1. **ชื่อโครงการ** การผลิต GLIFT kits เพื่อวินิจฉัยโรคไวรัสและแบคทีเรียของพืชเศรษฐกิจเชิงพาณิชย์

2. **หัวหน้าโครงการ** สุรภี กีรติยะอังกูร

   **คณะผู้ดำเนินงาน** วันเพ็ญ ศรีทองชัย ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล เยาวภา ตันติวานิช

3. **ระยะเวลาโครงการ** มีนาคม 2549-กันยายน 2550

4. **งบประมาณ** 696,500 บาท

5. **บทคัดย่อ**

กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช ได้พัฒนาการผลิตชุดตรวจสอบอย่างง่ายและอ่านผลได้รวดเร็ว ด้วยวิธี Gold labeled IgG flow technique (GLIFT) เป็นชุดตรวจสอบไวรัสและแบคทีเรีย 11 ชนิด 2 Strains ในพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ เพื่อให้เกษตรกร และเจ้าหน้าที่ที่เกี่ยวข้องสามารถนำไปตรวจสอบโรคได้เอง ขั้นตอนในขบวนการผลิตแบ่งเป็น 9 ขั้นตอน เริ่มจากการนำแอนติซีรัมของเชื้อแต่ละชนิดมาสกัด IgG ปรับให้มีความเข้มข้นของ IgG เป็น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วทดสอบคุณภาพทาง Immunology และความเฉพาะเจาะจงของ IgG ต่อเชื้อด้วยวิธี NCM-ELISA โดยเจือจาง IgG เป็น 1:500 เท่ากัน ผลการทดสอบ IgG ของเชื้อทั้ง 11 ชนิด พบว่า ให้ปฏิกิริยาที่ดีเป็นสีชมพูเข้มกับตัวอย่างพืชเป็นโรคเท่านั้นและไม่มีปฏิกิริยากับใบพืชปกติ นำ IgG แต่ละชนิดมาติดสลากด้วยอนุภาคทอง (Colloidal gold) ขนาด 40 นาโนเมตร อยู่ในรูปสารละลายที่เคยใช้ได้ดีมาแล้วกับ CyMV ทดสอบปริมาณการใช้ที่เหมาะสมของทั้ง IgG และ IgG ติดสลากอนุภาคทองไปพร้อมๆ กับการทดสอบชนิดของเมมเบรนที่เหมาะสมต่อเชื้อแต่ละชนิด พบว่า เชื้อไวรัส *Potato virus x* (PVX), *Potato virus Y* (PVY), *Potato virus S* (PVS), *Soybean mosaic virus* (SMV) และ *Tobacco mosaic virus* (TMV) อัตราที่เหมาะสมคือใช้ IgG ทำ Test line 1 ไมโครลิตรต่อเซนติเมตร คู่กับ IgG ติดสลากอนุภาคทอง 2 ไมโครลิตรต่อเซนติเมตร บนเมมเบรน S&S AE 99 ส่วน *Passion fruit woodiness virus* (PWV), *Papaya ringspot virus* (PRSV), *Ralstonia solanacearum* (RS) และ *Acidovorax avenae* subsp. *citrulli* (AC) ต้องใช้ IgG ทำ Test line 1.5 ไมโครลิตรต่อเซนติเมตร คู่กับ IgG ติดสลากอนุภาคทอง 2 ไมโครลิตรต่อเซนติเมตร บนเมมเบรน S&S AE 99 จึงเหมาะสมให้ปฏิกิริยาที่ test line ที่ชัดเจน สำหรับ *Potato virus Y* : strain $PVY^{-o}$ และ $PVY^{-n}$ อัตราเหมาะสมอยู่ที่ใช้ IgG ทำ Test line 1 ไมโครลิตรต่อเซนติเมตร คู่กับ IgG ติดสลากอนุภาคทอง 1.5 ไมโครลิตรต่อเซนติเมตร บนเมมเบรน S&S AE 99 ทุกชุดใช้ Goat anti-rabbit ทำ Control line ในปริมาณ 1 ไมโครลิตรต่อเซนติเมตร ยกเว้น Strain $PVY^{-o}$ และ $PVY^{-n}$ ซึ่งเป็น Monoclonal antibody จึงต้องใช้ Goat anti-mouse ทำ Control line ในปริมาณ 1 ไมโครลิตรต่อเซนติเมตร การทดสอบประสิทธิภาพความไว (Sensitivity) พบว่า ชุดตรวจ PVX, PVY, TMV และ PWV สามารถตรวจพบไวรัสได้ที่น้ำคั้นเจือจางถึง 1:2,000 ชุดตรวจ SMV, $PVY^{-o}$ และ $PVY^{-n}$ ตรวจได้ที่น้ำคั้นเจือจาง 1:1,000 ชุดตรวจ PVS และ PRSV ตรวจได้ที่น้ำคั้นเจือจาง 1:500 ส่วนชุดตรวจแบคทีเรีย RS และ AC สามารถตรวจแบคทีเรียที่เจือจาง $10^8$ และ $10^4$ cfu ได้ ชุดตรวจสอบสามารถเก็บไว้ในสภาพแห้งที่อุณหภูมิห้องได้นาน 2 ปี โครงการนี้ได้ผลิตชุดตรวจสอบไวรัสของกล้วยไม้ และได้ยื่นขอจดสิทธิบัตรชุดตรวจสอบไวรัสพืช ตลอดจน เผยแพร่และถ่ายทอดเทคโนโลยีดังกล่าว

# ตัวอย่าง GLIFT kits เพื่อวินิจฉัยโรคไวรัสและแบคทีเรียของพืชเศรษฐกิจเชิงพาณิชย์

สำนักวิจัยและพัฒนาการอารักขาพืช