

การปรับปรุงวิธีการตรวจหาแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* ในหัวพันธุ์ปทุมมาโดยใช้ชุดตรวจสอบ
(GLIFT kit) โรคเหี่ยวของปทุมมา

Improvement method for detection of *Ralstonia solanacearum* in Curcuma seed using
Curcuma bacterial wilt GLIFT kit

ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล^{๑/}
รุ่งนภา ทองเครื่อง^{๑/}

ดารุณี ปุญญพิทักษ์^{๑/}
วิภาดา ทองทักษิณ^{๒/}

ทิพวรรณ กันหาญาติ^{๑/}
สุธามาศ ณ น่าน^{๓/}

บทคัดย่อ

ศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างหัวพันธุ์ปทุมมาที่มีประสิทธิภาพโดยการนำหัวพันธุ์ปทุมมา มาตัดชิ้นส่วน นำเอาเฉพาะส่วนท่อน้ำ ท่ออาหารมาตรวจหาเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ได้ดีที่สุด ทดสอบบัฟเฟอร์ต่างๆ ในการทำ GLIFT kit ได้แก่ coating buffer phosphate buffer citrate buffer Tris buffer ได้สารละลาย buffer ที่เหมาะสมในการทำชุดตรวจสอบ ทดสอบความเข้มข้นของแอนติซีรัมที่ใช้ในการผลิตชุดตรวจสอบ ได้ความเข้มข้นของแอนติซีรัมที่ใช้ในการผลิตชุดตรวจสอบ ๑:๕๐๐ ทดสอบความเฉพาะเจาะจงของแอนติซีรัม พบว่า มีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อแบคทีเรีย RS ที่ความเข้มข้นต่ำสุด ๑x๑๐^๓ cfu/ml ทดสอบ buffer ต่างๆกับ กระดาษชนิดต่างๆในการทำชุด GLIFT kit พบว่า buffer สามารถใช้ได้ดีกับกระดาษไนโตรเซลูโลส AE๔๔ โดยมีความไวในการตรวจ ๑๐x๑๐^๓ cfu/ml ทำการปรับปรุงขนาดกระดาษของส่วน Absorbent Pad ของชุดตรวจสอบให้ยาวขึ้น ๐.๕ เซนติเมตร ข ทำให้การไหลของสารในแนวตั้งดีขึ้น สามารถตัดชุดตรวจสอบเป็นแผ่น แล้วจุ่มลงไปในสารละลายเชื้อแบคทีเรียได้เลยโดยไม่ต้องใส่ลงในตลับ เก็บหัวพันธุ์ปทุมมาจากแปลงจังหวัด เชียงใหม่ นำไปทดสอบชุดตรวจสอบ โดยเตรียมตัวอย่างหัวพันธุ์เอาเฉพาะส่วนท่อน้ำท่ออาหารมาแช่ใน buffer นาน ๕ นาที จากนั้นนำชุดตรวจสอบแช่ลงในตัวอย่าง ภายใน ๕-๑๐ นาที ตัวอย่างที่มีเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* จะปรากฏแถบสีม่วงของ test line และ control line ในขณะที่ ตัวอย่างที่ไม่มีเชื้อเกิดแถบสี ม่วงเฉพาะ control line ผลการทดสอบกับหัวพันธุ์ปทุมมาพบว่าสามารถตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในหัวพันธุ์ได้ผลดีโดยสามารถตรวจได้ในระดับ ๑๐^๔ cfu/ml

^{๑/} กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

^{๒/} สถาบันวิจัยพืชสวน

^{๓/} ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย

๖. คำนำ

ปทุมมาเป็นไม้พื้นเมืองของประเทศไทยที่นิยมนำไปเป็นไม้ประดับและไม่ตัดดอก มีการส่งออกหัวพันธุ์ปทุมมาไปขายยังต่างประเทศเป็นจำนวนมาก ปัญหาสำคัญที่พบในการส่งออกหัวพันธุ์ปทุมมามีโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (syn. *Pseudomonas solanacearum*) ระบาดทำความเสียหายให้กับเกษตรกรและผู้ส่งออก แบคทีเรียชนิดนี้จัดเป็นแบคทีเรียสาเหตุโรครากเน่าที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่ง ทำให้เกิดโรคเหี่ยว (wilt) ก่อความเสียหายกับพืชปลูกหลายชนิด ทั้งที่เป็นพืชเศรษฐกิจจนถึงวัชพืชมากกว่า ๒๐๐ ชนิด โดยเฉพาะในประเทศไทยมีการปลูกพืชหลายชนิดที่พืชเศรษฐกิจของประเทศ และเป็นพืชอาศัยของแบคทีเรียชนิดนี้ได้แก่ มันฝรั่ง ขิง ปทุมมา เป็นต้น *R. solanacearum* เป็นแบคทีเรียทางดินสามารถอยู่ในดินได้เป็นระยะเวลานาน นอกจากนี้แบคทีเรียชนิดนี้สามารถติดไปกับหัวพันธุ์หรือส่วนขยายพันธุ์ได้ ทำให้การแพร่ระบาดของโรคนี้จึงสามารถแพร่ได้อย่างรวดเร็วและทั่วประเทศเมื่อมีการขนย้ายส่วนขยายพันธุ์ของพืชที่มีการปนเปื้อนของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ไปปลูกในที่ต่าง ๆ ความรุนแรงของโรคขึ้นอยู่กับชนิดของพืชที่เชื้อเข้าทำลายสภาพแวดล้อม และสายพันธุ์ (strain) ของแบคทีเรีย นอกจากนี้แบคทีเรีย *R. solanacearum* ยังเป็นศัตรูพืชที่สำคัญทางกักกันพืช ถ้าพบแบคทีเรียชนิดนี้ติดไปกับหัวพันธุ์ที่ส่งออก หัวพันธุ์เหล่านั้นจะถูกเผาทำลายทันที ทำให้ไม่สามารถส่งออกได้

นอกจากนี้เนื่องจากแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว *R. solanacearum* สามารถติดไปกับหัวพันธุ์ได้ เมื่อในไปปลูกในฤดูต่อไปจะเกิดการระบาดของโรครุนแรง ฉะนั้นการใช้หัวพันธุ์ปทุมมาปลอดโรคเป็นวิธีการหนึ่งที่จะลดการระบาดของโรคหรือการเกิดโรคเหี่ยวในแปลงปลูก ซึ่งการคัดเลือกหาหัวพันธุ์ปลอดโรคต้องใช้เครื่องมือและวิธีการในการตรวจสอบที่รวดเร็ว ญัฐริมา et al. (๒๕๔๓) ได้พัฒนาชุดตรวจสอบ ELISA kit สำหรับตรวจหาแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในหัวพันธุ์ปทุมมา ซึ่งชุดตรวจสอบสำเร็จรูปดังกล่าวสามารถนำไปใช้ในภาคสนามได้แต่ยังมีความยุ่งยาก และต้องใช้อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ในการตรวจ ทำให้เกษตรกรนำไปใช้ไม่สะดวก สุรภี et al. (๒๕๕๑) ได้พัฒนาชุดตรวจสอบ GLIFT kit ตรวจหาแบคทีเรีย *R. solanacearum* ซึ่งสามารถตรวจเห็นผลภายใน ๕ นาที แต่เมื่อในไปใช้ตรวจหาแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในหัวพันธุ์ พบว่าแบ่งที่อยู่ในหัวพันธุ์ทำปฏิกิริยากับกระดาษรองรับในชุดตรวจสอบทำให้เกิดการผิดพลาดในการตรวจสอบได้ ดังนั้นจึงควรปรับปรุงวิธีการตรวจ ตลอดจนสารละลายที่ใช้กับตัวอย่างให้มีประสิทธิภาพ และง่ายต่อการใช้งาน เพื่อขยายการใช้งานชุดตรวจสอบในขบวนการผลิตหัวพันธุ์ปทุมมาของเกษตรกร

๗. วิธีดำเนินการ :

อุปกรณ์

- อุปกรณ์มาตรฐานในห้องปฏิบัติการแบคทีเรีย ได้แก่ ตู้เชื้อเชื้อชนิดปลอดเชื้อ
- อุปกรณ์วิทยาศาสตร์ เช่น ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ตู้เย็นสำหรับเก็บตัวอย่าง หม้อนึ่งความดันไอน้ำ เครื่องเขย่าชนิดควบคุมอุณหภูมิ เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ตู้อบ (oven)
- เครื่องแก้วและอุปกรณ์อื่นๆที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ เช่น เครื่องชั่ง, pH meter เป็นต้น
- สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ
- วัสดุการเกษตร ได้แก่ ดิน ทราย ต้นไม้ ปุ๋ย หัวพันธุ์ปทุมมา

วิธีการ

ศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างหัวพันธุ์ปทุมมา ทดสอบวิธีการเตรียมตัวอย่างจากหัวพันธุ์ปทุมมา จำนวน

๖ วิธีการ ได้แก่

- ๑) ส่วนเนื้อเยื่อทั้งหมดของหัวพันธุ์ บดละเอียดใน PBS buffer

- ๒) ส่วนเนื้อเยื่อทั้งหมดของหัวพันธุ์ แช่ใน PBS buffer ๕ นาที
- ๓) เฉพาะส่วนท่อน้ำท่ออาหารของหัวพันธุ์ บดละเอียดใน PBS buffer
- ๔) เฉพาะส่วนท่อน้ำท่ออาหารของหัวพันธุ์ แช่ใน PBS buffer ๕ นาที
- ๕) ส่วนรากสะสมอาหารของหัวพันธุ์ บดละเอียดใน PBS buffer
- ๖) ส่วนรากสะสมอาหารของหัวพันธุ์ แช่ใน PBS buffer ๕ นาที

ทดสอบสารละลาย(buffer) ที่ใช้ในชุดตรวจสอบ ทำการทดสอบชนิดสารละลายที่ใช้เป็นตัวละลาย น้ำบาดตัวอย่างที่ใช้ประกอบในชุดตรวจสอบ จำนวน ๔ ชนิด ได้แก่

- ๑) PBS buffer,
- ๒) Citrate buffer
- ๓) TBS buffer
- ๔) coating buffer

การทดสอบชนิดของ membrane ที่เหมาะสมและการทดสอบปฏิกิริยาของชุดตรวจสอบกับ แบคทีเรีย *R. solanacearum*

ทำการทดสอบ membrane ที่เหมาะสมต่อการเกิดปฏิกิริยาของ IgG ของแบคทีเรีย *R. solanacearum* บนเส้น test line โดยทดสอบกับ membrane ๔ ชนิด ได้แก่

- ๑) membrane S&S AE ๑๐๐ ขนาด ๑๒ ไมโครเมตร
- ๒) membrane S&S AE ๙๙ ขนาด ๘ ไมโครเมตร
- ๓) membrane Millipore HC ๑๐๐ ขนาด ๑๐ ไมโครเมตร
- ๔) membrane Immunopore FP ๑๐๐ ขนาด ๕ ไมโครเมตร

นำแผ่น membrane ขนาดกว้าง ๒.๕ เซนติเมตร ตัดให้มีความยาว ๑๘ เซนติเมตร ทำเครื่องหมายด้วย ดินสอที่ด้านบนของแผ่น เป็นตำแหน่ง control line ที่อยู่ห่างจากริมด้านบนของแผ่น membrane ๑ เซนติเมตร และเส้น test line อยู่ถัดลงมาจาก control line ๐.๕ เซนติเมตร ใช้ปากกาหมึกซึม (ขนาดปาก ๐.๕-๐.๗ มิลลิเมตร) จุ่ม GAR (Goat anti rabbit เข็มข้นอัตรา ๑:๓) ปริมาณ ๔๐ ไมโครลิตร/แผ่น ลากเส้น control line โดยใช้ไม้บรรทัดวางเป็นแนวเส้นตรง ตะปากลากและลากเส้นจากซ้ายไปทางขวาช้า ๆ จนสุด ปลาย membrane ทั้งนี้ไม่ต้องออกแรงกด หากปากกาแห้งให้จุ่ม GAR ใหม่ แล้วลากเส้นต่อ ให้ขนาดเส้นที่ เปียกบนแผ่น membrane มีขนาดเท่า ๆ กันทั้งเส้น ใช้ปากกาด้ามใหม่ (ขนาดปาก ๐.๕-๐.๗ มิลลิเมตร) จุ่มซับ IgG ของแบคทีเรีย *R. solanacearum* (เข็มข้น ๑ มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาณ ๔๐ ไมโครลิตร/แผ่น ลากเส้น test line ปฏิบัติเช่นเดียวกันกับ control line นำไปอบแห้งที่ ๓๗ องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน ๒ ชั่วโมง

การประกอบเป็นชุดตรวจสอบ GLIFT

- วาง membrane ที่มี test line และ control line ลงในช่องที่กำหนดบนแผ่นพลาสติกการรองรับ (plastic backing polymer) ที่มีขนาด ๖x๑๘ เซนติเมตร

- วางแผ่น CRP ที่ป้ายด้วย IgG ของแบคทีเรีย *R. solanacearum* ติดฉลากด้วยอนุภาคทอง ให้เกยทับ membrane ประมาณ ๑-๒ มิลลิเมตร

- วางแผ่นรับตัวอย่าง (Sample application pad) เกยแผ่น CRP ๑-๒ มิลลิเมตร
- วางแผ่นกระดาษซับชนิดหนา (wicking paper) เกยทับแผ่น NCM ๑-๒ มิลลิเมตร
- ตัดชุดที่ประกอบเสร็จแล้วออกเป็นเส้นให้มีความกว้าง ๐.๔ เซนติเมตร
- บรรจุชุดตรวจสอบลงตลับพลาสติก นำไปทดสอบปฏิกิริยากับแบคทีเรีย *R. solanacearum*
- เก็บ GLIFT kit ไว้ในถุงอลูมิเนียมฟอล์ย และเก็บที่อุณหภูมิห้องที่แห้ง

- ทดสอบปฏิกิริยาของชุดตรวจสอบกับแบคทีเรีย *R. solanacearum* นำชุดตรวจที่เตรียมไว้ข้างต้นมาทำการทดสอบปฏิกิริยากับแบคทีเรีย *R. solanacearum* โดยนำสารแขวนลอยแบคทีเรีย *R. solanacearum* ที่ระดับความเข้มข้น 10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร หยดลงบนแผ่นรับตัวอย่างของชุดตรวจสอบจำนวน ๓ หยดต่อตลับ ตรวจผลของการเกิดปฏิกิริยาบน membrane ทั้ง ๔ ชนิดเปรียบเทียบกับ

ทดสอบความเฉพาะเจาะจงของชุดเตรียมสอบ ทำการทดสอบความเฉพาะเจาะจงกับแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในหัวพันธุ์ปทุมมา ทดสอบกับแบคทีเรียอื่นๆ ที่อยู่ในหัวปทุมมา โดยนำชุดตรวจที่เตรียมไว้ข้างต้นมาทำการทดสอบปฏิกิริยากับแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ที่แยกได้จากหัวพันธุ์ปทุมมา และแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ที่สามารถเกิดโรคกับหัวพันธุ์ปทุมมาได้ ได้แก่ *Erwinia carotovora* , *E. chrysanthemi* เปรียบเทียบกับแบคทีเรีย *R. solanacearum* นำสารแขวนลอยแบคทีเรียต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้น 10^8 หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร หยดลงบนแผ่นรับตัวอย่างของชุดตรวจสอบจำนวน ๓ หยดต่อตลับ ตรวจผลของการเกิดปฏิกิริยา ถ้าปฏิกิริยาเป็นบวกจะปรากฏแถบสีทั้ง control line และ test line หากปฏิกิริยาเป็นลบจะปรากฏสีเฉพาะ control line เท่านั้น

ทดสอบความไวในการตรวจสอบ นำชุดตรวจที่เตรียมไว้ข้างต้นมาทำการทดสอบประสิทธิภาพของความไว (sensitivity) ในการตรวจแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในหัวพันธุ์ปทุมมา โดยนำสารแขวนลอยแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในน้ำคั้นปทุมมาที่ระดับความเข้มข้น 10^{-1} - 10^{-8} หน่วยโคโลนี/มิลลิลิตร แทนหัวพันธุ์ปทุมมา หยดลงบนแผ่นรับตัวอย่างของชุดตรวจสอบจำนวน ๓ หยดต่อตลับ ตรวจผลของการเกิดปฏิกิริยาในกรณีตัวอย่างที่ตรวจสอบมีแบคทีเรีย *R. solanacearum* จะปรากฏแถบสีทั้ง control line และ test line หากไม่มีแบคทีเรีย *R. solanacearum* จะปรากฏสีเฉพาะ control line เท่านั้น

ทดสอบการใช้ชุดตรวจสอบในแปลงปลูกปทุมมา เป็นการนำชุดตรวจสอบไปใช้จริงในแปลงปลูกปทุมมา

เวลาและสถานที่

ต.ค.๕๔ - ก.ย.๕๖ ที่กลุ่มงานבקเทรวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย กรมวิชาการเกษตร และ แปลงเกษตรกร จังหวัดเชียงราย

๘. ผลการทดลองและวิจารณ์

ศึกษาวิธีการเตรียมตัวอย่างหัวพันธุ์ปทุมมาที่มีประสิทธิภาพโดยการนำหัวพันธุ์ปทุมมา มาตัดชิ้นส่วนนำเอาเฉพาะส่วนท่อน้ำ ท่ออาหารมาตรวจหาเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ได้ดีที่สุด ทดสอบบัฟเฟอร์ต่างๆในการทำ GLIFT kit ได้แก่ coating buffer phosphate buffer citrate buffer Tris buffer ได้สารละลายbuffer ที่เหมาะสมในการทำชุดตรวจสอบ ทดสอบความเข้มข้นของแอนติซีรัมที่ใช้ในการผลิตชุดตรวจสอบ ได้ความเข้มข้นของแอนติซีรัมที่ใช้ในการผลิตชุดตรวจสอบ $1:500$ ทดสอบความเฉพาะเจาะจงของแอนติซีรัม พบว่า มีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อแบคทีเรีย RS ที่ความเข้มข้นต่ำสุด 1×10^3 cfu/ml ทดสอบ buffer ต่างๆกับกระดาศชนิดต่างๆในการทำชุด GLIFT kit พบว่า buffer สามารถใช้ได้ดีกับกระดาศไนโตรเซลูโลส AE๔๔ โดยมีความไวในการตรวจ 1×10^3 cfu/ml

ทำการปรับปรุงขนาดกระดาศของส่วนAbsorbent Pad ของชุดตรวจสอบ ให้ยาวขึ้น ๐.๕ เซนติเมตร ทำให้การไหลของสารในแนวตั้งดีขึ้น สามารถตัดชุดตรวจสอบเป็นแผ่นแล้วจุ่มลงไปในสารละลายเชื้อแบคทีเรียได้เลย นำไปทดสอบชุดตรวจสอบโดยเก็บหัวพันธุ์ปทุมมาจากแปลงจังหวัดเชียงใหม่ มาตรวจทดสอบชุดตรวจสอบโดยเตรียมตัวอย่างหัวพันธุ์เอาเฉพาะส่วนท่อน้ำท่ออาหารมาแช่ใน buffer นาน ๕ นาที เพื่อให้เชื้อแบคทีเรียออกมาจากท่อน้ำท่ออาหาร จากนั้นนำชุดตรวจสอบแช่ลงในตัวอย่าง ภายใน ๕-๑๐ นาที ตัวอย่างที่มี

เชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* จะปรากฏแถบสีม่วงของ test line และ control line ในขณะที่ตัวอย่างที่ไม่มีเชื้อเกิดแถบสีม่วงเฉพาะ control line ผลการทดสอบกับหัวพันธุ์ปทุมมาพบว่าสามารถตรวจหาเชื้อแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในหัวพันธุ์ได้ผลดีโดยสามารถตรวจได้ในระดับ 10^4 cfu/ml

๙. สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

วิธีการเตรียมตัวอย่างหัวพันธุ์ปทุมมาที่มีประสิทธิภาพและดีที่สุดคือการนำหัวพันธุ์ปทุมมา มาตัดชิ้นส่วน นำเอาเฉพาะส่วนท่อน้ำ ท่ออาหารมาตรวจหาแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum*

ทำการปรับปรุงขนาดกระดาดให้เหมาะสมโดยทดสอบการปรับขนาดของกระดาดกรองที่ใช้ในการประกอบชุด GLIFT kit โดยปรับให้ยาวขึ้น ๐.๕ ซม. ทำให้การไหลของสารในแนวตั้งดีขึ้น สามารถตัดชุดตรวจสอบเป็นแผ่นแล้วจุ่มลงไปในการละลายเชื้อแบคทีเรียได้เลยโดยไม่ต้องใส่ลงในตลับ นำชุดตรวจสอบที่ปรับปรุงแล้วไปทดสอบการตรวจหาแบคทีเรีย *R. Solanacearum* ในหัวพันธุ์ปทุมมา สามารถตรวจหาแบคทีเรีย *R. Solanacearum* ในหัวพันธุ์ได้ผลดีโดยสามารถตรวจได้ในระดับ 10^4 cfu/ml

๑๐. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ได้ชุดตรวจสอบโรคเหี่ยวและวิธีการตรวจหาแบคทีเรีย *R. solanacearum* ในหัวพันธุ์ปทุมมาที่ง่ายต่อการใช้และมีประสิทธิภาพ สามารถนำไปใช้ในสภาพแปลงได้ดี สามารถเห็นผลภายใน ๕ นาที นำไปขยายผลในขบวนการผลิตหัวพันธุ์ปทุมมาของเกษตรกรให้ปลอดจากแบคทีเรีย *R. solanacearum* ทำให้สามารถควบคุมโรคเหี่ยวที่อาจติดมากับหัวพันธุ์ปทุมมาทำให้ได้ผลผลิตดี

๑๑. คำขอบคุณ

๑๒. เอกสารอ้างอิง

- ณัฐธิมา ไชยิตเจริญกุล และ วนิตา ฐิตะฐาน. ๒๕๔๑. ศึกษาเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวของปทุมมา. รายงานผลงานวิจัย ปี ๒๕๔๑. กลุ่มงานבקเทรวิทยา กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ หน้า ๒๔-๓๕.
- ณัฐธิมา ไชยิตเจริญกุล วนิตา ฐิตะฐาน และอรทัย เอื้อตระกูล ๒๕๔๓. ชุดตรวจสอบโรคเหี่ยวของปทุมมา. ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา ปีที่๑๐ เล่มที่๓ :๕๗-๖๑.
- วิภาดา ทองทักษิณ และ นิพนธ์ สุขวิบูลย์. ๒๕๓๗. ปทุมมา. กสิกร. ๖๗(๕):๔๑๕-๔๑๙.
- สุนตรา ภาวิจิตร , ณัฐธิมา บุญวัฒน์ และนิยมรัฐ ไตรศรี. ๒๕๓๘. โรคหัวเน่าของกระเจียวและปทุมมา ข่าวสารโรคพืชและจุลชีววิทยา ๕(๔) : ๙๒
- สุรวิช วรรณไกรโรจน์. ๒๕๓๗ ปทุมมาและกระเจียว. น.๕๘-๗๒. ใน : ไม้ตัดดอกเขตร้อน. กรมส่งเสริมการเกษตร. กรุงเทพฯ.๑๕๙ น.
- สุรวิช วรรณไกรโรจน์. ๒๕๓๙. ปทุมมาและกระเจียว (Curcuma) ไม้ดอกไม้ประดับ. สำนักพิมพ์บ้านและสวน.บริษัทอมรินทร์พริ้นติ้งแอนด์พับลิชชิ่ง จำกัด,กรุงเทพฯ.๑๒๘ น.
- สุรภี กิตติยะอังกูร วันเพ็ญ ศรีทองชัย ณัฐธิมา ไชยิตเจริญกุล และ เยาวภา ตันตวานิช. ๒๕๕๑. รายงานผลวิจัยเรื่องเต็ม “โครงการผลิต GLIFT kit เพื่อวินิจฉัยโรคไวรัสและแบคทีเรียของพืชเศรษฐกิจเชิงพาณิชย์” กรมวิชาการเกษตร. ๖๗ หน้า.