3. **वाशिंग बफर (पीबीएस–टी) बनाना:** 1000 एमएल 1X PBS में 0.5 ml ट्वीन–20 डालते है

4. **अवरोधन घोल (सलूशन) बनाना:** 5 ग्राम बोवाइन सीरम एल्ब्यूमिन (बीएसए) को 1000 एमएल पीबीएस–टी में मिलाएं

5. **एंटीजन निष्कर्षण बफर:** 2% विलेय पॉलीविनाइल पाइरोलिडोन (MW 44,000) युक्त लेपण बफर

6. **एंजाइम संयुग्म बफर (पीबीएस–टीपीओ):**

पीबीएस टी	1000 एमएल
पॉलीविनाइल पाइरोडोन (पीवीपी)	20.0 ग्राम
ओवल्ब्युमिन	2.0 ग्राम

7. **एंटीबॉडी पतला करना:** क्रम संख्या 6 (पीबीएस–टीपीओ) के समान हि इसको भी करते हैं

8. **सब्सट्रेट बफर** (डायथेनॉलमाइन बफर, पीएच 9.8)

डायथेनोलामाइन	97 एमएल
आसुत जल	800 एमएल
हाइड्रोक्लोरीक अम्ल के साथ पीएच को 9.8 तक समायोजित कर, आसुत जल के साथ 1000 mL किया जाता है।	

F/2025/SST-6

लाभार्थी:
प्रगतिशील किसान, किसान उत्पादक संगठन (एफपीओ) बीज उद्योग, छात्र और संगरोधन केंद्र

लेखक:
नागमणि सांद्रा, ध्रुव भागवतकर, धर्मपाल सिंह, मनीषा सैनी, संदीप कुमार लाल, ज्ञान प्रकाश मिश्रा एवं अतुल कुमार

संकलन एवं संपादन
सत्यप्रिय, एस आर बिश्नोई, गिरिजेश सिंह महरा, सुभाश्री साहू
भाकृअनुप–भारतीय कृषि अनुसंधान संस्थान, नई दिल्ली–110012

अधिक जानकारी के लिए:
अध्यक्ष
बीज विज्ञान एवं प्रौद्योगिकी संभाग
भाकृअनुप–भारतीय कृषि अनुसंधान संस्थान
नई दिल्ली–110012

दूरभाष: 011–25841428
ईमेल: head_sst@iari.res.in

प्रत्यक्ष एंजाइम लिंक्ड इम्युनोसॉरबेंट परिक्षण (डीएसी-एलाईजा) द्वारा बीज जनित वायरस का पता लगाना

बीज विज्ञान एवं प्रौद्योगिकी संभाग
भाकृअनुप-भारतीय कृषि अनुसंधान संस्थान
पूसा, नई दिल्ली-110 012

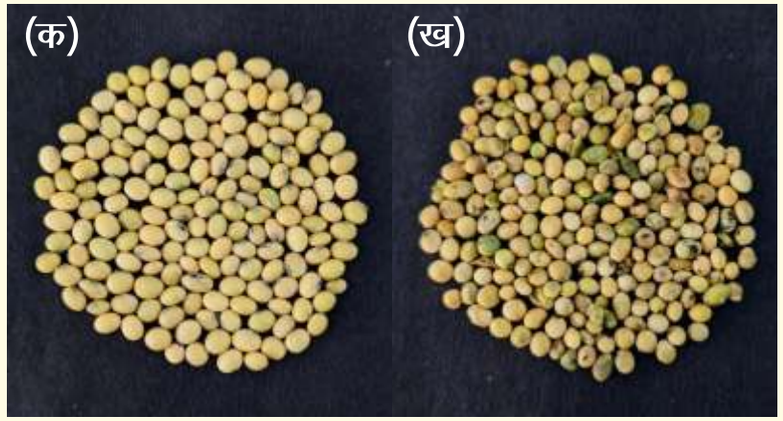
एंजाइम–लिंक्ड इम्युनोसॉरबेंट परिक्षण (डीएसी–एलाईजा) कृषि और बीज स्वास्थ्य परिक्षण एवं प्रबंधन में संवेदनशील विशिष्ट नैदानिक उपकरण हैं, जो बीज जनित विषाणु का पता लगाता हैं। एलाईजा परीक्षण अत्यधिक विशिष्ट एंटीबॉडी – एंटीजन अंतः क्रियाओं का उपयोग करके संक्रमित बीजों की पहचान करके फसल के स्वास्थ्य को सुनिश्चित करने के लिए एक विश्वसनीय और सटीक तरीका प्रदान करता है।

सिद्धांत

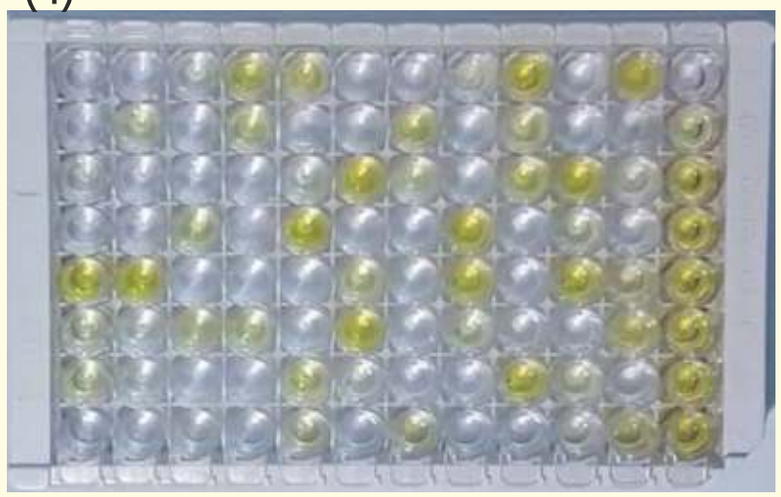
एलाईजा एंटीबॉडी और उनके लक्षित एंटीजन जैसे वायरल कणों के बीच विशिष्ट बंधन पर निर्भर करता है। एंटीबॉडी एक एंजाइम (जैसे, क्षारीय फॉस्फेट) से संयुग्मित होते हैं जो सब्सट्रेट के संपर्क में आने पर एक मापनीय रंग परिवर्तन उत्पन्न करता है। यह रंग परिवर्तन एंटीजन / विषाणुओं की उपस्थिति का संकेत है।

प्रक्रियाः

1. **बीज अर्क की तैयारीः** बीज में मौजूद वायरल कणों को निकालने के लिए बीजों (5 बीज) को निष्कर्षण बफर में पीस लेते हैं।
2. **कोटिंगः** तैयार बीज के अर्क को माइक्रोटिटर प्लेट वेल पर लगाएं। बीज के अर्क में मौजूद वायरल एंटीजन को प्लेट की सतह पर लगने / चिपकने दें।
3. **अवरोधनः** एंटीबॉडी के गैर–विशिष्ट बंधन को रोकने के लिए एक अवरोधक एजेंट (जैसे, बीएसए) डाले।
4. **एंटीबॉडी मिलानाः** वेल में एंजाइम – संयुग्मित वायरस – विशिष्ट एंटीबॉडी जोड़ें। एंटीजन – एंटीबॉडी बंधन होने देने के लिए प्लेट को इनक्यूबेट करें।
5. **सब्सट्रेट जोड़नाः** संयुग्मित एंजाइम के लिए विशिष्ट सब्सट्रेट जोड़ें। एंजाइम सब्सट्रेट के साथ प्रतिक्रिया करके रंग परिवर्तन उत्पन्न करता है।
6. **जांचः** स्पेक्ट्रोफोटोमीटर का उपयोग करके रंग की तीव्रता को मापा जाता हैं। यदि रंग की तीव्रता नियंत्रण या स्वस्थ नमूने की तुलना में 2 से 3 गुणन है, तो नमूने को सकारात्मक माना जाता है।



(ग)



(क) स्वस्थ सोयाबीन बीज और
(ख) लोबिया माइल्ड मोटल वायरस (सीपीएमएमवी) से संक्रमित सोयाबीन बीज
(ग) रंग की तीव्रता को मापकर एलिसा के माध्यम से लोबिया माइल्ड मोटल वायरस (सीपीएमएमवी) का पता लगाना।

एलाईजा परीक्षण में काम आने वाले अभिकर्मक

1. निष्कर्षण बफर [Buffer] (लेपण बफर, 0.1M कार्बोनेट बफर, 1X, पीएच 9.6) बनानाः

सोडियम कार्बोनेट	1.59 ग्राम
सोडियम बाई कार्बोनेट	2.93 ग्राम
आसुत जल	1000 एमएल

2. फॉस्फेट बफर सलाइन (पीबीएस) पीएच 7.4 (1 एक्स) बनानाः

सोडियम क्लोराइड	8.0 ग्राम
पोटेशियम फोस्फेट डाई बैसिक	0.2 ग्राम
सोडियम फास्फेट मोनो बैसिक	1.44 ग्राम
पोटेशियम क्लोराइड	0.2 ग्राम
आसुत जल	1000 एमएल