

กิริติ ลินทวชีวะ 2554: จีโนมเชื้อไวรัสทริสเตซ่าในประเทศไทยและการตรวจสอบ
เชื้อไวรัสทริสเตซ่าในพืชโดยใช้เทคนิค RT-PCR และ Dot Blot Hybridization
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (โรคพืช) สาขาโรคพืช ภาควิชาโรคพืช อาจารย์ที่
ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รองศาสตราจารย์อำไพวรรณ ภราดรน์วัฒน์, Ph.D. 233 หน้า

ศึกษาจีโนมไวรัสทริสเตซ่า (*Citrus tristeza virus*, CTV) สายพันธุ์ที่แสดงอาการลำต้นนูน (CTV-A18) จากเนื้อเยื่อสัมผัสก่อนที่เป็นโรคในประเทศไทยด้วยเทคนิค RT-PCR สามารถออกแบบไพรเมอร์ที่เหมาะสมได้ 22 คู่สำหรับสังเคราะห์ cDNA ของจีโนมไวรัส CTV-A18 การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับเบสของจีโนมไวรัส CTV-A18 โดยการเชื่อมต่อชิ้นผลิตภัณฑ์เข้ากับพลาสมิด pCR[®]8/GW/TOPO vector และวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Clustal W และ MEGA 4 พบว่านิวคลีโอไทด์และลำดับเบสของจีโนมไวรัส CTV-A18 มีขนาด 19,302 นิวคลีโอไทด์ ประกอบด้วย 2 Untranslated Region (UTRs) และ 12 Open Reading Frame (ORFs) ที่สามารถผลิตโปรตีนได้อย่างน้อย 17 ชนิด เมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบความใกล้เคียงกันของลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีโนมด้วยค่า Identity, Pairwise Distance และ Phylogenetic Tree กับจีโนมของ CTV ที่ได้มีรายงานใน GenBank พบว่า CTV-A18 มีลำดับเบสและสายวิวัฒนาการใกล้เคียงกับ CTV NUagA ซึ่งรายงานจากประเทศญี่ปุ่นมากที่สุด และจากการวิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนแต่ละส่วนของ CTV-A18 กับ CTV ที่มีรายงาน 24 สายพันธุ์ พบว่าส่วนที่มีความผันแปรน้อยที่สุดคือส่วนของยีน *cp* (Coat protein, p25) และ 3'UTR โดยมีความใกล้เคียงกันสูงมากคือระหว่าง 96-99 % และ 98-99 % ตามลำดับ ในขณะที่พบว่าส่วนของยีนที่มีความผันแปรสูงคือส่วนของยีน 5'UTR p349 และ RdRp (p54) โดยมีความใกล้เคียงกันระหว่าง 66-97% 49-91% และ 71-97% ตามลำดับ ดังนั้นความต่างของลำดับกรดอะมิโนของโปรตีนแต่ละส่วนในบริเวณนี้จึงอาจใช้เป็นข้อมูลหนึ่งที่สามารถบ่งชี้ CTV แต่ละสายพันธุ์ได้ สำหรับการทดสอบใช้เทคนิค RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์ CPF/CPR [coat protein gene (*cp*) 672 bp] และยืนยันผลด้วยเทคนิค Dot Blot Hybridization (DBH) โดยใช้ Biotin-*cp*-probe เพื่อการตรวจสอบการเป็นพืชอาศัยของ CTV กับพืชจำนวน 45 ตัวอย่าง 11 สกุล 8 ตระกูล ซึ่งพบในสวนส้มที่เป็นโรคทริสเตซ่า พบว่าวิธีการดังกล่าวสามารถตรวจสอบพบ CTV ในตัวอย่างส้มเขียวหวานและมะนาวที่เป็นโรคทริสเตซ่า และตรวจไม่พบ CTV จากพืชทั้ง 45 ตัวอย่างที่นำมาศึกษา