

สิทธิชัย บุญรอด 2553: การแยกเชื้อ จำแนกชนิด และลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของไวรัสรูปท่อนยาวคดที่เป็นสาเหตุโรคใบด่างจุดเหลืองของเสาวรสพันธุ์สีม่วง ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (พันธุวิศวกรรม) สาขาพันธุวิศวกรรม โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตราจารย์พิศสุวรรณ เขียมสมบัติ, Dr.Agr. 73 หน้า

เสาวรสรูปท่อนสดพันธุ์สีม่วง (*Passiflora edulis*) ที่ปลูกในพื้นที่ส่งเสริมของโครงการหลวงจังหวัดเชียงใหม่ ประสบปัญหาการเป็นโรควูดเนิส (woodiness) ที่เกิดจากไวรัส ทำให้ผลเสาวรสเสียหายคุณภาพตกต่ำ จึงต้องมีการศึกษาจำแนกชนิดไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคและตรวจสอบต้นพันธุ์ให้ปราศจากโรคเสาวรสที่เป็นโรคนี้นี้แสดงอาการใบหนา แข็ง ใบด่างจุดเหลือง ต่างสีเขียวเข้มสลับเขียวอ่อนและผลบิดเบี้ยวแกระแกร็น ศึกษาตัวอย่างเสาวรสที่เป็นโรคจำนวน 20 ต้นและแบ่งลักษณะอาการเป็น 2 กลุ่มได้แก่อาการใบหนา แข็ง ด่างเหลือง ด่างจุดเหลือง และอาการต่างเขียวเข้มสลับเขียวอ่อน ใบบิดเบี้ยวผิดปกติ แยกเชื้อไวรัสจากเสาวรสโดยปลูกเชื้อด้วยวิธีกลบนใบ *Chenopodium quinoa* จากนั้นปลูกเชื้อจากแผลจุดแต่ละจุดลงบนเสาวรสสีม่วงและเลือกต้นเสาวรสเป็นโรคไอโซเลท SY2 ที่แสดงอาการใบด่างจุดเหลืองมาทำการจำแนกชนิดไวรัส ปลูกเชื้อด้วยวิธีกลจากเสาวรส SY2 ลงบนพืชทดสอบ พบอาการแผลจุดสีน้ำตาลและเส้นใบเหลืองบนถั่วพุ่ม (*Vigna sinensis*), ถั่วฝักยาว (*Vigna sesquipedalis*), ถั่วขาว (*Bruguiera cylindrica*) และถั่วแขก (*Phaseolus vulgaris* cv. Yamashiro) ศึกษาสัญญาณวิทยาของเชื้อภายในใบเสาวรส SY2 ด้วยเทคนิคจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบอนุภาคไวรัสรูปท่อนยาวคดขนาดเฉลี่ย 11.3 x 642 นาโนเมตร และพบผลึกโปรตีน inclusion bodies แบบ pinwheel, tubular และ scroll อยู่ภายในไซโทพลาสซึมของเซลล์ โคลนยีนบางส่วนของด้านปลาย 3' ของจีโนมขนาด 1,563 นิวคลีโอไทด์ซึ่งประกอบด้วยอินอาร์เอ็นเอโพลิเมอเรส (NiB) บางส่วนความยาว 630 นิวคลีโอไทด์ ยีน CP เต็มยีนขนาด 819 นิวคลีโอไทด์และส่วนที่ไม่แปลรหัสทางปลายสายด้าน 3' (3'UTR) บางส่วนความยาว 111 นิวคลีโอไทด์ เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์และกรด อะมิโนของยีนของไวรัสในเสาวรส SY2 กับไวรัสสาเหตุโรคของเสาวรสและพืชอื่นอีก 22 ชนิดด้วยโปรแกรม clustalW พบว่าไวรัส SY2 เหมือนกับ *Telosma mosaic virus* (TeMV) ที่ระดับ 87% และพบลำดับกรดอะมิโนของโปรตีน CP ที่มีความเฉพาะตัวของไอโซเลท SY2 บริเวณตำแหน่งที่ 18-35 สำหรับ นิวคลีโอไทด์ส่วนของ 3'UTR เหมือนกับ TeMV ที่ระดับ 81% ผลการวิเคราะห์ Phylogenetic tree แบบ Neighbour joining method แสดงให้เห็นว่า ไวรัส SY2 จับคู่ใกล้ชิดกับ TeMV จากเวียดนามและเกาะกลุ่มอยู่กับ *Passionfruit woodiness virus* จากออสเตรเลีย (PWV-AUS), potyvirus ในไม้ดอกจากสหรัฐอเมริกาและถั่วจากจีนและแอฟริกาใต้ ไวรัสอีกกลุ่มหนึ่งที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกันประกอบด้วย PWV จากไต้หวันและญี่ปุ่น, SMV และ potyvirus ที่พบในถั่วหลายชนิด ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าไวรัสในเสาวรส SY2 เป็นสายพันธุ์ที่ใกล้ชิดมากกับเชื้อ TeMV รวมทั้งมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับ PWV-AUS และเสนอให้ตั้งชื่อไวรัสชนิดนี้ว่า *Passionfruit woodiness potyvirus*- yellow spot strain (PWV-YS)

---

ลายมือชื่อนิติสด

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

