

จุฬาเทพ วัชรไชยคุปต์ 2550: การศึกษาโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของข้าวโพดในประเทศไทย
ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โครงการ
สหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา ประชานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์ชัย โฉมรัตน์,
Ph.D. 105 หน้า

การเปรียบเทียบเชื้อแบคทีเรีย 13 สายพันธุ์ที่แยกได้จากข้าวโพดในประเทศไทย โดยเป็นเชื้อที่ให้
ผลบวกเมื่อทำปฏิกิริยากับชุดตรวจสำเร็จรูปที่จำเพาะต่อ *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* (Agdia®, USA) แต่
เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวทดสอบเปรียบเทียบกับเชื้อ *P. stewartii* subsp. *stewartii* LMG2715 สายพันธุ์
มาตรฐาน และเชื้อ *P. agglomerans* 4633 4045 และ 20569 *Erwinia chrysanthemi* *E. carotovora* subsp.
carotovora *Escherichia coli* ด้วยวิธีการอ้างอิงตามมาตรฐาน ได้แก่ การทดสอบแกรม การเคลื่อนที่ การเจริญบน
อาหารคัดเลือกจำเพาะ Nigrosine medium การทนเกลือ การเกิดปฏิกิริยา Hypersensitive response การเกิดโรค
ในต้นกล้าข้าวโพด ELISA ด้วย Agdia® kit การทำปฏิกิริยาด้วย PCR ด้วยคู่ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีน 16s-23s
rRNA/ITS *cpsD* และ *hrpS* และจากการจัดกลุ่มแบคทีเรียด้วยลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค AFLP การใช้แหล่ง
คาร์บอน 95 ชนิด รูปแบบของ soluble protein และ ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16s rDNA พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่
แยกได้จากข้าวโพดในประเทศไทยทั้ง 13 สายพันธุ์ไม่ใช่เชื้อ *P. stewartii* subsp. *stewartii* และจากข้อมูล
ศึกษาพบว่าเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากข้าวโพดในประเทศไทย ยกเว้นสายพันธุ์ XE 7 และสายพันธุ์ W เป็นเชื้อ
Pantoea agglomerans และการทำปฏิกิริยา PCR ด้วยคู่ไพรเมอร์ของยีน *hrpS* เท่านั้นที่ตรวจสอบเชื้อ *P.*
stewartii subsp. *stewartii* ได้อย่างจำเพาะเจาะจง

จากการเปรียบเทียบวิธีการตรวจสอบเชื้อ *P. stewartii* subsp. *stewartii* จากตัวอย่างพืชและเมล็ด ด้วย
direct-PCR Magnetic bead-PCR Ampli-disk PCR Real-time PCR และ ELISA พบว่าวิธีการ direct-PCR
ใช้คู่ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อยีน *hrpS* ของเชื้อ *P. stewartii* subsp. *stewartii* เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว มี
ความน่าเชื่อถือ และค่าใช้จ่ายต่อตัวอย่างต่ำกว่าวิธีอื่นๆ มีประสิทธิภาพในการตรวจเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนใน
ตัวอย่างพืชสด ที่มีปริมาณแบคทีเรียต่ำสุดอยู่ในช่วง 10^{-2} - 10^{-1} colony forming unit (cfu) ต่อปฏิกิริยา และมีความ
ไวในการตรวจสอบการติดเชื้อในกองเมล็ดพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเมล็ดในระดับต่ำถึง 0.02 – 0.007% ได้
ประสิทธิภาพในการตรวจเชื้อเพิ่มจาก 33 เป็น 83% ได้ด้วยวิธีแบ่งกองตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ (sub-sample) วิธีการที่
พัฒนามีประสิทธิภาพในการพัฒนาเป็นวิธีการตรวจเชื้อที่เป็นมาตรฐานสำหรับตรวจสอบเชื้อ *P. stewartii*
subsp. *stewartii* ได้

ลายมือชื่อนิติ

ลายมือชื่อประธานกรรมการ

๑๑ / ๓.๑. / ๒๕๕๐