

จุฬามาศ เพ็ญชัย : การยับยั้งเชื้อ *odontoglossum ringspot tobamovirus*
 โดยใช้สายเปปไทด์สังเคราะห์ *melittin* (THE INHIBITION OF
 ODONTOGLOSSUM RINGSPOT TOBAMOVIRUS BY MELITTIN.)
 อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์ ดร. โสภณ วงศ์แก้ว, 51 หน้า. ISBN 974-533-244-5

การตรวจสอบไวรัสในกล้วยไม้จากแหล่งปลูก จำนวน 50 ตัวอย่าง ด้วยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) พบว่าตัวอย่างกล้วยไม้ 84 เปอร์เซ็นต์ มีการเข้าทำลายร่วมกันระหว่างเชื้อ *cymbidium mosaic potexvirus* (CyMV) และ *odontoglossum ringspot tobamovirus* (ORSV) ขณะที่ตัวอย่างจำนวน 6 เปอร์เซ็นต์มีการเข้าทำลายเฉพาะจากเชื้อ ORSV และ 10 เปอร์เซ็นต์มีการเข้าทำลายเฉพาะจากเชื้อ CyMV ในการเปรียบเทียบวิธีการตรวจสอบเชื้อ CyMV และ ORSV ด้วยเทคนิค immunodetection 4 วิธี คือ western blot analysis, tissue printing, dot blot analysis และ ELISA พบว่าวิธี ELISA เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพดี และมีความเหมาะสมมากกว่าวิธีอื่น การใช้วิธี reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) ในการตรวจสอบให้ผลเช่นเดียวกันกับการใช้เทคนิค immunodetection แต่เป็นวิธีการที่ยุ่งยากกว่า การทดสอบชนิดพืชอาศัยที่เหมาะสมในการตรวจสอบเชื้อ ORSV พบว่า บานไม่รู้โรย (*Gomphrena globosa*) และ *Chenopodium amaranticolor* เป็น local lesion host ที่เหมาะสมสำหรับเชื้อ ORSV แต่ยาสูบใบใหญ่ (*Nicotiana tabacum* cv. Samsun) เป็น systemic host ที่มีข้อจำกัดในการเพิ่มปริมาณของเชื้อ ORSV การเตรียมไวรัส ORSV บริสุทธิ์โดยใช้บานไม่รู้โรยเป็นพืชเพิ่มปริมาณ และใช้วิธีการของ Gooding (1967) พบว่าได้ไวรัส ORSV บริสุทธิ์ ปริมาณ 13.5 มิลลิกรัมต่อ 1 กิโลกรัมของใบบานไม่รู้โรย เมื่อทำการทดสอบการยับยั้งการเข้าทำลายพืชของเชื้อ ORSV ด้วย *melittin* ในบานไม่รู้โรย โดยใช้ ORSV บริสุทธิ์ ความเข้มข้น 100 นาโนกรัมต่อมิลลิลิตรผสมกับ *melittin* ความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 0, 5, 10, 20 และ 50 ไมโครโมล นำส่วนผสมปริมาตร 200 ไมโครลิตรทาบนใบบานไม่รู้โรยแต่ละใบโดยใช้แท่งแก้ว วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD) จำนวน 10 ซ้ำ พบว่า จำนวนจุดแผลที่เกิดขึ้นไม่มีความแตกต่างกันระหว่างความเข้มข้นของ *melittin* แต่ละระดับ จากจำนวนแผลที่เกิดจากการปลูกเชื้อ ORSV อย่างเดียว แสดงให้เห็นว่า *melittin* ไม่สามารถยับยั้งการเข้าทำลายของ ORSV ในบานไม่รู้โรย

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ปีการศึกษา 2545	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....
ลายมือชื่อนักศึกษา.....	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....
	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

**CHUTHAMARD PIASAI: THE INHIBITION OF ODONTOGLOSSUM
RINGSPOOTOBAMOVIRUS BY MELITTIN. THESIS ADVISOR:
SOPONE WONGKAEW, Ph.D. 51 PP. ISBN 974 533 244 5**

By using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) to detect virus contamination in 50 orchid samples, it was found that 84% were mixed infected with both cymbidium mosaic potexvirus (CyMV) and odontoglossum ringspot tobamovirus (ORSV), while only 6% of the samples were infected with ORSV and 10% of the samples were infected with CyMV. By comparing the efficiency of various methods of immunodetection technique using the same set of orchid samples for the presence of CyMV and ORSV, it was found that ELISA was as effective as other methods but was easier to handle and less confused in interpretation of the results. The reverse-transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) was also employed with similar results to that obtained by immunodetection technique but the technique required more skill. By testing various indicator hosts for ORSV, it was found that the *Gomphrena globosa* and *Chenopodium amaranticolor* were most suitable while the virus failed to propagate in *Nicotiana tabacum* cv. Samsun. By using *G. globosa* as ORSV propagation host and the purification method of Gooding (1967), 13.5 mg of purified ORSV was obtained from 1 kg of infected leaves. The infection inhibition test was done by preincubating 100 ng/ml virus in inoculating buffer with 5 concentrations of melittin, 0, 5, 10, 20 and 50 μM . Each of the 200 μl mixtures was placed on each leaf of *G. globosa* and mechanically inoculated with a glass rod. The experiment was performed in completely randomized design (CRD) with 10 replications. The numbers of lesions resulted from all melittin concentrations were not different from that obtained from ORSV alone indicating that melittin could not inhibit ORSV infection in *G. globosa*.

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

ปีการศึกษา 2545

ลายมือชื่อนักศึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....