จุฑาเทพ วัชระไชยคุปต์ 2550: การศึกษาโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของข้าวโพดในประเทศไทย ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา ประธานกรรมการที่ปรึกษา: ผู้ช่วยศาสตราจารย์วิชัย โฆสิตรัตน, Ph.D. 105 หน้า

การเปรียบเทียบเชื้อแบคทีเรีย 13 สายพันธุ์ที่แยกได้จากข้าวโพดในประเทศไทย โดยเป็นเชื้อที่ให้ผลบวกเมื่อทำปฏิกิริยากับชุดตรวจสำเร็จรูปที่จำเพาะต่อ *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* (Agdia®, USA) แต่เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวทดสอบเปรียบเทียบกับเชื้อ *P. stewartii* subsp. *stewartii* LMG2715 สายพันธุ์มาตรฐาน และเชื้อ *P. agglomerans* 4633 4045 และ 20569 *Erwinia chrysanthemi E.carotovora* subsp. *carotovora* *Escherichia coli* ด้วยวิธีการอ้างอิงตามมาตรฐาน ได้แก่ การติดสีแกรม การเคลื่อนที่ การเจริญบนอาหารคัดเลือกจำเพาะ Nigrosine medium การทนเกลือ การเกิดปฏิกิริยา Hypersensitive response การเกิดโรคในต้นกล้าข้าวโพด ELISA ด้วย Agdia® kit การทำปฏิกิริยาด้วย PCR ด้วยคู่ไพร์เมอร์ที่จำเพาะต่อยีน 16s-23s rRNA/ITS *cpsD* และ *hrpS* และจากการจัดกลุ่มแบคทีเรียด้วยลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค AFLP การใช้แหล่งคาร์บอน 95 ชนิด รูปแบบของ soluble protein และ ลำดับนิวคลีโอไทด์ของ 16s rDNA พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากข้าวโพดในประเทศไทยทั้ง 13 สายพันธุ์ไม่ใช่เชื้อ *P. stewartii* subsp. *stewartii* และจากข้อมูลที่ศึกษาพบว่าเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากข้าวโพดในประเทศไทย ยกเว้นสายพันธุ์ XE 7 และสายพันธุ์ W เป็นเชื้อ *Pantoea agglomerans* และการทำปฏิกิริยา PCR ด้วยคู่ไพร์เมอร์ของยีน *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 ใช้คู่ไพร์เมอร์ที่มีความจำเพาะต่อยีน *hrpS* ของเชื้อ *P. stewartii* subsp. *stewartii* เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว มีความน่าเชื่อถือ และค่าใช้จ่ายต่อตัวอย่างต่ำกว่าวิธีอื่นๆ มีประสิทธิภาพในการตรวจเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในตัวอย่างพืชสด ที่มีปริมาณแบคทีเรียต่ำสุดอยู่ในช่วง 10^2-10^3 colony forming unit (cfu) ต่อปฏิกิริยา และมีความไวในตรวจสอบการติดเชื้อในกองเมล็ดพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนเมล็ดในระดับต่ำถึง 0.02 – 0.007%ได้ ประสิทธิภาพในการตรวจเชื้อเพิ่มจาก 33 เป็น 83%ได้ด้วยวิธีแบ่งกองตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ (sub-sample) วิธีการที่พัฒนาขึ้นมีประสิทธิภาพในการพัฒนาเป็นวิธีการตรวจเชื้อที่เป็นมาตรฐานสำหรับตรวจสอบเชื้อ *P. stewartii* subsp. *stewartii* ได้

_____ _____ ___ / ___ / ___

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่อประธานกรรมการ