



APSA

Quality seed, Quality life

เทคโนโลยีการตรวจวินิจฉัยเชื้อก่อโรคในพืช ตระกูลแดงโดยใช้: **Immunochromatographic strip test**

สมบัติ รักประทานพร อรวรรณ หิমানันโต แสงสุรย์ เจริญวิไลศิริ ชาญณรงค์ ศรีภิบาล
กัณวัฒน์ ด้านวิเศษกาญจน มัลลิกา กำภูศิริ กิรณา อยู่หัตถ์
ผกามาศ ชิดเชื้อ สิริมา สิริไพฑูรย์ และอรประไพ คชนันท์

ทีมวิจัยการผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีและการประยุกต์ใช้
ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC)
สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.)

21 กรกฎาคม 2565
อรวรรณ หิমানันโต

ทบทวนการผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดี และการประยุกต์ใช้

ความเชี่ยวชาญ - การผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดี

- การพัฒนาวิธีการตรวจวินิจฉัย โดยใช้หลักการทางอิมมูโนวิทยา

**เชื้อแบคทีเรีย
ก่อโรคในอาหาร**



เชื้อก่อโรคในพืช



เชื้อก่อโรคในปลา





เชื้อก่อโรคพืช

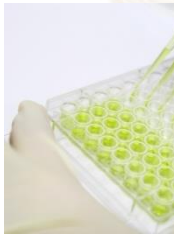
อาการโรคที่เกิดจากเชื้อจุลินทรีย์



วิธีการตรวจวินิจฉัยโรคพืช

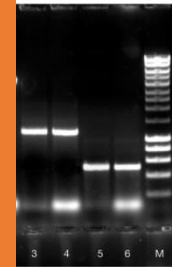
เทคนิคทางเซรั่ม

วิทยา



เทคนิคทางชีวโมกุล

(PCR)



- ต้องใช้ผู้เชี่ยวชาญ
- ต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาแพง
- ใช้เวลานานกว่าจะรู้ผล
- ไม่สามารถนำไปทดสอบในแปลงปลูก

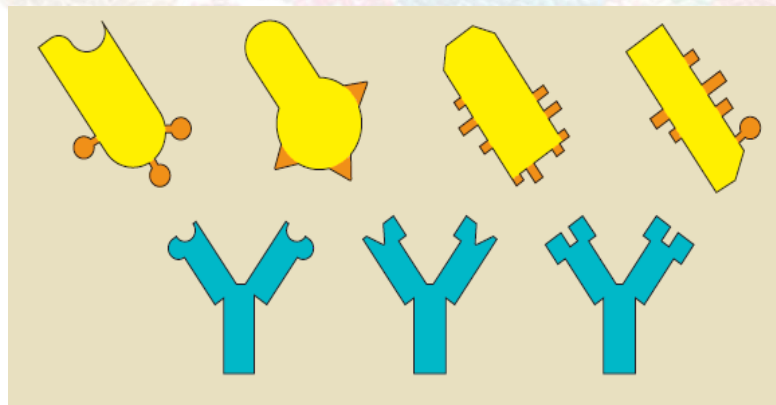
การ



ยภาพ



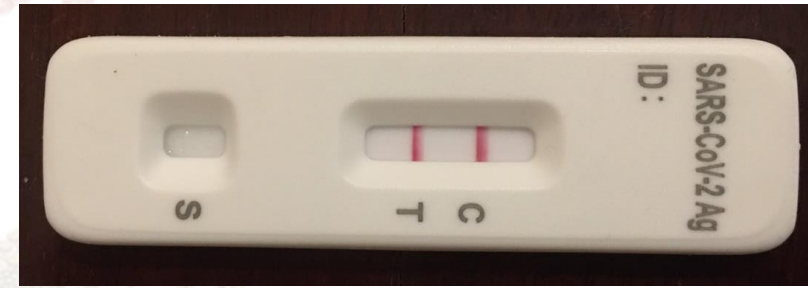
เทคนิคทางเซิร์มวิทยา (ELISA)



ใช้หลักการจับอย่างจำเพาะเจาะจง
ระหว่างแอนติบอดี
และ
แอนติเจน (เชื้อเป้าหมาย)

ATK (antigen test kit)

ชุดตรวจ แบบตลับ

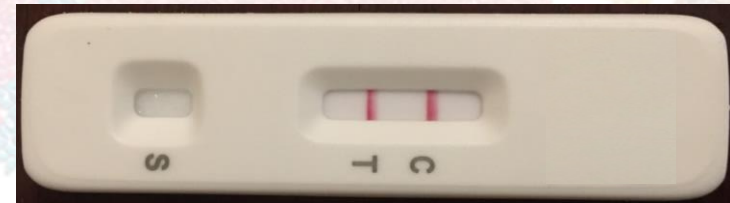


ชุดตรวจแบบ ลุ่ม
T C

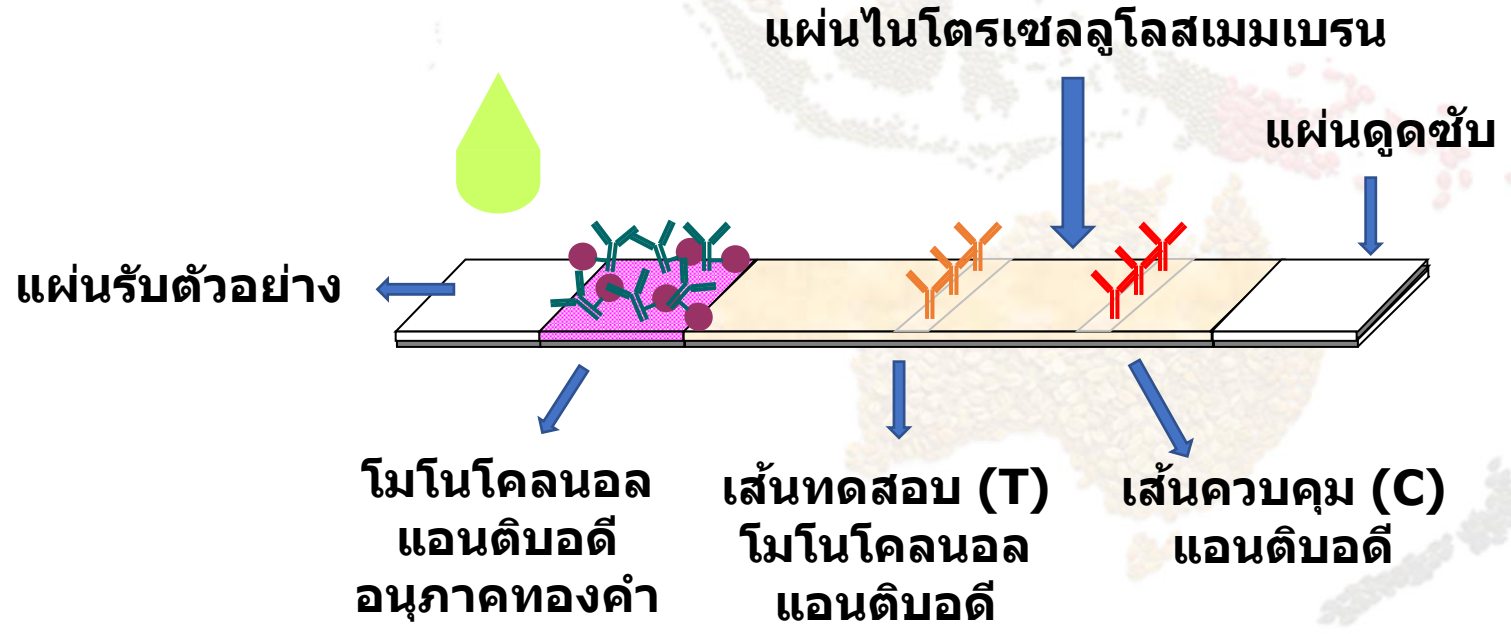


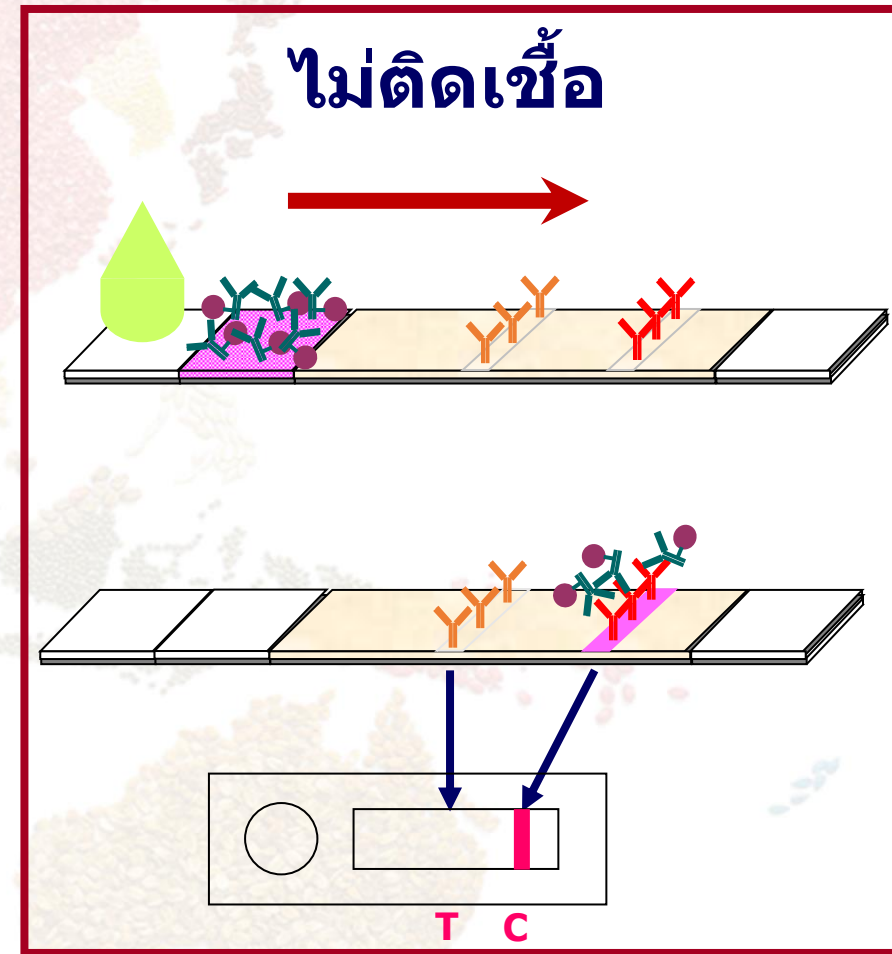
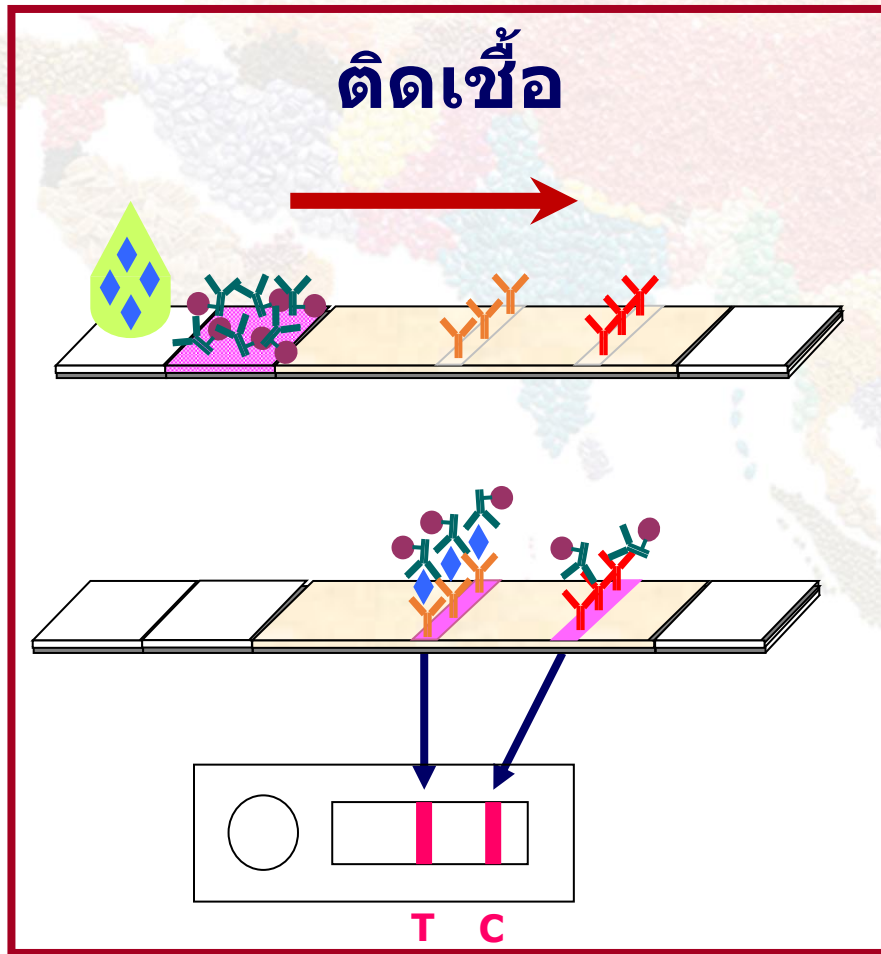
- ถูกต้อง แม่นยำ
- รวดเร็ว 15 นาที
- ใช้งานง่าย
- สามารถนำไปตรวจในแปลงปลูกได้

หลักการและองค์ประกอบของชุดตรวจ ATK



T C





 โมโนโคลนอลแอนติบอดี ที่ติดอนุภาคทองคำ
 เชื้อเป้าหมาย

 โมโนโคลนอลแอนติบอดี
 แอนติบอดี

วิธีการใช้ ATK สำหรับตรวจเชื้อก่อโรคในพืช



น้ำยาสกัด



บด

~5-10 นาที



จุ่ม



หยด

- ปลูกต้อง แม่นยำ
- รวดเร็ว 5-10 นาที
- ใช้งานง่าย
- สามารถนำไปตรวจในแปลงปลูกได้

ATK สำหรับตรวจเชื้อก่อโรคในพืชวงศ์แตง

Aac detection kit

ชุดตรวจโรคผลเน่าในพืชตระกูลแตง



ชุดตรวจ Potyvirus



ชุดตรวจ WMV-2



Cucurbits-3 in 1 Easy kit



ชุดตรวจเชื้อก่อโรคในพืชตระกูล
แตง 3 ชนิดได้ในคราวเดียวกัน

Aac+Potyvirus+WMV-2

โรคผลเน่าแบคทีเรีย (Bacterial Fruit blotch, BFB)

- ❖ เชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax citrulli* (*Acidovorax avenae* subsp. *citrulli*) Aac อยู่ในวงศ์ *Comamonadaceae*
- ❖ เป็นสาเหตุของโรคผลเน่าแบคทีเรียในพืชตระกูลแตง (BFB) โดยพบระบาดในแตงโม เมลอน และ แคนตาลูป เป็นต้น
- ❖ สามารถถ่ายทอดผ่านทางเมล็ดพันธุ์ (seed transmission)
- ❖ เป็นเชื้อกักกันชนิดสำคัญที่ต้องมีการตรวจรับรองการปลอดเชื้อของเมล็ดพันธุ์ ก่อนที่จะมีการส่งออก โดยจะทำการตรวจทั้งในแปลงปลูกและสุ่มตรวจเมล็ดพันธุ์ที่จะทำการส่งออก



ชุดตรวจโรคผลเน่าในพืชตระกูลแตง (Aac detection kit)

ชุดตรวจแบบ จุ่ม

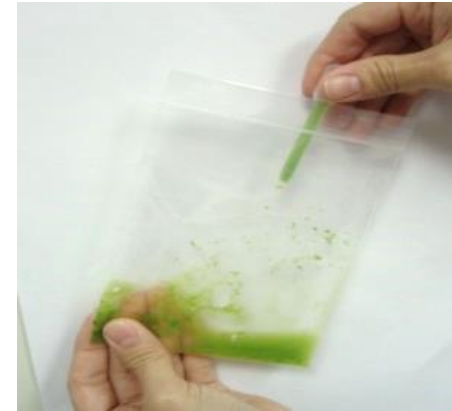
ชุดตรวจแบบ ตลับ



วิธีการใช้ ATK สำหรับตรวจเชื้อก่อโรคในพืช



น้ำยาสกัด



บด

5 นาที



จุด



หยด

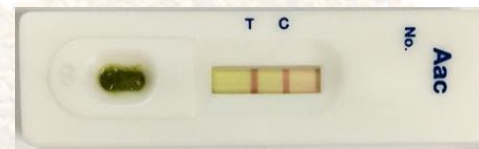
การอ่านผลการทดสอบ



- ถูกต้อง แม่นยำ
- รวดเร็ว 5 นาที
- ราคาถูกกว่าชุดตรวจที่นำเข้ามาจากต่างประเทศ 4-5 เท่า
- ง่าย สามารถนำไปตรวจในแปลงปลูกได้



ติดเชื้อ
ปกติ



ติดเชื้อ



ปกติ

การทดสอบประสิทธิภาพของชุดตรวจ

ตรวจได้ทุก
สายพันธุ์ของ
เชื้อ Aac

SAMPLE	←				Aac A3	AC AC AC AC AC AC
SAMPLE	←				Aac A5	AC AC AC AC AC AC
SAMPLE	←				Aac WS	AC AC AC AC AC AC
SAMPLE	←				Aac CU	AC AC AC AC AC AC
SAMPLE	←				Aac LA	AC AC AC AC AC AC
SAMPLE	←				Aac S&A	AC AC AC AC AC AC
SAMPLE	←				S&B	AC AC AC AC AC AC
SAMPLE	←				Aac KK9 2/10/06	AC AC AC AC AC AC

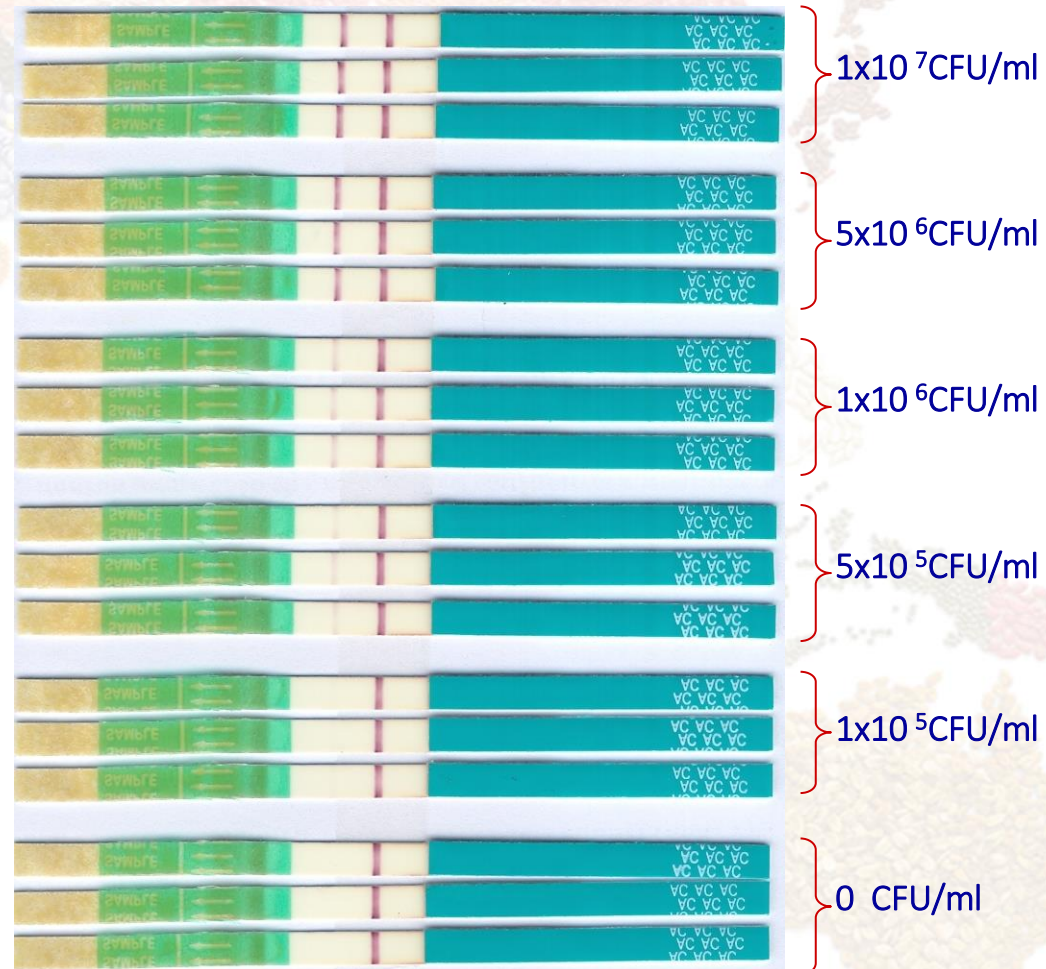
Acidovorax citrulli

ไม่
เกิดปฏิกิริยา
กับเชื้อ
แบคทีเรีย
ชนิดอื่น

SAMPLE	←				A. facilis	AC AC AC AC AC AC
SAMPLE	←				D. acidovorans	AC AC AC AC AC AC
SAMPLE	←				Erwinia	AC AC AC AC AC AC
SAMPLE	←				Xanthomonas	AC AC AC AC AC AC
SAMPLE	←				Pseudor	AC AC AC AC AC AC
SAMPLE	←				Ralstonia	AC AC AC AC AC AC
SAMPLE	←				Burkholderia	AC AC AC AC AC AC
SAMPLE	←				SB1	AC AC AC AC AC AC
SAMPLE	←				SB2	AC AC AC AC AC AC
SAMPLE	←					AC AC AC AC AC AC

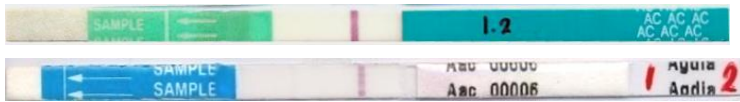
Acidovorax facilis
Comamonas acidovorans
Erwinia carotovora
Xanthomonas campestris
Fluorescent *Pseudomonas*
Ralstonia solanacearum
Burkholderia plantarii
Saprophyte
Saprophyte
Buffer

ความไวของชุดตรวจ



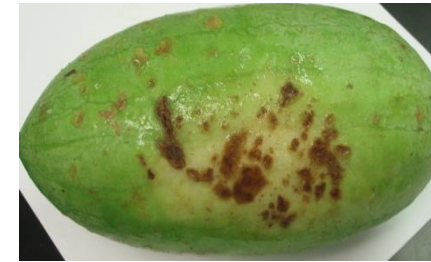
จำนวนเข็่น้อยที่สุดที่ตรวจได้ = 5×10^5 CFU/ml

พืชดีดไม่เชื้อ



ใบ

พืชดีดเชื้อ Aac



เปลือกของผล

ต้นอ่อน

ชุดตรวจ BIOTEC
ชุดตรวจนำเข้า

ชุดตรวจ BIOTEC
ชุดตรวจนำเข้า

ชุดตรวจ BIOTEC
ชุดตรวจนำเข้า

การนำชุดตรวจไปใช้สำหรับการควบคุมคุณภาพ ของเมล็ดพันธุ์ปลอดโรคในการผลิตเมล็ดพันธุ์พืชตระกูลแตง



การตรวจคัดกรองของต้นกล้า
ก่อนที่จะนำลงแปลงปลูก



ตรวจพบเชื้อ

ทำลายทิ้งวัสดุจากพืช
โดยการเผาหรือฝัง

ไม่พบเชื้อ



การตรวจสอบโรคในระยะออกดอก



การตรวจสอบโรคระยะก่อนการเก็บเกี่ยว



ทดสอบ
เมล็ดพันธุ์



ชุดตรวจ Potyvirus



ชุดตรวจ WMV-2



โพทิวไวรัส (Potyvirus)

- ❖ เชื้อโพทิวไวรัส หลายชนิดที่เข้าทำลายพืชตระกูลแตง เช่น: Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV), Papaya ringspot virus Type W (PRSV-W) และ Watermelon mosaic virus-2 (WMV-2)
- ❖ ทำให้เกิดอาการใบด่าง (mosaic), ใบด่างประ (mottled), อาการด่างของดอก (color breaking), อาการด่างประ (mottled) และ/หรือ อาการบิดเบี้ยว (distorted) ของผล และเมล็ด, ต้นแคระแกรน และไม่ติดผลได้
- ❖ ถ่ายทอดโดย : เพลี้ยอ่อน (aphid), การปลูกเชื้อโดยน้ำคั้นใบพืช



Watermelon mosaic virus-2 (WMV-2)

- ❖ เชื้อ WMV-2 เป็นเชื้อไวรัสในกลุ่ม Potyvirus
- ❖ เข้าทำลายพืชตระกูลแตงได้แก่ แตงโม เมลอน แคนตาลูป และแตงกวา โดยทำให้การติดผลลดลงและเมื่อได้ผลผลิตทำให้ผลที่ได้บิดเบี้ยว
- ❖ เป็นเชื้อกักกันที่ต้องมีการตรวจรับรองความปลอดภัยเชื้อเมื่อมีการส่งออกเมล็ดพันธุ์พืชตระกูลแตง
- ❖ ปัจจุบันยังไม่มีรายงานว่าพบในประเทศไทย



ชุดตรวจ Potyvirus

ชุดตรวจนำเข้าจาก ต่างประเทศ









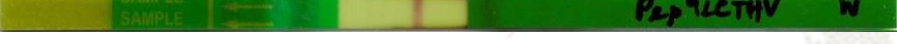










ตรวจได้ทุก
ชนิดในกลุ่ม
Potyvirus

ไม่
เกิดปฏิกิริยา
กับเชื้อไวรัส
ชนิดอื่น

BCMV		BCMV	P		Poly 00010	BCMV	Agdia
ChVMV		ChVMV	P		Poly 00010	ChVMV	Agdia
PRSV-P		PRSV-P	P		Poly 00010	PRSV-P	Agdia
PRSV-W		PRSV-W	P		Poly 00010	PRSV-W	Agdia
PVY		PVY-A ₃	P		Poly 00010	PVY-A ₃	Agdia
TEV		TEV-A ₃	P		Poly 00010	TEV-A ₃	Agdia
WMV-2		WMV-A ₃	P		Poly 00010	WMV	Agdia
ZYMV		ZYMV-PK	P		Poly 00010	ZYMV-PK	Agdia
PepYLTHV		PepYLTHV	P		Poly 00010	PepYLTHV	Agdia
SLCCNV		SLCCNV	P		Poly 00010	SLCCNV	Agdia
TYLCV		TYLCV	P		Poly 00010	TYLCV	Agdia
CaCV		CaCV	P		Poly 00010	CaCV	Agdia
MYSV		MYSV	P		Poly 00010	MYSV	Agdia
TNRV		TNRV	P		Poly 00010	TNRV	Agdia
TSWV		TSWV-A ₃	P		Poly 00010	TSWV-A ₃	Agdia
WSMoV		WSMoV	P		Poly 00010	WSMoV	Agdia
CABYV		CABYV	P		Poly 00010	CABYV	Agdia
Healthy		H-Papaya	P		Poly 00010	H-Papaya	Agdia

ชุดตรวจ WMV-2

ชุดตรวจนำเข้าจาก ต่างประเทศ

WMV2		WMV2-Ag	W
BCMV		BCMV	W
ChiVMV		ChiVMV	W
PRSV-P		PRSV-P	W
PRSV-W		PRSV-W	W
PVY		PVY-Ag	W
TEV		TEV-Ag	W
ZYMV		ZYMV-PK	W
PepYLCTHV		PepYLCTHV	W
SLCCNV		SLCCNV	W
TYLCV		TYLCTHV	W
CaCV		CaCV	W
MYSV		MYSV	W
TNRV		TNRV	W
TSWV		TSWV-Ag	W
WSMoV		WSMoV	W
CABYV		CABYV	W
CGMMV		CGMMV-Ag	W
Healthy		H-P2PM	W

ไม่มีขายในต่างประเทศ

Cucurbits-3 in 1 Easy kit

ชุดตรวจแบบรวดเร็วสำหรับตรวจเชื้อก่อโรคในพืชตระกูลแตง
3 ชนิดได้ในคราวเดียวกัน

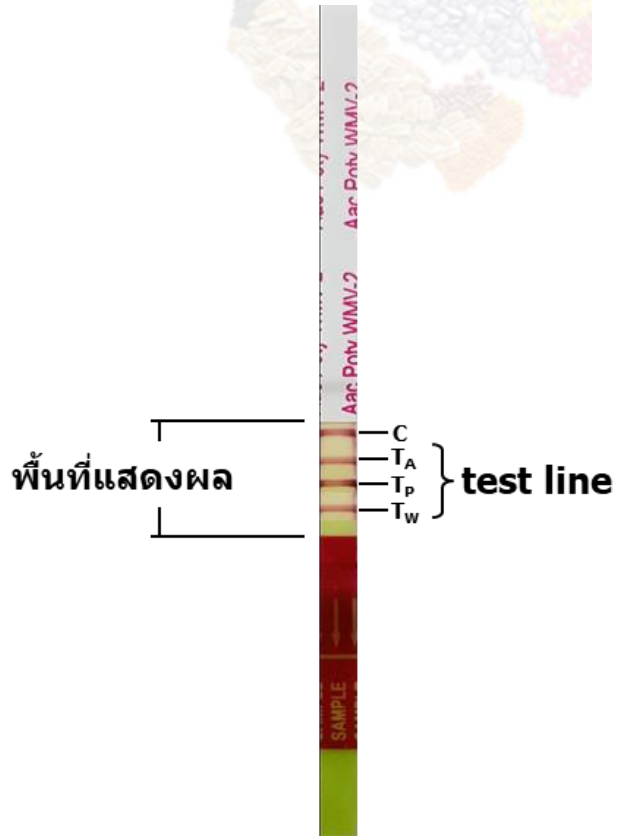


ใช้สำหรับตรวจ

- เชื้อแบคทีเรีย *Acidovorax citrulli* (Aac)
- เชื้อไวรัสในกลุ่มโพทิวไวรัส (Potyvirus)
- เชื้อ Watermelon mosaic virus-2 (WMV-2)

การอ่านผลการทดสอบ

รูปสำหรับเทียบเส้น test line



T_A : Aac
T_P : Potyvirus
T_W : WMV-2
C : เส้นควบคุม (control line)

T_W T_P T_A C

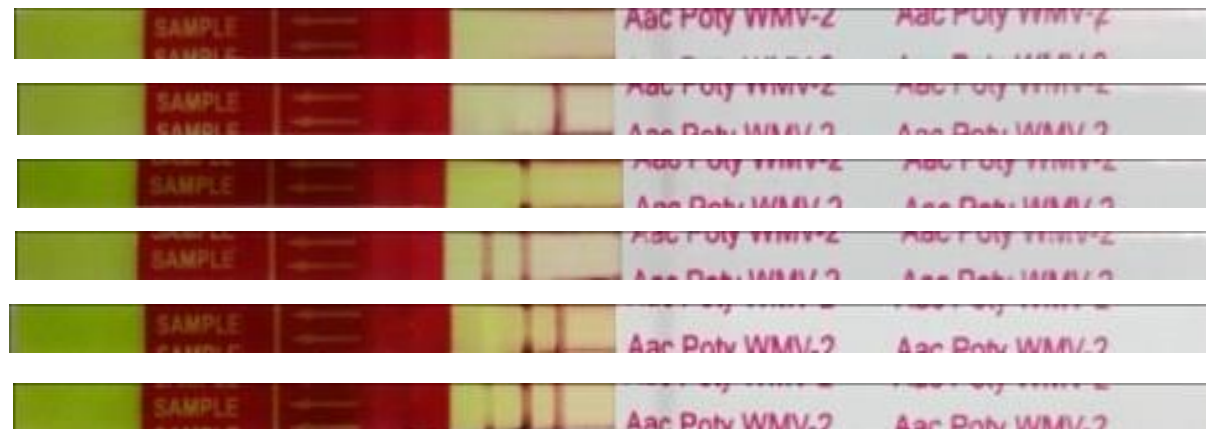


Cucumber green mottle mosaic virus (CGMMV)

การอ่านผลการทดสอบ (ต่อ)

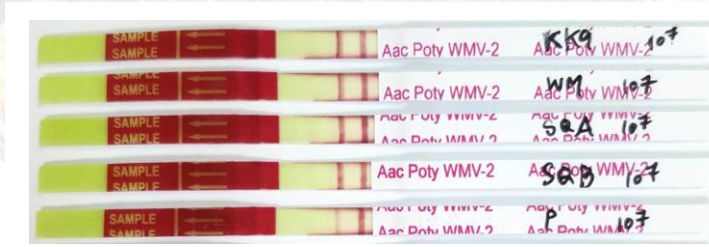


พืชไม่ติดเชื้อทั้ง 3 ชนิดนี้



ไม่สามารถแปลผลได้

การทดสอบประสิทธิภาพของชุดตรวจ

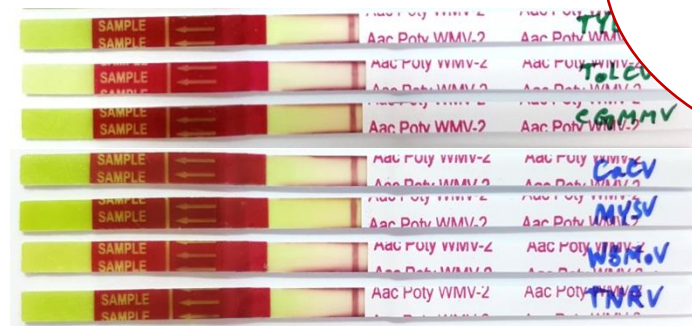


ตรวจได้ทุกสายพันธุ์ของเชื้อ Aac และโพทิ

- ถูกต้อง แม่นยำ 100%
- รวดเร็ว (10 นาที)
- ทำได้ง่าย สามารถนำไปทดสอบในแปลงปลูกได้



เมเกิดปัญหาการยา
ข้ามกับเชื้อ
แบคทีเรียและเชื้อ
ไวรัสชนิดอื่นๆ



การจำหน่ายชุดตรวจและการนำไปใช้

ชุดตรวจ Aac (Aac detection kit)



ถ่ายทอดเทคโนโลยีให้กับ
บริษัท พาร์เวล อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด
โดยผู้สนใจ
สามารถสั่งซื้อได้ที่บริษัทโดยตรง

ชุดตรวจเชื้อก่อโรคในพืชตระกูล แตง 3 ชนิดได้ในคราวเดียวกัน (Cucurbits-3 in 1 Easy kit)



ชุดตรวจ Potyvirus



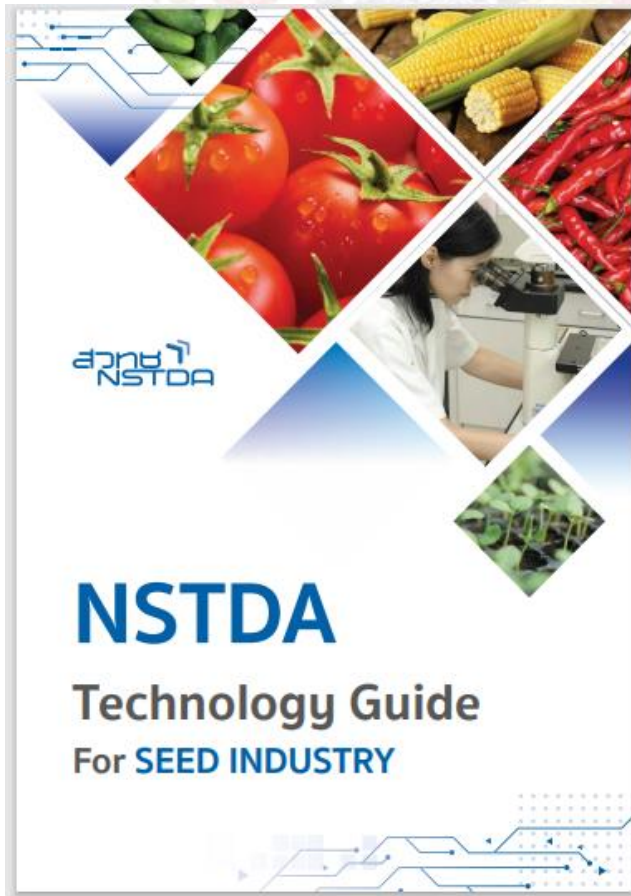
ชุดตรวจ WMV-2



BIOTEC เป็นผู้
จำหน่าย ระหว่างรอ
ถ่ายทอดเทคโนโลยี

ข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับงานวิจัยทางการเกษตรของ สวทช.

https://www.nstda.or.th/home/mission_post/rdim/seed/



<https://waa.inter.nstda.or.th/stks/pub/2019/20190923-guide-seed-industry.pdf>



สวทช.
NSTDA

เกี่ยวกับ สวทช. การถึง บริการ ผลงาน ข่าว ข้อมูลเผยแพร่ ติดต่อเรา A A A

กลุ่มโปรแกรมเกษตรสมัยใหม่

5 พ.ย. 2563 879 [กรอว์วิจัย](#)

เอกสารเผยแพร่

1. แผนแม่บทยุทธศาสตร์ ศูนย์กลางเมล็ดพันธุ์ พ.ศ. 2558-2567
2. NSTDA Technology Guide for SEED INDUSTRY

ผลงานเด่น

1. การรวบรวมและปรับปรุงพันธุ์ปทุมมาและกระเจียวพันธุ์ใหม่
2. การบริหารจัดการเชื้อพันธุกรรมพริก
3. การบริหารจัดการเชื้อพันธุกรรมและการพัฒนาพันธุ์แตงกวาให้ต้านทานโรคน้ำค้างและไวรัส
4. การปรับปรุงพันธุ์พริกบางช้างต้านทานโรคแอนแทรกโนส
5. พันธุ์พริกเม็ด
6. พันธุ์มะเขือเทศรับประทานสด



ทีมวิจัยการผลิตโมโนโคลนอลแอนติบอดีและการประยุกต์ใช้ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC)



สวทช
NSTDA

BIOTEC
a member of NSTDA

