



วิทยานิพนธ์

การศึกษาโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียของฉัตรทอง

(*Curcuma roscoeana* Wall)

STUDIES ON BACTERIAL WILT OF GOLD CURCUMA

(*CURCUMA ROSCOEANA* WALL)

นางสาวสรินนา อ่ำรุ่ง

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2549



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)

ปริญญา

โรคพืช

โรคพืช

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง การศึกษาโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียของฉัตรทอง (*Curcuma roscoeana* Wall)

Studies on Bacterial Wilt of Gold Curcuma (*Curcuma roscoeana* Wall)

นามผู้วิจัย นางสาวสรินนา อ่ำรุ่ง

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์นิพนธ์ ทวีชัย, Ph.D.)

กรรมการ

(รองศาสตราจารย์อำไพวรรณ ภราดรน์วัฒน์, วท.ด.)

กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุวิษ วรรณไกรโรจน์, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(รองศาสตราจารย์ณรงค์ สิงห์บุระอุดม, วท.ม.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์วินัย อากงหาญ, M.A.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การศึกษาโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียของนัตรทอง (*Curcuma roscoeana* Wall)

Studies on Bacterial Wilt of Gold Curcuma (*Curcuma roscoeana* Wall)

โดย

นางสาวสรินนา อ่ำรุ่ง

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)
พ.ศ. 2549

ISBN 974-16-1790-9

สรินนา อ่ำรุ่ง 2549: การศึกษาโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียของฉัตรทอง (*Curcuma roscoeana* Wall)
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช
ปรึกษา: รองศาสตราจารย์พนธ์ ทวีชัย, Ph.D. 98 หน้า
ISBN 974-16-1790-9

ฉัตรทอง (*Curcuma roscoeana* Wall) เป็นพืชล้มลุกในวงศ์ขิง ปัจจุบันเป็นไม้ดอกเมืองร้อนที่มีความต้องการมากในตลาดเช่นเดียวกับปทุมมา (*Curcuma alismatifolia* Gagnep.) โรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของฉัตรทอง ทำให้ใบล่างและต้นเหลืองลุกลามขึ้นข้างบนสู่ใบอ่อน และในที่สุดจะทำยอดเหลืองและแห้งตายทั้งยอด โคนต้นที่ถูกเข้าทำลายแสดงอาการสีเหลือง มักพบอาการน้ำเน่าและหลุดจากเหง้าได้ดินได้ง่าย พบเมือกของเชื้อแบคทีเรียขับออกมาจากรอยตัดของลำต้นหรือเหง้าที่เป็นโรค แยกเชื้อโรคเหี่ยวของฉัตรทองที่เก็บจากจังหวัดตาก และตลาดนัดสวนจตุจักรในกรุงเทพฯ ได้ 6 สายพันธุ์คือ Co1, Co2, Co3, Co4, Co5 และ Co6 การจำแนกลักษณะชีววิทยาของเชื้อโดยอาศัยคุณสมบัติทางชีวเคมี สรีรวิทยา พืชอาศัยและการใช้น้ำตาล พบว่า 5 สายพันธุ์ (Co1, Co2, Co3, Co5 และ Co6) เป็นเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (RS) race 1 ใบโอบัว 3 (ใช้น้ำตาลทั้งไคแซกการไรด์ 3 ชนิด และน้ำตาลแอลกอฮอล์ 3 ชนิด) และ 1 สายพันธุ์ (Co4) เป็น RS race 1 ใบโอบัว 4 (ใช้น้ำตาลแอลกอฮอล์ 3 ชนิดเท่านั้น) การศึกษาพืชอาศัยของเชื้อ RS 6 สายพันธุ์ กับต้นเนื้อเยื่อและต้นกล้า พบว่าอาการเหี่ยวรุนแรงและตายภายใน 10 วันและ 15 วัน หลังการปลูกเชื้อตามลำดับ อย่างไรก็ตามอาการเหี่ยวจะเกิดช้าถึง 21 วัน หลังการปลูกเชื้อในjingแดงและกระชายดำ (*Kaempferia parviflora*) พืชทดสอบทุกชนิดแสดงอาการโรคเหี่ยวยกเว้น มะเขือยาวและยาสูบไม่แสดงอาการแต่มีเชื้อเจริญอยู่ในท่อน้ำท่ออาหาร ส่วน งา ถั่วลิสง หม่อนและกล้วย ไม่มีเชื้อเข้าทำลาย การทดสอบสารกำจัดแบคทีเรีย 9 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ RS พบว่า streptomycin ให้ผลดีที่สุดและให้ผลยับยั้งรองลงมาตามลำดับคือ PHYTOMYCIN®, tetracycline, Cef-3® และ ORTHOCIDE® 50 ขณะที่เหลือไม่มีผลยับยั้ง สารกำจัดแบคทีเรียแต่ละชนิดยับยั้งเชื้อ RS แต่ละสายพันธุ์ได้แตกต่างกัน การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวในการขยายพันธุ์แบบ *in vitro* ด้วย 1000 ppm tetracycline 1 ชั่วโมง +10% Clorox® 15 นาที +5% Clorox® 10 นาที เพิ่มอัตราการปลอดเชื้อของยอดจาก 70% เป็น 90% ขณะที่เมื่อฟอกด้วย Clorox® อย่างเดียวจะให้อัตราการปลอดเชื้อของเมล็ดและช่อดอก 100% อัตราการงอกสูงสุดและเวลาที่ใช้ในการงอกเป็นต้นเนื้อเยื่อของเมล็ดคือ 2.9% และ 90-120 วัน ส่วนจากช่อดอกคือ 8.3% และ 120-150 วัน ตามลำดับ การขยายพันธุ์ต้นฉัตรทองโดยการเพาะเลี้ยงแบบ *in vitro* ในอาหาร MS+15% น้ำมะพร้าว ให้รากสูงสุด 10 ราก และความสูง 9.5 เซนติเมตร ขณะที่ในอาหาร MS+5 mg BA +15% น้ำมะพร้าว จะให้จำนวนยอดสูงสุด 4 ยอด อัตราการรอดชีวิตของต้นเนื้อเยื่อเมื่อย้ายปลูกลงในกระถางในเรือนทดลองสูงถึง 98.7% ซึ่งสูงกว่าที่เคยมีรายงานไว้

Sarinna Umrung 2006: Studies on Bacterial Wilt of Gold Curcuma (*Curcuma roscoeana* Wall).
Master of Science (Agriculture), Major Field: Plant Pathology, Department of Plant Pathology.
Thesis Advisor: Associate Professor Niphone Thaveechai, Ph.D. 98 pages.
ISBN 974-16-1790-9

Gold Curcuma (*Curcuma roscoeana* Wall) is a herbaceous plant in the family Zingiberaceae. Presently, it is a new tropical cut flower with a high demand in the market as Patumma (*Curcuma alismatifolia* Gagnep.). Bacterial wilt disease (BW) of Gold Curcuma caused yellow color of stem and lower leaves then progressed upward to young leaves and finally induced yellowing and browning of entire shoot. The infected basal stem showing yellow color usually associated with a water-soaked symptom and easily broke off from the underground rhizome. A sign of bacterial exudate normally found on cut surface of infected stem and rhizome. Six strains of BW namely Co1, Co2, Co3, Co4, Co5 and Co6 were isolated from infected Gold Curcuma collected from growing areas in Tak Province and the Sunday market in Bangkok. Biological characterization using biochemical and physiological properties, host range and sugar utilization, five strains (Co1, Co2, Co3, Co5 and Co6) demonstrated characteristic of *Ralstonia solanacearum* (RS) race 1, biovar 3 (utilized both 3 disaccharides and 3 sugar alcohols) and one strain (Co4) was RS race 1, biovar 4 (utilized only 3 sugar alcohols). Host range study of six strains of RS on *in vitro* plantlets and seedling plants found severe wilt symptom and death within 10 days and 15 days after inoculation (dai), respectively. However, the symptom was delayed until 21 dai on red ginger and Krachaidam (*Kaempferia parviflora*). All tested plants showed typical wilt symptom except eggplant and tobacco were symptomless with vascular colonization whereas sesame, peanut, mulberry and banana were no infection. Testing of nine bactericides for growth inhibition of RS found that streptomycin was the most effective and the descending inhibitions were PHYTOMYCIN[®], tetracycline, Cef-3[®] and ORTHOCIDE[®] whereas the rest was no inhibition. Each bactericides inhibited each RS strain differently. Surfaces sterilization for *in vitro* propagation with 1000 ppm tetracycline for 1 hr +10% Clorox[®] 15 min+5% Clorox[®] 10 min increased clean culture of shoot from 70% to 90% whereas treated with 10% Clorox[®] 15 min alone provided 100% clean culture of seeds and inflorescences. Maximum germination rate and time for plantlet induction from seeds were 2.9% and 90-120 days whereas from inflorescences were 8.3% and 120-150 days of culture, respectively. *In vitro* multiplication of Gold Curcuma in MS+15% coconut water (CW) provided maximum of 10 roots and plant height of 9.5 cm whereas in MS+5 mg BA+15% CW gave maximum of 4 shoots. Survival rate of transplanting plantlets into pot in the greenhouse was 98.7%, which was higher than previous report.

Student's signature

Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.นิพนธ์ ทวีชัย ประธานกรรมการที่ปรึกษารองศาสตราจารย์ ดร.อำไพวรรณ ภราดรวัฒน์ กรรมการที่ปรึกษาวิชาเอก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุวิษ วรรณไกรโรจน์ กรรมการที่ปรึกษาวิชาการ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กัญญา ชีระกุล ผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ และตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.ปราณี ฮัมเมอลิงค์ ที่ให้ทุนการศึกษาและเป็นผู้จัดประกายในการทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อมณี คุณแม่มณี อารุง ที่ได้อบรมสั่งสอนเลี้ยงดู ขอบคุณพี่ๆ ที่คอยให้กำลังใจ และให้โอกาสทางการศึกษาแก่ข้าพเจ้าตลอดมา

ขอขอบคุณ คุณวรรณ นิ่มละออ ที่อำนวยความสะดวกในทุกๆเรื่อง พี่ๆ น้องๆ ชาวสโมสร นิสิตโรคพืชทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วง ประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์เล่มนี้ขอบแต่ คุณพ่อ คุณแม่ ครู อาจารย์ที่อบรมสั่งสอนให้ข้าพเจ้าได้มีความรู้จนถึงปัจจุบัน

สรินนา อารุง

เมษายน 2549

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	18
สถานที่ทำการทดลอง	25
ระยะเวลาทำการทดลอง	25
ผลการทดลอง	26
วิจารณ์	69
สรุปและข้อเสนอแนะ	76
สรุป	76
ข้อเสนอแนะ	78
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	79
ภาคผนวก	89
ภาคผนวก ก สูตรและวิธีเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย	90
ภาคผนวก ข สูตรและวิธีเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช	93
ภาคผนวก ค วิธีการเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ <i>R. solanacearum</i> แต่ละสายพันธุ์	
เพื่อการศึกษา	97
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	98

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สารกำจัดแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลองยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ 9 ชนิด	22
2	สายพันธุ์และแหล่งที่มาของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> จากฉัตรทองและพืชอาศัย 8 ชนิดที่ใช้ในการทดลอง	29
3	คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์จากฉัตรทอง และสายพันธุ์จากพืชอาศัยอื่น	33
4	การจำแนกไบโอวาร์ ของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สาเหตุโรคเหี่ยวของฉัตรทอง 6 สายพันธุ์ และจากพืชอาศัยอื่นเมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติมน้ำตาล 6 ชนิด เป็นเวลา 21 วัน	34
5	ความสามารถของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์จากฉัตรทอง และสายพันธุ์จากพืชอาศัยอื่นในการทำให้เกิดโรคเหี่ยวกับฉัตรทองและพืชอาศัย 20 ชนิด	38
6	ประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรีย 9 ชนิด ที่ 5 ระดับความเข้มข้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ Co1	42
7	ประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรีย 9 ชนิด ที่ 5 ระดับความเข้มข้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ Co2	45
8	ประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรีย 9 ชนิด ที่ 5 ระดับความเข้มข้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ Co3	48
9	ประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรีย 9 ชนิด ที่ 5 ระดับความเข้มข้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ Co4	50
10	ประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรีย 9 ชนิด ที่ 5 ระดับความเข้มข้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ Co5	52
11	ประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรีย 9 ชนิด ที่ 5 ระดับความเข้มข้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ Co6	55
12	ประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรีย 9 ชนิดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์ Co1, Co2, Co3, Co4, Co5 และ Co6	57

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
13	อัตราการปลดเชื้อของเมล็ด เหง้า และช่อดอกของฉัตรทอง เมื่อเลี้ยงบนอาหาร MS เป็นเวลา 1 เดือน	59
14	อัตราการงอก เพอร์เซ็นต์ของเมล็ดฉัตรทองที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS	60
15	อัตราการพัฒนาเป็นต้นอ่อน เพอร์เซ็นต์ของช่อดอกฉัตรทองที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	60
16	ระดับความเข้มข้นของ BA, NAA และ น้ำมะพร้าว ที่มีผลต่อการเกิดต้น ราก และความสูงของฉัตรทองเมื่อเลี้ยงนาน 2 เดือนในสภาพปลดเชื้อ	66
17	อัตราการรอดชีวิตหลังการย้ายปลูกของฉัตรทองในวัสดุ ดินผสม:เวอร์มิคูไลท์ อัตราส่วน 1:1 เป็นเวลา 2 เดือน	67
ตารางผนวกที่		
1	องค์ประกอบของสูตรอาหาร Murashige และ Skoog (MS, 1962)	93
2	การเตรียม Stock อาหารปริมาตร 1,000 มิลลิตร (1 ลิตร)	94

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	การปลูกน้ตรทองที่ อ. เขาค้อ จ. เพชรบูรณ์ ลักษณะของดอก กลีบประดับ เมล็ด และหัวพันธุ์	27
2	ลักษณะอาการ โรคเหี่ยวของน้ตรทองที่เกิดจากเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> และการเกิดเมือกแบคทีเรีย และลักษณะของเชื้อบนอาหาร TZC	28
3	ลักษณะโคโลนีของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สาเหตุโรคเหี่ยวของน้ตรทอง อายุ 48 ชั่วโมง บนอาหาร TZC (1) NGA (2) KB (3) และ mSM-1(4)	31
4	การทดสอบใบโอบาร์ของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i>	35
5	การปลูกเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สาเหตุโรคเหี่ยวของน้ตรทองโดยวิธีตัดใบ (leaf clipping)	39
6	ลักษณะอาการของพืชที่ปลูกเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> ที่แยกได้จากน้ตรทอง	40
7	เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรีย 9 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 0, 100, 500, 1000 และ 1500 ppm ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> โดยวิธี petridish zonal inhibition	58
8	การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสูตร MS	61
9	การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของหน่อจากเหง้าในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสูตร MS	62
10	การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของช่อดอกอ่อนในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	63
11	เปรียบเทียบสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณต้นในสภาพปลอดเชื้อ	65
12	การย้ายปลูกต้นเนื้อเยื่อน้ตรทองลงในกระถาง	68

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

MS	=	Murashige and Skoog
BA	=	N ₆ -benzyladenine
CW	=	Coconut water
NAA	=	Naphthalene acetic acid
2,4-D	=	2,4-dichloroacetic acid
TZC	=	Tetrazolium chloride medium
KB	=	King's Medium B Agar
NA	=	Nutrient agar
NGA	=	Nutrient glucose agar
ppm	=	Part per million

การศึกษาโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียของฉัตรทอง (*Curcuma roscoeana* Wall)

Studies on Bacterial Wilt of Gold Curcuma (*Curcuma roscoeana* Wall)

คำนำ

พืชในกลุ่มที่ถูกเรียกว่ากระเจียว เป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชียเขตร้อน เช่น ประเทศไทย พม่า เวียดนาม เขมร ลาว อินเดีย เนปาล ศรีลังกา และอินโดนีเซีย นอกจากทวีปเอเชียแล้ว ยังพบกระเจียวบางชนิดในทวีปแอฟริกาเขตร้อน (พิชัย และคณะ, 2536) กระเจียวเป็นพืชที่อยู่ในวงศ์ จิง (Zingiberaceae) สกุลขมิ้น (*Curcuma*) โดยมีไม่น้อยกว่า 70 ชนิด และพบอยู่ในประเทศไทยราว 30 ชนิด โดยที่สามารถแบ่งเป็น 2 สกุลย่อย คือ *Eucurcuma* ได้แก่ ฉัตรทอง และกระเจียว และ *Paracurcuma* ได้แก่ ปทุมมา (สุรวิช, 2537) ฉัตรทองเป็นไม้ดอกเศรษฐกิจที่มีราคาก่อนข้างแพง สามารถเป็นไม้ตัดดอกและส่งขายไปยังตลาดต่างประเทศ มีชื่อทางการค้า เช่น Nutticha Orange และ Jewel of Burma ราคาต่อหัวที่ขายเป็นการค้าทางอินเทอร์เน็ต คือ 11.95 ดอลลาร์ คิดเป็นเงินไทยประมาณ 478 บาทต่อหัว (Aloha Tropicals, 2000) พืชในวงศ์จิงโดยเฉพาะอย่างยิ่งจึงประดับ จัดเป็นไม้ดอกที่มีศักยภาพในการผลิตและการส่งออก ซึ่งคณะกรรมการประสานงานวิจัยและพัฒนาไม้ดอกไม้ประดับสภาวิจัยแห่งชาติ ได้กำหนดให้มีการบรรจุ ไม้ดอกกลุ่มปทุมมาและกระเจียวเป็นพืชที่ต้องเร่งดำเนินการวิจัยให้ครบวงจร และสามารถประยุกต์ใช้ในแผนพัฒนาเศรษฐกิจแห่งชาติฉบับที่ 8 ปี พ.ศ. 2540–2544 แต่แผนดังกล่าวยังไม่ได้รับการสนับสนุนด้านงบประมาณ และยังไม่มีการวิจัยให้ครบวงจร สภาวิจัยแห่งชาติกำหนดให้มีโครงการวิจัยชุดแห่งชาติ 34 ชุด ในแผนพัฒนาเศรษฐกิจแห่งชาติฉบับที่ 9 ปี พ.ศ. 2545–2549 จัดเป็นโครงการวิจัยชุดเร่งด่วนเพื่อฟื้นฟูเศรษฐกิจของชาติ โดยโครงการวิจัยแห่งชาติชุดไม้ดอกไม้ประดับได้ให้ความสำคัญพืชไม้ดอกไม้ประดับ รวมพืชในวงศ์จิง ได้แก่ ปทุมมา ปทุมรัตน์ ทับทิมสยาม ฉัตรทอง เทพประทุมพร ให้เป็นพืชที่ต้องเร่งทำการวิจัยในแผนพัฒนาเศรษฐกิจแห่งชาติฉบับที่ 9 เพื่อก่อให้เกิดมูลค่าเพิ่ม ทางเศรษฐกิจ สามารถนำมาช่วยฟื้นฟูเศรษฐกิจของชาติได้ แต่การส่งออกต้องประสบปัญหาจากการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรีย ในปี 2540 เจ้าหน้าที่กักกันพืชของประเทศเนเธอร์แลนด์ ตรวจพบเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* race 1, biovar 4 ติดไปกับหัวพันธุ์ปทุมมาและเนื่องจากเชื้อโรคดังกล่าวเป็นศัตรูสำคัญทางกักกันพืชของประเทศในกลุ่มประชาคมยุโรปจึงได้ถูกเผาทำลายหลายรายการ และมีแนวโน้มการระงับการนำเข้าหัวพันธุ์ปทุมมาจากประเทศไทย (ปิยรัตน์, 2541) สิ่งที่เป็นปัญหาในการผลิตไม้ตัดดอกเมืองร้อนเหล่านี้ในเชิงธุรกิจ คือ

การขาดแคลนต้นพันธุ์ที่ปลอดโรคเป็นจำนวนมากซึ่งปัจจุบันนี้ได้มีการนำเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ขยายพันธุ์ให้ได้ต้นเป็นจำนวนมากในเวลาไม่นานนักผลผลิตมีความสม่ำเสมอและมีคุณภาพได้มาตรฐาน ตามความต้องการของตลาด (อรดี, 2538) เนื่องจากฉัตรทอง มีศักยภาพที่จะพัฒนาเป็นพืชเศรษฐกิจเพื่อการส่งออก แต่ยังมีปัญหาด้านโรคและยังไม่มีรายงานการศึกษาวิจัยด้านโรค ด้วยเหตุนี้ การศึกษาชีววิทยาของเชื้อ วิธีการตรวจหาเชื้อ พืชอาศัย ซึ่งเป็นบางส่วนของเชื้อสาเหตุโรคฉัตรทอง วิธีการผลิตต้นพันธุ์ที่ปราศจากโรค และการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดที่ถูกต้องเพื่อพัฒนาและปรับใช้ วิธีการปลูกเลี้ยงฉัตรทองให้ปลอดโรค จึงเป็นสิ่งจำเป็นต่อการผลิตหัวพันธุ์ปลอดโรคและมีคุณภาพดีในการส่งออกหัวพันธุ์ไปขายยังตลาดต่างประเทศ

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของเชื้อแบคทีเรีย ที่แยกได้จากน้ตรทองที่พบในประเทศไทย
2. ศึกษาลักษณะการเจริญเติบโต สัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมี ของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคเหี่ยวของน้ตรทอง
3. ศึกษาพิษอาศัยของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของน้ตรทอง และพิษเสริมอื่นๆ
4. ศึกษาประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรียบางชนิดในการป้องกันกำจัดโรคในห้องปฏิบัติการ
5. ศึกษาวิธีการเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์ปลอดโรค โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชและการย้ายปลูกลงในกระถาง

การตรวจเอกสาร

1. ลักษณะโดยทั่วไปของฉัตรทอง

ฉัตรทอง (*Curcuma roscoeana* Wall) เป็นพืชที่จัดอยู่ในวงศ์ขิง (Zingiberaceae) สกุลขมิ้น (*Curcuma*) สกุลย่อย *Eucurcuma* ซึ่งมีกระเจียวเป็นตัวแทนที่รู้จักกันดีในด้านไม้ดอกจึงเรียกเป็นกลุ่ม กระเจียว จัดเป็นไม้ตัดดอกเมืองร้อน พบในภาคเหนือและภาคตะวันตกของไทย ฉัตรทอง มีชื่อเรียกต่างๆ กัน เช่น กระเจียวส้ม และ ขมิ้นแดง ชื่อสามัญ Gold Curcuma และ Pride of Burma ชื่อการค้า Nutticha Orange และ Jewel of Burma (สุรวิษ, 2537) โดยธรรมชาติของ *Curcuma* เป็นพืชล้มลุกประเภทยืนต้น (herbaceous perenial) (พิชัย, 2536) มีโครโมโซม $2n = 42$ และละอองเรณู มีขนาด 54×89 ไมครอน (อรพินท์, 2543)

ทรงพุ่มสูงประมาณ 50-100 เซนติเมตร กว้างประมาณ 50-90 เซนติเมตร ลำต้นเทียม (pseudostem) สูงประมาณ 60 เซนติเมตร ทรงต้นคล้ายกล้วย

ลำต้นเทียม ทรงพุ่ม 46-70 เซนติเมตร ใบมี 6-9 ใบต่อต้น ใบรูปรีแกมขอบขนาน ตั้งตรง ใบบนกว้าง 9.3-15.0 เซนติเมตร ยาว 26-35 เซนติเมตร ใบกลางกว้าง 8.5-13.0 เซนติเมตร ยาว 20-29 เซนติเมตร ใบล่างกว้าง 7-10 เซนติเมตร ยาว 17-24 เซนติเมตร แผ่นใบมีขนทั้งด้านบนหลังใบและด้านล่าง ก้านใบบนยาว 9.5-18.5 เซนติเมตร ก้านใบกลางยาว 10.5-16.0 เซนติเมตร ก้านใบล่างยาว 6.8-8.5 เซนติเมตร ผิวเกลี้ยง กาบใบยาว 14.5-28.5 เซนติเมตร เส้นใบสูง 2.2-2.3 เซนติเมตร (อรพินท์, 2543)

ใบกาบใบสีเขียว ก้านใบยาวประมาณ 30-35 เซนติเมตร ใบเป็นรูปรี กว้างประมาณ 20-25 เซนติเมตร ยาวประมาณ 50-55 เซนติเมตร แผ่นใบเป็นคลื่น มีขนใต้ใบ

ช่อดอกเกิดจากปลายลำต้นเทียม ก้านช่อดอกยาว 70 เซนติเมตร ใบประดับสีส้มแดง ไม่มีขน ขนาดกว้างประมาณ 2.5 เซนติเมตร ยาวประมาณ 3.4 เซนติเมตร ดอกสีขาว ปากสีเหลือง มีสันสีเหลืองเข้ม กลีบสเทมิโนคสีขาวขนานกัน อับละอองเรณูป่องออกที่ส่วนโคน (สุรวิษ, 2537)

ช่อดอกเกิดตรงกลางลำต้นเทียม ในช่วงเดือนกรกฎาคมถึงกันยายน ช่อดอกกว้างประมาณ 4.5-7.0 เซนติเมตร ยาวประมาณ 10-15 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางก้านช่อดอกประมาณ 0.6-0.8 เซนติเมตร ยาวประมาณ 17-32 เซนติเมตร ใบประดับมี 17-25 ใบต่อช่อดอก รูปไข่แกมขอบขนาน สีส้ม ปลายมนโค้งลง (อรพินท์, 2543)

ดอกจริง มีประมาณ 3-4 ดอกอยู่ในช่องของกลีบประดับและทยอยบานทีละดอก อายุการบานของดอกประมาณ 1 วัน ดอกจริงเป็นหลอดยาว สีของดอกจริงมักจะต่างจากสีของกลีบประดับ แต่ที่พบคือสีเหลืองอ่อน กลีบของดอกจริงมี 3 กลีบ คือ กลีบกลางซึ่งมีขนาดใหญ่และมีลักษณะเว้า ปลายมน ส่วนกลีบดอกข้างอีก 2 กลีบมีขนาดเล็กกว่า ดอกจริงเป็นดอกสมบูรณ์เพศ ก้านเกสรตัวผู้แผ่เป็นแผ่นเชื่อมติดกับกลีบกลางของดอก อับเกสรตัวผู้มีสีขาวและมี 2 พู ส่วนฐานจะเชื่อมติดกันเป็นหลอดโอบล้อมก้านชูเกสรตัวเมีย อับเกสรตัวผู้จะแตกตามยาวเมื่อแก่เต็มที่ ละอองเกสรตัวผู้มีสีขาวกลมและจับเป็นก้อน ยอดเกสรตัวเมียเป็นแบบปลายปิดคล้ายปากแตรและชูอยู่เหนือ อับเกสรตัวผู้ ในช่วงเช้าตรู่จะพบของเหลวเหนียวที่ปลายยอดเกสรตัวเมีย ก้านชูเกสรตัวเมียจะยาวและมีช่องทางนำท่อละอองเกสร รังไข่เป็นแบบ interior ovary มีรูปร่างค่อนข้างกลม รังไข่ แบ่งเป็น 3 ช่อง และมีไข่อ่อนสีขาวเรียงเป็นชั้นติดกับแกนกลางของรังไข่ (นิพนธ์ และคณะ, 2538)

ช่อดอกของฉัตรทองมีสีส้มสดหรือแสด กลีบประดับ (bract) ที่มีสีส้มเรียงตัวเป็นแนวตั้ง 4-7 แถว การจัดเรียงของกลีบประดับบนแกนเรียงซ้อนกันเป็นชั้น ๆ 5-8 ชั้น จำนวนกลีบ 25-40 กลีบ มีดอกจริงคล้ายดอกกล้วยไม้เล็กๆ สีขาวอมเหลืองอยู่ตามกลีบประดับในข้อหนึ่งเห็น 2-3 ดอก ก้านช่อดอกยาว (พิชัย, 2536 ; วลัยภรณ์ และคณะ, 2540)

ดอกมี 3-5 ดอกต่อใบประดับ ความยาวหลอดกลีบเลี้ยง 1.3-2.1 เซนติเมตร สีขาว ปลายกลีบหยาบมน ความยาวหลอดกลีบดอก 3.2-4.0 เซนติเมตร กลีบดอกกว้าง 1.1-1.3 เซนติเมตร สีขาว ผิวเกลี้ยง สเทมิโนด กว้าง 0.9-1.2 เซนติเมตร ยาว 1.3-1.8 เซนติเมตร สีเหลืองอมส้ม ผิวเกลี้ยงกลีบปากกว้าง 1.0-1.5 เซนติเมตร สีเหลืองอมส้ม อับเรณูยาว 0.4-0.6 เซนติเมตร ด้านข้างมีขน สีเหลืองอ่อน มี anther creat เรณูติดบริเวณโคนอับเรณู ก้านชูเกสรเพศผู้ยาว 0.2-0.3 เซนติเมตร กว้าง 0.25-0.30 เซนติเมตร สีเหลืองอ่อน ผิวเกลี้ยง (อรพินท์, 2543)

เมล็ดส่วนใหญ่รูปร่างยาวรี ยกเว้นเมล็ดจักรทองที่ค่อนข้างกลม เมล็ดมีสีน้ำตาล และเปลือกแข็งเป็นมัน เมล็ดจะเจริญอยู่ในฝักและหลุดออกมาเมื่อฝักแก่เต็มที่ โดยมีชั้นส่วนสีขาวเป็นเนกตรง hilum ของเมล็ดติดออกมาด้วย

การเพาะเมล็ด เมล็ดกระเจียวหลายชนิดมีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำมาก การใช้กรรมวิธีต่างๆ เช่น การขลิบเมล็ด การแช่น้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส การแช่ในตู้เย็นอุณหภูมิ 10-15 องศาเซลเซียส การแช่ในสารละลาย H_2SO_4 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ก่อนการเพาะเมล็ดนั้น สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกได้เพียงเล็กน้อย แต่เมื่อแช่เมล็ดพันธุ์ด้วยสารละลาย GA_3 ก่อนเพาะ สามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกเป็น 30-35 เปอร์เซ็นต์ จึงอาจสันนิษฐานได้ว่าเมล็ดกระเจียวมีการพักตัวทางสรีรวิทยา (physiology dormancy) ไม่ใช่ทางกายภาพ (physical dormancy) อย่างไรก็ตามควรจะมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อหาสาเหตุและการทำลายการพักตัวของเมล็ด เพื่อประโยชน์ด้านการเพาะเมล็ดลูกผสมที่ได้จากการผสมพันธุ์ (นิพนธ์ และคณะ, 2538)

รากของพืชสกุลนี้เป็นระบบรากฝอย เป็นรากที่มีขนาดใหญ่ อวบน้ำ (fleshy root) มีรากแขนงเล็กๆ (lateral root) จำนวนมาก เกิดจากส่วนของรากใหญ่ ที่ปลายรากแขนงรากส่วนหนึ่งมีปลายที่บวมพองออกมีลักษณะเป็นตุ่มทำหน้าที่เก็บสะสมน้ำและอาหารไม่สามารถตัดไปขยายพันธุ์ได้ (พิชัย, 2536 ; สุรวิษ, 2537)

การเก็บรักษาหัวพันธุ์ พบว่าการเก็บหัวพันธุ์ไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส ให้เปอร์เซ็นต์ความงอกต่ำที่สุด และเก็บไว้นานเกิน 12 สัปดาห์ หัวจะไม่งอก หัวที่เก็บไว้ที่ 13 องศาเซลเซียส ให้เปอร์เซ็นต์ความงอกได้ดีกว่าเมื่อเก็บไว้ที่ 10 องศาเซลเซียส ซึ่งหัวจะไม่งอกเลยเมื่อเก็บไว้นานกว่า 26 สัปดาห์ หัวที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10-13 องศาเซลเซียส นาน 12-22 สัปดาห์ ช่วยให้หัวออกดอกนอกฤดูกลาด แต่หัวที่เก็บที่ 13 องศาเซลเซียสให้เปอร์เซ็นต์การออกดอกสม่ำเสมอและดีกว่า (พิมพ์ใจ และคณะ, 2536)

ลำต้นใต้ดินแบบเหง้า ชูตั้ง มีการเจริญแตกแขนงน้อย เหง้าสั้น เป็นระเบียบส่วน ของเหง้าที่เจริญชูตั้ง กว้าง 1.6-2.1 เซนติเมตร ยาว 2.8-4.7 เซนติเมตร รูปทรงกระบอก สี tallow group ตุ่มสะสมอาหารกว้างประมาณ 0.9-1.4 เซนติเมตร ยาว 1.8-2.6 เซนติเมตร (อรพินท์, 2543)

2. ลักษณะทั่วไปของเชื้อ *Ralstonia solanacearum*

ข้อตกลงของ Bergey's manual of determinative bacteriology (Buchanan และคณะ, 1974 ; Savulescu, 1947 และ Elliott, 1951) ได้จัดลักษณะเชื้อ *R. solanacearum* อยู่ใน

Kingdom	Procaryote
Class	The Bacteria
Order	Pseudomonadales
Family	Pseudomonadaceae
Genus	<i>Pseudomonas</i> sp.

Synonym :

Bacillus solanacearum E.F. Smith (1896)

Bacterium solanacearum Chester (1898)

Bacillus nicotianae Uyeda (1904)

Bacillus musae Rorer (1911)

Pseudomonas solanacearum E.F. Smith (1914)

Bacillus musarum Zeman (1921)

Phytomonas solanacearum (E.F. Smith) Bergey *et al.* (1923)

Erwinia nicotianae (Uyeda) Bergey *et al.* (1923)

Xanthomonas solanacearum (E.F. Smith) Dowson (1939)

Pseudomonas solanacearum Breed *et al.* (1948) ; Savulescu (1948)

Berkholderia solanacearum Yabuuchi *et al.* (1993)

Ralstonia solanacearum Yabuuchi *et al.* (1995)

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา เชื้อ *R. solanacearum* เป็นแบคทีเรียรูปร่างเป็นแท่งเล็กๆ หัวท้ายมน มีขนาดแตกต่างกันตามสภาพของอาหาร และสิ่งแวดล้อมในการเจริญเติบโต มีความยาวโดยเฉลี่ยเป็น 1.5-3 เท่าของความกว้าง เชื้อที่นำมาจากพืชที่เป็นโรคโดยตรง แล้วย้อมสีพบว่ามีความ

เป็น rod ที่ค่อนข้างยาว วัดขนาดโดยเฉลี่ย 0.5-0.6 x 0.8-1.2 ไมโครเมตร (Roldan, 1936) และ 0.5-1.0 x 1.5-4.0 ไมโครเมตร (Shaad, 1980) เชื้อไม่สร้างสปอร์ ไม่มี capsule ติดสีแกรมลบ (Smith, 1896)

ลักษณะการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารแข็ง tetrazolium medium โคโลนีจะมีขนาดค่อนข้างเล็ก ลักษณะไม่แน่นอนหรือค่อนข้างกลม ผิวหน้าเรียบ เมื่ออายุน้อยจะมีสีเหลืองอ่อน หรือขาวขุ่น แต่จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเมื่ออายุมากขึ้น (สุรัญญา, 2527) จากลักษณะการเจริญบนอาหาร triphenyl tetrazolium chloride agar (TZC) ตลอดจนใช้แหล่งคาร์บอนและสารเคมีต่างๆ บน TZC โคโลนีของเชื้อที่เจริญบนอาหารนี้พบทั้ง wild type เชื้อรุนแรง (virulent) และ mutant เชื้อไม่รุนแรง (avirulent) ลักษณะของเชื้อรุนแรง มีโคโลนีค่อนข้างกลมกระจายตัวในน้ำได้ดี สีขาวขุ่น มีจุดสีชมพูอ่อนตรงกลาง ส่วนลักษณะของเชื้อที่ไม่รุนแรง มีลักษณะโคโลนีรูปร่างกลม ขอบเรียบ สีแดงเข้ม มีขอบใสแคบๆ (ศศิธร, 2525)

R. solanacearum เป็นเชื้อที่จัดได้ว่าไวต่อความเป็นด่างธาตุไนโตรเจน อุณหภูมิและความชื้นของดินมาก เจริญเติบโต และเข้าทำลายพืชได้ดี ในดินที่มีความเป็นกรดเป็นด่างระดับกลาง ประมาณ 6.8 ในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 15-38 องศาเซลเซียสแต่จะดีที่สุดระหว่าง 30-35 องศาเซลเซียส แต่เชื้อจะถูกทำลายให้ตายที่อุณหภูมิ 49-51 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 10 นาที ในดินที่ขาดโปแตสเซียมและไนโตรเจน หรือที่ความสมบูรณ์น้อยโรคจะรุนแรง หากรักษาระดับความสมบูรณ์ดินให้คงที่อยู่เสมอ ความเสียหายจะลดลง สำหรับความชื้นปกติ เชื้อต้องการความชื้นสูงในการเข้าทำลายพืช แต่หากเชื้อมีปริมาณมาก แม้ในดินจะมีความชื้นเพียงเล็กน้อย ก็อาจทำให้เกิดโรครุนแรงได้ โดยเฉพาะระยะต้นกล้า (ศักดิ์, 2530)

ลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหาร TZC มี 2 ลักษณะคือโคโลนีที่มีขอบไม่แน่นอน หรือกลมรีสีขาวขุ่น ตรงกลางมีจุดสีชมพูอ่อนถึงแดง เชื้อกระจายตัวในน้ำได้ดี จัดเป็นเชื้อที่รุนแรง และลักษณะโคโลนีที่กลม ขอบเรียบสีแดงเข้ม มีขอบใสแคบๆ จัดเป็นโคโลนีเชื้อไม่รุนแรง (Kelman, 1954) สำหรับโคโลนีที่เจริญบนอาหารแข็งทั่วไป จะมีขนาดค่อนข้างเล็กรูปร่างไม่แน่นอนหรือเกือบกลม ผิวหน้าเรียบ สีของโคโลนีจะต่างกันตามอายุของเชื้อ เมื่ออายุน้อยโคโลนีจะมีสีครีมหรือขาวขุ่น จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเมื่ออายุมากขึ้น ส่วนการเจริญในอาหารเหลวภายหลังการปลูกเชื้อลงในอาหารเหลว 24 ชั่วโมง อาหารจะขุ่นอย่างสม่ำเสมอ และขุ่นมากขึ้นเมื่อทำการเลี้ยงต่อไป หากบ่มเชื้อต่อประมาณ 2 สัปดาห์อาหารจะกลับใสขึ้น เนื่องจากเชื้อส่วนใหญ่ตกตะกอนลงมาอยู่ที่ก้นหลอด และสีของอาหารจะคล้ำขึ้นเล็กน้อย เนื่องจากเชื้อมีการสร้างเม็ดสีน้ำตาล (สุกกิจ, 2536)

คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ เชื้อสร้างเม็ดสีน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ จัดเป็นเชื้อที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต ไม่สามารถย่อยแป้งและเจลาติน สามารถรีดิวซ์ไนเตรทเป็นไนไตรท์ สร้างเอนไซม์เคตาเลส และออกซิเดส เจริญในอาหาร tetrazolium hydrochloride broth ที่มีความเข้มข้นเพียง 1–2 เปอร์เซ็นต์ (วิชา, 2530)

3. พืชอาศัยและการแพร่ระบาด

เมื่อทำการปลูกเชื้อ *R. solanacearum* ที่แยกได้จากกิ่งที่เป็นโรคเหี่ยวหรือแง่น้ำ กับพืชชนิดต่างๆ 21 ชนิด คือ มะเขือเทศ มะเขือยาว มันฝรั่ง พุทธรักษา จิง ข่า กระชาย ไพล ขมิ้น หอมหัวใหญ่ ยาสูบ ละหุ่ง พริกขี้หนู งา ถั่วลิสง พริกขี้ฟ้า ถั่วพุ่ม ถั่วฝักยาว กลัวย่น้ำว้า กลัวยหอม และปักษาสวรรค์ พบว่ามีพืช 9 ชนิด ที่แสดงอาการเหี่ยวและตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 2 สัปดาห์ ได้แก่ มะเขือเทศ มะเขือยาว มันฝรั่ง พุทธรักษา จิง ข่า กระชาย ไพล และขมิ้น ส่วนหอมหัวใหญ่ แสดงอาการเหี่ยวและแห้งตาย 55 เปอร์เซ็นต์ สำหรับยาสูบ ละหุ่ง และพริกขี้หนู ไม่แสดงอาการผิดปกติ แต่เนื้อเชื้อท่อลำเลียง (vascular tissue) บางส่วนถูกทำลาย และสามารถแยกเชื้อกลับได้ ส่วนงา ถั่วลิสง พริกขี้ฟ้า ถั่วพุ่ม ถั่วฝักยาว กลัวย่น้ำว้า กลัวยหอม และปักษาสวรรค์ ไม่แสดงอาการผิดปกติ และไม่พบเชื้อสาเหตุโรค (ศศิธร, 2525)

เชื้อ *R. solanacearum* เติบโตได้ดีในสภาพที่เป็นด่าง โรคนี้เป็นปัญหาในการป้องกันการกำจัด เนื่องจากเชื้อนี้สามารถพัฒนาพันธุ์ให้ต้านทานสารเคมีได้เร็ว มีพืชอาศัยหลายชนิด และยังสามารถพักตัวในดินได้นานนับปี (สุรวิษ, 2537)

เมื่อทำการปลูกเชื้อ *R. solanacearum* ที่แยกได้จากปทุมมา ด้วยวิธี leaf clipping กับพืชชนิดต่างๆ พบว่า ปทุมมา จิง มะเขือเทศ มะเขือยาว พริก และดาวเรือง เกิดอาการเหี่ยว ยาสูบ และถั่วลิสง ไม่แสดงอาการเหี่ยว แต่พบเชื้อเจริญอยู่ในลำต้น ขณะที่งาไม่เกิดโรค จากการศึกษากการเข้าทำลายปทุมมาของเชื้อ *R. solanacearum* บนพืชอาศัยอื่น มีเพียงเชื้อสายพันธุ์จากจิง และงา ทำให้ปทุมมาเกิดโรคเหี่ยว (ปิยรัตน์, 2541)

พืชวงศ์จิงที่เป็นโรคเหี่ยวจากแบคทีเรีย *R. solanacearum* ได้แก่โรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของปทุมมา และโรคจิงเน่าของจิงบริโภค ลักษณะอาการของโรคที่พบคือ ในระยะแรกใบแก่ด้านล่างจะเหี่ยวเหลือง และม้วนเป็นหลอดอาการจะค่อยๆ ลามขึ้นสู่ด้านบน และใบม้วนแห้งตายทั้งต้น

บริเวณโคนต้นและหน่อที่แตกใหม่มีลักษณะฉ่ำน้ำ และเน่าเปื่อยหลุดจากหัว เมื่อตรวจดูที่ลำต้นจะพบส่วนท่อน้ำท่ออาหารถูกทำลายเป็นสีคล้ำหรือสีน้ำตาลเข้ม และมีเมือกของเชื้อแบคทีเรีย เป็นของเหลวสีขาวข้นคล้ายน้ำมัน ออกตามรอยแผลหรือรอยตัดของต้นที่เป็นโรค สำหรับหัวของต้นที่แสดงอาการโรคในระยะแรกจะพบรอยฉ่ำน้ำเป็นปื้น ต่อมาเมื่ออาการรุนแรงขึ้นหัวจะเปื่อยยุ่ย และมีสีคล้ำ เมื่อผ่าหัวพันธุ์เป็นโรคพบส่วนท่อน้ำท่ออาหารถูกทำลายเป็นสีน้ำตาล และมีเมือกสีขาวขุ่นออกมา (ปิยรัตน์, 2541) ในเชิงบริโภคนิยมแสดงอาการโรคเหี่ยว ใบม้วนขณะที่ต้นยังเขียว จึงมักเรียกว่าโรคเหี่ยวเขียว เมื่ออาการรุนแรงมากขึ้นใบห่อม้วน และกลายเป็นสีเหลืองจากนั้นต้นจะหักพับลง เนื้อในของแงะจึงมีรอยฉ่ำน้ำหรืออาการใสเหมือนแก้ว จึงเรียกว่าโรคเนื้อแก้วหรือโรคไส้ซึม จะลุกลามทำให้เกิดหัวและลำต้นเน่า มีน้ำสีขาวขุ่นข้นไหลออกมาตามรอยตัด บางครั้งมีกลิ่นเหม็น (นิพนธ์, 2542)

สำหรับอาการเหี่ยวหรือโรคหัวเน่าของปทุมมา พืชไม้ดอกเศรษฐกิจ ของประเทศไทยนั้น ในระยะแรกหลังการติดเชื้อ ใบแก่ส่วนล่างจะเหี่ยวลู่ลง ใบเหลืองและม้วนเป็นหลอดคล้ายอาการขาดน้ำ จากนั้นอาการจะค่อยๆลุกลามจากส่วนล่างไปยังส่วนบนของต้น ใบอ่อนเริ่มห่อ เห็นชัดในช่วงเช้า สีซีด บริเวณโคนต้นมีอาการเน่า ใบหลุดออกจากหัว ส่วนท่อน้ำและท่ออาหารของลำต้นถูกทำลายกลายเป็นสีคล้ำ หรือสีน้ำตาลเข้ม พบเมือกสีขาวขุ่น (ooze หรือ bacterial exudate) ซึมออกตามรอยแผลหรือรอยตัด เมื่อขุดเอาส่วนหัวพันธุ์ของต้นที่เป็นโรคจะพบรอยฉ่ำน้ำขึ้นเป็นปื้น รากมีสีน้ำตาล เมื่อมีอาการรุนแรงมากขึ้นหัวจะเปื่อยยุ่ย และมีสีคล้ำ ส่งกลิ่นเหม็น บางต้นมีอาการรุนแรงมากหัวพันธุ์ก็จะเน่าและอยู่ได้ดิน ถ้านำหัวพันธุ์จากต้นที่เป็นโรคมาร่วมตามขวางพบว่าบริเวณท่อน้ำท่ออาหารมีสีน้ำตาลคล้ำ ส่งกลิ่นเหม็น เมื่อบีบหัวพันธุ์จะมีเมือกสีขาวขุ่นไหลออกมาจากบริเวณท่อน้ำท่ออาหาร (วรรดา, 2543)

โดยทั่วไปเชื้อ *R. solanacearum* มีพืชอาศัยมากกว่า 150 ชนิด ในพืช 30 วงศ์ (family) ทั้งพวกพืชผัก เช่น แครอท พริก มันฝรั่ง ถั่วต่างๆ พืชไม้ดอก เช่น พิทูเนีย ทานตะวัน ดาวเรือง พวกพืชไร่ ได้แก่ มันสำปะหลัง ละหุ่ง ฝ้าย อ้อย ข้าวโพด ไม้ผลบางชนิด ได้แก่ แดงโม กล้วย และวัชพืชหลายชนิดโดยพืชที่เชื้อเจริญได้ดีอยู่ในวงศ์ Solanaceae และรองลงมาคือ Leguminosae (Hayward, 1991) สำหรับลักษณะอาการที่พบโดยทั่วไปคือ ในระยะแรกพืชจะเกิดอาการเหี่ยวในช่วงกลางวันที่มีอากาศร้อน ใบล่างเหี่ยวห้อยลง หลังจากนั้นพืชแสดงอาการเหี่ยวทั้งต้น ใบม้วนลงทั้งที่ต้นยังเขียวอยู่ การพัฒนาของโรคจะเร็วมาก พืชจะเหี่ยวทั้งต้นและตายอย่างรวดเร็วในเวลา 2-3 วัน (จุฑาทพ, 2544)

4. การควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum*

4.1 การใช้สารเคมี การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมี 9 ชนิด ในการควบคุมโรคเหี่ยว จิงโดยวิธี petridish zonol inhibition และวิธี tube dilution technique ในห้องปฏิบัติการ พบว่า ออริโอมัยซิน มีผลยับยั้งการเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* ที่ความเข้มข้น 50 ppm ขณะที่ต้องใช้ แคลเพแทน เข้มข้น 500 ppm แต่การใช้สารสเตรปโตมัยซิน 2000 ppm และแคลเพแทน 5000 ppm แซ่ ฟ่อนพันธุ์จิงก่อนปลูก พบว่าไม่สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวได้ (ศศิธร, 2525)

การควบคุมโรคเหี่ยวโดยการจัดการดิน (soil amendment) และการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ต่อ เชื้อสาเหตุโรคเหี่ยว ซึ่งได้แก่ *B. subtilis* และ *P. fluorescens* พบว่าจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ที่ได้ทดสอบ ด้วยวิธี paper disc diffusion นั้นมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน เมื่อทดสอบในระดับเรือนทดลอง พบว่าการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ในรูปผง ทำให้ประชากร *R. solanacearum* ในดินลดลงได้และ ทดสอบด้วยวิธีการปรับปรุงดินด้วยปุ๋ยยูเรียและปุ๋ยคอกพบว่ามีโรคเกิดโรค 40 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อ ทดลองในระดับแปลงทดลองพบว่า เมื่อเปรียบเทียบ 4 กรรมวิธี อันได้แก่ การปรับปรุงดินด้วยยูเรีย และปุ๋ยคอก การอบด้วยแสงอาทิตย์ การใช้สารเคมีอบดิน และการใช้แบคทีเรียแอนทาโกนิสต์ เปรียบเทียบการไม่ใช้วิธีการใดควบคุมโรค มีการเกิดโรคเหี่ยว 19, 47, 19, 44 และ 67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และปริมาณเชื้อลดลง ซึ่งผลการทดลองนี้ แสดงว่าการปรับปรุงดินด้วยยูเรียและปุ๋ยคอกมี ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ดี (พัชรินทร์, 2540)

การควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาในเรือนปลูกพืชทดลอง ดำเนินการกับดินปลูกเชื้อที่เป็น ดินร่วน และดินเหนียวปนทราย โดยการปรับปรุงดินด้วยปุ๋ยยูเรียและปุ๋ยคอก แบคทีเรียปฏิปักษ์ ปุ๋ย ยูเรียและปุ๋ยคอกร่วมกับเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ สารเคมีดาไซเมท ฟงคลอรีน และการเปรียบเทียบ ที่ ไม่ได้ปรับปรุงดิน สำหรับดินทรายร่วนนั้นการใช้ปุ๋ยยูเรียและปุ๋ยคอกอย่างเดียว หรือใช้ร่วมกับ แบคทีเรียปฏิปักษ์ และการใช้สารดาไซเมท ให้ผลดีในการควบคุมโรคเท่ากัน (100 เปอร์เซ็นต์) ขณะที่ดินเหนียวปนทรายมีเพียงดาไซเมทเท่านั้นควบคุมโรคได้ (ปิยรัตน์, 2541)

4.2 การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ การศึกษาการควบคุมโรคเหี่ยวโดยชีววิธีในประเทศไทยโดย เชื้อ *B. cereus* และ *P. fluorescens* จากมูลสัตว์และปุ๋ยเทศบาล สามารถทำให้มะเขือเทศแสดง อาการของโรคช้าลงแต่ไม่สามารถยับยั้งหรือกำจัดเชื้อ *R. solanacearum* ได้ (สุธัญญา, 2527)

การควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาโดยศึกษา BCA ที่ใช้ในการยับยั้งโรคเหี่ยวในปทุมมา คือ เชื้อ *P. fluorescens* สายพันธุ์คือ NA1 และ เชื้อ *Serratia marcescens* สายพันธุ์ NA25 ที่พบว่าให้ผลดีที่สุดในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศทุกพันธุ์ โดยเฉพาะพันธุ์ด้านทาน ควบคุมโรคได้ 100% พบว่า *P. fluorescens* ผลิตสาร siderophores, antibiotic และ metabolite บางชนิดยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวได้ รวมทั้งความสามารถแก่งแย่งอาหารและแหล่งที่อยู่ บทบาทของ antagonist หรือ BCA มีประสิทธิภาพดีในการเจริญครอบคลุมรากได้อย่างทั่วถึง และมีความสามารถในการเพิ่มปริมาณได้อย่างรวดเร็ว นอกเหนือจากการสร้างสาร antibiotic (อุไรงา, 2534)

การควบคุมโรคเหี่ยวแบคทีเรียของมะเขือเทศโดยใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *P. fluorescens* สายพันธุ์ NA1 ในห้องปฏิบัติการด้วยวิธี disc diffusion พบว่าเกิดบริเวณยับยั้งเป็นวงกว้างขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3.05, 1.93, 1.21 และ 0.91 เซนติเมตร เมื่อใช้เชื้อ NA1 ที่มีความเข้มข้น 10^8 , 10^6 , 10^4 และ 10^3 cfu/ml ตามลำดับ เมื่อทำการควบคุมโรคในเรือนปลูกพืชทดลองและแปลงทดสอบโรคด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์โดยจุ่มรากมะเขือเทศในเซลล์แขวนลอยเชื้อก่อนปลูก ให้ผลในการควบคุมโรคเหี่ยวได้ดีกว่าการใช้สารเคมี Dexan ในมะเขือเทศพันธุ์อ่อนแอ แต่ไม่มีผลในการควบคุมโรคในมะเขือเทศพันธุ์ด้านทาน (สุกกิจ, 2536)

ศึกษาการควบคุมโรคเหี่ยวของพืชด้วยวิธีผสมผสานและการแยกจุลินทรีย์ต่อต้านโรค ในระดับแปลงปลูกพืช ด้วยการผสมผสานการแช่เหง้าพืชด้วยสารเคมี และรองกันหลุมด้วยชีวภัณฑ์ ที่แบ่งออกเป็น กลุ่มของ *B. subtilis* และกลุ่มของ *Tricoderma harzianum* และ *T. viridae* ที่มีชื่อทางการค้าต่างกัน โดยเปรียบเทียบผลกับการใช้สารเคมีและชุดควบคุม พบว่ากรรมวิธีที่ทดลองกับ *Tricoderma* sp. (Unigreen) เปรอร์เซ็นเกิดโรคน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่เหลืออีก 6 กรรมวิธี และชุดควบคุมซึ่งมีเปอร์เซ็นต์เกิดโรคมากที่สุด เมื่อแยกเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคในดินพบเฉพาะเชื้อ *Tricoderma* sp. (4.9×10^2 cfu/กรัม) และเมื่อแยกเชื้อจากตัวอย่างพืชที่เก็บได้ พบเฉพาะเชื้อสาเหตุโรคพืชเท่านั้น (นุชนารถ และคณะ, 2540)

การควบคุมโรคเหี่ยวในปทุมมาที่เกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* โดยทดสอบการปรับปรุงดินที่ติดเชื้อ ด้วย 6 กรรมวิธี คือ ใช้ยูเรียและปูนเผา ใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ CH6 ใช้สารดาโซเมท ใช้ฟงกลอรีน ใช้ฟงยูเรียและปูนเผา ร่วมกับแบคทีเรียปฏิปักษ์ และชุดเปรียบเทียบในดินทรายร่วนจากจังหวัดลำพูน และดินเหนียวปนทรายจากจังหวัดเชียงราย พบว่าในดินทรายร่วน เมื่อใช้ยูเรียและปูนเผา ยูเรียและปูนเผา ร่วมกับแบคทีเรียปฏิปักษ์ และการใช้สารดาโซเมท

ให้ผลในการควบคุมได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และตรวจไม่พบเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวที่ 80 วัน ของการปลูกพืช แต่ผลของการทดลองในดินเหนียวปนทราย พบว่าการใช้สารดาโซเมท ให้ผลในการควบคุมได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และตรวจไม่พบเชื้อในวันที่ 80 ของการทดลอง (ปิยรัตน์ และคณะ, 2540)

ศึกษาโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของปทุมมาสาเหตุจาก *R. solanacearum* และทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยว โดยใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการยับยั้งการเจริญในห้องปฏิบัติการโดยใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ซึ่งแบ่งออกเป็น *P. fluorescens* (NA1) *Bacillus* spp. 6 สายพันธุ์คือ (ได้แก่ AN1-AN6) และ *Bacillus* spp. (CH4 และ CH6) โดยนำมาทดสอบกับเชื้อสาเหตุโรคพืช 6 สายพันธุ์คือ 1217, 1290 1291, 1351, 1352 และ KPS ด้วยวิธี Paper disc diffusion พบว่า CH6 สามารถยับยั้งได้ดีที่สุด รองลงมาคือ CH4, AN1-AN6 ส่วน NA1 ไม่สามารถยับยั้งได้เลยและเมื่อทดลองในระดับโรงเรือน พบว่า การใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์ร่วมกับการจัดการดินจะให้ผลการควบคุมโรคพืชได้ดีกว่าการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์เพียงอย่างเดียว (ปิยรัตน์, 2541)

5. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุลขมิ้น

การผลิตขิงบริโภคจะประสบปัญหาเกี่ยวกับโรคที่ติดมากับท่อนพันธุ์ เช่น โรคเนื่อแก้ว ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญเกิดจากเชื้อ *R. solanacearum* โรครากปมที่เกิดจากไส้เดือนฝอย *Meloidogyne javanica* และ *M. incognita* โรค Fusarium yellow มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* และโรคเน่าที่เกิดจาก *Pythium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Sclerotium rolfsii* โรคใบจุดที่เกิดจาก *Phyllosticta zingiberi* และโรคเน่าเกิดจาก *Amillaria mellea* (Delang, 1987 ; นิพนธ์, 2542) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปลายยอด (shoot tip) จึงสามารถที่จะกำจัดเชื้อเหล่านี้ไปได้ และทำให้สามารถผลิตต้นขิงปลอดโรคได้เป็นจำนวนมาก และออกปลูกได้ตลอดปี (อังสนา, 2533) ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึง นอกจากจะใช้ผลิตต้นพันธุ์ปลอดโรคเหี่ยวได้แล้ว ยังทำให้ท่อนพันธุ์ปราศจากเชื้อสาเหตุอื่นๆ ที่สามารถติดมากับแง่งขิงได้ สิริินทร์ (2532) พบว่าการเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์ขิงในสภาพปลอดเชื้อโดยใช้หน่อจากเหง้าของขิง สามารถกระทำได้โดยใช้อาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ณ อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ซึ่งเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์ขิงได้ 5.6 เท่า ภายในเวลา 3 สัปดาห์ อย่างไรก็ตามการใช้สารละลายปุ๋ย ปิคมสูตร 20-20-20 อัตรา 3-5 กรัมต่อลิตร สามารถทำให้ขิงมีอัตราการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน แต่มีจำนวนใบน้อยกว่าอาหารเหลวสูตร MS โดยการเพาะเลี้ยงขิงในอาหารเหลวไม่จำเป็นต้องใช้เครื่องเขย่า นิพนธ์ และคณะ (2540) ได้เพิ่มปริมาณขิงโดยการศึกษาการผลิตขิงปลอดโรคและต้านทานโรคเหี่ยวจากแบคทีเรีย โดยการ

เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยการนำตาข้างที่งอกยาว 0.5-1.5 เซนติเมตร ฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวด้วยแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 30 วินาที แช่สารละลายเมอร์คิวริกคลอไรด์ 0.1 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 10 นาที แล้วแช่ Clorox[®] 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปฆ่าเชื้อภายในด้วยสารละลายปฏิชีวนะ (streptomycin sulfate 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และ tetracycline hydrochloride 10 มิลลิกรัมต่อลิตร) เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำไปปลี ขงบนอาหารสูตรต่างๆ ในห้องที่มีอุณหภูมิ 25-27 องศาเซลเซียส แสงสว่าง 1,500 ลักซ์ เป็นเวลา 16 ชั่วโมงเป็นเวลา 2 เดือนพบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม NAA 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร และวุ้น 8 กรัมต่อลิตร จะให้ต้นขิงปลอดโรค 10-15 ต้น

การขยายพันธุ์ผู้ตรทองโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสามารถทำได้ โดยการเพาะเลี้ยง ปลายยอดขนาด 0.5 x 1.0 มิลลิเมตร ที่ได้จากตาอ่อนบนอาหารวุ้นสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม kinetin 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นตัดส่วนโคนต้นขนาด 10 มิลลิเมตร แล้วแบ่งครึ่งตามยาว เพื่อเพิ่ม ปริมาณบนอาหารสูตรเดิม ซึ่งจะได้น้ำใหม่ 2.8 ต้นต่อชิ้นส่วน ทั้งนี้ชิ้นส่วนจากต้นที่มีอายุ 4, 6 และ 8 สัปดาห์ มีความเหมาะสมมากกว่าชิ้นส่วนที่มีอายุ 2 สัปดาห์ ไม่ว่าจะเพาะเลี้ยงบนอาหารวุ้น หรือในอาหารเหลวก็ตาม ซึ่งยอดและรากใหม่ที่เกิดขึ้นอาจพัฒนามาจากจุดกำเนิดที่มีอยู่ก่อนแล้ว และ/หรือเกิดโดยตรงจากชิ้นส่วนที่เริ่มเพาะเลี้ยงโดยไม่ผ่านแคลลัส ต้นกล้าที่ผลิตได้สามารถย้าย ออกปลูกในกระถางได้โดยมีอัตราการอยู่รอด 95 เปอร์เซ็นต์ (จามจุรี, 2533) นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อนำส่วนโคนต้นที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อมาเพาะเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA ความเข้มข้น 0-0.8 มิลลิกรัมต่อลิตร และ kinetin ความเข้มข้น 0-0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าไม่มีผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยให้จำนวนยอดใหม่ 3.1 ยอดต่อชิ้นส่วน และเมื่อใช้ BAP ความเข้มข้น 0-0.8 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดใหม่ได้ 2.8-3.7 ยอดต่อชิ้นส่วน การเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนบริเวณโคนต้นบนอาหารสูตร MS โดยเติม kinetin หรือ BAP อย่างใดอย่างหนึ่ง สามารถใช้ในการขยายพันธุ์ ผู้ตรทองได้เช่นกัน (Sotthikul and Apavatjirut, 1997)

การเพิ่มปริมาณปทุมมา (*Curcuma alismatifolia* Gagnep.) สามารถทำได้โดยใช้อาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร กับส่วนโคนต้นที่ไม่ผ่าและที่ผ่าตามยาว ส่วนอาหารสูตร MS ที่เติม Kinetin ระดับความเข้มข้นต่างๆ ทำให้ส่วนโคนต้นที่ไม่ผ่าเกิดยอดเฉลี่ยได้เท่ากัน แต่เมื่อใช้ Kinetin ความเข้มข้น 0.36 มิลลิกรัมต่อลิตรกับส่วนโคนต้นที่ถูกผ่าแบ่ง สามารถเกิดยอดได้ดีกว่าส่วนโคนต้นที่ไม่ถูกผ่า เมื่อเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 1 เดือน (อรอุบล, 2534) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

พืชเป็นวิธีการเพิ่มปริมาณต้นพืชโคลนเดียวกันให้มากในเวลาสั้น ขึ้นส่วนเริ่มต้นสำหรับการขยายโคลนวิธีนี้คือ ตาข้างของเหง้าและช่อดอกอ่อนของปทุมมาเนื่องจากวิธีการนี้จะต้องทำให้ขึ้นส่วนเริ่มต้นปราศจากจุลินทรีย์ จึงนิยมนำช่อดอกอ่อนซึ่งสะอาดกว่าเหง้ามาใช้โดยช่อดอกอ่อนระยะที่ดีที่สุดนั้น ควรเป็นข้อที่เพิ่งโผล่ออกจากลำต้นเทียม และใบประดับต้องอยู่ในสภาพซึ่งปิดหุ้มอยู่ เมื่อเพาะเลี้ยงช่อดอกอ่อนซึ่งตัดเป็นท่อนยาวประมาณ 1 เซนติเมตร ในอาหารสังเคราะห์ MS ที่ดัดแปลงโดยเติม BA อัตรา 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าวอ่อน อัตรา 150 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยเพิ่มปริมาณเป็น 3 เท่าทุก 6 สัปดาห์ซึ่งจะให้พืชประมาณ 500,000 ต้น ในเวลาไม่เกิน 2 ปี (สุรวิช, 2537)

สำหรับการเพิ่มปริมาณขมิ้นชัน (*Curcuma longa*) สามารถใช้ตาจากเหง้า ฟอกฆ่าเชื้อด้วย Clorox[®] 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อ แล้วนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 45 กรัมต่อลิตร ทำให้ขมิ้นชัน accession no. 06068801 มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 2.2 ยอดต่อต้น และมีการเจริญเติบโตดีที่สุด แต่อาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร ทำให้ขมิ้นชัน accession no. 15038802 มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 2.9 ยอดต่อต้น และมีการเจริญเติบโตดีที่สุด หลังจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 2 เดือน (จุฑารัตน์, 2535) นอกจากนี้ วัชรินทร์ (2544) ศึกษาการเพิ่มปริมาณขมิ้นชันโดยการนำหน่อจากเหง้าที่มีขนาด 1.0-1.5 เซนติเมตรมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.6 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15-30 นาที และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.3 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที มีอัตราการรอดเชื้อ 100 เปอร์เซ็นต์ แล้วเพิ่มปริมาณยอดให้มากพอ เพื่อทำการทดสอบหาสูตรอาหารที่เหมาะสมโดยการนำยอดขนาด 1.5 เซนติเมตร มาเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 1, 3, 6, และ 9 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 2 เดือน พบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ขมิ้นชันมีจำนวนต้นสูงสุดเท่ากับ 2.66 ต้นและมีจำนวนรากสูงสุดเท่ากับ 5.70 ราก

จากการทดลองเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกระเจียว พบว่าส่วนของช่อดอกอ่อน ที่ได้จากต้นแม่ที่ไม่เป็นโรค และยังมีกาบใบห่อหุ้มอยู่จะดีที่สุด การใช้หัวพันธุ์มักจะประสบปัญหาการปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราสูงมาก สูตรอาหารที่เหมาะสมคือ MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเกิดต้นจึงย้ายลงสูตรอาหารเร่งต้น ซึ่งจะแตกต่างกันไป เช่น ฉัตรทิพย์ จะมีอัตราการขยายพันธุ์ได้ดีในสูตรอาหาร MS ที่เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาลทราย 20 เปอร์เซ็นต์โดยจะทำให้ได้ต้นเพิ่มปริมาณ 10-14 เท่าใน 8 สัปดาห์และเมื่อต้นสูง 5-6

เซนติเมตร และมีใบ 4-5 ใบ จึงย้ายออกจากขวดลงปลูกและใช้เวลาประมาณ 2 ปี จึงจะได้หัวขนาดใหญ่ที่ให้ดอกที่มีคุณภาพ (นิพนธ์ และคณะ, 2538)

การศึกษาการชักนำให้เกิดต้นใหม่จากช่อดอกและตาข้างของกระเจียวพลอยทักษิณ A003 (*Curcuma aurantiaca* van Zijp) โดยเลี้ยงช่อดอกอ่อนและตาจากหน่อ บนอาหารวุ้นสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตหลายชนิดในระดับความเข้มข้นต่างๆ กัน โดยเลี้ยงไว้ในภาชนะที่อุณหภูมิ 25 ± 2 องศาเซลเซียส ได้รับแสงที่มีความเข้มข้น 1,700 ลักซ์ 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าสามารถชักนำให้เกิดต้นเฉลี่ย 0.8-2.2 ต้น ต่อชิ้นส่วน เมื่อเลี้ยงตาตำแหน่งที่ 2 จากโคนหน่อบนอาหารที่มี BAP ความเข้มข้น 0.3-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำต้นที่ได้ไปขยายพันธุ์ต่อไปโดยใช้ส่วนรอยต่อระหว่างรากกับลำต้นที่มีขนาดความยาว 0.3-1 ฟাঁครั้งตามยาวไปเลี้ยงในอาหารสูตรเดิม พบว่าเกิดจำนวนต้นเฉลี่ย 1.3-1.9 ต้นต่อชิ้นส่วน นอกจากนี้ยังพบว่า น้ำมะพร้าว 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ นอกจากจะไม่มีผลต่อการเกิดต้นแล้วยังทำให้จำนวนต้นเฉลี่ยและความสูงของต้นลดลง (ทิพย์สุตา, 2540)

การเพิ่มปริมาณขมิ้นดำ ขมิ้นทองและขมิ้นขาว โดยการนำหน่อจากเหง้าที่มีขนาด 1.0-1.5 เซนติเมตร มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยที่ฟิวด้วยไฮเตอร์ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15-30 นาทีและไฮเตอร์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที สำหรับขมิ้นดำก่อนฟอกฆ่าเชื้อด้วยไฮเตอร์แช่ในสารละลายฟิงกูราน 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทำให้ได้ต้นปลอดเชื้อ 70-100 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำยอดขนาด 1.5 เซนติเมตรไปเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 1, 3, 6 และ 9 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 2 เดือนพบว่าขมิ้นดำและขมิ้นขาวเจริญเติบโตได้ดีที่สุดบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีจำนวนต้นเฉลี่ยเท่ากับ 2.54 และ 2.56 ต้นตามลำดับ และมีจำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 8.91 และ 4.26 รากตามลำดับ ส่วนขมิ้นทองเจริญเติบโตได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 6 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีจำนวนต้นเฉลี่ยและจำนวนรากเฉลี่ยต่อต้นเท่ากับ 2.84 และ 4.69 ตามลำดับ เมื่อย้ายออกปลูกพบว่าขมิ้นดำ ขมิ้นทอง และขมิ้นขาว มีอัตราการรอดชีวิต 98.40, 99.04 และ 97.12 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (วัชรินทร์, 2543)

การเพิ่มปริมาณขมิ้นอ้อยโดยการนำหน่อจากเหง้าที่มีขนาด 1.0-1.5 เซนติเมตร มาฟอกฆ่าเชื้อด้วยที่ฟิวด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.6 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15-30 นาทีและโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 0.3 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที มีอัตราการปลอดเชื้อ 100 เปอร์เซ็นต์ แล้วเพิ่มปริมาณยอดให้มากพอ เพื่อทำการทดสอบหาสูตรอาหารที่เหมาะสมโดยการนำยอดขนาด 1.5 เซนติเมตร มาเลี้ยง

บนอาหาร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 1, 3, 6, และ 9 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 2 เดือนพบว่าอาหารสูตร MS ที่เติม BA 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้มีนํ้าอ้อยมีจำนวนคํานสูงสุดเท่ากับ 2.35 คําน และมีจำนวนรากสูงสุดเท่ากับ 5.71 ราก (วัชรินทร์, 2544)

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การศึกษาชีววิทยาแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของฉัตรทอง

1.1 การเก็บตัวอย่าง เก็บฉัตรทองที่เป็นโรคจาก อำเภอแม่สวด จังหวัดตาก และตลาดนัดสวนจตุจักร จังหวัดกรุงเทพ เก็บช่อดอกอ่อนและเมล็ดจาก อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์

1.2 การแยกเชื้อสาเหตุจากพืชธรรมชาติ นำหัวพันธุ์ฉัตรทองที่แสดงอาการของโรคมาล้างน้ำให้สะอาด ล้างจนเห็นรอยแผลช้ำน้ำที่บริเวณตาหน่อ ล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งมาแล้วอีกครั้ง ชับน้ำให้แห้ง ผ่าออกแล้วตัดเนื้อเยื่อบริเวณรอยต่อ ระหว่างส่วนที่ติดกับส่วนที่ฉ่ำน้ำ ออกเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมเล็ก ขนาดประมาณ 3x3 มิลลิเมตร แล้วนำชิ้นส่วนพืชนี้ไปใส่ในน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ที่นิ่งมาแล้วในหลอดทดสอบตั้งทิ้งไว้ประมาณ 15 นาที จะเห็นเมือกเชื้อแบคทีเรีย (bacterial exudate) ไหลออกจากเนื้อเยื่อพืชเป็นสายสีขาวคล้ายน้ำมัน นำไปเขย่าด้วย vortex mixer ประมาณ 30 วินาที ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที จึงใช้ลูป (loop) แตะสารแขวนลอย (suspension) เชื้อในน้ำกลั่น 1 ลูป cross-streak บนอาหาร nutrient agar (NA) และ triphenyl tetrazolium chloride (TZC) medium (Kelman, 1954) ในจานเลี้ยงเชื้อ เก็บเชื้อไว้ในระยะสั้นในหลอดอาหารเลี้ยง nutrient glucose agar (NGA) (Schaad, 1980) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 32 องศาเซลเซียส) 48 ชั่วโมง เลือกโคโลนีเดี่ยวของเชื้อแต่ละชนิด ที่เจริญบน NGA ที่คาดว่าเป็นแบคทีเรียสาเหตุของโรคได้ และโคโลนีเดี่ยวของเชื้อที่มีลักษณะค่อนข้างกลมกระจายตัวในน้ำได้ดี สีขาวขุ่นมีจุดสีชมพูอ่อน ตรงกลางโคโลนีซึ่งเป็นลักษณะโคโลนีที่รุนแรงของเชื้อ *R. solanacearum* บนอาหาร TZC นำมา streak อีกครั้งเพื่อทำให้บริสุทธิ์

1.3 การเตรียมการปลูกเชื้อ โดยนำเชื้อที่แยกบริสุทธิ์ที่เก็บไว้ในอาหารเลี้ยงมา streak บนอาหาร NGA บ่มเชื้อ 24-48 ชั่วโมง นำมาแขวนลอยเชื้อด้วยน้ำกลั่นนิ่งมาแล้ว ปรับความเข้มข้นของเชื้อด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ให้มีค่า O.D. เท่ากับ 0.2 ที่ความยาวของคลื่นแสง 600 นาโนเมตร ซึ่งเชื้อจะมีความเข้มข้น 3×10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร (ปิยรัตน์, 2541)

1.4 การปลูกเชื้อปลูกเชื้อด้วยวิธีตัดใบ (leaf clipping) (Thaveechai, 1989) โดยใช้กรรไกรผ่าเชื้อ จุ่มในเซลล์แขวนลอยของเชื้อ แล้วตัดปลายใบคู่แรกของกระเจียวส้ม ทำการจุ่มเชื้อก่อนตัด

ทุกครั้ง จุ่มน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อตัดใบเพื่อการเปรียบเทียบ การปลูกเชื้อทำในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ทั้งไว้ 1 คืบ ตรวจสอบผลการเกิดโรคโดยบันทึกลักษณะอาการของโรกระยะเวลาการเกิดโรค แล้วเก็บตัวอย่างทำการแยกเชื้อใหม่ เพื่อเปรียบเทียบกับเชื้อที่ใช้ปลูกครั้งแรก (ปิยรัตน์, 2541)

2. การศึกษาลักษณะการเจริญ สัณฐานวิทยา สรีระวิทยา และชีวเคมีของเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค

2.1 ลักษณะสีของโคโลนี ทำเซลล์แขวนลอยเชื้อให้เจือจางในน้ำกลั่นที่หนึ่งฆ่าเชื้อแล้วใช้ลูปแตะมา 1 ลูป streak บนอาหาร TZC, NGA, KB (King's Medium B Agar ของ King และคณะ, 1954), mSM-1 (ดัดแปลงจาก SM-1 ของ Granade, 1983) ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง ศึกษารูปร่าง ขนาด และสีโคโลนี

2.2 การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี (biochemical test) โดยทดสอบคุณสมบัติต่างๆ ดังนี้ คือทดสอบความต้องการออกซิเจนในการเจริญ การเคลื่อนที่ของเชื้อ การสร้างแอมโมเนีย การย่อยเจลาติน การสร้างเอนไซม์ คีตาเลส การสร้างเอนไซม์ยูรีเอส การใช้ซี เดรท การสร้างเอนไซม์ออกซิเดส การเจริญบนชั้นมันฝรั่ง การรีดิวซ์ไนเตรท การเจริญแบบ oxidative-fermentative การสร้างเมือก การสร้างอินโดล (Schadd, 1988 ; Holt, 1984)

2.3 การจำแนกไบโอวาร (biovar) นำเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวมาจำแนกตามวิธีของ Hayward (1964) โดย streak เชื้อบริสุทธิ์บนอาหาร TTC (อาหารTZC ที่ไม่ใส่ tetrazolium chloride) บ่มเชื้อไว้ให้มีอายุ 48 ชั่วโมง และปลูกเลี้ยงลงในอาหารทดสอบ (basal medium) ที่มีส่วนผสม 10% ของน้ำตาล 6 ชนิด คือ maltose lactose cellobiose manitol sorbitol และ dulcitol บันทึกผลการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ (bromothymol blue) ในอาหารเป็นเวลา 1-3 สัปดาห์

3. การศึกษาพืชอาศัยของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของฉัตรทอง และพืชเศรษฐกิจอื่นๆ

เตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของฉัตรทองให้มีความเข้มข้นประมาณ 3×10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อด้วยวิธีตัดใบ 2 ใบต่อดัน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

เตรียมพืชทดสอบ งา ถั่วลิสง มะเขือเทศ พริก มะเขือยาว มันฝรั่ง ยาสูบ ดาวเรือง หม่อน จิงขมิ้นอ้อย จิงแดง ใพล ใพลดำ กระชายดำโดยการปลูกในดินอบฆ่าเชื้อ ในกระถางขนาด 4 นิ้ว ให้

พืชมีอายุ 1–2 เดือน ส่วน จิง ปทุมมา บัวลายอุบล ขมิ้นชัน บัวขั้ว มะเขือเทศ ดาวเรือง กลั้วย ที่ขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ รวมจำนวน 20 ชนิดจาก 7 วงศ์

3.1 วงศ์ Euphorbiaceae

- งา (sesame) *Sesamum indicum* Linn.

3.2 วงศ์ Leguminosae

- ถั่วลิสง (peanut) *Arachis hypogaea* Linn.

3.3 วงศ์ Solanaceae

- มะเขือเทศ (tomato) *Lycopersicon lycopersicum* Linn.
- พริก (pepper) *Capsicum frutescens* Linn.
- มะเขือยาว (egg plant) *Solanum melongena* Linn.
- มันฝรั่ง (potato) *Solanum tuberosum* Linn.
- ยาสูบ (tobacco) *Nicotiana tabacum* Linn.

3.4 วงศ์ Musaceae

- กลั้วย (banana) *Musa sapientum*

3.5 วงศ์ Compositae

- ดาวเรือง (marigold) *Tagetes* spp.

3.6 วงศ์ Moraceae

- หม่อน (mulberry) *Morus alba* Linn.

3.7 วงศ์ Zingiberaceae

- จิง (ginger) *Zingiber officinale* Roscoe.
- ปทุมมา (pattumma) *Curcuma alismatifolia* Gagnep.
- ฉัตรทิพย์ (amethyst curcuma) *Curcuma cordata*
- แวอุบล (chocolate zebra) *Curcuma gracilima* Gagnep.
- ขมิ้นชัน (Khamin chan) *Curcuma longa* Linn.
- ขมิ้นอ้อย (Khamin oi) *Curcuma zedoaria* Rosc.
- จิงแดง (red ginger) *Alpinia purpurata*
- ไพล (Phlai) *Zingiber montanum* Link ex Ridl.
- ไพลดำ (Phlai dam) *Zingiber ottensii* Valetton
- กระชายดำ (Krachai dam) *Kaempferia parviflora* Wall. ex Baker

ตรวจบันทึกผล ประเมินการเกิดโรคโดยดูลักษณะอาการพืชที่ปลูกเชื้อ เปรียบเทียบกับการทดลองเปรียบเทียบที่ใช้น้ำกลั่นนิ่งมาเชื้อ เป็นเวลานาน 1 เดือน แล้วนำพืชที่แสดงอาการเหี่ยวมาแยกเชื้อตรวจยืนยันการเกิดโรค บนอาหาร TZC

การประเมินระดับการเกิดโรคและความรุนแรงของโรคโดยประยุกต์จากระดับการเกิดโรคของมะเขือเทศตามวิธีของ Winstead และ Kelman (1952) คือ

- O = ไม่แสดงอาการโรค
- 1 = ใบที่ปลูกเชื้อเหี่ยว และ/หรือ เหลือง
- 2 = ใบเหลืองหรือเหี่ยวเพิ่มขึ้น 2-3 ใบ
- 3 = ใบเหี่ยว/เหลือง เกือบทั้งหมดยกเว้นยอด
- 4 = ใบเหี่ยว/เหลือง ทั้งหมด
- 5 = ต้นตาย

การวัดความรุนแรงของโรคตาม He และคณะ (1983) คือ

- H = เกิดโรครุนแรง (ระดับการเกิดโรคคือ 4.1-5.0)
- M = เกิดโรคปานกลาง (ระดับการเกิดโรคคือ 2.6-4.0)
- L = เกิดโรคต่ำ (ระดับการเกิดโรคคือ 1.1-2.5)
- O = ไม่แสดงอาการเหี่ยว (ระดับการเกิดโรคคือ 0-1.0)

4. การศึกษาประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรียและแบคทีเรียปฏิชีวนะบางชนิดในการป้องกันกำจัดโรครในห้องปฏิบัติการ

เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรีย 8 ชนิดและแบคทีเรียปฏิชีวนะ 1 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 0, 100, 500, 1000 และ 1500 ppm ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* โดยวิธี petridish zonal inhibition (Goodman and Lindenfelser, 1967) สารกำจัดแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลองมี 9 ชนิด ดังนี้

ตารางที่ 1 สารกำจัดแบคทีเรียที่ใช้ในการทดลองยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ 9 ชนิด

ชื่อสามัญ	ชื่อการค้า	ชื่อสารสำคัญ	สารออกฤทธิ์
captan	ORTHOCIDE [®] 50	N-(trichloromethylthio) cyclohex-4-ene-1, 2-dicarboximide	50% WP
copper oxychloride	CUPRAVIT [®]	dicopper chloride trihydroxide	85% WP
copper hydroxide	FUNGURAN [®]	-	77% WP
ceftriaxone	Ceftriaxone Inj /Cef-3 [®]	-	250 mg/ml
-	chloramphenical	D(-)-threo-2,2-dichloro-N-(hydroxy-methyl)-p-nitrophenyl)acetamid	250 IP/BP
-	streptomycin	streptomycin sulfate	100% D
-	tetracycline	tetracycline hydrochloride	250 IP/BP
streptomycin sulfate + oxytetracycline hydrochloride	PHYTOMYCIN [®]	streptomycin sulfate oxytetracycline hydrochloride	1.8% WP 19.5% WP
<i>Bacillus subtilis</i>	LARMINAR [®]	<i>Bacillus subtilis</i>	1x10 ⁹ cfu/gmWP

การทดสอบประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรีย ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย โดยวิธี petridish zonal inhibition คือ

4.1 การเตรียมกระดาษแผ่นกลม (paper- disc) เจาะกระดาษกรอง watman no.1 ให้เป็น แผ่นกลมเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร รวบรวมใส่จานเลี้ยงเชื้อและนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่ง ความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4.2 การทำ double layer หลอมอาหาร NGA แล้วทิ้งไว้ให้อุ่นประมาณ 50 องศาเซลเซียส ใช้ปิเปตที่ฆ่าเชื้อแล้วดูดอาหารใส่จานเลี้ยงเชื้อจานละ 10 มิลลิลิตรทิ้งไว้ให้แข็งตัวดีเป็น basal layer รองกันจานเลี้ยงเชื้อให้ผิวหน้าเรียบสม่ำเสมอ เพราะปกติแล้วจานเลี้ยงเชื้อมักนูนตรงกลางทำให้อาหารหนานางไม่สม่ำเสมอ ส่วนชั้นบน (seed layer) ใช้ปิเปตที่ฆ่าเชื้อแล้วดูดเซลล์แขวนลอย เชื้ออายุ 36 ชั่วโมงที่เจริญบนอาหาร NB ที่เขย่าด้วยความเร็ว 250 ครั้ง/นาที ซึ่งจะมีจำนวนเซลล์ ประมาณ 2.89×10^9 เซลล์/มิลลิลิตร นำมาใส่ในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตรซึ่งบรรจุอาหาร NGA ที่ อุณหภูมิ 45–50 องศาเซลเซียส จำนวน 5 มิลลิลิตรต่ออาหาร 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เชื้อกระจายตัวดี ในอาหารแล้วใช้ปิเปตดูดมาใส่ทับ basal layer ในจานเลี้ยงเชื้อจานละ 5 มิลลิลิตร เมื่ออาหารแข็งตัว รีบนำไปแช่ในตู้เย็นทันทีเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อไว้ก่อน

4.3 เตรียมสารกำจัดแบคทีเรียแต่ละชนิด ให้มีความเข้มข้น 0, 100, 500, 1000 และ 1500 ppm. ในน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว นำจานอาหาร double layer ที่เตรียมไว้จัดแบ่งด้านได้จานเป็นสี่ ส่วนเท่าๆกัน แต่ละส่วนเขียนความเข้มข้นไว้ ใช้ปากกิบที่ฆ่าเชื้อแล้วคีบแผ่นกระดาษจุ่มลงในสาร แต่ละความเข้มข้น ให้กระดาษดูดซับสารเคมีจนอิ่มตัวแล้วยกขึ้นและล้างหลอดเพื่อให้สารส่วนที่ เกินไหลออก นำแผ่นกระดาษกลมวางตามความเข้มข้นที่เขียนไว้ แล้วให้กระดาษกลมจุ่มน้ำกลั่นที่ นึ่งฆ่าเชื้อแล้ววางตรงกลางเป็น control ทำ 3 ซ้ำต่อสารเคมี 1 ชนิด บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 48 ชั่วโมง จึง ตรวจและบันทึกผลโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ที่ปรากฏ

5. การศึกษาวิธีการเพิ่มปริมาณต้นฉัตรทองปลอดโรคโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

5.1 การเริ่มต้นเพาะเลี้ยง นำเมล็ด หน่อจากเหง้า และช่อดอกอ่อนฉัตรทองชนิดละ 10 ตัวอย่างจากแปลงปลูก อ. เขาค้อ จ. เพชรบูรณ์ มาล้างน้ำให้สะอาด แล้วฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวด้วยวิธีการดังนี้

5.1.1 ฟอกฆ่าเชื้อด้วย Clorox® 10 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 15 นาที ตามด้วย Clorox® 5 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 10 นาที

5.1.2 แช่สารละลายปฏิชีวนะเตตราซัยคลินความเข้มข้น 1000 ppm เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วฟอกฆ่าเชื้อด้วย Clorox® 10 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 15 นาที ตามด้วย Clorox® 5 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 10 นาที

นำเมล็ดและหน่อจากเหง้า ของฉัตรทองที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อโดยวิธีการข้างต้น มาล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ร่วมกับน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร pH 5.6-5.8 นำไปเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส บันทึกอัตราการรอดเชื้อ เมื่อเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 1 เดือน

นำช่อดอกอ่อนที่ผ่านการฟอกฆ่าเชื้อโดยวิธีการข้างต้น มาล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ตัดชิ้นขนาด 1 เซนติเมตร มาเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร pH 5.6-5.8 นำไปเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่ออุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส ในที่มีด บันทึกอัตราการรอดเชื้อ เมื่อเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเวลา 1 เดือน อัตราการงอกของเมล็ด และการพัฒนาเป็นต้นของช่อดอกอ่อน

5.2 การเพิ่มปริมาณ เปรียบเทียบสูตรอาหาร MS ที่เติม BA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับน้ำมะพร้าวในการผลิตต้นฉัตรทองปลอดโรค โดยนำต้นฉัตรทองในสภาพปลอดเชื้อตัดใบและรากทิ้งเหลือยอดขนาด 1.5 เซนติเมตร เลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 1, 3, 5 หรือ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ หรือใช้ BA เพียงอย่างเดียว โดยใช้น้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร pH 5.6-5.8 แล้วนำไปเลี้ยงในสภาพอุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส แสงสว่าง 1,000 ลักซ์ จากหลอดฟลูออเรสเซนต์ daylight 36 W (TOSHIBA) เป็น

เวลา 16 ชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ (factorial in CRD) รวม 15 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ บันทึกผลการทดลองของจำนวนต้น จำนวนราก และความสูง เมื่อเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เป็นเวลา 2 เดือน

5.3 การย้ายปลูก ศึกษาอัตราการรอดชีวิตของนั้ตรทองหลังการย้ายปลูก โดยการนำยอดนั้ตรทองขนาด 1.5 เซนติเมตร เลี้ยงในอาหารสูตรที่เหมาะสมตามการทดลองที่ 5.2 เพื่อเพิ่มปริมาณต้น หลังจากนั้นนำมาปรับสภาพ โดยการคลายฝาชวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อและวางไว้ในโรงเรือนพรางแสง 70 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิประมาณ 28-30 องศาเซลเซียสเวลา 15 วัน ใช้ปากคีบดึงต้น ล้างวันให้สะอาด ปลูกในวัสดุปลูกที่ใช้ส่วนผสมของ ดิน:เวอมิกูลไลต์ อัตราส่วน 1:1 ที่ผสมคลุกเคล้าให้สม่ำเสมอ แล้วนำไปใส่กระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 นิ้ว (3 ต้น ต่อกระถาง) จำนวน 3 ซ้ำๆ ละ 50 ต้นรวม 150 ต้น วางในกระโจมพลาสติกใส ขนาด 120x300 เซนติเมตร ซึ่งอยู่ในโรงเรือนพรางแสง 70 เปอร์เซ็นต์ ในเดือนตุลาคม พ.ศ. 2548 บันทึกเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตหลังการย้ายปลูก 2 เดือน

สถานที่ทำการทดลอง

ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตบางเขน กรุงเทพมหานคร

ระยะเวลาทำการทดลอง

เดือนกุมภาพันธ์ 2543 - มีนาคม 2549

ผลการทดลอง

1. การศึกษาชีววิทยาแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวฉัตรทอง

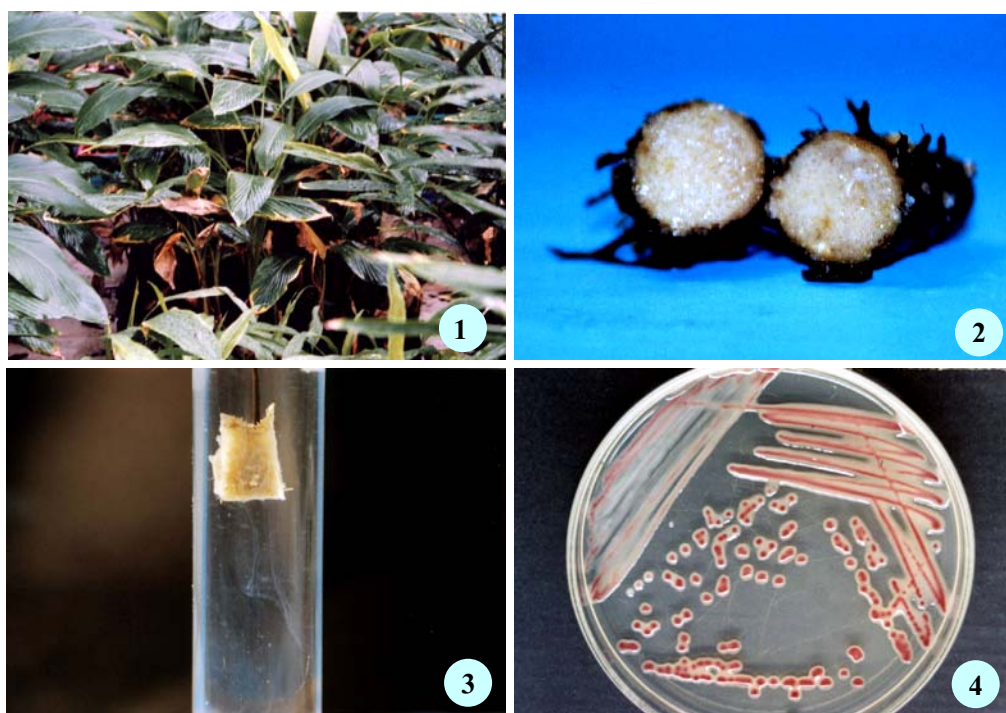
เก็บตัวอย่างฉัตรทองที่เป็นโรคเหี่ยวจากสภาพธรรมชาติ อำเภอแม่สอด จังหวัดตาก และตลาดนัด สวนจตุจักร จังหวัดกรุงเทพมหานคร นำมาแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของฉัตรทองโดยนำเซลล์แขวนลอยเชื้อจากพืชที่เกิดโรค streak บนอาหาร TZC จะได้เชื้อที่มีลักษณะโคโลนีกลมรี ขนาดไม่แน่นอน ขอบมีสีขาวขุ่น ตรงกลางโคโลนีมีสีชมพูอ่อน หรือสีแดง นำไป streak บนอาหาร TZC อีก 2-3 ครั้งเพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ เก็บไว้ทำการศึกษาต่อไป

การศึกษานี้สามารถแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของฉัตรทองได้จำนวน 6 สายพันธุ์ (ตารางที่ 2) จากการนำเชื้อบริสุทธิ์ชนิดต่างๆ ที่แยกได้จากหัวฉัตรทองที่เป็นโรคไปเพิ่มจำนวนแล้วปลูกเชื้อลงในต้นฉัตรทองอายุประมาณ 2 เดือนที่ขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ หลังจากปลูกเชื้อ 5 วัน ทุกต้นเริ่มแสดงอาการของโรคคือระยะแรกใบที่ปลูกเชื้อจะเหลือง เริ่มจากใบตอนล่างๆ ขึ้นไป จนกลายเป็นสีน้ำตาลทั้งต้นและหักพับใน 15 วัน

นำต้นฉัตรทองที่เริ่มแสดงอาการของโรคไปแยกเชื้อใหม่บนอาหาร TZC ได้โคโลนีเดี่ยวที่มีลักษณะกลม สีขาวขุ่น กลางโคโลนีมีจุดสีชมพูอ่อน เปรียบเทียบกับโคโลนีก่อนทำการปลูกเชื้อพบว่ามีความคล้ายกันมาก ซึ่งเป็นลักษณะที่รุนแรงของเชื้อ *R. solanacearum* จึงคาดว่าเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้ฉัตรทองเป็นโรคอาจจะเป็นเชื้อ *R. solanacearum* เหมือนกับที่รายงานในจีนและปทุมมา แต่ทั้งนี้ก็อาจจะมีความแตกต่างกันไปบ้างในด้าน strain ของเชื้อซึ่งจะได้ทำ การศึกษา ลักษณะทาง สันฐานวิทยา สรีรวิทยา ชีวเคมี รวมทั้งศึกษาพิษวิทยาของเชื้อนี้เพื่อยืนยันให้แน่ชัดต่อไป



ภาพที่ 1 การปลูกนัตรทอง ที่ อ. เขาค้อ จ. เพชรบูรณ์ ลักษณะของดอก กลีบประดับ เมล็ดและหัวพันธุ์ สภาพแปลงปลูกต้นนัตรทองที่ปลูกได้ต้นพญาสัตบรรณ (1) กลีบประดับสีส้มสด (2) ดอกจริงสีเหลืองอ่อน (3) มี Capsule หุ้มเมล็ด ภายในมีเมล็ดประมาณ 13-15 เมล็ดต่อ Capsule (4) หัวพันธุ์นัตรทองที่เก็บมาจากธรรมชาติเพื่อนำมาแยกเชื้อ (5)



ภาพที่ 2 ลักษณะอาการของโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* และลักษณะโคโลนีของเชื้อบนอาหาร TZC ต้นมันฝรั่งเป็นโรคเหี่ยว (1) หัวพันธุ์เป็นโรคมะเนืองแบคทีเรียสีขาวเยิ้มตามรอยตัด (2) มีการปลดปล่อยแบคทีเรีย (bacterial exudates) สีขาวข้นออกมาจากหัวพันธุ์ (3) ลักษณะโคโลนีเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ Co3 จากต้นมันฝรั่งบนอาหาร TZC (4)

ตารางที่ 2 สายพันธุ์และแหล่งที่มาของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* จากฉัตรทองและพืชอาศัย 8 ชนิดที่ใช้ในการทดลอง

พืชอาศัย	สายพันธุ์	สถานที่เก็บ ^{1/}	แหล่งเชื้อ
ฉัตรทอง	Co1	จตุจักร จ.กรุงเทพฯ	การศึกษานี้
ฉัตรทอง	Co2	จตุจักร จ.กรุงเทพฯ	การศึกษานี้
ฉัตรทอง	Co3	อ.แม่สอด จ.ตาก	การศึกษานี้
ฉัตรทอง	Co4	อ.แม่สอด จ.ตาก	การศึกษานี้
ฉัตรทอง	Co5	อ.แม่สอด จ.ตาก	การศึกษานี้
ฉัตรทอง	Co6	อ.แม่สอด จ.ตาก	การศึกษานี้
จิง	LL41.1	จ.เลย	มก. ^{2/}
มะเขือเทศ	To-Ud3	จ. อุตรธานี	มก.
มันฝรั่ง	Po-23	จ.เชียงใหม่	มก.
มันฝรั่ง	Po-1155	จ.เชียงใหม่	กรพ. ^{3/}
งา	SUB2	อ.เมือง จ.อุบลราชธานี	มก.
พริก	Pe-216	จ.สกลนคร	มก.
ปทุมมา	Pat111	จ.เพชรบูรณ์	มก.
ยาสูบ	P2TT	Kelantan, Malaysia	MARDI ^{4/}
Pelagonium	Fc325	Reunion Island, France	Poussier, S

สถานที่เก็บ^{1/} ฉัตรทองที่ได้จากการทดลองเป็นตัวอย่างที่ได้จากธรรมชาติ

มก.^{2/} ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

กรพ.^{3/} กลุ่มงานבקเทรวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

MARDI^{4/} Malaysian Agricultural Research and Development Institute

2. การศึกษาลักษณะการเจริญ ถั่วงอกวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมีของเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรค

2.1 ลักษณะและสีของโคโลนี

บนอาหาร TZC โคโลนีก่อนข้างกลม กระจายตัวในน้ำได้ดี สีขาวขุ่น มีจุดสีชมพูตรงกลางโคโลนีซึ่งตรงตามลักษณะ Wild type หรือ virulent colony ของเชื้อ *R. solanacearum* (ภาพที่ 3 หมายเลข 1)

บนอาหาร NGA จะปรากฏโคโลนีให้เห็นได้หลังจากบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน โคโลนีรูปร่างค่อนข้างกลม ขนาดของโคโลนีก็มีทั้งขนาดเล็กจนถึงขนาดใหญ่ขนาด 1-1.5 มิลลิเมตร กลางโคโลนีนูน ยกสูงจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย ขอบและผิวหน้าเรียบเป็นมัน มีสีขาวขุ่นถึงขาวอมเหลือง หลังจากบ่มเชื้อนาน 5-6 วันโคโลนีจะนูนเยิ้มติดกัน และจะสร้างเม็ดสี สีน้ำตาลบนอาหาร (ภาพที่ 3 หมายเลข 2)

บนอาหาร KB โคโลนีก่อนข้างกลม ขนาดของโคโลนีประมาณ 2-2.5 มิลลิเมตร ไม่เรืองแสง กลางโคโลนีนูนยกสูงจากผิวหน้าอาหารเล็กน้อย ขอบผิวหน้าเรียบเป็นมัน มีสีขาวขุ่น หลังจากบ่มเชื้อ 4-5 วัน โคโลนีจะนูนเยิ้มติดกัน (ภาพที่ 3 หมายเลข 3)

บนอาหาร mSM-1 โคโลนีรูปร่างไม่แน่นอน ลักษณะโคโลนีนูนเยิ้ม ขอบโคโลนีมีสีขาวขุ่น ตรงกลางโคโลนีมีสีม่วง (ภาพที่ 3 หมายเลข 4)



ภาพที่ 3 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของฉัตรทอง อายุ 48 ชั่วโมง บนอาหาร TZC (1) NGA (2) KB (3) และ mSM-1 (4)

2.2 การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมี (biochemical test)

จากผลการทดลองคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ พบว่าเป็นเชื้อที่ต้องการออกซิเจน สำหรับการเจริญเติบโตจัดเป็นพวก aerobe โดยมีการเจริญของเชื้อเฉพาะผิวหน้าของอาหาร ทดสอบในหลอดทดลอง เป็นเชื้อแบคทีเรียที่สามารถเคลื่อนที่ได้ โดยพบการเจริญกระจายจากรอยแทงของ เข็มเจาะเชื้อ สามารถสร้างเอนไซม์อะไมเลส และเอนไซม์ยูรีเอส เชื้อแบคทีเรียไม่สามารถย่อยแป้ง และเจลาตินสามารถเจริญบนชั้นมันฝรั่งไม่สร้างแอมโมเนียจากอาร์จินีน ไม่สามารถเจริญในอาหาร ที่มีเกลืออยู่ (NaCl 5 เปอร์เซ็นต์) ใช้น้ำตาลกลูโคสในขบวนการ oxidative ซึ่งมีคุณสมบัติเหมือน *R. solanacearum* (ตารางที่ 3)

2.3 การจำแนกไบโอวาร์ (biovar)

จากการทดสอบความสามารถในการใช้น้ำตาลใดแซคาไรด์ คือ maltose lactose cellobiose และน้ำตาลแอลกอฮอล์คือ mannitol sorbitol dulcitol พบว่าเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของฉัตรทองสายพันธุ์ Co1, Co2, Co3, Co5 และ Co6 สามารถใช้น้ำตาลได้ทั้ง 6 ชนิด คือ maltose lactose cellobiose mannitol sorbitol และ dulcitol จึงจัดอยู่ในไบโอวาร์ 3 ส่วนเชื้อสาเหตุโรคสายพันธุ์ Co4 ใช้น้ำตาลได้ 3 ชนิด คือ mannitol sorbitol dulcitol จึงจัดอยู่ในไบโอวาร์ 4 (Hayward, 1964) (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 3 คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์จากถักรทองและสายพันธุ์จากพืชอาศัยอื่น

การทดสอบ	ปฏิกิริยาของเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> จาก			
	ถักรทอง ^{1/}	ปทุมมา ^{2/}	ปทุมมา ^{3/}	จิง ^{4/}
Oxygen relationship	aerobe	aerobe	aerobe	aerobe
Motility	+	+	+	+
Ammonia production	NT	+	+	NT
Gelatin hydrolysis	-	-	NT	-
Catalase production	+	+	+	+
Urease test	+	-	-	-
Citrate utilization	NT	+	NT	+
Oxidase test	+	+	+	+
Growth on potato	+	+	+	NT
Salt tolerance 5%	-	-	-	-
Nitrate production	NT	+	NT	+
Starch hydrolysis	-	-	-	-
Arginine dihydrolase test	-	-	-	NT
H ₂ S production	NT	-	NT	-
Levan formation	-	-	-	NT
Oxidative action	+	+	+	+
Fermentative action	-	-	-	-
Lipolytic activity	NT	+	NT	NT
Indole test	NT	-	-	-

1/ เชื้อ *R. solanacearum* 6 สายพันธุ์ที่แยกได้ในการทดลองครั้งนี้

2/ เชื้อ *R. solanacearum* 15 สายพันธุ์ที่มีรายงานไว้ก่อนหน้านี้ (ปิยรัตน์, 2541)

3/ เชื้อ *R. solanacearum* 16 สายพันธุ์ที่มีรายงานไว้ก่อนหน้านี้ (วรรดา, 2543)

4/ เชื้อ *R. Solanacearum* ที่มีรายงานไว้ก่อนหน้านี้ (ศศิธร, 2525)

+ = positive, - = negative, NT = not tested

ตารางที่ 4 การจำแนกไบโอวาร์ของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* จากนั้ตรทอง 6 สายพันธุ์ และจากพืชอาศัยอื่น 8 สายพันธุ์ เมื่อเลี้ยงในอาหารที่เติมน้ำตาล 6 ชนิดเป็นเวลา 21 วัน

พืชอาศัย	สายพันธุ์	การใช้น้ำตาล						ไบโอวาร์ ^{1/}
		maltose	lactose	cellobiose	mannitol	sorbitol	dulcitol	
นั้ตรทอง	Co1	+	+	+	+	+	+	3
นั้ตรทอง	Co2	+	+	+	+	+	+	3
นั้ตรทอง	Co3	+	+	+	+	+	+	3
นั้ตรทอง	Co4	-	-	-	+	+	+	4
นั้ตรทอง	Co5	+	+	+	+	+	+	3
นั้ตรทอง	Co6	+	+	+	+	+	+	3
มันฝรั่ง	Po1155	+	+	+	+	+	+	3
มะเขือเทศ	To-Ud3	+	+	+	+	+	+	3
จิง	LL41.4	-	-	-	+	+	+	4
ปทุมมา	Pat111	-	-	-	+	+	+	4
พริก	Pe-216	+	+	+	+	+	+	3
ยาสูบ	P2TT	-	-	-	+	+	+	4
<i>Pelagonium</i>	Fc325	-	-	-	-	-	-	1
งา	Sub-2	+	+	+	+	+	+	3

1/ จัดแบ่งตาม Hayward (1964) ; + = ใช้น้ำตาล, - = ไม่ใช้น้ำตาล



ภาพที่ 4 การทดสอบไบโอวาร์ของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ที่แยกได้จากฉัตรทอง ในการใช้น้ำตาล 6 ชนิด คือ maltose lactose cellobiose mannitol sorbitol และ dulcitol เวลา 21 วัน พบว่าเชื้อสายพันธุ์ Co1 ไบโอวาร์ 3 (1) เชื้อสายพันธุ์ Co2 ไบโอวาร์ 3 (2) เชื้อสายพันธุ์ Co3 ไบโอวาร์ 3 (3) เชื้อสายพันธุ์ Co4 ไบโอวาร์ 4 (4) เชื้อสายพันธุ์ Co5 ไบโอวาร์ 3 (5) เชื้อสายพันธุ์ Co6 ไบโอวาร์ 3 (6) และ control (7)

3. การศึกษาพืชอาศัยของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของนัตรทอง และพืชเศรษฐกิจอื่นๆ

เตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของนัตรทองให้มีความเข้มข้นประมาณ 3×10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ทำการปลูกเชื้อด้วยวิธีตัดใบ 2 ใบต่อดัน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

เตรียมพืชทดสอบ งา ถั่วลิสง มะเขือเทศ พริก มะเขือยาว มันฝรั่ง ยาสูบ ดาวเรือง จิง ขมิ้น อ้อย จิงแดง ใพล ใพลดำ กระชายดำโดยการปลูกในดินอบฆ่าเชื้อ ในกระถางขนาด 4 นิ้ว ให้พืชมีอายุ 1-2 เดือน ส่วน จิง ปทุมมา บัวลายอุบล ขมิ้นชัน บัวชั้น ใพลดำ มะเขือเทศ ดาวเรือง กล้วย น้ำว่า ขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช รวมจำนวน 20 ชนิดจาก 7 วงศ์

ตรวจบันทึกผล ประเมินการเกิดโรคโดยดูลักษณะอาการพืชที่ปลูกเชื้อ เปรียบเทียบกับการทดลองเปรียบเทียบที่ใช้น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลานาน 21 วัน แล้วนำพืชที่แสดงอาการเหี่ยวมาแยกเชื้อตรวจยืนยันการเกิดโรค บนอาหาร TZC

การศึกษาพืชอาศัยของเชื้อ *R. solanacearum* ที่แยกได้จากนัตรทองพบว่าเชื้อแบคทีเรียจากนัตรทอง 6 สายพันธุ์

งา ถั่วลิสง หม่อน กล้วยน้ำว่า ไม่แสดงอาการผิดปกติ เมื่อนำมาแยกเชื้อบนอาหาร TZC medium ไม่พบเชื้อสาเหตุของโรค

มะเขือเทศ พริก มันฝรั่ง ดาวเรือง เริ่มแสดงอาการเมื่อ 3 วันหลังการปลูกเชื้อโดยที่บริเวณที่ปลูกเชื้อเริ่มเหลือง ก้านใบเหี่ยว ใบถัดมาเริ่มเหี่ยวลู่ลงในที่สุดจะเหี่ยวทั้งต้น

มะเขือยาว ยาสูบ ไม่แสดงอาการผิดปกติภายนอกให้เห็น เมื่อนำมาแยกเชื้อบนอาหาร TZC medium พบเชื้อสาเหตุของโรคเจริญอยู่ในลำต้น

จิง ใพล ใพลดำ เริ่มแสดงอาการใบตกเมื่อ 5 วันหลังปลูกเชื้อ ต่อมาใบจะเริ่มม้วนลงเหลืองจากใบตอนล่างๆ ขึ้นสู่ยอด ในที่สุดจะเหลืองทั้งต้น ลำต้นเน่า หลุดออกได้โดยง่าย

ขมิ้นชัน ถักรทิพย์ ขมิ้นอ้อย ปทุมมา แวอุบล เริ่มแสดงอาการเมื่อ 7 วันหลังจากปลูกเชื้อ มีอาการเหมือนจิงและไพล พืชจะตายภายใน 15 วัน

กระชายดำและ จิงแดง แสดงอาการใบตก ต่อมาใบจะเริ่มม้วนลง เหลือจากใบตอนล่างๆ ขึ้นสู่ยอด ในที่สุดจะเหลือทั้งต้น ลำต้นเน่า หลุดออกได้โดยง่ายเมื่อ 21 วันหลังการปลูกเชื้อ

ตารางที่ 5 ระดับความรุนแรงของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* จากฉัตรทอง 6 สายพันธุ์ ในการ
เข้าทำลายพืชอาศัย ที่ปลูกในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองและในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

พืช	ชื่อวิทยาศาสตร์	สายพันธุ์					
		Co1	Co2	Co3	Co4	Co5	Co6
สภาพเรือนปลูกพืชทดลอง							
งา (sesame)	<i>Sesamum indicum</i> Linn.	O ^{1/}	O	O	O	O	O
ถั่วลิสง (peanut)	<i>Arachis hypogoea</i> Linn.	O	O	O	O	O	O
มะเขือเทศ (tomato)	<i>Lycopersicon lycopersicum</i> Linn.	H	M	L	M	H	M
พริก (pepper)	<i>Capsicum frutescens</i> Linn.	H	H	L	L	M	M
มะเขือยาว (egg plant)	<i>Solanum melongena</i> Linn.	O	O	O	O	O	O
มันฝรั่ง (potato)	<i>Solanum tuberosum</i> Linn.	H	H	L	L	H	H
ยาสูบ (tobacco)	<i>Nicotiana tabacum</i> Linn.	O	O	O	O	O	O
หม่อน (mulberry)	<i>Morus alba</i> Linn.	O	O	O	O	O	O
ขิง (ginger)	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe.	H	H	L	L	H	H
ขมิ้นอ้อย (Khamin oi)	<i>Curcuma zedoaria</i> Rosc.	H	L	L	L	L	L
ขิงแดง (red ginger)	<i>Alpinia purpurata</i>	H	L	L	L	L	L
ไพล (Phlai)	<i>Zingiber montanum</i> Link ex Ridl.	H	H	L	L	H	H
ไพลดำ (Phlai dam)	<i>Zingiber ottensii</i> Valeton	H	M	L	L	L	M
กระชายดำ (Krachai dam)	<i>Kaempferia parviflora</i> Wall. ex Baker	L	H	L	L	L	M
สภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ							
มะเขือเทศ (tomato)	<i>Lycopersicon lycopersicum</i> Linn.	H	H	L	H	H	H
มันฝรั่ง (potato)	<i>Solanum tuberosum</i> Linn.	H	H	M	H	H	H
กล้วย (banana)	<i>Musa sapientum</i>	O	O	O	O	O	O
ดาวเรือง (marigold)	<i>Tagetes</i> spp.	H	H	M	M	H	H
ขิง (ginger)	<i>Zingiber officinale</i> Roscoe.	H	M	L	H	H	M
ปทุมมา (patumma)	<i>Curcuma alismatifolia</i> Gagnep.	M	L	L	H	M	L
ฉัตรทิพย์ (amethyst curcuma)	<i>Curcuma cordata</i>	L	H	L	L	H	M
แววอุบล (chocolate zebra)	<i>Curcuma gracilima</i>	L	L	L	L	L	L
ขมิ้นชัน (Khamin chan)	<i>Curcuma longa</i> Linn.	H	M	L	L	H	M
ไพลดำ(Phlai dam)	<i>Zingiber ottensii</i> Valeton	H	H	L	L	H	M

1/ ระดับการเกิดโรคเหี่ยวตามวิธีของ He และคณะ (1983) : เป็นค่าเฉลี่ยจาก 3 ซ้ำ

H = เกิดโรครุนแรง (ระดับอาการ 4.1-5.0)

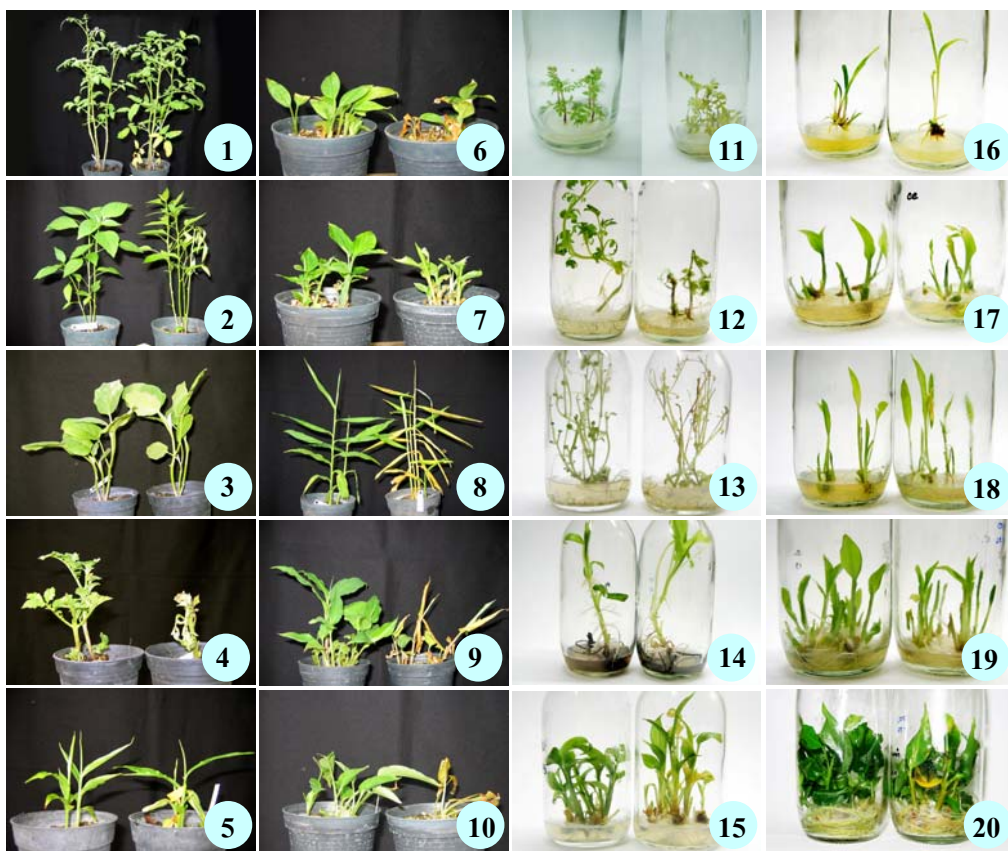
M = เกิดโรคปานกลาง (ระดับอาการ 2.6-4.0)

L = เกิดโรคไม่รุนแรง (ระดับอาการ 1.1-2.5)

O = ไม่ทำให้เกิดโรค (ระดับอาการ 0)



ภาพที่ 5 การทดสอบความสามารถการทำให้เกิดโรคของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของฉัตรทองโดยวิธีตัดใบ (leaf clipping) ตั๊กฉัตรทองจากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อหุ้มโคนของยอดด้วยสำลี (1) และนำไปเลี้ยงในหลอดโดยเติมน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตรในหลอดทดลองใช้กรรไกรจุ่มสารแขวนลอยเชื้อที่แยกได้ ตัดปลายใบ ปิดหลอดหลอดทดลองเพื่อเพิ่มความชื้น (2) แล้วตรวจผลทุกวัน (3) โดยนำต้นที่แสดงอาการของโรคมายกเชื้อซ้ำอีกรอบ (4) เมื่อได้เชื้อแล้วนำมาปลูกเชื้อซ้ำอีกรอบบนต้นพันธุ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ปลูกลงกระถางขนาด 4 นิ้ว (5)



ภาพที่ 6 ลักษณะอาการของพืชอาศัยชนิดต่างๆ ที่ปลูกเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ที่แยกได้จาก
 วัชกรตอตันปกติ (control) (ซ้าย) และต้นเป็นโรค (ขวา) ในมะเขือเทศ (1) พริกชี้หนู (2)
 มะเขือยาว (3) มันฝรั่ง (4) จิง (5) ขมิ้นอ้อย (6) ขิงแดง (7) ไพล (8) ไพลดำ (9) กระชายดำ
 (10) ดาวเรือง (11) มะเขือเทศ (12) มันฝรั่ง (13) กลั้วน้ำว้า (14) จิง (15) ปทุมมา (16)
 วัชกรทิพย์ (17) แวอูบล (18) ขมิ้นชัน (19) ไพลดำ (20)

4. ประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรียในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวของนัตรทองใน ห้องปฏิบัติการ

เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรีย 9 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 0, 100, 500, 1000 และ 1500 ppm ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรค *R. solanacearum* จำนวน 6 สายพันธุ์ โดยวิธี petridish zonal inhibition (Goodman and Lindenfelser, 1967) สารเคมีที่ใช้ captan (ORTHOCIDE[®] 50), copper oxychloride (CUPRAVIT[®]), copper hydroxide (FUNGURAN[®]), ceftriaxone (Cef-3[®]), chloramphenical, streptomycin, tetracycline, และ streptomycin sulfate+oxytetracycline hydrochloride (PHYTOMYCIN[®]) และแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* (LARMINAR[®]) อีก 1 ชนิดด้วย ได้ผลการทดลองดังตารางที่ 6-12

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรีย 9 ชนิด ที่ 5 ระดับความเข้มข้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ Co1

ความเข้มข้น (ppm)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (ซม.) ^{1/}								
	ชนิดสารกำจัดแบคทีเรีย ^{2/}								
	ORTHO-CIDE [®] 50	CUPRAVIT [®]	FUNGURAN [®]	tetracycline	chloramphenical	Cef-3 [®]	streptomycin	PHYTOMYCIN [®]	LARMINAR [®]
0	0.60	0.60	0.60 ^{b3/}	0.60 ^c	0.60	0.60 ^d	0.60 ^d	0.60 ^b	0.60
100	0.60	0.60	0.60 ^b	0.73 ^c	0.60	0.97 ^c	1.83 ^c	0.83 ^b	0.60
500	0.60	0.60	0.60 ^b	1.17 ^b	0.60	1.47 ^b	2.50 ^b	1.43 ^a	0.60
1000	0.60	0.60	0.60 ^b	1.60 ^a	0.60	1.50 ^b	2.90 ^a	1.63 ^a	0.60
1500	0.60	0.60	0.77 ^a	1.60 ^a	0.60	2.10 ^a	3.13 ^a	1.73 ^a	0.60
F-test	ns	ns ^{4/}	*	**	ns	**	**	**	ns
C.V.(%)	0.00	0.00	10.78	13.96	0.00	10.48	6.00	13.58	0.00

- 1/ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่รวมขนาดของกระดาษกรอง watman no.1 ที่เป็นแผ่นกลม เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร เฉลี่ย 3 ซ้ำ
- 2/ สารกำจัดแบคทีเรียที่ใช้ captan (ORTHO-CIDE[®] 50), copper oxychloride (CUPRAVIT[®]), copper hydroxide (FUNGURAN[®]), ceftriaxone (Cef-3[®]), chloramphenical, streptomycin, tetracycline, และ streptomycin sulfate+oxytetracycline hydrochloride (PHYTOMYCIN[®]) และแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus subtilis* (LARMINAR[®]) อีก 1 ชนิดด้วย
- 3/ ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test
- 4/ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test

จากผลการทดลองตารางที่ 6 พบว่าการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ Co1 โดยใช้สาร

ORTHOCIDE[®]50, FUNGURAN[®], chloramphenical, LARMINAR[®] ที่ 5 ระดับความเข้มข้นไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

CUPRAVIT[®] ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 0.76 เซนติเมตร และที่ระดับความเข้มข้น 1000, 500, 100 และ 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

tetracycline ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 และ 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.6 เซนติเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.16 เซนติเมตร และที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

Cef-3[®] ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 2.1 เซนติเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 1000, 500 และ 100 ppm เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.5 , 1.4 และ 0.90 เซนติเมตรตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

streptomycin ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 และ 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 3.13 และ 2.90 เซนติเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 2.50 เซนติเมตร และที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.83 เซนติเมตร ที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

PHYTOMYCIN[®] ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500, 1000 และ 500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.73, 1.63 และ 1.4 เซนติเมตร ตามลำดับ รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรีย 9 ชนิด ที่ 5 ระดับความเข้มข้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ Co2

ความเข้มข้น (ppm)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (ชม.) ^{1/}								
	ชนิดสารกำจัดแบคทีเรีย ^{2/}								
	ORTHO-CIDE [®] 50	CUPRAVIT [®]	FUNGURAN [®]	tetracycline	chloramphenical	Cef-3 [®]	streptomycin	PHYTOMYCIN [®]	LARMINAR [®]
0	0.60	0.60	0.60 ^b	0.60 ^{d3/}	0.60	0.60 ^d	0.60 ^d	0.60 ^c	0.60
100	0.60	0.60	0.60 ^b	0.96 ^c	0.60	1.33 ^c	2.16 ^b	0.60 ^c	0.60
500	0.60	0.60	0.60 ^b	1.26 ^b	0.60	1.80 ^{bc}	2.53 ^{ab}	1.16 ^b	0.60
1000	0.60	0.60	0.60 ^b	1.43 ^b	0.60	2.13 ^b	2.60 ^{ab}	1.20 ^{ab}	0.60
1500	0.60	0.60	0.80 ^a	2.53 ^a	0.60	2.83 ^a	2.93 ^a	1.43 ^a	0.60
F-test	ns	ns ^{4/}	**	**	ns	**	**	**	ns
C.V.(%)	0.00	0.00	0.00	12.00	0.00	15.63	11.30	13.90	0.00

- 1/ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่รวมขนาดของกระดาษกรอง watman no.1 ที่เป็นแผ่นกลม เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร เหลือ 3 ชั่วโมง
- 2/ สารกำจัดแบคทีเรียที่ใช้ captan (ORTHO-CIDE[®] 50), copper oxychloride (CUPRAVIT[®]), copper hydroxide (FUNGURAN[®]), ceftriaxone (Cef-3[®]), chloramphenical, streptomycin, tetracycline, และ streptomycin sulfate+oxytetracycline hydrochloride (PHYTOMYCIN[®]) และแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus subtilis* (LARMINAR[®]) อีก 1 ชนิดด้วย
- 3/ ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test
- 4/ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test

จากผลการทดลองตารางที่ 7 พบว่าการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ Co2 โดยใช้สาร

ORTHOCIDE® 50, FUNGURAN®, chloramphenical, LARMINAR® ที่ 5 ระดับความเข้มข้นไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

CUPRAVIT® ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 0.80 เซนติเมตร และที่ระดับความเข้มข้น 1000, 500, 100 และ 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

tetracycline ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 2.53 เซนติเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 1000 และ 500 ppm เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.43 และ 1.26 เซนติเมตร และที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 0.96 เซนติเมตร และ 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

Cef-3® ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 2.83 เซนติเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 1000, 500 เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 2.13 และ 1.80 เซนติเมตร และที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.33 เซนติเมตร ที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

streptomycin ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 2.93 เซนติเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 1000 และ 500 ppm เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 2.60 และ 2.53 เซนติเมตร และที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 2.16 เซนติเมตร ที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

PHYTOMYCIN[®] ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 เกิดบริเวณยับยั้งได้ดีที่สุดขนาด 1.43 เซนติเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 1000 ppm เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.20 เซนติเมตร และที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.16 เซนติเมตร ที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรีย 9 ชนิด ที่ 5 ระดับความเข้มข้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ Co3

ความเข้มข้น (ppm)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (ซม.) ^{1/}								
	ชนิดสารกำจัดแบคทีเรีย ^{2/}								
	ORTHO-CIDE [®] 50	CUPRAVIT [®]	FUNGURAN [®]	tetracycline	chloramphenical	Cef-3 [®]	streptomycin	PHYTOMYCIN [®]	LARMINAR [®]
0	0.60 ^{c3/}	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60 ^c	0.60 ^b	0.60
100	0.76 ^c	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	0.80 ^c	0.60 ^b	0.60
500	0.96 ^b	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	1.50 ^b	0.60 ^b	0.60
1000	1.10 ^b	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	1.90 ^a	1.13 ^a	0.60
1500	1.30 ^a	0.60	0.60	0.60	0.60	0.60	2.00 ^a	1.20 ^a	0.60
F-test	**	ns ^{4/}	ns	ns	ns	ns	**	**	ns
C.V.(%)	10.20	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	11.39	6.24	0.00

1/ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่รวมขนาดของกระดาษกรอง watman no.1 ที่เป็นแผ่นกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร เฉลี่ย 3 ซ้ำ

2/ สารกำจัดแบคทีเรียที่ใช้ captan (ORTHO-CIDE[®] 50), copper oxychloride (CUPRAVIT[®]), copper hydroxide (FUNGURAN[®]), ceftriaxone (Cef-3[®]), chloramphenical, streptomycin, tetracycline, และ streptomycin sulfate+oxytetracycline hydrochloride (PHYTOMYCIN[®]) และแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus subtilis* (LARMINAR[®]) อีก 1 ชนิดด้วย

3/ ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test

4/ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test

จากผลการทดลองตารางที่ 8 พบว่าการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ Co3 โดยใช้สาร

ORTHOCIDE® 50 ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.30 เซนติเมตร และที่ระดับความเข้มข้น 1000 และ 500 เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.10 และ 0.96 เซนติเมตร ที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

CUPRAVIT®, FUNGURAN®, tetracycline, chloramphenical, Cef-3®, LARMINAR® ที่ 5 ระดับความเข้มข้นไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

streptomycin ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 และ 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 2.00 และ 1.90 เซนติเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.50 เซนติเมตร และที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

PHYTOMYCIN® ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500, 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.20 และ 1.13 เซนติเมตร ตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 500 100 และ 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

ตารางที่ 9 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรีย 9 ชนิด ที่ 5 ระดับความเข้มข้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ Co4

ความเข้มข้น (ppm)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (ซม.) ^{1/}								
	ชนิดสารกำจัดแบคทีเรีย ^{2/}								
	ORTHO-CIDE [®] 50	CUPRAVIT [®]	FUNGURAN [®]	tetracycline	chloramphenical	Cef-3 [®]	streptomycin	PHYTOMYCIN [®]	LARMINAR [®]
0	0.60 ^{d3/}	0.60	0.60	0.60 ^c	0.60	0.60	0.60 ^c	0.60	0.60
100	0.86 ^c	0.60	0.60	0.73 ^c	0.60	0.60	1.00 ^d	0.60	0.60
500	0.96 ^{bc}	0.60	0.60	1.16 ^b	0.60	0.60	1.23 ^c	0.60	0.60
1000	1.00 ^b	0.60	0.60	1.40 ^a	0.60	0.60	1.73 ^b	0.60	0.60
1500	1.23 ^a	0.60	0.60	1.56 ^a	0.60	0.60	1.96 ^a	0.60	0.60
F-test	**	Ns ^{4/}	ns	**	ns	ns	**	ns	ns
C.V.(%)	6.77	0.00	0.00	9.05	0.00	0.00	5.92	0.00	0.00

1/ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่รวมขนาดของกระดาษกรอง watman no.1 ที่เป็นแผ่นกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร เฉลี่ย 3 ซ้ำ

2/ สารกำจัดแบคทีเรียที่ใช้ captan (ORTHO-CIDE[®] 50), copper oxychloride (CUPRAVIT[®]), copper hydroxide (FUNGURAN[®]), ceftriaxone (Cef-3[®]), chloramphenical, streptomycin, tetracycline, และ streptomycin sulfate+oxytetracycline hydrochloride (PHYTOMYCIN[®]) และแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus subtilis* (LARMINAR[®]) อีก 1 ชนิดด้วย

3/ ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test

4/ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test

จากผลการทดลองตารางที่ 9 พบว่าการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ Co4 โดยใช้สาร

ORTHOCIDE® 50 ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.23 เซนติเมตร และที่ระดับความเข้มข้น 1000 และ 500 เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.00 และ 0.96 เซนติเมตร ที่ระดับความเข้มข้น 100 ppm เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 0.86 เซนติเมตร และที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

CUPRAVIT®, FUNGURAN®, chloramphenical, Cef-3®, PHYTOMYCIN®, LARMINAR® ที่ 5 ระดับความเข้มข้นไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

tetracycline ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 และ 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.56 และ 1.40 เซนติเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.16 เซนติเมตร และที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

streptomycin ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.96 เซนติเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 1000, 500, 100 ppm เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.73, 1.23, 1.00 เซนติเมตรตามลำดับ ที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

ตารางที่ 10 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรีย 9 ชนิด ที่ 5 ระดับความเข้มข้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ Co5

ความเข้มข้น (ppm)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (ซม.) ^{1/}								
	ชนิดสารกำจัดแบคทีเรีย ^{2/}								
	ORTHOCLIDE [®] 50	CUPRAVIT [®]	FUNGURAN [®]	tetracycline	chloramphenical	Cef-3 [®]	streptomycin	PHYTOMYCIN [®]	LARMINAR [®]
0	0.60	0.60	0.60 ^{b3/}	0.60 ^c	0.60	0.60 ^c	0.60 ^c	0.60 ^c	0.60
100	0.60	0.60	0.60 ^b	0.60 ^c	0.60	0.60 ^c	1.96 ^d	1.20 ^d	0.60
500	0.60	0.60	0.60 ^b	0.93 ^b	0.60	1.60 ^b	2.46 ^c	1.46 ^c	0.60
1000	0.60	0.60	0.60 ^b	1.16 ^a	0.60	1.80 ^{ab}	2.73 ^b	1.66 ^b	0.60
1500	0.60	0.60	0.86 ^a	1.20 ^a	0.60	2.03 ^a	3.03 ^a	1.90 ^a	0.60
F-test	ns	ns ^{4/}	**	**	ns	**	**	**	ns
C.V.(%)	0.00	0.00	3.95	11.82	0.00	10.83	4.30	16.26	0.00

1/ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่รวมขนาดของกระดาษกรอง watman no.1 ที่เป็นแผ่นกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร เฉลี่ย 3 ซ้ำ

2/ สารกำจัดแบคทีเรียที่ใช้ captan (ORTHOCLIDE[®] 50), copper oxychloride (CUPRAVIT[®]), copper hydroxide (FUNGURAN[®]), ceftriaxone (Cef-3[®]), chloramphenical, streptomycin, tetracycline, และ streptomycin sulfate+oxytetracycline hydrochloride (PHYTOMYCIN[®]) และแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus subtilis* (LARMINAR[®]) อีก 1 ชนิดด้วย

3/ ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test

4/ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test

จากผลการทดลองตารางที่ 10 พบว่าการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ Co5 โดยใช้สาร

ORTHOCIDE® 50, FUNGURAN®, chloramphenical, LARMINAR® ที่ 5 ระดับความเข้มข้นไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

CUPRAVIT® ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 0.86 เซนติเมตร และที่ระดับความเข้มข้น 1000, 500, 100 และ 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

tetracycline ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 และ 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.20 และ 1.16 เซนติเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 0.93 เซนติเมตร และที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

Cef-3® ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 และ 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 2.03 และ 1.80 เซนติเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.16 เซนติเมตร และที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

streptomycin ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 3.03 เซนติเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 1000, 500, 100 ppm เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 2.73, 2.46, 1.96 เซนติเมตรตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

PHYTOMYCIN[®] ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้ง ขนาด 1.90 เซนติเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 1000, 500, 100 ppm เกิดบริเวณยับยั้ง ขนาด 1.66, 1.46, 1.20 เซนติเมตรตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

ตารางที่ 11 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรีย 9 ชนิด ที่ 5 ระดับความเข้มข้นในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ Co6

ความเข้มข้น (ppm)	เส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้ง (ซม.) ^{1/}								
	ชนิดสารกำจัดแบคทีเรีย ^{2/}								
	ORTHOCLIDE [®] 50	CUPRAVIT [®]	FUNGURAN [®]	tetracycline	chloramphenical	Cef-3 [®]	streptomycin	PHYTOMYCIN [®]	LARMINAR [®]
0	0.60	0.60	0.60	0.60 ^{d3/}	0.60	0.60 ^c	0.60 ^c	0.60 ^d	0.60
100	0.60	0.60	0.60	1.43 ^c	0.60	1.76 ^b	2.50 ^d	0.60 ^d	0.60
500	0.60	0.60	0.60	2.03 ^b	0.60	1.83 ^b	2.86 ^c	1.26 ^c	0.60
1000	0.60	0.60	0.60	2.73 ^a	0.60	2.60 ^a	3.33 ^b	1.60 ^b	0.60
1500	0.60	0.60	0.60	2.96 ^a	0.60	3.00 ^a	3.66 ^a	1.76 ^a	0.60
F-test	ns	ns	ns ^{4/}	**	ns	**	**	**	ns
C.V.(%)	0.00	0.00	0.00	6.60	0.00	12.42	5.17	6.25	0.00

1/ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางที่รวมขนาดของกระดาษกรอง watman no.1 ที่เป็นแผ่นกลมเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.6 เซนติเมตร เฉลี่ย 3 ซ้ำ

2/ สารกำจัดแบคทีเรียที่ใช้ captan (ORTHOCLIDE[®] 50), copper oxychloride (CUPRAVIT[®]), copper hydroxide (FUNGURAN[®]), ceftriaxone (Cef-3[®]), chloramphenical, streptomycin, tetracycline, และ streptomycin sulfate+oxytetracycline hydrochloride (PHYTOMYCIN[®]) และแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus subtilis* (LARMINAR[®]) อีก 1 ชนิดด้วย

3/ ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test

4/ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test

จากผลการทดลองตารางที่ 11 พบว่าการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ Co6 โดยใช้สาร

ORTHOCIDE®50, CUPRAVIT®, FUNGURAN®, chloramphenical, LARMINAR® ที่ 5 ระดับความเข้มข้นไม่สามารถยับยั้งเชื้อได้ เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

tetracycline ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 และ 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 2.96 และ 2.73 เซนติเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 100 ppm เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 2.03 และ 1.43 เซนติเมตร และที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

Cef-3® ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 และ 1000 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 3.00 และ 2.60 เซนติเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 500 และ 100 ppm เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.83 และ 1.76 เซนติเมตร และที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้ง เชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

streptomycin ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 3.66 เซนติเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 1000, 500, 100 ppm เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 3.33, 2.86, 2.50 เซนติเมตรตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้งเชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

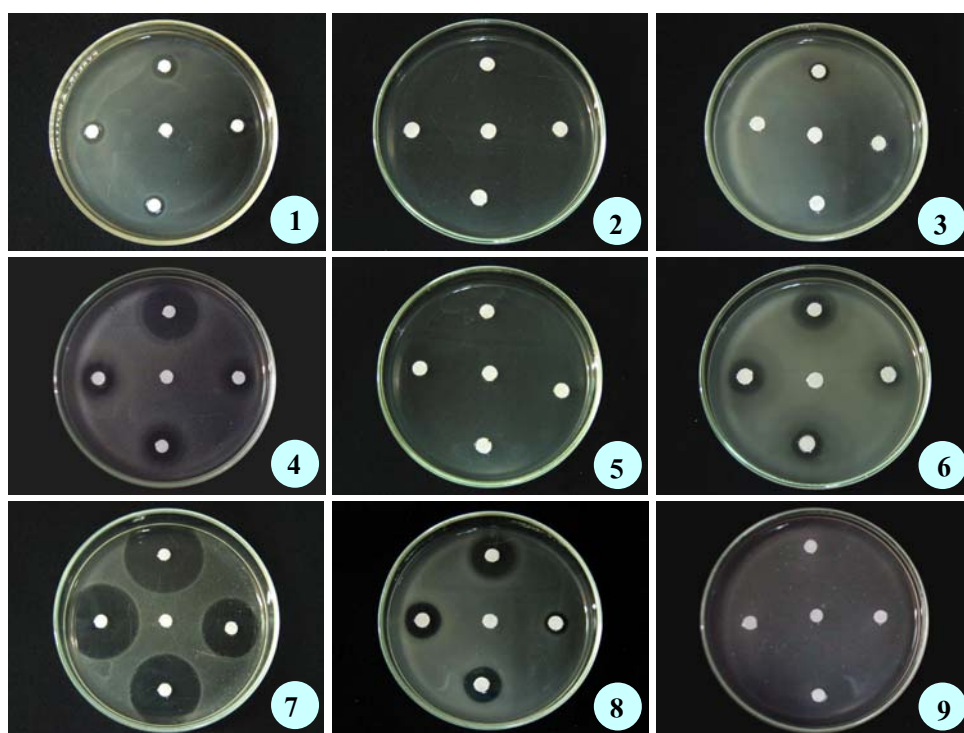
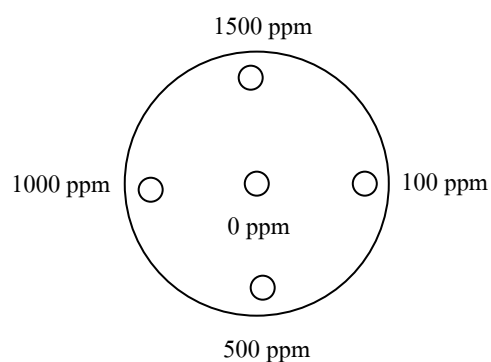
PHYTOMYCIN® ที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 1500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีที่สุด เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.76 เซนติเมตร รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 1000 และ 500 ppm เกิดบริเวณยับยั้งขนาด 1.60 และ 1.26 เซนติเมตร และที่ระดับความเข้มข้น 100 และ 0 ppm ไม่เกิดบริเวณยับยั้งเชื้อเจริญกระจายบนผิวหน้าอาหาร

ตารางที่ 12 ประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรีย 9 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ Co1, Co2, Co3, Co4, Co5 และ Co6

สารกำจัดแบคทีเรีย ^{1/}	ความเข้มข้นของสารกำจัดแบคทีเรีย ที่ยับยั้งเชื้อ <i>Ralstonia solanacearum</i> สายพันธุ์					
	Co1	Co2	Co3	Co4	Co5	Co6
ORTHOCIDE [®] 50	- ^{2/}	-	100-1500	100-1500	-	-
FUNGURAN [®]	-	-	-	-	-	-
CUPRAVIT [®]	1500 ^{2/}	1500	-	-	1500	-
tetracycline	1000-1500	1000-1500	-	100-1500	500-1500	100-1500
chloramphenical	-	-	-	-	-	-
Cef-3 [®]	100-1500	100-1500	-	-	500-1500	100-1500
streptomycin	100-1500	100-1500	100-1500	100-1500	100-1500	100-1500
PHYTOMYCIN [®]	100-1500	500-1500	1000-1500	-	100-1500	500-1500
LARMINAR [®]	-	-	-	-	-	-

1/ สารกำจัดแบคทีเรียที่ใช้ captan (ORTHOCIDE[®] 50), copper oxychloride (CUPRAVIT[®]), copper hydroxide (FUNGURAN[®]), ceftriaxone (Cef-3[®]), chloramphenical, streptomycin, tetracycline, และ streptomycin sulfate+oxytetracycline hydrochloride (PHYTOMYCIN[®]) และแบคทีเรียปฏิชีวนะ *Bacillus subtilis* (LARMINAR[®]) อีก 1 ชนิดด้วย

2/ - = ไม่มีผลยับยั้งเชื้อ และความเข้มข้นของสารกำจัดแบคทีเรีย (ppm) ที่สามารถยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum*



ภาพที่ 7 ประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรีย 9 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 0, 100, 500, 1000 และ 1500 ppm ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* โดยวิธี petridish zonal inhibition : ORTHOCIDE[®] 50 (1) FUNGURAN[®] (2) CUPRAVIT[®] (3) tetracycline (4) chloramphenical (5) Cef-3[®] (6) streptomycin (7) PHYTOMYCIN[®] (8) LARMINAR[®] (9)

5. การศึกษาวิธีการเพิ่มปริมาณต้นจักรทองปลอดโรค โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

5.1 การเริ่มต้นเพาะเลี้ยง เมื่อนำเอาเมล็ด หน่อจากเหง้า และช่อดอกของจักรทอง มาฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว แล้วนำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS และ MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำตาล 30 กรัมต่อลิตร และวุ้น 6.5 กรัมต่อลิตร pH 5.6-5.8 นำไปเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่มีอุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส แสงสว่าง 1,000 ลักซ์ และช่อดอกอ่อนเก็บไว้ในที่มืด เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าเมล็ดและช่อดอกอ่อนเมื่อฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวทั้งสองวิธี มีอัตราการปลอดเชื้อเท่ากันคือ 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเหง้าเมื่อฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวของหน่อด้วย Clorox® 10 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 15 นาที และ Clorox® 5 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 10 นาที มีอัตราปลอดเชื้อเท่ากับ 70 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อแช่ด้วยสาร ละลายปฏิชีวนะเตตราซัยคลินความเข้มข้น 1,000 ppm เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวของหน่อด้วย Clorox® 10 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 15 นาที ตามด้วย Clorox® 5 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 10 นาที มีอัตราปลอดเชื้อเท่ากับ 90 (ตารางที่ 13)

ตารางที่ 13 อัตราการปลอดเชื้อของเมล็ด เหง้า และช่อดอกของจักรทอง เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหาร MS เป็นเวลา 1 เดือน

วิธีการ	เปอร์เซ็นต์ปลอดเชื้อ		
	เมล็ด	เหง้า	ช่อดอกอ่อน
1. ฟอกฆ่าเชื้อด้วย Clorox® 10 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 15 นาที และ Clorox® 5 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 10 นาที	100	70	100
2. แช่สารละลายปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน 1,000 ppm เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วฟอกฆ่าเชื้อด้วย Clorox® 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 นาที และ Clorox® 5 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 10 นาที	100	90	100

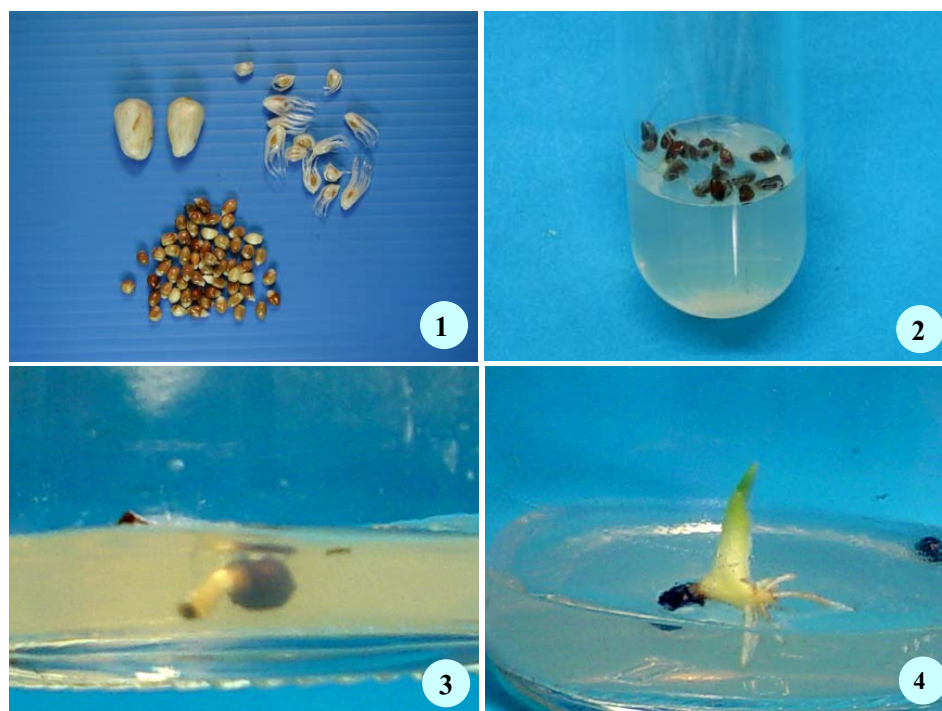
เมื่อศึกษาอัตราการงอกของเมล็ด และอัตราการพัฒนาเป็นต้นของช่อดอกอ่อนของจักรทองพบว่า เมล็ดอัตราการงอก 2.85 เปอร์เซ็นต์ บนอาหาร MS เมื่อเพาะเลี้ยง 150 วัน (ตารางที่ 14) ส่วนช่อดอกอ่อนมีเปอร์เซ็นต์การพัฒนาเป็นต้นอ่อน 8.33 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเพาะเลี้ยง 150 วัน (ตารางที่ 15)

ตารางที่ 14 เปอร์เซ็นต์การงอกของเมล็ดนั้ตรทองที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS นาน 150 วัน

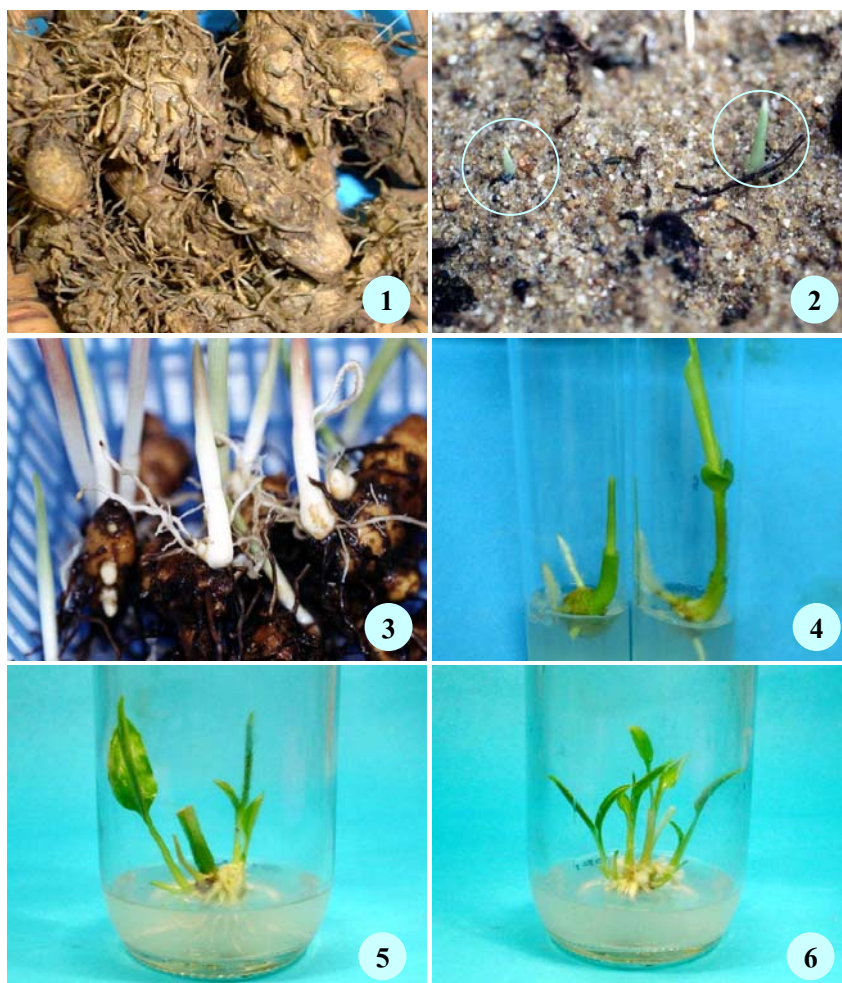
สูตรอาหาร	จำนวนเมล็ด	จำนวนเมล็ด ที่งอก	เปอร์เซ็นต์การงอก
MS	210	6	2.86

ตารางที่ 15 เปอร์เซ็นต์การพัฒนาเป็นต้นอ่อนของนั้ตรทองที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร
MS+BA 1+2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 150 วัน

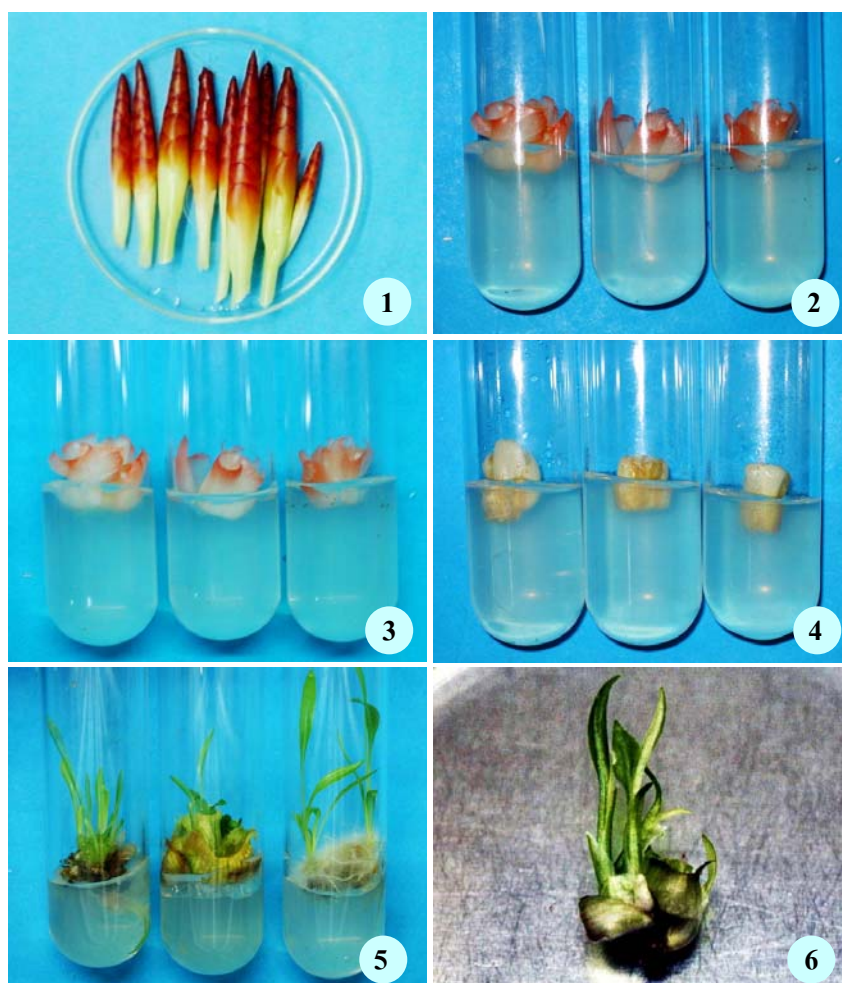
สูตรอาหาร	ช่อดอก (ชิ้น)	ช่อดอก ที่พัฒนาเป็นต้น	เปอร์เซ็นต์
MS+BA 1+2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร	60	5	8.33



ภาพที่ 8 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของเมล็ดในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสูตร MS โดยนำเมล็ดที่ยังไม่ฆ่าเชื้อที่ผิว (1) ฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวเมล็ดโดยวิธีที่ 1 ใช้ Clorox[®] 10 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 15 นาที และ Clorox[®] 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที วิธีที่ 2 แช่ด้วยสารละลายปฏิชีวนะเตตราซัยคลิน ความเข้มข้น 1000 ppm เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 1 และเลี้ยงในอาหารสูตร MS (2) เมล็ดงอกเมื่อเลี้ยงในอาหารสูตร MS ประมาณ 90 วัน (3) เจริญเป็นต้นอ่อนเมื่ออายุประมาณ 120 วัน (4)



ภาพที่ 9 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของหน่อจากเหง้าในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสูตร MS โดยนำหัวพันธุ์ ที่ยังไม่ฆ่าเชื้อที่ผิวปลูกลงในทรายที่อบฆ่าเชื้อแล้ว (1) หัวพันธุ์จะแตกหน่อใหม่ (2) ฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของหน่อโดยวิธีที่ 1 ใช้ Clorox® 10 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 15 นาที และ Clorox® 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที วิธีที่ 2 แช่ด้วยสารละลายยาล้างจานความเข้มข้น 1000 ppm เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 1 และเลี้ยงในอาหารสูตร MS (4) ย้ายปลูกลงเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตรครั้งที่ 1 (5) ย้ายปลูกลงเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตรครั้งที่ 2 ต้นตั้งทรงจะแตกกอมากขึ้น (6)



ภาพที่ 10 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อของช่อดอกอ่อนในสภาพปลอดเชื้อ บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยนำช่อดอกอ่อนที่ยังไม่ผ่าเชื้อที่ผิวล่างน้ำให้สะอาด ฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวของช่อดอกอ่อนโดยวิธีที่ 1 ใช้ Clorox® 10 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 15 นาที และ Clorox® 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10 นาที วิธีที่ 2 แช่ด้วยสารละลายปฏิชีวนะเตตราซัยคลินความเข้มข้น 1000 ppm เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีที่ 1 ตัดเป็นชิ้นขนาด 1 เซนติเมตร และเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (1) ชี้นบนสุดของช่อดอก (2) ชี้นกลางของช่อดอก (3) และชี้นล่างสุดของช่อดอก (4) ช่อดอกอ่อนจะพัฒนาเป็นต้นเมื่ออายุประมาณ 120 วัน (5-6)

5.2 การเพิ่มปริมาณการเจริญเติบโตของต้นเนื้อเยื่อชั้นรองของ บอนอาหารสูตรอาหาร MS ที่เติม BA ร่วมกับ NAA หรือน้ำมะพร้าว นาน 2 เดือน (ภาพที่ 11 ตารางที่ 16) พบว่า

จำนวนรากเฉลี่ย พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเลี้ยงบอนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ จะมีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 10.33 ราก รองลงมาคือเมื่อเลี้ยงบอนอาหารสูตร MS+NAA, MS+BA3+NAA, MS+BA5+NAA, MS+BA10+CW, MS+BA1+NAA และ MS+BA1+CW จะมีจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 7.80, 6.55, 6.03, 4.99, 4.55 และ 4.17 ตามลำดับ รองลงมาคือ MS+BA3+CW และ MS+BA5+CW มีจำนวนรากเฉลี่ยเท่ากับ 2.65 และ 2.62 ส่วน MS+BA5, MS, MS+BA3, MS+BA1 และ MS+BA10+NAA จะมีจำนวนต้นเฉลี่ยเท่ากับ 1.49, 1.10, 1.00, 1.92 และ 0.76 รากตามลำดับ แต่เมื่อเลี้ยงบอนอาหารสูตร MS+BA10 จะไม่เกิดราก

จำนวนต้นเฉลี่ย พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเลี้ยงบอนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัม ร่วมกับน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ และอาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีจำนวนต้นเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 4.00 และ 3.2 ต้น แต่อาหารสูตร MS+BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นไม่สมบูรณ์สีเขียวอ่อน รองลงมาคือเมื่อเลี้ยงบอนอาหารสูตร MS+BA5, MS+BA5+NAA และ MS+BA10 จะมีจำนวนต้นเฉลี่ยเท่ากับ 2.60, 2.40 และ 2.30 รองลงมาคือ MS+BA3+CW, MS+BA3, MS+BA10+NAA, BA10+CW, MS+BA3+NAA, MS+BA1+NAA, MS+BA1+CW และ MS+CW จะมีจำนวนต้นเฉลี่ยเท่ากับ 2.10, 2.00, 2.00, 2.00, 1.80, 1.80, 1.80 และ 1.60 ตามลำดับ ส่วน MS จะมีจำนวนต้นเฉลี่ยเท่ากับ 1.2 ต้น แต่เมื่อเลี้ยงบอนอาหารสูตร MS+NAA จะมีจำนวนต้นเฉลี่ยต่ำสุด เท่ากับ 0.60 ต้น

ความสูงเฉลี่ย พบว่ามีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเลี้ยงบอนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ จะมีความสูงเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 9.45 เซนติเมตร รองลงมาคือเมื่อเลี้ยงบอนอาหารสูตร BA10+CW, MS+BA1+CW, MS+BA3+NAA, MS+BA5+NAA และ MS+BA3+CW จะมีจำนวนความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 6.56, 6.07, 5.95, 5.53 และ 5.31 ตามลำดับ รองลงมาคือ MS+BA5+CW, MS+BA5 และ MS+BA10+NAA จะมีจำนวนความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 4.75, 4.11 และ 3.55 รองลงมาคือ MS+BA3, MS+BA10, MS+BA1+NAA, MS+BA1 และ MS+NAA จะมีจำนวนความสูงเฉลี่ยเท่ากับ 3.32, 3.25, 3.00, 2.96 และ 2.95 เซนติเมตรตามลำดับ แต่เมื่อเลี้ยงบอนอาหารสูตร MS จะมีความสูงเฉลี่ยต่ำสุดเท่ากับ 2.15 เซนติเมตร



ภาพที่ 11 การเจริญเติบโตของต้นเนื้อเยื่อหลอดทอง บนอาหารสูตรอาหาร MS ที่เติม BA และ NAA ที่ความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับน้ำมะพร้าว ในการผลิตหลอดปลอดโรค จำนวน 15 สูตรคือ MS (1) MS+BA1 (2) MS+BA3 (3) MS+BA5 (4) MS+BA10 (5) MS+BA0+NAA (6) MS+BA1+NAA (7) MS+BA3+NAA (8) MS+BA5+NAA (9) MS+BA10+NAA (10) MS+BA0+CW (11) MS+BA1+CW (12) MS+BA3+CW (13) MS+BA5+CW (14) และ MS+BA10+CW (15) อายุ 2 เดือน

ตารางที่ 16 ระดับความเข้มข้นของ BA, NAA และน้ำมะพร้าว ที่มีผลต่อการเกิดต้น ราก และความสูงของชำรตอง เมื่อเลี้ยงนาน 2 เดือน ในสภาพปลอดเชื้อ

BA มก./ลิตร	NAA มก./ลิตร	CW มล./ลิตร	จำนวนราก	จำนวนต้น	ความสูงต้น (เซนติเมตร)
0	0	0	1.10 ^{def}	1.20 ^{de1/}	2.15 ^g
1	0	0	0.92 ^{def}	3.20 ^{ab}	2.96 ^{fg}
3	0	0	1.00 ^{def}	2.00 ^{cd}	3.32 ^{fg}
5	0	0	1.49 ^{def}	2.60 ^{bc}	4.11 ^{def}
10	0	0	0.00 ^f	2.30 ^{bc}	3.25 ^{fg}
0	1	0	7.80 ^b	0.60 ^e	2.95 ^{fg}
1	1	0	4.55 ^{bcde}	1.80 ^{cd}	3.00 ^{fg}
3	1	0	6.55 ^{bc}	1.80 ^{cd}	5.95 ^{bc}
5	1	0	6.03 ^{bc}	2.40 ^{bc}	5.53 ^{bc}
10	1	0	0.76 ^{ef}	2.00 ^{cd}	3.55 ^{efg}
0	0	150	10.32 ^a	1.60 ^{cd}	9.45 ^a
1	0	150	4.17 ^{bcde}	1.80 ^{cd}	6.07 ^{bc}
3	0	150	2.65 ^{cdef}	2.10 ^{cd}	5.31 ^{bcd}
5	0	150	2.62 ^{cdef}	4.00 ^a	4.75 ^{cde}
10	0	150	4.99 ^{bcd}	2.00 ^{cd}	6.56 ^b
F-test			**	**	**
C.V.(%)			28.06	49.09	31.18

1/ ตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกัน มีความแตกต่างกันทางสถิติ ที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan Multiple Range Test

BA = N₆-bencyladenine

NAA = Naphthaleneacetic acid

CW = น้ำมะพร้าว

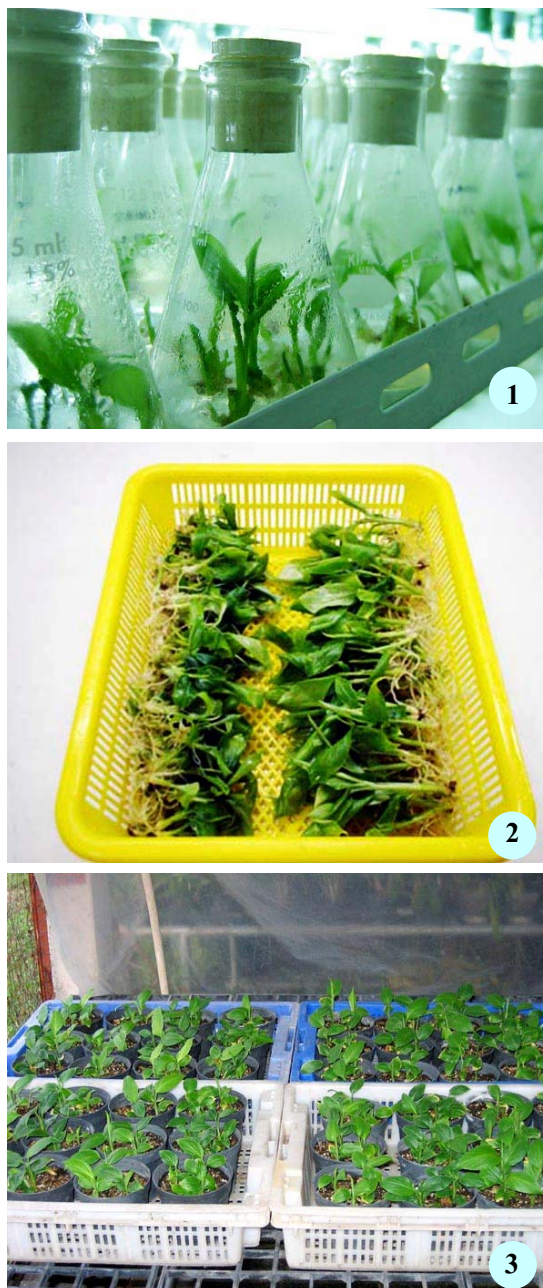
5.3 การย้ายปลูกร ศึกษาอัตราการรอดชีวิตของนั้ตรทองหลังการย้ายปลูกร

นำยอดนั้ตรทองขนาด 1.5 เซนติเมตร เลี้ยงในอาหารเชิงสูตรที่เหมาะสมที่ได้ตามการทดลองที่ 2 เพื่อเพิ่มปริมาณต้น ใช้ปากคีบคีบต้น หลังจากนั้นนำไปปรับสภาพโดยนำพืชออกมาสู่สภาพภายนอกนั้น ต้นพืชต้องเผชิญกับสิ่งแวดล้อมใหม่ เนื่องจากในสภาพหลอดแก้วพืชได้รับความชื้นสูง ไม่มีเชื้อปนเปื้อน ได้รับอาหารและความเข้มแสงที่พอเหมาะ ดังนั้นจึงต้องให้พืชปรับตัวที่ละน้อยก่อนย้ายออกปลูกร โดยการคลายฟางวด 1 สัปดาห์ก่อนย้ายปลูกร ล้างวันให้สะอาดปลูกรในวัสดุปลูกรที่ใช้ส่วนผสมของ ดิน:เวอร์มิคูไลท์ อัตราส่วน 1:1 ที่ผสมคลุกเคล้าให้สม่ำเสมอ แล้วนำปลูกรลงกระถางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 นิ้ว (3 ต้น ต่อกระถาง) จำนวน 3 ซ้าๆ ละ 50 ต้น รวม 150 ต้น คลุมด้วยหลังคาพลาสติก บันทึกรเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตหลังการย้ายปลูกร 2 เดือน พบว่านั้ตรทองมีอัตราการรอดชีวิตเฉลี่ย 98.67 เปอร์เซนต์ (ตารางที่ 17 ภาพที่ 12)

ตารางที่ 17 อัตราการรอดชีวิตหลังการย้ายปลูกรของนั้ตรทองเมื่ออายุ 2 เดือน

พืช	อัตราการรอดชีวิต ^{1/} (เปอร์เซ็นต์)			เฉลี่ย
	ซ้าที่ 1	ซ้าที่ 2	ซ้าที่ 3	
นั้ตรทอง	98.00	98.00	100.00	98.67

1/ อัตราการรอดชีวิตคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์จากการย้ายปลูกร ซ้าละ 50 ต้น จำนวน 3 ซ้า



ภาพที่ 12 การย้ายปลูกลงเนื้อเยื่อพืชที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อลงในกระถาง โดยนำต้น
 พืชอายุ 1.5 เดือน ในอาหาร MS นำมาปรับสภาพ 15 วันก่อนย้ายปลูก (1) ใช้ปาก
 คีบดึงต้นออกจากขวดล้างวุ้นให้สะอาด (2) ปลูกในเครื่องปลูก ดิน : เวอร์มิคูไลท์
 อัตราส่วน 1 : 1 ในกระถางเส้น ผ่านศูนย์กลาง 4 นิ้ว (3)

วิจารณ์

การแยกเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของฉัตรทองจากหัวพันธุ์ที่ปลูกในจังหวัดตาก และที่ขายในตลาดนัดสวนจตุจักร ในกรุงเทพมหานคร พบเชื้อ 6 สายพันธุ์ คือ *Ralstonia solanacearum* race 1 ไบโอวาร 3 และ 4 ซึ่งเป็นเชื้อที่มีพิชอาศัยกว้างเข้าทำลายพืชวงศ์มะเขือเทศ เช่น มะเขือเทศและ มันฝรั่ง และพืชวงศ์อื่นๆ อีกหลายชนิด ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่า แหล่งที่ปลูกฉัตรทองหรือแหล่งที่พบฉัตรทองส่วนใหญ่คือภาคเหนือ และภาคตะวันตก ซึ่งเป็นแหล่งที่มีการปลูก มะเขือเทศและมันฝรั่งมาก โดยพืชสองชนิดนี้มีปัญหาเรื่องโรคเหี่ยวจากเชื้อ *R. solanacearum* เป็นเวลานานแล้ว มีรายงานพบโรคเหี่ยวของมะเขือเทศเป็นครั้งแรกในปี 1957 (Chanrasrikul, 1957) ต่อมาในปี 1983 พบโรคเหี่ยวของมันฝรั่งที่ จ. เชียงใหม่ โดยเฉพาะเกษตรกรที่ปลูกบนที่สูง จะประสบปัญหามากเนื่องจากการปลูกมันฝรั่งบนดอย เป็นพื้นที่ลาดเอียง เมื่อมีโรคเกิดขึ้นและฝนตกจะทำให้เชื้อระบาดไปทั้งแปลง เพราะเชื้อจะไหลตามน้ำลงมาแพร่กระจายไปตามผิวดิน ซึ่งยากแก่การป้องกันกำจัด (Titatarn *et al.*, 1983) เป็นไปได้ว่าเชื้อของพืชปลูกมะเขือเทศและมันฝรั่งทั้งสองชนิดนี้ มีการแพร่กระจายในดินตามธรรมชาติ และเป็นแหล่งของเชื้อโรคแพร่ไปยังฉัตรทอง นอกจากนี้ระบบการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวที่ไม่ดี หัวพันธุ์ที่จำหน่ายมีลำต้นเทียมติดมาประมาณ 15 เซนติเมตร บางหัวพันธุ์ก็ไม่มีลำต้นเทียมเลย ซึ่งเป็นหัวพันธุ์ที่ยังไม่แก่เต็มที่ ถูกตัดราก ใบ และลำต้นเทียมทิ้ง เมื่อต้นใดต้นหนึ่งเป็นโรค การใช้กรรไกรตัดโดยไม่มีการป้องกัน เชื้อสาเหตุโรคก็จะเข้าทางรอยตัด เมื่อนำหัวพันธุ์มาปลูกโดยไม่มีการป้องกันกำจัดก่อนปลูก โอกาสที่เชื้อสาเหตุโรคจะติดไปกับหัวพันธุ์ก็เป็นไปได้ง่าย ดังนั้นวิธีการป้องกันการปนเปื้อนเชื้อกับหัวพันธุ์ ก็คือปล่อยให้หัวพันธุ์แก่เต็มที่ ลำต้นก็จะยุบและแห้ง รอยต่อระหว่างหัวพันธุ์กับลำต้นเทียมก็จะหลุดออกจากกันได้ง่าย เป็นการลดการเกิดแผลบริเวณหัวพันธุ์ ทำให้ลดการแพร่กระจายของเชื้อสาเหตุที่ติดไปกับหัวพันธุ์ ดังนั้นควรมีการชี้แจงและแนะนำการปฏิบัติที่ถูกต้องและเหมาะสมในการดูแลตั้งแต่ที่อยู่ในพื้นที่ที่เพาะปลูก การตัดหัวพันธุ์ การดูแลรักษาแปลงปลูก ตลอดจนการเก็บเกี่ยวและการเก็บรักษาหัวพันธุ์เป็นต้น โรคเหี่ยวนี้ค่อนข้างยากที่จะกำจัดให้หมดไป การทำให้ปริมาณเชื้อในดินลดลงก็เป็นทางหนึ่งที่จะช่วยให้การเกิดโรคลดน้อยลง

การศึกษาลักษณะโคโลนีของเชื้อ *R. solanacearum* บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 ชนิดคือ TZC NGA KB และ mSM-1 พบว่าอาหาร TZC จัดเป็นอาหารแยกความแตกต่าง สามารถแยกลักษณะโคโลนีได้ 2 ชนิดคือ โคโลนีลักษณะค่อนข้างเข็ม รูปร่างไม่แน่นอน กลมรี สีขาวครีม ตรงกลางโคโลนีสีแดงอมชมพู จัดเป็นเชื้อที่รุนแรง (virulent colony) ส่วนโคโลนีสีแดงเข็ม ขอบโคโลนีใส

จัดเป็นเชื้อที่ไม่รุนแรง (avirulent colony) ตามที่ Kelman (1954) ได้รายงานไว้ ส่วนอาหาร mSM-1 เป็นอาหารเลือกเฉพาะที่ดัดแปลงซึ่งเหมาะสำหรับการแยกเชื้อจากดิน (Granada, 1983) รวมถึงแยกเชื้อจากหัวพันธุ์ เพราะมีเชื้ออื่นๆ ปนเปื้อนน้อยกว่าบนอาหาร TZC สำหรับอาหาร NGA เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อทั่วไป เชื้อจะเจริญได้เร็วบนอาหารชนิดนี้ เมื่อบ่มเชื้อทิ้งไว้เป็นเวลา 3-5 วัน เชื้อแบคทีเรียจะมีการสร้างเม็ดสีน้ำตาล ส่วนเชื้อสาเหตุโรคที่แยกได้เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ KB เพื่อตรวจหาการสร้างสารเรืองแสง พบว่าเชื้อเชื้อ *R. solanacearum* จะไม่สามารถสร้างสารเรืองแสงในอาหารเลี้ยงเชื้อ KB โดยเชื้อจะไม่ทำให้อาหารเปลี่ยนเป็นสีเขียว

การทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อเป็นขั้นตอนที่สำคัญที่ใช้จำแนกชนิดของเชื้อแบคทีเรียในระดับสกุล (genus) และ species ที่ใช้ปฏิบัติกันมาจนถึงปัจจุบัน โดยมีข้อเสียตรงที่ต้องอาศัยการทดสอบเป็นจำนวนมาก ใช้เวลานาน แต่ไม่ต้องใช้เครื่องมือราคาแพง สามารถปฏิบัติในห้องทดลองทั่วไปและเป็นที่ยอมรับ พบว่าเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคที่แยกได้จากฉัตรทองทั้ง 6 สายพันธุ์ มีคุณสมบัติเหมือนกับเชื้อ *R. solanacearum* จาก จิง ปทุมมา มะเขือเทศ พริก และมันฝรั่ง ซึ่งการเปรียบเทียบคุณสมบัติกับเชื้อ *R. solanacearum* จากปทุมมา และจิง (ปิยรัตน์, 2541: วรรดา, 2543 และ ศศิธร, 2525) พบว่าคุณสมบัติส่วนใหญ่เหมือนกัน ยกเว้นการสร้างเอนไซม์ยูรีเอส (urease test) พบว่าเชื้อที่แยกได้จากฉัตรทองทั้ง 6 สายพันธุ์ มีการสร้างเอนไซม์ยูรีเอส ซึ่งต่างจากรายงานการทดสอบในจิงและปทุมมาที่พบว่าไม่สร้างเอนไซม์ยูรีเอส แต่เหมือนกับรายงานของ Buchanan และ Gibbons (1974) : Schaad (1980) มีการรายงานว่า *R. solanacearum* มีการสร้างเอนไซม์ยูรีเอสอย่างไรก็ตามคุณสมบัติดังกล่าวตรงกับคุณสมบัติหลักของเชื้อ *R. solanacearum*

การจำแนกไบโอวาร์ของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค 6 สายพันธุ์ ได้แก่ Co1, Co2, Co3, Co4, Co5 และ Co6 จากการทดสอบความสามารถในการใช้น้ำตาลใดแซ็กคาไรด์ คือ maltose lactose cellobiose และน้ำตาลแอลกอฮอล์คือ mannitol sorbitol dulcitol ตรวจผลที่ 21 วันหลังการทดสอบ (Hayward, 1964) พบว่าเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของฉัตรทองสายพันธุ์ Co1, Co2, Co3, Co5 และ Co6 สามารถใช้น้ำตาลได้ทั้ง 6 ชนิด คือ maltose lactose cellobiose mannitol sorbitol และ dulcitol จึงจัดอยู่ในไบโอวาร์ 3 ส่วน เชื้อสาเหตุโรคสายพันธุ์ Co4 ใช้น้ำตาลได้ 3 ชนิด คือ mannitol sorbitol dulcitol จึงจัดอยู่ในไบโอวาร์ 4 จะเห็นได้ว่าเชื้อที่แยกได้จากฉัตรทอง ส่วนใหญ่เป็นเชื้อที่จัดอยู่ในไบโอวาร์ 3 มีเพียงสายพันธุ์เดียวที่เป็นไบโอวาร์ 4 ซึ่งจะแตกต่างจากรายงานในปทุมมา (ปิยรัตน์, 2541 และวรรดา, 2543) ที่พบว่าเชื้อทุกสายพันธุ์ในปทุมมาจัดอยู่ในไบโอวาร์ 4 แต่

ก็ไม่แตกต่างจากรายงานของ Titatan (1986) ที่ได้ศึกษาการเกิดโรคเหี่ยวกับพืชหลายชนิดในประเทศไทย โดยเชื้อที่พบส่วนใหญ่ในประเทศไทยจัดอยู่ในไบโอวาร์ 3 และ 4

การศึกษาพืชอาศัยของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของฉัตรทอง 6 สายพันธุ์ พบว่าเชื้อสามารถเข้าทำลายพืชได้เหมือนหรือต่างกันไป ขึ้นกับชนิดของพืชอาศัย และสายพันธุ์ของเชื้อ สาเหตุโรคที่มีความรุนแรงแตกต่างกันกล่าวคือมะเขือเทศและมันฝรั่งในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ เชื้อเกือบทุกสายพันธุ์เกิดโรคในระดับรุนแรง ยกเว้นสายพันธุ์ Co3 เกิดโรคในระดับต่ำและระดับปานกลางและเชื้อสามารถก่อให้เกิดโรครุนแรงกับพืชทดสอบ ที่ปลูกเชื้อลงไปในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมากกว่าพืชที่ได้จากการปลูกลงในกระถาง คือ มะเขือเทศ มันฝรั่ง คาวเรือง จิง ไรลดำ ขมิ้นชัน ฉัตรทิพย์ ปทุมมา แวอุบล จะเป็นโรคตายภายใน 10 วัน เนื่องจากในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีความเหมาะสมในการเกิดโรค คือความชื้นสัมพัทธ์สูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ อาจทำให้ดินพืชอ่อนแอลงได้ ความชื้น มีอิทธิพลทำให้พืชอ่อนแอลงง่ายสำหรับการเข้าทำลายและการเพิ่มปริมาณประชากรเชื้อ ที่จะร่วมกันทำลายได้รุนแรงมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีส่วนในการเร่งอัตราการเคลื่อนที่เข้าสู่เซลล์พืช หรือกระจายสารที่เป็นประโยชน์ต่อเชื้อได้อีกด้วย (พรทิพย์, 2533) ความชื้นสัมพัทธ์เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคโดยเมื่อความชื้นสัมพัทธ์สูงอัตราการเกิดโรคและการเพิ่มจำนวนเซลล์ของเชื้อ *R. solanacearum* ใน vessel cell มากขึ้น (Grieve, 1943) ส่วนพืชที่ปลูกในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองได้แก่ มะเขือเทศ พริก มันฝรั่ง จิง ไรล ไรลดำ เป็นโรคตายภายใน 15 วัน สำหรับกระชายดำและจิงแดง จะเป็นโรคภายใน 21 วัน ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง ปริมาณความชื้นสัมพัทธ์น้อยกว่าในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ การปลูกเชื้อโดยใช้กรรไกรจุ่มสารละลายเชื้อแล้วตัดใบพืชที่ทดสอบ เมื่อความชื้นสัมพัทธ์น้อยเชื้อบางส่วนอาจจะแห้ง ปริมาณเชื้อที่เข้าทำลายพืชน้อย การเพิ่มปริมาณประชากรเชื่อน้อย ทำให้อาการของโรคเกิดช้าลง ในขณะที่มะเขือยาวและยาสูบ ไม่แสดงอาการผิดปกติภายนอกให้เห็นแต่พบเชื้อในลำต้น ส่วน งา ถั่วลิสง หม่อน และ ถั่วฝักยาว ไม่เป็นโรค ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ วนิดาและคณะ (2542) ทดสอบพืชอาศัยของเชื้อสาเหตุสายพันธุ์จากปทุมมากับพืช 40 ชนิด ในเรือนทดลอง พบว่ามีพืชต่างๆ ที่เป็นพืชอาศัยจำนวน 36 ชนิด ที่เป็นไม้ดอกไม้ประดับ และพวกที่อยู่ในสกุล *Curcuma* จะอ่อนแอต่อเชื้อมาก แสดงอาการให้เห็นเด่นชัดและตายภายใน 14 วัน จากผลการทดลองนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการเลือกพืชที่จะปลูกหมุนเวียนเพื่อลดปริมาณเชื้อสาเหตุโรคในแปลง ซึ่งเป็นแนวทางหนึ่งในการป้องกันกำจัดโรค

การปลูกเชื้อ *R. solanacearum* จากพืชอาศัย บนต้นฉัตรทองพบว่ามีเพียงเชื้อสายพันธุ์จากปทุมมา จึงทำให้ฉัตรทองเกิดโรคเหี่ยวในระดับปานกลาง แต่เชื้อที่แยกได้จากฉัตรทอง ทำให้ฉัตรทองเหี่ยวในระดับที่รุนแรง สอดคล้องกับการศึกษาของธีระศักดิ์ (2533) พบว่าเชื้อที่แยกจากพืชอาศัยชนิดใด จะทำให้เกิดโรคได้รุนแรงกับพืชชนิดที่แยกเชื้อครั้งแรกมากกว่าจากเชื้อที่แยกได้จากพืชชนิดอื่น และตรงกับรายงานของศศิธร (2525) ที่กล่าวว่าเชื้อ *R. solanacearum* ที่แยกได้จากginger มีความแตกต่างจากสายพันธุ์ (strain) ที่แยกจากพืชอื่น และมีพืชอาศัยที่แคบกว่า strain ที่แยกได้จากมะเขือเทศ แต่เมื่อเทียบความรุนแรงระหว่าง strain ที่แยกได้จากginger (ginger strain) และ strain ที่แยกได้จากมะเขือเทศ (tomato strain) โดยการ cross inoculation ลงในต้นgingerและมะเขือเทศพบว่า ginger strain ก่อให้เกิดโรคได้รุนแรงทั้งกับgingerและมะเขือเทศ ส่วน tomato strain ก่อให้เกิดโรครุนแรงกับมะเขือเทศ แต่ไม่สามารถทำให้gingerเป็นโรคได้

การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* โดยการศึกษาประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรีย 9 ชนิดคือ ORTHOCIDE[®] 50, CUPRAVIT[®], FUNGURAN[®], Cef-3[®], chloramphenical, streptomycin sulfate, tetracycline และ PHYTOMYCIN[®] และแบคทีเรียปฏิชีวนะ LARMINAR[®] อีก 1 ชนิดด้วย ที่ 5 ระดับความเข้มข้น คือ 0, 100, 500, 1000 และ 1500 ppm โดยวิธี petridish zonal inhibition พบว่า streptomycin ให้ผลดีที่สุดและให้ผลยับยั้งรองลงมาตามลำดับคือ PHYTOMYCIN[®], tetracycline, Cef-3[®] และ ORTHOCIDE[®] 50 ในขณะที่ FUNGURAN[®] ยับยั้งเชื้อได้ที่ความเข้มข้น 1500 ppm ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อของสารจะเพิ่มขึ้นเมื่อระดับความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ส่วน CUPRAVIT[®], chloramphenical และ LARMINAR[®] ไม่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของฉัตรทองได้ อาจเป็นไปได้ว่า CUPRAVIT[®] และ chloramphenical มีระดับความเข้มข้นต่ำ ระดับความเข้มข้นที่ใช้คือคือ 100-1500 ppm จากรายงานการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ในปทุมมาของจุฑารัตน์ (2546) พบว่าสารปฏิชีวนะ chloramphenical ยับยั้งเชื้อได้ที่ระดับความเข้มข้น 5000 ppm เท่านั้น

สำหรับการใช้แบคทีเรียปฏิชีวนะ LARMINAR[®] (*B. subtilis*) ไม่ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *R. solanacearum* ซึ่งต่างจากรายงานของ ปิยรัตน์ (2541) ศึกษาการควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาโดยใช้จุลินทรีย์ปฏิชีวนะในการยับยั้งการเจริญในห้องปฏิบัติการ *Bacillus* spp. 6 สายพันธุ์คือ AN1, AN2, AN3, AN4, AN5 และ AN6 นอกจากนั้นยังใช้ *Bacillus* spp. สายพันธุ์ CH4 และ CH6 โดยนำมาทดสอบกับเชื้อสาเหตุโรคพืช 6 สายพันธุ์คือ 1217, 1290, 1291, 1351, 1352 และ KPS ด้วยวิธี Paper disc diffusion พบว่า CH6 สามารถยับยั้งได้ดีที่สุดรองลงมาคือ CH4, AN1-AN6

อาจเป็นไปได้ว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *B. subtilis* มีหลายสายพันธุ์ ที่ใช้เป็นชีวภัณฑ์ขายเป็นการค้า LARMINAR® เป็นสายพันธุ์ที่ใช้ควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของทุเรียนและโรคแอนแทรคโนสของมะม่วง ซึ่งเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อรา ไม่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* ของฉัตรทอง เพราะเชื้อปฏิปักษ์จะมีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อโรคแต่ละชนิดไม่เท่ากัน

อย่างไรก็ดีจากการทดลองการควบคุมโรคเหี่ยวของฉัตรทองครั้งนี้เป็นเพียงการทดลองในห้องปฏิบัติการ ซึ่งสามารถควบคุมการใช้สารให้อยู่ในสภาพแวดล้อมที่เราต้องการได้ สารที่ควบคุมเชื้อสาเหตุโรคได้ดีที่สุดคือสารปฏิชีวนะ แต่การนำไปใช้ระดับแปลงปลูกพืชซึ่งเป็นแปลงขนาดใหญ่ ควรต้องมีการศึกษาอัตราการใช้ เพราะเนื่องจากสารละลายตัวได้ง่าย ราคาแพง เช่น streptomycin และ tetracycline ซึ่งการใช้สารปฏิชีวนะจะทำให้เกิดปัญหาการเกิดการต้านทานยา เนื่องจากเชื้อสามารถปรับตัวแล้วเกิดการต้านทานต่อยาได้รวดเร็วกว่าการใช้สารเคมีอื่นๆ

การขยายพันธุ์โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพบว่า การฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดและช่อดอกของฉัตรทองไม่จำเป็นต้องใช้สารปฏิชีวนะในการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว เนื่องจากว่าเมล็ดก่อนนำมาฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดจะมี capsule หุ้มอยู่ ฟอกด้วย Clorox® เพียงอย่างเดียวก็ฆ่าเชื้อได้แล้ว ส่วนช่อดอกก็เช่นเดียวกัน ช่อดอกจะมีกาบใบหุ้มอยู่เชื้อจะปนเปื้อนได้น้อยง่ายต่อการฟอกฆ่าเชื้อ ในขณะที่หน่อจากเหง้าอยู่ในดิน โอกาสที่จะติดเชื้อจะสูง การฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวด้วย Clorox® เพียงอย่างเดียวไม่สามารถทำให้ปลอดเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์ ต้องใช้สารปฏิชีวนะเตตาซัยคลิน เข้มข้น 1000 ppm แช่ 1 ชั่วโมง ร่วมกับ Clorox® ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อเพิ่มขึ้น มากกว่าการที่ไม่ใช้สารปฏิชีวนะเตตาซัยคลินจาก 70 เปอร์เซ็นต์ เป็น 90 เปอร์เซ็นต์

การงอกของเมล็ดและการพัฒนาเป็นต้นของช่อดอกอ่อน พบว่าเมล็ดมีอัตราการงอก 2.85 เปอร์เซ็นต์ และใช้ระยะเวลาในการงอก 90-120 วัน บนอาหาร MS การที่เมล็ดงอกน้อยอาจเนื่องมาจากเมล็ดที่นำมาเพาะเก็บมาจากธรรมชาติ ไม่ทราบอายุของเมล็ด เมล็ดอาจจะอ่อนเกินไป เพราะเมล็ดที่นำมาฟอกยังไม่แตกจาก capsule ทำให้เปอร์เซ็นต์การงอกน้อย จากรายงานของนิพนธ์และคณะ (2538) พบว่าเมล็ดกระเจียวหลายชนิดมีเปอร์เซ็นต์การงอกต่ำมาก การใช้กรรมวิธีต่างๆ เช่น การขลิบเมล็ด การแช่น้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส การแช่ในตู้เย็นอุณหภูมิ 10-15 องศาเซลเซียส การแช่ในสารละลาย H_2SO_4 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ก่อนการเพาะเมล็ดนั้นสามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกได้เพียงเล็กน้อย แต่เมื่อแช่เมล็ดพันธุ์ด้วยสารละลาย GA_3 ก่อนเพาะสามารถเพิ่มเปอร์เซ็นต์การงอกเป็น 30-35 เปอร์เซ็นต์ ส่วนช่อดอกอ่อนสามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อน

ได้ 8.33 เปอร์เซ็นต์ และใช้ระยะเวลาในการพัฒนาเป็นต้น 120-150 วัน บนอาหาร MS ที่เติม BA 1 ร่วมกับ 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพราะฉะนั้นการขยายพันธุ์ต้นฉัตรทองโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ขึ้นส่วนพืชที่นำมาขยายพันธุ์ได้ดีที่สุดก็คือหน่อจากเหง้า ถึงแม้จะมีเปอร์เซ็นต์การติดเชื้อประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ แต่หน่อจากเหง้าสามารถพัฒนาเป็นต้นได้เลย ถ้าใช้ช่อดอกและเมล็ดสามารถปลอดเชื้อได้ 100 เปอร์เซ็นต์ก็ตาม แต่เปอร์เซ็นต์การพัฒนาเป็นต้นจะน้อยไม่ถึง 10 เปอร์เซ็นต์ และใช้เวลาในการพัฒนาเป็นต้นนานกว่า

การขยายพันธุ์ต้นฉัตรทองปลอดโรคในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าเมื่อเลี้ยงต้นบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ จะมีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 10.33 รากและจะมีความสูงเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 9.45 สำหรับการเกิดรากพบว่าต้นที่เลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติม BA ให้จำนวนรากเฉลี่ยสูงสุด ซึ่งเป็นผลเนื่องจาก เมื่อสัดส่วนของไซโตไคนินต่อออกซินต่ำจะกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงพัฒนาเพื่อกำเนิรราก (รังสฤษฎ์, 2541) เมื่อใช้ NAA เพียงอย่างเดียวจะมีรากมากกว่ากรรมวิธีที่ใช้ร่วมกับ BA เป็นเพราะการใช้ NAA ซึ่งเป็นฮอร์โมนในกลุ่มออกซินมีผลกระตุ้นให้เกิดรากได้ดี แต่เมื่อนำมาใช้ร่วมกับ BA จะทำให้สัดส่วนของไซโตไคนินต่อออกซินเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งอาจส่งผลต่อความสูงของต้นด้วยเซนติเมตร และในน้ำมะพร้าวมีสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่อยู่ในกลุ่มของไซโตไคนิน ซึ่งผลของไซโตไคนินจะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของใบยับยั้งการเจริญเติบโตของรากและเร่งให้ขึ้นส่วนของพืชเกิดหน่อเป็นจำนวนมาก แต่จากการทดลองพบว่าจำนวนรากและความสูงเพิ่มขึ้นด้วย ซึ่งจะต่างจากงานทดลองที่มีการรายงานมาแล้ว อาจเป็นไปได้ว่า ไซโตไคนินที่มีอยู่ในน้ำมะพร้าวอาจจะมีปริมาณต่ำมาก ทำให้ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเกิดราก จากคุณสมบัติของน้ำมะพร้าวได้มีการแยกส่วนประกอบในน้ำมะพร้าว พบสารประกอบหลายตัวจะทำงานร่วมกัน ส่วนประกอบที่แยกได้ ได้แก่ กรดอะมิโน กรดอินทรีย์ กรดนิวคลีอิก ฟิโตรีน น้ำตาล น้ำตาลแอลกอฮอล์ วิตามิน และธาตุอาหาร (Krishnankutty, 1986) และจากการทดลองน้ำตาลที่มีอยู่ในน้ำมะพร้าวอาจจะเป็นตัวส่งเสริมให้รากเจริญเติบโตได้ดี เมื่อรากมีมากก็สามารถดูดธาตุอาหารไปใช้ได้มาก ส่งผลให้ต้นเจริญเติบโตได้ดีความสูงก็จะสูงตามไปด้วย

เมื่อเลี้ยงต้นฉัตรทองบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัม ร่วมกับน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ดีที่สุด รองลงมาคืออาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร จะมีจำนวนต้นเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 4 และ 3.2 ต้น แต่อาหารสูตร MS ที่เติม BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้นที่ได้ไม่สมบูรณ์สีเขียวอ่อนซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sutthikul and Apavatirut (1997) ที่พบว่าการนำส่วนโคนต้นของกระเจียวแดง (*Curcuma roscoeana* Wall) ที่อยู่ในสภาพปลอดเชื้อ มาเลี้ยงในอาหารที่เติม BA

1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุดที่ 3.7 ยอดต่อชิ้นส่วน และจากการทดลองการเลี้ยงชิ้นส่วนบริเวณโคนต้นบนอาหารสูตร MS โดยเติมเฉพาะ BA ร่วมกับน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ สามารถใช้ในการขยายพันธุ์ ฉัตรทองได้ดี ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะว่า ก่อนที่จะทำการทดลองเรื่องสูตรอาหาร ที่ใช้ในการผลิตต้นฉัตรทองปลอดโรค ได้มีการเพิ่มปริมาณต้นแม่พันธุ์บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ เพื่อให้ได้ต้นเป็นจำนวนมาก โดยไม่ได้ทำการย้ายต้นเนื้อเยื่อลงบนอาหารที่ไม่ได้เติมฮอร์โมนส่งผลให้ต้นฉัตรทองมีความเคยชินและปรับตัวเข้ากับอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ ทำให้สูตรนี้เป็นสูตรที่ดีที่สุด ผลการทดลองที่ได้จึงไม่เป็นไปตามงานทดลองของ (ทิพย์สุดา, 2540) ที่ขยายพันธุ์กระเจียวพลอยทักษิณ แล้วพบว่าน้ำมะพร้าว 10 และ 20 เปอร์เซ็นต์ นอกจากจะไม่มีผลต่อการเกิดต้นแล้ว ยังทำให้จำนวนต้นเฉลี่ยและความสูงของต้นลดลงด้วย

อัตราการรอดชีวิตเมื่อย้ายออกปลูกในกระถางโดยมีอัตราการอยู่รอดสูงถึงร้อยละ 98.67 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ วัชรินทร์ (2543) ที่ศึกษาอัตราการรอดชีวิตหลังการย้ายปลูกของ ขมิ้นดำ ขมิ้นทอง และขมิ้นขาว มีอัตราการรอดชีวิตเท่ากับ 98.40, 99.04 และ 97.12 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่จากการศึกษานี้พบว่าอัตราการอยู่รอดเมื่อย้ายออกปลูก สูงกว่ารายงานของ จามจุรี (2533) ที่ศึกษาการย้ายออกปลูกในกระถางของขมิ้นแดง พบว่ามีอัตราการอยู่รอด 95 เปอร์เซ็นต์

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

1. ตัวอย่างนัทรทองเป็นโรคเหี่ยวสามารถแยกเชื้อได้ 6 สายพันธุ์ เมื่อศึกษาคุณสมบัติทางฟิสิกส์ คุณสมบัติทางเคมี และคุณสมบัติการเข้าทำลายพืชอาศัยจัดเป็น เชื้อ *R. solanacearum* race 1 ไปโอวาร์ 3 ในเชื้อสายพันธุ์ Co1, Co2, Co3, Co5 และ Co6 และเชื้อ *R. solanacearum* race 1 ไปโอวาร์ 4 ในสายพันธุ์ Co4

2. การศึกษาพืชอาศัยของเชื้อ พบว่าเชื้อ *R. solanacearum* ของนัทรทองสามารถก่อให้เกิดโรคกับพืชทดสอบ เกิดโรครุนแรงใน มะเขือเทศ มันฝรั่ง คาวเรือง จิง ไรต์ดำ ขมิ้นชัน นัทรทิพย์ ปทุมมา แวอูบล เกิดโรคระดับปานกลางในพริก เกิดโรคน้อยใน กระจ่างดำและจิงแดง ไม่แสดงอาการผิดปกติภายนอกให้เห็นแต่พบเชื้อในลำต้นใน มะเขือยาวและยาสูบ ไม่เป็นโรคใน งาม ถั่วลิสง หม่อน และ กล้วย

3. การศึกษาประสิทธิภาพของสารกำจัดแบคทีเรีย 9 ชนิด พบว่า streptomycin ให้ผลดีที่สุดและให้ผลยับยั้งรองลงมาตามลำดับคือ PHYTOMYCIN[®], tetracycline, Cef-3[®] และ ORTHOCIDE[®] 50 ขณะที่เหลือไม่มีผลยับยั้ง สารกำจัดแบคทีเรียแต่ละชนิดยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* แต่ละสายพันธุ์ได้แตกต่างกัน

4. การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนนัทรทอง เพื่อเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยใช้สารปฏิชีวนะเตตราซัยคลินเข้มข้น 1000 ppm ร่วมกับ Clorox[®] ทำให้มีเปอร์เซ็นต์การปลอดเชื้อเพิ่มขึ้น มากกว่าการที่ไม่ใช้สารปฏิชีวนะเตตราซัยคลินจาก 70 เปอร์เซ็นต์ เป็น 90 เปอร์เซ็นต์

5. การงอกของเมล็ดและการพัฒนาเป็นต้น ของช่อดอกอ่อน พบว่าเมล็ดมีอัตราการงอก 2.85 เปอร์เซ็นต์ และใช้ระยะเวลาในการงอก 90-120 วัน บนอาหาร MS ส่วนช่อดอกอ่อนสามารถพัฒนาเป็นต้นอ่อนได้ 8.33 เปอร์เซ็นต์ และใช้ระยะเวลาในการพัฒนาเป็นต้น 120-150 วัน บนอาหาร MS ที่เติม BA 1 ร่วมกับ 2,4-D 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

6. การเพาะเลี้ยงต้นฉัตรทองในสภาพปลอดเชื้อบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ จะมีจำนวนรากเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 10.33 ราก และมีความสูงเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 9.45 เซนติเมตร เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าว 15 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนต้นเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 4 ต้น

7. อัตราการรอดชีวิตหลังการย้ายปลูกต้นฉัตรทองปลอดโรค ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชบนเครื่องปลูก ดินผสม:เวอร์มิคูไลท์ อัตราส่วน 1:1 เมื่ออายุ 2 เดือน พบว่ามีอัตราการอยู่รอดสูงถึงร้อยละ 98.67 เปอร์เซ็นต์

ข้อเสนอแนะ

ฉัตรทองเป็นไม้ดอกเมืองร้อนที่มีศักยภาพในการที่จะส่งเสริมให้เป็นไม้ตัดดอก นอกจากฉัตรทองแล้ว ยังมีดาหลา จิงแดง ปทุมมา พลอยทักษิณ เทพราลี เทพอัปสร แวอุบล ในการผลิตให้ได้คุณภาพดีพอที่จะแข่งขันกับประเทศผู้ผลิตอื่นๆ ด้วย ดังนั้นในการส่งเสริมการปลูกไม้ดอกไม้ประดับ จึงต้องเน้นถึงความสำคัญด้านความรู้ การปลูกดูแลรักษา และการป้องกันกำจัดโรคแมลงของไม้ดอกชนิดต่างๆ ตลอดจนการปฏิบัติภายหลังการตัดดอกอีกด้วย เพื่อให้ได้ดอกที่มีคุณภาพดีมีอายุการใช้งานได้ยาวนาน ราคาสูง มีรายได้ที่เพิ่มขึ้น ไม้ดอกในประเทศไทยที่ให้ดอกสวยงามและทนนั้น มีอีกหลายชนิดที่ควรให้มีการส่งเสริมให้เกษตรกรหันมาปลูกกันให้มากขึ้น เกษตรกรบางรายขาดหัวพันธุ์จากป่าธรรมชาติ ไปจำหน่ายยังต่างประเทศ ประเทศที่มีเทคโนโลยีด้านพันธุกรรมพืชสูงก็สามารถนำเชื้อพันธุ์ดีจากประเทศไทยไปคัดเลือกพันธุ์ ขยายพันธุ์และจดสิทธิบัตร ขายพันธุ์ให้กับลูกค้าต่างประเทศ ซึ่งเป็นตลาดเดิมของไทย

การทดลองการควบคุมโรคเหี่ยวของฉัตรทองครั้งนี้เป็นเพียงการทดลองในห้องปฏิบัติการ ซึ่งสามารถควบคุมการใช้สารให้อยู่ในสภาพแวดล้อมที่เราต้องการได้ จากการทดลองสารที่ควบคุมดีที่สุดคือสารปฏิชีวนะ แต่การนำไปใช้ระดับแปลงปลูกพืชซึ่งเป็นแปลงขนาดใหญ่ ควรต้องมีการศึกษาอัตราการใช้เพราะเนื่องจากสารละลายตัวได้ง่าย ราคาแพง เช่น streptomycin และ tetracycline ซึ่งการใช้สารปฏิชีวนะจะทำให้เกิดปัญหาการเกิดการต้านทานยา เนื่องจากเชื้อสามารถปรับตัวแล้วเกิดการต้านทานต่อยาได้รวดเร็วกว่าการใช้สารเคมีอื่นๆ ในประเทศสหรัฐอเมริกา และบางประเทศในยุโรป จึงไม่แนะนำให้ใช้สารปฏิชีวนะที่ใช้รักษาการติดเชื้อของมนุษย์และสัตว์ไปใช้ควบคุมโรคพืช สารเคมีชนิดอื่นยังไม่สามารถที่จะใช้ในการป้องกันกำจัดได้ผลอย่างสมบูรณ์ จึงต้องค้นคว้าหาวิธีการอื่นๆ โดยจะใช้ประโยชน์จากเชื้อจุลินทรีย์หลากหลายที่มีคุณสมบัติยับยั้งเชื้อโรค มาทดสอบทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการ ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลอง และในสภาพไร่อต่อไป

ดังนั้นในการจัดการหรือควบคุมโรคพืชไม่ให้แพร่ระบาด จึงต้องสรรหากรรมวิธีที่เหมาะสม นำมาผสมผสานและปฏิบัติเพื่อให้ได้ผลกำไรสูงสุด คำนวณทางเศรษฐกิจ และไม่กระทบกระเทือนต่อสิ่งแวดล้อม และสังคมยอมรับนำไปปฏิบัติได้

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

- จามจุรี โสตถิกุล และ พิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์. 2533. ผลของขนาดและอายุของชิ้นส่วนพืชที่มีต่อการขยายพันธุ์กระเจียวแดง (*Curcuma roscoeana* Wall.) ในสภาพหลอดแก้ว, น. 532-533. ใน กำหนดการและบทความประกอบการประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 16. กรุงเทพฯ.
- จุฑาทิพย์ วัชรไชยคุปต์. 2544. การศึกษากลไกการต้านทานโรคเหี่ยวของพริกจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- จุฑารัตน์ โชติวงศ์พิพัฒน์. 2535. ผลของ 6-Benzyladenine และน้ำตาลซูโครสที่มีผลต่อการเกิดยอดของปทุมมาและขมิ้นในสภาพหลอดแก้ว. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- จุฑารัตน์ สุวรรณศิริจันทร์. 2546. การควบคุมโรคเหี่ยวของปทุมมาที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* โดยการป้องกันกำจัดเชื้อที่ติดมากับหัวพันธุ์และการจัดการดิน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ณัฐริมา โฉมิตเจริญกุล. 2541. โรคเหี่ยวของปทุมมา ปัญหาของการส่งออก. กลีกร 71:38-40
- ทัศนีย์ เรืองศิริ. 2543. ปลุกปทุมมาในถุงพลาสติกแก้ปัญหาการปนเปื้อนของแบคทีเรีย. ฝ่ายประชาสัมพันธ์และเผยแพร่. กรมวิชาการเกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.
- ทิพย์สุดา อนันตกุล. 2540. การขยายพันธุ์กระเจียวพลอยทักษิณเบอร์ A033 ในสภาพหลอดแก้ว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ธีระศักดิ์ โลห์แก้ว. 2533. คุณสมบัติทางชีวเคมีและการเกิดโรคบนพืชอาศัยของเชื้อ *R. solanacearum*. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นิพนธ์ ทวีชัย, อังสนา อัครพิศาล, วิชัย โฆสิตรัตน และ ชลิดา เล็กสมบุญ. 2540. การผลิตจึงปลอดโรคและต้านทานโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียโดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, น. 383-391. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 35, 3-5 กุมภาพันธ์ 2540. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

นิพนธ์ ทวีชัย, วิชัย โฆสิตรัตน, ศศิธร วุฒินิชย์, อำไพวรรณ ภราดรน์วัฒน์, ปราณี ฮัมเมอิลิ่งค์ และ สมนึก เชื้อวงศ์กุล. 2542. การผลิตจึงปลอดโรค. เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการ. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 30 น.

นิพนธ์ สุขวิบูลย์, วิภาดา ทองทักษิณ, ธนวัฒน์ รัตนถาวร และ บุญแถม ถาคำฟู. 2538. การรวบรวมและศึกษาพันธุ์กระเจียว. วิทยาสารสถาบันวิจัยพืชสวน. ปีที่ 15. ฉบับที่ 11. ปีงบประมาณ 2537 – 2538

นุชนารถ จงเลขา, อรพิน วิชวงษ์ และกาญจนา วิจิตตระกูล. 2540. การควบคุมโรคเน่าของแฉ่งจึงโดยวิธีผสมผสานและการแยกจุลินทรีย์ต่อต้านโรค. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ตามโครงการวิจัยเร่งด่วนที่ 2503 งานอารักขาพืชบนที่สูง มูลนิธิโครงการหลวง.

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์, นิพนธ์ ทวีชัย และ อำไพวรรณ ภราดรน์วัฒน์. 2540. การควบคุมโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของปทุมมาโดยการปรับปรุงดิน. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร, 30 (1-6) : 35-49.

ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์. 2541. โรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของปทุมมา (*Curcuma alismatifolia* Gagnep.) และการป้องกันกำจัด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

พรทิพย์ ธนุทอง. 2533. โรคพืชวิทยาชั้นสูง. ขอนแก่นการพิมพ์, ขอนแก่น. 282 น.

พัชรินทร์ คงเปลี่ยน. 2540. การควบคุมโรคเหี่ยวจากเชื้อแบคทีเรียของมะเขือเทศโดยการจัดการดิน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

พิชัย มณีโชติ, วัฒนา เสถียรสวัสดิ์ และ กิตติพงศ์ ศิสรานนท์. 2536. คุณกันเรื่องอนาคตของ *Curcuma* (กระเจียว) เภสัชกรรม ประจำเดือนกุมภาพันธ์. 105-115 น.

พิมพ์ใจ อาภาวัชรุตม์, โสธยา ร่วมรังสี, จันทนา สุวรรณธาดา และ พิษณุ วรูไร. 2536. การ บังคับหัวขมิ้นแดง (*Curcuma roscoeana* Wall.) ให้ออกดอกช่วงฤดูหนาว. สถาบันวิจัย และพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. ครั้งที่ 16. กรุงเทพมหานคร. 532-533 น.

รังสฤษฎ์ กาวิตะ. 2541. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช : หลักการและเทคนิค. ภาควิชาพืชไร่นา. คณะ เกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ .

วนิดา จิตะฐาน. 2542. โรคเหี่ยวของพืชที่เกิดจากแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum*. กรมวิชาการ เกษตร. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

วรรดา ไชแสง. 2543. การผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* และ การศึกษาทางเซรุ่มวิทยาในการตรวจวินิจฉัยโรคเหี่ยวของปทุมมา. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วลัยภรณ์ ภัสสรศิริ, วิภาดา ทองทักษิณ, อัญชัญ มั่นแก้ว และ วชิร สุขวิวัฒน์. 2540. การรักษา คุณภาพดอกกระเจียวส้ม, น. 42-49 ใน รายงานการประชุมวิชาการไม้ดอกไม้ประดับ แห่งชาติครั้งที่ 3 คณะกรรมการประสานงานวิจัยและพัฒนาไม้ดอกไม้ประดับ สำนักงาน คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. กรุงเทพฯ.

วัชรินทร์ รัตนพันธ์. 2543. ผลของเบนซิลแอลดีนต่อการเจริญเติบโตของขมิ้นดำ ขมิ้นทอง และ ขมิ้นขาวในสภาพปลอดเชื้อ. ปัญหาพิเศษปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วัชรินทร์ รัตนพันธ์. 2544. การเพิ่มจำนวนโครโมโซมของขมิ้นชันและขมิ้นอ้อยด้วยโคลชิซินใน สภาพปลอดเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วิชา ชาลีพรหม. 2530. การทดสอบพันธุ์มะเขือเทศที่มีความต้านทานโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรีย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศศิธร จันทรโอทาน. 2525. การศึกษาโรคเหี่ยวหรือแฉ่งเน่าของขิงที่เกิดจากแบคทีเรีย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศักดิ์ สุนทรสิงห์. 2530. โรคของผักและการป้องกันกำจัด. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สิรินทร์ ไทยรัช. 2532. ปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณขิงในหลอดทดลอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุธัญญา ฉายาชาลิต. 2537. การศึกษาโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากแบคทีเรีย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุภกิจ กิจกัญญ์. 2536. การประเมินความเสียหาย การเปลี่ยนแปลงประชากร และการป้องกันกำจัดเชื้อ *Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith ในแปลงทดสอบโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของมะเขือเทศ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุรวิษ วรรณไกรโรจน์. 2537. ปทุมมาและกระเจียว, น. 59-72. ใน ไม้ตัดดอกเขตร้อน. กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

สุรวิษ วรรณไกรโรจน์. 2539. ปทุมมาและกระเจียว (*Curcuma*) ไม้ดอกไม้ประดับ. สำนักพิมพ์บ้านและสวน. บริษัทอัมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด, กรุงเทพฯ. 128 น.

อรดี สหวัชรินทร์. 2524. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ 2 การเพาะเลี้ยงปลายยอด. วารสารพืชสวน 16(1) : 35-43.

- อรดี สหวัชรินทร์. 2538. การขยายพันธุ์ไม้ตัดดอกโดยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, น. 142-143. ใน
รายงานการประชุมวิชาการไม้ดอกไม้ประดับแห่งชาติ ครั้งที่ 1. คณะกรรมการ
ประสานงานวิจัยและพัฒนาไม้ประดับ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.
- อรพินท์ เทพเสน. 2543. การระบุและการจัดหมวดหมู่พืชสกุลขมิ้นโดยใช้ลักษณะทางสัณฐาน
วิทยา เรณูวิทยาและเซลล์วิทยา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ.
- อรอุบล ชมเดช. 2534. ผลของไซโตไคนิน, การผ่าห้วและสารทางพันธุกรรมที่มีผลต่อการเกิดยอด
ปทุมมา (*Curcuma sparganifolia* Gangnep.) ในสภาพปลอดเชื้อ. ปัญหาพิเศษปริญญา
ตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- อังสนา อัครพิศาล. 2533. การเพาะเลี้ยงโปรโตพลาสต์และเซลล์สำหรับศึกษาปฏิกิริยาตอบสนอง
เฉียบพลันของสายพันธุ์จิ้งต๋อเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- อุไรจันทา กสิกรรมไพบุลย์. 2534. ความสามารถของเชื้อแบคทีเรียบริเวณรากและดินปลูกมะเขือ
เทศ ในการควบคุมทางชีวภาพต่อเชื้อแบคทีเรียโรครากเหี่ยวของมะเขือเทศ (*Pseudomonas*
solanacearum E.F. SMITH). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์,
กรุงเทพฯ.
- Aloha Tropicals [Online]. 2000, Updated 23 September 2000. Available from:
<http://www.alohatropical.com/cm-07.html> [Accessed 2000 Sep. 26].
- Bergey, D.H., F.C. Harrison, R.S. Breed, B.W. Hammer and F.M. Huntton, 1923 In :
Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. (ed). The Williams and Wilkins
Co., Baltimore. USA.
- Breed, R.S., E.G.D. Murray and N.R. Smith. 1957. **Bergey's Manual of Determinative
Bacteriology.** 7th ed. The Williams and Wilkins Co., Baltimore. USA.

- Buchanan, R.E., N.E. Gibbons, S.T. Cowan, J.C. Holt, J. Liston, R.G.E. Murray, C.F. Niven, A.W. Ravin and R.Y. Stainer. 1974. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology**. 8th ed. The Williams and Wilkins Co., Baltimore. USA.
- Buddenhagen, I. and T. A. Elsasser. 1962. An insect-spread bacterial wilt epiphytic of banana. **Nature** . 194 : 164-165.
- Chandsrikul, A. 1957. Diseases of tomato. **Kasikorn**, 31(2), 121-123.
- Chester, F.D. 1898. **A preliminary arrangement of the species of the genus Bacterium**. Delawar College of Agriculture Experimental Station Annual Report for 1897, pp 53-145. Cited in Kelman, A. 1953.
- Delange, J.H., P. Willers and Magdanel. 1987. Elimination of nematodes from ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) by tissue culture. **Hort. Sci.** 62 : 249-252.
- Elliott, C. 1951. **Manual of Bacterial Plant Pathogens**. 2nd Rev. Ed. Chronica Botanica, Waltham. 186 p.
- Granada, G.A. and L. Sequeira. 1983. A new selective medium for *Pseudomonas solanacearum*. **Plant Disease**. 67 : 1084-1088.
- Grieve, B. J. 1943. **Studies in the physiology of host-parasite relation**. III factor affecting resistance to bacterial wilt of Solanaceae. Roy. Soc. Victoria. Proc., N. S. 55 : 13-40.
- Goodman, R.N. and L.A. Landenfelser. 1967. Sensitivity of Bacterial Plant pathogen to Streptomycin. Cited in Kelman, A. 1967. Sourcebook of Laboratory Exercises in **Plant Pathology**. Freeman Co., San Francisco.

- Hayward, A.C. 1964. Characteristics of *Pseudomonas solanacearum*. **J. of Applied Bacteriology**. 27 : 265-277.
- Hayward, A.C. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. **Annu. Rev. Phytopathology**. 29 : 65-87.
- He, L, Y.L. Sequeira and A. Kelman. 1983. Characteristics of Strains of *Pseudomonas solanacearum* from China. **Plant Disease**. 67 : 1357-1361.
- Kelman, A. 1953. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. **North Carolina Agricultural Experiment Station Technical Bulletin** . 99 : 5-194.
- Kelman, A. 1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. **Phytopathology**. 44 : 693-695.
- King, E.O., M.K. Ward and D.E. Raney. 1954. Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. **J. of Lab. and Clin. Med** . 44 : 301-307.
- Krieg, N.R. and J.G. Holt. 1984. **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**. William and Wilkins company, Baltimore. 1599 p.
- Krishnankutty, S. 1986. Proceedings of the Symposium on Recent Developments in Food Packaging : 17-18 January, 1985, Mysore / sponsored by the Assoc of Food Scientists and Technologists (India) ; In **collab with the Central Food Tech Res Inst**. Mysore, India. 123 : 83-85.
- Michel, V.V., J.F. Wang, D.J. Midmore and G.L. Hartman. 1997. Effect of intercropping and soil amendment with urea and calcium oxide on the incidence of bacterial wilt of tomato and survival of soil borne *Pseudomonas solanacearum* in Taiwan. **Plant Pathology** . 46 : 600-610.

- Murashige, T. and F. Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth and bio – assays with tobacco tissue cultures. **Physiol. Plant.** 15 : 473-497.
- Persley, G. J. P. Batugal, D. Gapusin and P. Vander Zaag. 1986. Summary of discussion and recommendation, pp. 7-13. In G. J. Persley, ed, **Bacterial Wilt Disease in Asia and the South Pacific**. Proceeding of an International Workshop Held at PCARD, Los Banos, Philippines, 8-10 October 1985 ACIAR proceeding No. 13. 145 p.
- Roldan, E.F. 1926. Bacterial wilt of marigold. **Philippine Agr.** 15 : 37-40.
- Rorer, J.B. 1911. A bacterial disease of banana and plantains. **Phytopathology.** 1: 45-49.
- Savulescu, T. 1947. Contribution a la classification des bacteriac'ees phytopathogenes. *Analele Academiei Romane. Memoriile Sectiunii Stiintifice*, Seria III, 22, Mem. 4 : 1-26.
- Schaad, N.W. 1980. **Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria.** Dept. of Plant Pathology, University of Georgia. 70 p.
- Schaad, N.W. 1988. **Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria.** 2d ed., American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota. 158 p.
- Smith, E.F. 1896. A bacterial disease of the tomato, eggplant and Irish potato (*Bacillus solanacearum* nov. sp.) U.S. Dept. Agr., Div. Veg. Physiol. Path. Bull. 12 : 1-28. Cited in Burkholder and Starr. 1948. The Generic and apecific characters of phytopathogenic species of *Pseudomonas* and *Xanthomonas* . **Phytopathology.** 38 :494-502.

- Smith, E.F. 1914. **Bateria in Relation to Plant Disease**, Vol. 3. Carnegie Institute, Washington, USA.
- Sotthikul, C. and Apavatjirut. 1996. Effect of explant size and age on *in vitro* propagation of *Curcuma roscoeana* Wall. **HortScience**. 31(4) : 629.
- Sotthikul, C. and Apavatjirut. 1997. Effect of different concentrations of plant growth regulators on *in vitro* propagation of *Curcuma roscoeana* Wall. **HortScience**. 32(3) : 460.
- Thaveechai, N. 1989. **Laboratory Course on Bacterial wilt of Tomato**. AVNET Germplasm Improvement Subnetwork Workshop. 18-28 Oct. 1989, Kasetsart.
- Titatarn, V., Chalernstapon, R., Tongieam, M. and Kongtong, B. 1983. Study of bacterial disease of potato. **Annual Report**, Department of agriculture, Bangkok, Thailand.
- Titatarn, V. 1986. Bacterial wilt in thailand, pp. 65-67. In Presley (ed.). **Bacterial Wilt Disease in Asia and South Pacific** : Proceedings of and International Workshop Held at PCARRD, Los Banos, Philipines, 8-10 October 1985. ACIAR Proceeding no. 13. 145 p.
- Winstead, N.N. and A. Kelman. 1952. Inoculation technique for evaluating resistance to *Pseudomonas solanacearum*. **Phytopathology**. 42 : 628-634.
- Yabuuchi, E., Y. Kosako, H. Oyaizo, I. Yano, H. Hotta, Y. Hashimoto, T. Ezaki, M. Araka. 1993. Validation of the publication of new name and new combinations previously effectively published outside the IJSB. **International Journal of Systematic Bacteriology**. 43 : 398-399.

Yabuuchi, E., Y. Kosako, I. Yano, H. Hotta and Y. Nishiuchi. 1995. Transfer of Two *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. Nov., proposal of *Ralstonia pickettii* (Ralston, Palleroni and Doudoroff 1973) comb. Nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb. Nov., and *Ralstonia eutropha* (Davis 1969) comb. Nov. **Microbial. Immunol.** 39 : 897-904.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรและวิธีเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

1. Nutrient glucose agar (NGA) (Schaad, 1988)

Beef extract	3.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Glucose	2.5	กรัม
วุ้น	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมในน้ำ แบ่งใส่ขวดปิดฝา นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอน้ำ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1.1 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร เป็นเวลา 15 นาที

2. Tetrazolium chionide medium (TZC) (Kelman, 1954)

ส่วนที่ 1 (basal medium)

Peptone	10.0	กรัม
Glucose	5.0	กรัม
Casein hydrolysate	1.0	กรัม
วุ้น	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมในน้ำ แบ่งใส่ขวดๆ ละ 200 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1.1 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร เป็นเวลา 15 นาที

ส่วนที่ 2 (aqueous solution tetrazolium)

2,3,5-Triphenyl tetrazolium chloride	1.0	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากันนำไปฆ่าเชื้อโดยการกรอง

หมอมอาหารส่วนที่ 1 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้วเติมส่วนที่ 2 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรก่อนเทลงจานเลี้ยงเชื้อ

3. SM-1 (Granada, 1983)

ส่วนที่ 1 (basal medium) ใช้อาหาร TZC

ส่วนที่ 2 (aqueous solution) ของสารต่างๆ คือ

Crystal violet**	50	ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
Thimerosal*	5	ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
Polymyxin β sulfate*	100	ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
Tyrothricin*	20	ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
Chloromycetin*	5	ไมโครกรัม/มิลลิลิตร
Cycloheximide*	50	ไมโครกรัม/มิลลิลิตร หรือ
Chlorothalonil*	80	ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

* antibiotic และ fungicide ทำการฆ่าเชื้อโดยละลายใน 70% เอทานอล 1 มิลลิลิตร นาน 30 นาที แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

** ฆ่าเชื้อโดยการกรอง หรือนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที

สำหรับอาหาร **mSM-1** ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ใช้อาหาร TZC เป็น basal medium เติม crystal violet 50 ppm และ Polymyxin β sulfate 50 ppm ผสมให้เข้ากันดีก่อนเทอาหารลงจานเลี้ยงเชื้อ

4. Biovar medium สำหรับ *Ralstonia solanacearum* (Hayward, 1964)

Base

NH ₄ H ₂ PO ₄	1.0	กรัม
KCl	0.2	กรัม
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2	กรัม
Peptone	1.0	กรัม
Bromothymol blue 1% (w/v)	0.3	มิลลิลิตร
วุ้น	1.5	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ปรับ pH ให้เท่ากับ 7.1 อาหารจะมีสีน้ำเงินอมเขียว แบ่งใส่หลอดทดสอบหลอดละ 4.5 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

Carbohydrate solutions

เตรียม 10% ของน้ำตาล 6 ชนิดคือ maltose, lactose, cellobiose, mannitol, sorbital และ dulcitol

น้ำตาล dulcitol นึ่งฆ่าเชื้อที่ 115 องศาเซลเซียส 15 นาที

น้ำตาลชนิดอื่นๆ ทำการฆ่าเชื้อโดยการกรองผ่าน membrane (filtration)

อุ่นอาหาร base ในหลอดทดลองให้อุ่น 45 องศาเซลเซียส แล้วเติม 0.5 มิลลิลิตร ของ น้ำตาลแต่ละชนิดในแต่ละหลอด ก่อนนำมาทำการปลูกเชื้อ

ตรวจการเปลี่ยนสีของอาหาร หลังการปลูกเชื้อ 14 วัน ถ้าเชื้อสามารถใช้น้ำตาลได้จะ เปลี่ยนอาหารเป็นสีเหลือง

5. King's Medium B Agar (KB) (King และคณะ, 1954)

Protease peptone #3 (Difco)	5.0	กรัม
$K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$	1.5	กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	1.5	กรัม
Glycerol	15	มิลลิลิตร
วุ้น	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมในน้ำ แบ่งใส่ขวดปิดฝา นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1.1 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข

สูตรและวิธีเตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ตารางภาคผนวกที่ 1 องค์ประกอบของสูตรอาหาร Murashige และ Skoog (MS, 1962)

ชื่อสารภาษาไทย	ชื่อสารภาษาอังกฤษ	ปริมาณ (มก.)
แอมโมเนียมไนเตรด	NH_4NO_3	1650
แคลเซียมคลอไรด์	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440
แมกนีเซียมซัลเฟต	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	KH_2PO_4	170
โปแตสเซียมไนเตรด	KNO_3	1900
บอริกแอซิก	H_3BO_3	6.20
โคบอลตคลอไรด์	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025
คอปเปอร์ซัลเฟต	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025
แมงกานีสซัลเฟต	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.30
โปแตสเซียมไอโอไดด์	KI	0.83
โซเดียมโมลิบเดต	$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25
ซิงค์ซัลเฟต	$\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	8.60
โซเดียม อีดีทีเอ	$\text{Na}_2\text{-EDTA}$	37.30
เฟอร์รัสซัลเฟต	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.80
ไกลซีน	Glycine	2
ไมโยอินซิทอล	Myo- inositol	100
นิโคตินิกแอซิก	Nicotinic acid	0.50
ไพริดอกซีนไฮโดรคลอไรด์	Pyridoxine hydrochloride	0.50
ไทอามีนไฮโดรคลอไรด์	Thiamine hydrochloride	0.10
ซูโครส	Sucrose	30 กรัม
น้ำกลั่น	H_2O	1 ลิตร
วุ้น	Agar	6.2 กรัม
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) = 5.6		

ตารางภาคผนวกที่ 2 การเตรียม Stock อาหารปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร (1 ลิตร)

Stock No.	สารเคมี	ความเข้มข้น (เท่า)	ปริมาณสาร(กรัม) ใน Solution 1 ลิตร	ปริมาณสาร(มล.) ที่ใช้
1	NH_4NO_3	100	165	10
	KH_2PO_4	100	17	
	H_3BO_3	100	0.62	
	$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	100	2.23	
	$\text{ZnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	100	0.86	
	KI	100	0.083	
	$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	100	0.025	
	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	100	0.0025	
	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	100	0.0025	
2	KNO_3	100	190	10
3	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	100	44	10
4	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	100	37	10
5	$\text{Na}_2\text{-EDTA}$	100	3.73	10
	$\text{Fe SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	100	2.78	
6	Glycine	200	0.4	5
	Myo- inositol	200	20	
	Nicotinic acid	200	0.1	
	Pyridoxine HCl	200	0.1	
	Thiamine HCl	200	0.02	

ขั้นตอนการเตรียม Stock solution (ปริมาตร 1 ลิตร)

Stock 1

1. ชั่งสารใน Stock 1 ตามที่ปริมาณกำหนดไว้ในตารางที่ 1
2. นำสารแต่ละชนิดมาละลายด้วยน้ำกลั่น
3. เทสารละลายแต่ละชนิดผสมกัน
4. เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร เทใส่ภาชนะปิดฝาให้สนิท และนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น

Stock 2

1. ชั่งสาร KNO_3 190 กรัม
2. ละลายด้วยน้ำกลั่น เมื่อละลายดีแล้ว เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร
3. เทใส่ภาชนะปิดฝาให้สนิท และนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น

Stock 3

1. ชั่งสาร $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 44 กรัม
2. ละลายด้วยน้ำกลั่น เมื่อละลายดีแล้ว เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร
3. เทใส่ภาชนะ และนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น

Stock 4

1. ชั่งสาร $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 37 กรัม
2. ละลายด้วยน้ำกลั่น เมื่อละลายดีแล้ว เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร
3. เทใส่ภาชนะปิดฝาให้สนิท และนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น

Stock 5

1. ชั่งสาร $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 3.73 กรัม และ $\text{Fe SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2.78 กรัม
2. นำสารแต่ละชนิดมาละลายด้วยน้ำกลั่น
3. เทสารละลาย $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ และ $\text{Fe SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ผสมกัน เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร
4. เทใส่ภาชนะปิดฝาให้สนิท และนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น

Stock 6

1. ชั่งสารใน Stock 6 ตามที่ปริมาณกำหนดไว้ในตารางที่ 1
2. นำสารแต่ละชนิดมาละลายด้วยน้ำกลั่น
3. เทสารละลายแต่ละชนิดผสมกัน
4. เติมน้ำกลั่นให้ครบ 1 ลิตร เทใส่ภาชนะปิดฝาให้สนิท และนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น

วิธีการเตรียมอาหารสูตร Murashige และ Skoog (ปริมาตร 1 ลิตร)

1. ใส่น้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ลงในภาชนะ
 - ตวง Stock 1-5 จำนวน 10 มล. ใสลงในภาชนะ คนให้เข้ากัน
 - ตวง Stock 6 จำนวน 5 มล. ใสลงในภาชนะ คนให้เข้ากัน
2. เติมน้ำตาล 30 กรัม ลงในภาชนะ คนให้ละลาย
3. ในกรณีที่ต้องการใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต เช่น ออกซิน และ/หรือไซโตไคนิน ก็ใส่ช่วงนี้
4. เติมน้ำให้ครบ 1 ลิตร
5. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ระหว่าง 5.6-5.8 ด้วยโซดาไฟ (NaOH) 1 นอร์มอล (1N) หรือกรดเกลือ (HCl) 1 นอร์มอล (1N)
6. หากเป็นอาหารเหลว เทใส่ขวดแล้วปิดฝาขวดให้เรียบร้อยหากเป็นอาหารแข็งเติมน้ำ 6.2 กรัม ลงในภาชนะ นำไปต้มให้วุ้นละลายหมด เทใส่ขวด แล้วปิดฝาขวดให้เรียบร้อย
7. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดัน 1.1 กิโลกรัมต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาทีนำออกจากหม้อนึ่ง ทิ้งไว้ให้เย็นก่อนจะนำไปใช้

ภาคผนวก ก

วิธีการเก็บรักษาเชื้อบริสุทธิ์ *Raltonia solanacearum* แต่ละสายพันธุ์เพื่อการศึกษา

การเก็บเชื้อระยะสั้น

การเก็บรักษาเชื้อในหลอดอาหารแข็ง ทำโดยการ streak เชื้อลงในหลอดอาหารแข็ง บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิห้อง 24- 48 ชั่วโมง แล้วปิดปากหลอดโดยพันแผ่นพาราฟิล์มทับจุกสำลีเพื่อลดการระเหยน้ำ เก็บไว้ในตู้เย็น 10 องศาเซลเซียสและต้องทำการ subculture เชื้อทุก 7-10 วัน

การเก็บรักษาเชื้อในหลอดอาหารแข็งปิดทับด้วยพาราฟินเหลว โดยใช้อาหารแข็งที่มีผิวหน้าอาหารน้อย หลังบ่มเชื้อไว้ 24-48 ชั่วโมง แล้วนำมาเติมพาราฟินเหลวให้สูงท่วมเหนืออาหาร 1 เซนติเมตร พันปิดด้วยแผ่นพาราฟิล์ม และเก็บในตู้เย็น 10 องศาเซลเซียส

การเก็บเชื้อระยะยาว

การเก็บรักษาเชื้อในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ ใช้รูปและโคโลนีเดี่ยวของเชื้อบริสุทธิ์ผสมลงในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ แบ่งเก็บใส่หลอด microtube หลอดละ 1 มิลลิลิตร พันปิดฝาหลอดด้วยแผ่นพาราฟิล์ม เก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง หรือในตู้เย็นอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

การเก็บรักษาเชื้อในกลีเซอรอลโดยใช้รูปและโคโลนีเดี่ยวของเชื้อผสมลงในอาหารเหลว แบ่งใส่หลอด microtube หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร และเติมกลีเซอรอลหลอดละ 0.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันเก็บรักษาไว้ในช่องแช่แข็ง หรือที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

การเก็บรักษาเชื้อโดยวิธีแข็ง-แห้ง (freeze-dry หรือ lyophilization) เตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อ (cell suspension) ของเชื้อด้วย skimmed milk 10% แบ่งใส่หลอด ampule หลอดละ 100 ไมโครลิตร นำไปแช่แข็งที่ -20 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมงแล้วนำไปใส่เครื่อง lyophilize นาน 4-6 ชั่วโมง ผนึกปิดปากหลอด แล้วแบ่งเก็บแต่ละเชื้อในถุงกระดาษเก็บตัวอย่าง ตรวจสอบการปนเปื้อนของเชื้ออื่นก่อนเก็บไว้เพื่อการศึกษาในระยะยาว

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวสรินนา อ่ำรุ่ง
วัน เดือน ปี ที่เกิด	27 พฤศจิกายน 2518
สถานที่เกิด	อำเภอเมือง จังหวัดสุราษฎร์ธานี
ประวัติการศึกษา	มัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนสุราษฎร์พิทยา (2534) มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสุราษฎร์พิทยา (2537) วท.บ. (การจัดการศัตรูพืช) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2541)