

ชื่อเรื่อง	การใช้เทคนิค PCR เพื่อตรวจสอบเชื้อ <i>Erwinia</i> spp. สาเหตุโรคน้ำและของผักภายหลังการเก็บเกี่ยว
ผู้แต่ง	ชลลดา โพธิ์ขำ
ที่มา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว) คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. 94 หน้า. 2548.
คำสำคัญ	<i>E. carotovora</i> ; <i>E. Chrysanthemi</i> ; <i>pel</i> genes; pectate lyase; polygalacturonase; cellulose; protease

บทคัดย่อ

เชื้อแบคทีเรีย *Erwinia* spp. ที่แยกได้จากผัก 10 ชนิดที่แสดงอาการเน่าและ ได้แก่ กะหล่ำดอก กะหล่ำปลี ผักกาดขาว ผักกวางตุ้ง ผักปวยเล้ง แครอท หัวไชเท้า แดงกวา มะเขือเทศ และหน่อไม้ฝรั่ง ได้ถูกนำมาตรวจสอบสายพันธุ์ของเชื้อสาเหตุโรคด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ชุด primer Y ซึ่งออกแบบมาจาก conserved sequences ของยีน *pelB* และ *pel153* ของ *Erwinia carotovora* และสามารถเพิ่มชิ้นส่วนของยีน *pel* ของ *E. Carotovora* ได้ขนาด 434 bp และ primer ADE ซึ่งออกแบบมาจาก conserved sequences ของยีน *pelA*, *pelD*, *pelE* ของ *Erwinia chrysanthemi* และสามารถเพิ่มชิ้นส่วนของยีน *pel* ของ *E. Chrysanthemi* ได้ขนาด 420 bp พบว่ามีเพียงชุด primer Y ที่มีความจำเพาะต่อลำดับนิวคลีโอไทด์บนชิ้นส่วน DNA ของ *Erwinia* spp. ทั้ง 10 สายพันธุ์ โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ของทุกๆ ผลผลิต PCR จากชุด primer Y ที่ตรวจสอบได้มี similarity กับลำดับ นิวคลีโอไทด์บนยีน *pel* ของ *E. carotovora* ลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อ *Erwinia* spp. ที่แยกได้จากผักปวยเล้งและกะหล่ำดอกที่ similarity กับลำดับนิวคลีโอไทด์บนยีน *pelB* ของ *E. carotovora* เท่ากับ 90 และ 94% สำหรับลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อ *Erwinia* spp. ที่แยกได้จากผักชนิดอื่นๆ มี similarity กับลำดับนิวคลีโอไทด์บนยีน *pel153* ของ *E. carotovora* อยู่ในช่วง 90-96% ผลการศึกษาการจัดจำแนกกลุ่มของลำดับนิวคลีโอไทด์บนยีน *pel* ของ *Erwinia* spp. ทั้ง 10 สายพันธุ์ด้วยการวิเคราะห์ phylogenetic tree แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *Erwinia* spp. ทั้ง 10 สายพันธุ์ที่แยกได้จากผักชนิดต่างๆ จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับเชื้อ *E. carotovora* การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคน้ำและและความรุนแรงของเชื้อ *E. carotovora* โดยการปลูกเชื้อลงบนผักกาดขาวพบว่าเชื้อ *E. carotovora* ที่แยกได้จากผักทั้ง 10 ชนิด สามารถทำให้เกิดโรคน้ำและบนกาบผักกาดขาวได้แต่มีระดับความรุนแรงของการเกิดโรคแตกต่างกัน โดยเชื้อ *E. carotovora* สายพันธุ์ที่แยกได้จากแครอทสามารถทำให้เกิดโรคน้ำและได้รุนแรงที่สุด และ การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ pectate lyase, polygalacturonase, cellulose และ protease โดยวิธี

spectrophotometer และวิธี cup plate พบว่าเชื้อ *E. carotovora* ที่แยกได้จากผักต่างชนิดกัน มีกิจกรรมของ เอนไซม์ชนิดต่างๆ แตกต่างกัน โดยเชื้อ *E. carotovora* ที่แยกได้จากแครอทมีกิจกรรมของเอนไซม์ทั้ง 4 ชนิด สูงที่สุด