

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อเจมินีไวรัสที่เข้าทำลายพืชตระกูล
แตงในพื้นที่ภาคกลางประเทศไทย ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักบริหารโครงการวิจัยในอุดม
ศึกษา และพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สำนักคณะกรรมการการอุดมศึกษา

ขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร.ศรีเมฆ ชาวโพรงพาง ผู้ร่วมวิจัยและดร.ณัฐริมา ไชยิตเจริญ
กุลที่ปรึกษาโครงการที่ให้ข้อเสนอแนะต่างๆจนโครงการสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ขอบคุณสาขาวิชา
เทคโนโลยีชีวภาพและสาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีที่เอื้อเพื่ออุปกรณ์
และสถานที่ในการทำงานวิจัย เกษตรกรทุกท่านที่ให้ความร่วมมือและความช่วยเหลือในการเก็บ
รวบรวมตัวอย่างพืชที่ใช้ในการศึกษา ตลอดจนนางสาวโสภา บุญถนอม นางสาวอรวรรณ พง
พันธ์ นางสาวเกศวลี เจริญศิลป์ และนายคชาวุฑู เขียวผิว นักศึกษาชั้นปีที่ 4 สาขาวิชา
เทคโนโลยีชีวภาพที่มีความมุ่งมั่นและตั้งใจในการทำงานวิจัยในฐานะผู้ช่วยนักวิจัยจนทำให้งาน
วิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

คุณค่าและประโยชน์ของงานวิจัยฉบับนี้ขอมอบแต่บิดา มารดาและครูบาอาจารย์ทุก
ท่านที่ได้อบรมสั่งสอนให้ความรู้แก่ผู้วิจัยตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน



ดร.โสพิศ สว่างจิตร์

มีนาคม 2555

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	(1)
บทคัดย่อ	(2)
Abstract	(3)
สารบัญ	(4)
สารบัญตาราง	(6)
สารบัญภาพ	(7)
คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ	(8)
บทที่	
1. บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ	1
1.2 วัตถุประสงค์	3
1.3 ขอบเขตงานวิจัย	4
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
2. เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 ลักษณะทั่วไปของเจมีนีไวรัส	5
2.2 การจำแนกเจมีนีไวรัส	5
2.3 เจมีนีไวรัสที่พบในประเทศไทย	6
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	9
3. วิธีการดำเนินการวิจัย	11
3.1 การเก็บตัวอย่างพืชตระกูลแตงที่ติดโรค	11
3.2 การสกัดดีเอ็นเอของไวรัสและการตรวจหาไวรัสในตัวอย่าง	11
3.3 การตรวจหาเจมีนีไวรัสในพืชตระกูลแตงโดยเทคนิคพีซีอาร์ (PCR)	12
3.4 การสังเคราะห์ชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ Intergenic region (IR) บนจีโนมของไวรัสโดยเทคนิค PCR	15
3.5 การวิเคราะห์และการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ของเจมีนีไวรัส	16
4. ผลการวิจัย	18
4.1 การเก็บตัวอย่างพืชตระกูลแตง	18
4.2 การตรวจหาเจมีนีไวรัสในพืชตระกูลแตง	19
4.3 การเพิ่มปริมาณส่วน IR ของเชื้อเจมีนีไวรัส	19

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.4 การวิเคราะห์และการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์และ กรดอะมิโนของเจมีนีไวรัส	19
5. สรุป อภิปรายผลและข้อเสนอแนะ	36
5.1 สรุปและอภิปรายผล	36
5.2 ข้อเสนอแนะ	37
บรรณานุกรม	39
ประวัติหัวหน้าโครงการวิจัย	42

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบนจีโนมของเจมินีไวรัสในพืชตระกูลแตง	15
3.2 เจมินีไวรัสชนิดต่างๆที่ใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบวิเคราะห์ความสัมพันธ์กับเจมินีไวรัสในพืชตระกูลแตงที่ศึกษา	17
4.1 แสดงชื่อไปพืชตระกูลแตงจากจังหวัดต่างๆและรหัส	18
4.2 จำนวนนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของเจมินีไวรัสที่ทำการศึกษา	24
4.3 เปรูเซ็นต์ความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดมิโนส่วนยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของ AGRB1 ที่เปรียบเทียบกับเจมินีไวรัสชนิดอื่น	29
4.4 เปรูเซ็นต์ความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดมิโนส่วนยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของ PKRB1 ที่เปรียบเทียบกับเจมินีไวรัสชนิดอื่น	30
4.5 เปรูเซ็นต์ความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดมิโนส่วนยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของ WGRB1 ที่เปรียบเทียบกับเจมินีไวรัสชนิดอื่น	31
4.6 เปรูเซ็นต์ความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดมิโนส่วนยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของ CBKB2 ที่เปรียบเทียบกับเจมินีไวรัสชนิดอื่น	32
4.7 เปรูเซ็นต์ความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดมิโนส่วนยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของ PKSB1 ที่เปรียบเทียบกับเจมินีไวรัสชนิดอื่น	33
4.8 เปรูเซ็นต์ความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดมิโนส่วนยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของ WGSB1 ที่เปรียบเทียบกับเจมินีไวรัสชนิดอื่น	34

สารบัญญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 แผนภาพแสดงจีโนมของเจมินีไวรัสใน Family <i>Geminiviridae</i> ซึ่งประกอบด้วย 4 Genus คือ <i>Mastrevirus</i> , <i>Curtovirus</i> , <i>Topocuvirus</i> และ <i>Begomovirus</i>	7
3.1 ภาพตัวอย่างใบจากพืชตระกูลแตงที่ติดเชื้อเจมินีไวรัส	13
4.1 ผลการตรวจและเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอบริเวณ CP ด้วยเทคนิค PCR	21
4.2 ผลการตรวจหาและเพิ่มปริมาณเชื้อเจมินีไวรัสบริเวณ IR โดยใช้ไพรเมอร์ TYTHIR-C และ GemF1802	22
4.3 ผลการตรวจหาและเพิ่มปริมาณเชื้อเจมินีไวรัสบริเวณ IR โดยใช้ไพรเมอร์ PAV715 และ PAC1978	23
4.4 ลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนในส่วน CP ของ AGRB1	25
4.5 ลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนในส่วน CP ของ CBKB 2	26
4.6 ลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนในส่วน CP ของ WGRB 1	27
4.7 ลำดับนิวคลีโอไทด์และลำดับกรดอะมิโนในส่วน CP ของ WGSB 1	28
4.8 Phylogenetic tree แสดงความสัมพันธ์ของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของเจมินีไวรัสทั้ง 6 ชนิด กับเจมินีไวรัสชนิดอื่นๆ	35