หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาเชื้อ Dasheen mosaic virus บนไม้ประดับวงศ์ *Araceae*
นักศึกษา	นายชูศักดิ์ แขพิมาย
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ดร.นวลพรรณ งามยี่สุ่น
ระดับการศึกษา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช
ภาควิชา	เทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.	2540

บทคัดย่อ

การสำรวจโรคไวรัสในไม้ประดับจากแหล่งปลูกในเขตกรุงเทพฯ และปริมณฑลพร้อมทั้งเก็บตัวอย่างจากพืชที่แสดงอาการการเข้าทำลายของไวรัสและโรคคล้ายไวรัส เพื่อตรวจสอบหาอนุภาคของไวรัสเชื้อสาเหตุโรค ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน โดยวิธี dip technique ด้วยวิธีการ derrick และ decorate จากน้ำคั้นของพืชที่แสดงอาการของไวรัสร่วมกับเซรุ่มของเชื้อ dasheen mosaic virus (DMV) ที่กำลังขยาย 27,000 เท่า พบอนุภาคไวรัสซึ่งมีความยาว 750 นาโนเมตร ลักษณะตัวยาวคดงอคล้ายเส้นด้าย (flexuous rod) อนุภาคถูกเคลือบโดยรอบด้วยปฏิกิริยาเฉพาะระหว่างเชื้อสาเหตุกับเซรุ่ม จึงสรุปได้ว่าเชื้อไวรัสนี้ คือ dasheen mosaic virus

การศึกษาชนิดของพืชอาศัยของเชื้อสาเหตุ โดยการปลูกเชื้อด้วยน้ำคั้น (sap transmission) ในพืชทดสอบ 4 วงศ์ ได้แก่ Chenopodiaceae, Cucurbitaceae, Leguminosae, และ *Solanaceae* ในโรงเรือนกันแมลง ปรากฏว่าไม่พบการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสบนพืชทดสอบทั้ง 4 วงศ์ ดังนั้นการทำให้เชื้อบริสุทธิ์ จึงทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่าง พืชอาศัยในสภาพธรรมชาติ *Dieffenbachia picta กับ* พลูฉลุ โดยใช้สารเคมี chloroform กับ carbon tetrachloride อัตราส่วน 1:1 ความเข้มข้น 15% จากสารเคมี PEG (polyethylene glycol) อัตราส่วน 8% จากน้ำคั้นของพืชทดสอบ เป็นตัวทำให้อนุภาคของไวรัสตกตะกอน แล้วนำไปเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงรอบสูง โดยมีสารละลายน้ำตาลที่ความเข้มข้น 10% และ 20% รองก้นหลอด centrifuge พบว่าตะกอนที่ผ่านชั้น น้ำตาล 10% ยังมีสิ่งสกปรกเจือปนอยู่มาก ทั้งพืชอาศัย *D. picta* และพลูฉลุ แต่เมื่อผ่านสารละลายน้ำตาลเข้มข้น

20% พบว่าอนุภาคของไวรัสสะอาดและบริสุทธิ์ขึ้น แต่ละอนุภาคค่อนข้างสมบูรณ์ไม่แตกหัก จึงทำการตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน โดยวิธี derrick พบอนุภาคของเชื้อสาเหตุโรคในพืชอาศัย *D. picta* ประมาณ 25 - 40 อนุภาคต่อ 1 หน้ากล้อง เมื่อเปรียบเทียบกับพลุฉลุจะพบอนุภาคของเชื้อสาเหตุประมาณ 10 - 25 อนุภาคต่อ 1 หน้ากล้อง ดังนั้นจึงเลือก *D. picta* เพื่อการผลิตเซรุ่ม โดยวิธีแยกเชื้อไวรัสให้บริสุทธิ์ แล้วจึงฉีดเข้าสัตว์ทดลอง ใช้กระต่ายพันธุ์นิวซีแลนด์-ไวท์เพศเมียอายุ 2 เดือน เลือกวิธีการฉีด 2 วิธี คือ Intramuscular (I/M) การฉีด antigen เข้ากล้ามเนื้อและวิธี Intrasubcutaneous (I/S) การฉีด antigen เข้าใต้ผิวหนังจากนั้น 10 วัน หลังการฉีด antigen ครั้งสุดท้ายจึงเริ่มทำการเจาะเลือด แล้วนำเซรุ่มที่ได้ไปตรวจสอบหาความเข้มข้นของประสิทธิภาพเซรุ่มด้วยวิธี Slide precipitationtest การตกตะกอนในของเหลวบนสไลด์ วิธี Ouchterlony double agar diffusion test การตกตะกอนในวุ้น และการตรวจสอบโดยวิธี Enzyme-Liked Immunosorbent Assay (ELISA) จากการเจาะเลือดทั้งหมด 10 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 7 วัน พบว่า antiserum จากการเจาะเลือดครั้งที่ 9 (As_9) มีความเข้มข้นของเซรุ่มสูงสุดที่ 1:256 (ค่า titer=1:256) จากการตรวจสอบด้วยวิธี slide precipitation test ใช้ antigen จากสารละลายไวรัสที่เข้มข้น วิธี Ouchterlony double agar diffussion test ใช้ antigen จากสารละลายไวรัสที่เข้มข้น ได้ค่า titer สูงสุด 1:128 และการตรวจสอบด้วยวิธี ELISA ใช้ antigen จากพืชทดสอบ *D. picta* ได้ค่าความเข้มข้นที่ระดับของเซรุ่ม 1:1.000