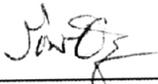


สุพจน์ ภูมิสุข 2551: การผลิตแอนติบอดีและการตรวจสอบเชื้อ *Cucumber green mottle mosaic virus* ในแตงกวา ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร) สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัชณี ธงประยูร, Ph.D. 80 หน้า

Cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV) เป็นไวรัสที่มีความสำคัญ จัดเป็นศัตรูพืชกักกันที่ก่อให้เกิดความเสียหายกับการปลูกพืชเศรษฐกิจต่างๆ ในวงศ์แตงในหลายพื้นที่ งานวิจัยนี้ใช้ไวรัส CGMMV ที่แยกได้จากน้ำเต้าเป็นโรค (CGMMV-Bg) เป็นแหล่งของเชื้อปลูกเชื้อลงบนต้นกล้าแตง เพื่อเพิ่มปริมาณเชื้อไวรัสในการแยกเชื้อไวรัสให้บริสุทธิ์ ซึ่งได้ไวรัสบริสุทธิ์ 25.4 มิลลิกรัม ต่อใบพืช 100 กรัม และใช้เป็นแอนติเจนในการผลิตโพลีโคลนอลแอนติบอดีในไก่ (ChIgY) และกระต่าย (RIgG) และ โมโนโคลนอลแอนติบอดีต่อเชื้อ CGMMV (MIgG) การผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีได้ไฮบริโดมาที่ผลิตแอนติบอดีต่อเชื้อ CGMMV จำนวน 5 โคลน เลือกโคลน MCG-2 มาเพิ่มปริมาณเพื่อใช้ในการทดลอง จากนั้นจึงแยกสกัดอิมมูโนโกลบูลินโดยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต และ affinity chromatography เมื่อทดสอบความจำเพาะของแอนติบอดี พบว่า RIgG และ MIgG มีความจำเพาะต่อเชื้อ CGMMV โดยไม่ทำปฏิกิริยากับพืชปกติ และไวรัสชนิดอื่นที่นำมาทดสอบ การพัฒนาวิธีการทางซีรัมวิทยาเพื่อใช้ในการตรวจสอบ CGMMV ได้แก่ enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), dot immunobinding assay (DIBA) และ tissue blot immunoassay (TBIA) พบว่า วิธี double antibody sandwich-ELISA (DAS-ELISA) มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการตรวจสอบเชื้อ CGMMV โดยมีความไวในการตรวจสอบไวรัส CGMMV บริสุทธิ์ ที่ระดับความเข้มข้น 5 นาโนกรัม/มิลลิลิตร เมื่อนำวิธี DAS-ELISA ไปใช้ในการตรวจสอบเชื้อ CGMMV ในส่วนต่างๆ ของต้นแตงกวา พบเชื้อไวรัสในระดับความเข้มข้นที่สูงในส่วนต่างๆ ที่นำมาตรวจสอบ หลังจากการปลูกเชื้อ 45 วัน แต่ในผลอ่อนจะมีค่า O.D.₄₀₅ น้อยกว่าส่วนอื่นๆ ถึง 4 เท่า การศึกษาการติดเชื้อ CGMMV ในเมล็ดแตงกวาที่เก็บจากผลที่ติดเชื้อ พบว่า มี 27 จาก 30 เมล็ด ที่ตรวจพบเชื้อ อย่างไรก็ตาม ในจำนวนนี้มีเพียง 21 จาก 27 เมล็ด ที่สามารถทำให้ต้นกล้าแตงกวาแสดงอาการของโรค หลังจากการปลูกเชื้อ 14 วัน

สุพจน์ ภูมิสุข
ลายมือชื่อนิสิต


ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก 14, 11, 57