเรียทั้ง 10 ไอโซเลท ที่แยกได้ให้แถบดีเอ็นเอขนาด 550 bp ซึ่งเป็น ขนาดจำเพาะของเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* ในทั้ง 10 ไอโซเลท จากผลการทดลองทั้งหมด จึงให้เห็นว่าโรคใบจุดสีน้ำตาลที่พบในกล้วยไม้สกุลแวนดาและฟาแลนนอปซิสมีสาเหตุจากเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae*

พัฒนาชุดตรวจสอบอิมมูโนสตริปเพื่อตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* ใน กล้วยไม้ โดยอาศัยหลักการทางเซรุ่มวิทยา (serology) และ lateral flow technique โดยผลิตโพลีโคลนอล แอนติบอดีจากกระต่ายที่ฉีดด้วย membrane protein complex (MPC) ของเชื้อ *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* นำมาคิดผลจากด้วยอนุภาคทองคำใช้เป็นตัวตรวจจับ เมื่อทดสอบการตรวจหาเชื้อจากสารแขวนลอย แบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* ที่ความเข้มข้น  $10^8$  หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร ชุดตรวจสอบนี้ สามารถตรวจสอบและแสดงปฏิกิริยาผลบวก ปรากฏสีในเวลา 5 นาที และมีประสิทธิภาพตรวจแบคทีเรีย *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* ในกล้วยไม้ ที่ปริมาณต่ำสุดที่  $10^4$  หน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร

ลายมือชื่อนิสิต

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก