

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

พืชตระกูลแตง (Cucurbitaceae) เป็นพืชอาหารที่มีความสำคัญของโลก แตงที่รู้จักกันทั่วไป ได้แก่ แตงกวา สควอช บวบเหลี่ยม และ แตงไท เป็นต้น ส่วนใหญ่เป็นพืชเถาเลื้อยฤดูเดียว ลำต้นมีขนาดปานกลาง มีถิ่นกำเนิดในเขตอบอุ่นของโลกและกระจายพันธุ์ทั่วไปในเขตร้อนชื้นและกึ่งร้อนชื้น มีจำนวนเล็กน้อยที่พบอยู่ในเขตอากาศเย็น มีการปลูกและใช้ประโยชน์จากพืชในตระกูลนี้มานาน โดยทั่วไปใช้ผลในการรับประทาน บางชนิดมีสรรพคุณเป็นยารักษาโรค

อย่างไรก็ตามพบว่า การปลูกพืชตระกูลแตงหลายๆ ชนิดมักประสบปัญหาที่ทำให้เกิดความเสียหายแก่ผลผลิต ไม่ว่าจะเป็นทางปริมาณหรือคุณภาพของผลผลิต เช่น การเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชต่างๆ หรือการเกิดความเสียหายอันเนื่องมาจากการเข้าทำลายของเชื้อโรคพืชหลายๆชนิดเช่น เชื้อรา แบคทีเรีย ไวรัส และไวรัส โดยเฉพาะเมื่อปลูกในช่วงฤดูฝนและฤดูหนาว มักพบปัญหาการเข้าทำลายของโรคราน้ำค้าง (Downy mildew) หรือที่เกษตรกรเรียกว่าโรคใบลาย เกิดจากเชื้อราชื่อ *Pseudoperonospora cubensis* (Bark. & M.A.Curtis) Rostovzev. ในกรณีระบาดรุนแรง ทำให้ผลผลิตแตงกวาลดลงมากกว่าร้อยละ 50 หรือโรคใบด่างที่เกิดจากเชื้อไวรัส *Cucumber Mosaic Virus* (CMV) โรคผลด่างของแตงโมเกิดจากเชื้อไวรัส *Watermelon mosaic virus* และ *Squash mosaic virus* ซึ่งเชื้อเข้าทำลายได้ทุกระยะของการเจริญเติบโต แต่มักจะก่อให้เกิดอาการรุนแรงในระยะต้นกล้า ใบเลี้ยง (cotyledon) อาจจะไม่เปลี่ยนเป็นสีเหลืองซีดหรือไม่เปลี่ยนก็ได้ แต่จะหยุดชะงักการเจริญเติบโต ในที่สุดก็จะเหี่ยวแห้งและตายไป ถ้าเชื้อเข้าทำลายเมื่อต้นโตแล้ว จะทำให้ใบแตงด่างเป็นหย่อมๆ สีเขียวอ่อนสลับเขียวเข้ม (mottled) ทั่วไปหยดน้ำและมีขนาดเล็กลง ขอบใบม้วนงอลงด้านล่าง ต้นแคระแกรน ปล้องหดสั้น ใบยอดแตกเป็นฝอยกระจุก (rosette) ถ้าเป็นมากใบจะเหลืองแห้งตาย เชื้อเข้าทำลายที่ผลได้ ทำให้ผลแตงเกิดอาการต่างลายสีเหลืองซีดหรือขาว ผิวแตงเป็นปุ่มนูนตะปุ่มตะป่ำขรุขระทั่วผล และอาจซีดขาวคล้ายแตงดอง (whitepickle) ผลผลิตลดลงทั้งคุณภาพและปริมาณ (วิโรจน์ สุทธภักดิ์ และ โสภภาพัฒน์ บดพิบูลย์)

เชื้อไวรัสที่มีความสำคัญอีกกลุ่มหนึ่งที่พบว่าทำให้เกิดความเสียหายกับพืชตระกูลแตงคือ เชื้อเจมินีไวรัส โดย Chiemsombat และคณะ (1996) ได้รายงานการตรวจพบเจมินีไวรัสในพืชตระกูลแตงที่แสดงอาการต่างๆ กัน เช่นใน ฟักทอง ฟัก น้ำเต้า มีอาการใบหงิกเหลืองในใบที่แตก

ใหม่และใบยอด แต่ใบล่างยังคงมีสีเขียว ในมะระและตำลึง ใบอ่อนแสดงอาการเส้นใบเหลือง ส่วนในบวบเหลี่ยม บวบหอม และแตงกวา จะมีอาการใบด่างเหลือง และจุดเหลืองที่ใบอ่อน ที่ใบแก่จะเป็นแผลแห้ง การเจริญของยอดลดลง และในปี 2542 ยาวภา ตันติวานิช ได้รายงานถึงการศึกษารหัสพันธุกรรมของเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดโรคใบหงิกเหลืองของบวบเหลี่ยม ซึ่งเกิดจากเชื้อไวรัส *Tomato leaf curl New Delhi virus-[Luffa]* โดยพบว่ามีการแพร่ระบาดของโรคในพื้นที่ปลูกบวบเหลี่ยมทั้งในภาคกลางและตะวันตกของประเทศไทย

เจมินีไวรัส (Geminivirus) เป็นสาเหตุของโรคพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจหลายชนิด ก่อให้เกิดโรคที่สร้างความสูญเสียให้กับพืชผลที่สำคัญ เช่น มะเขือเทศ ยาสูบ ข้าวโพด กระจับปี่ ขี้เหล็ก ถั่ว มันสำปะหลังและพืชผักหลายชนิด เจมินีไวรัสมีลักษณะอนุภาคเป็นทรงกลมอยู่ติดกันเป็นคู่ (geminated icosahedral) อนุภาคมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 18 x 30 นาโนเมตร มีจีโนมเป็นดีเอ็นเอสายเดี่ยวขดเป็นวง (circular single stranded DNA) มีความยาวประมาณ 2,700 นิวคลีโอไทด์ มีโปรตีนห่อหุ้มอนุภาค (Capsid protein, CP) ขนาดโมเลกุลประมาณ 30,000 ดาลตัน (Hohn และ Schell, 1987) เจมินีไวรัสสามารถจัดแบ่งออกได้เป็นกลุ่มย่อยๆ ได้ 4 กลุ่ม (Genus) ตามคุณสมบัติของจีโนม ชนิดของพืชอาศัย แมลงพาหะ ได้แก่ แมลงหวี่ขาว, เพลี้ยจักจั่นหรือ Treehopper และมีวัชพืชหลายชนิดเป็นพืชอาศัยในธรรมชาติ การควบคุมโรคที่เกิดจากเจมินีไวรัสทำได้ยาก เนื่องจากมีแหล่งสะสมโรคอยู่ทั่วไปในธรรมชาติบริเวณแปลงเพาะปลูกพืช และแมลงพาหะสามารถเพิ่มปริมาณและแพร่ระบาดได้อย่างรวดเร็ว ทำให้การควบคุมโรคไม่ประสบผลสำเร็จเท่าที่ควร ทั้งนี้เพราะมีข้อจำกัดหลายประการ ได้แก่ ขาดการตรวจวินิจฉัยโรคที่รวดเร็ว วิธีการจำแนกเชื้อสาเหตุโรคและข้อมูลทางด้านระบาดวิทยาของโรคมีอย่างจำกัด

เจมินีไวรัสพบแพร่ระบาดทั่วไปทั้งในเขตร้อน เช่น เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ แอฟริกา และเขตอบอุ่น เช่น ยุโรปตอนใต้ ลาตินอเมริกา คาบสมุทรแคริบเบียน ประเทศสหรัฐอเมริกาแถบตะวันตกเฉียงใต้ และออสเตรเลีย เป็นต้น (Larzarowitz, 1992) ในประเทศไทยพบว่าเจมินีไวรัสทำให้เกิดโรคกับพืชหลายชนิด ได้แก่ โรคใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ (ธีระ, 2532) โรคใบยอดอ่อนของถั่วเหลือง (เครือพันธ์ุ และคณะ, 2530) โรคใบด่างของถั่วเขียว (สิรินุช และคณะ, 2522) โรคใบหงิกเหลืองของบวบเหลี่ยม (ยาวภา, 2542) โรคเส้นใบเหลืองของกระจับปี่เขียว (เครือพันธ์ุ และคณะ, 2544) โดยพบโรคระบาดในแปลงปลูกต่างๆ ทั่วประเทศ

จากรายงานการศึกษาของ Sawangjit S (2009) พบว่าเชื้อเจมินีไวรัสที่ตรวจพบในแตงกวา บวบหอมและผักเขียวที่ปลูกในเขตตำบลดอนชะเอม อำเภอท่ามะกา จังหวัดกาญจนบุรี เป็นเชื้อเจมินีไวรัสที่แตกต่างจากที่เคยมีรายงานในประเทศไทย โดยมีความคล้ายคลึงกับ ToLCNDV-[CP:PC2No10], ToLCNDV-[Lu] และ SLCCV-[TH] มากที่สุด แสดงให้เห็นว่าเชื้อเจมินีไวรัสที่เป็นสาเหตุโรคของพืชตระกูลแตงที่แพร่ระบาดในประเทศไทยมีความผันแปรทางพันธุกรรมค่อนข้างสูง และสืบเนื่องจากในสภาพธรรมชาติการเกิด recombination ระหว่างไวรัส

ในกลุ่มเดียวกันสามารถเกิดขึ้นได้ตลอดเวลา รวมทั้งการเกิด mutation ซึ่งสามารถเกิดขึ้นได้ทุกครั้งที่มีการเพิ่มจำนวนของกรดนิวคลีอิกซึ่งอาจให้ผลทางบวกหรือลบหรือไม่มีผลอย่างใดต่อไวรัสเลยก็ได้ โดยพบว่า DNA virus มีอัตราการเกิด mutation สูงประมาณ  $10^{-8}$ - $10^{-9}$  ต่อการจำลองแบบนิวคลีโอไทด์หนึ่งครั้งซึ่งมีอัตราการเปลี่ยนแปลงที่ค่อนข้างสูง เป็นผลเกิดความหลากหลายของไวรัสในธรรมชาติได้ตลอดเวลา ซึ่งผลที่เกิดขึ้นนี้ส่งผลกระทบต่อการป้องกันและควบคุมโรค เนื่องจากพันธุกรรมของไวรัสที่เปลี่ยนไปอาจทำให้วิธีการตรวจวินิจฉัยโรคแบบเดิมมีประสิทธิภาพในการตรวจหาเชื้อลดน้อยลง

ในปัจจุบันการศึกษาความหลากหลายของไวรัสพืชหลายชนิดเป็นสิ่งที่หน่วยงานที่เกี่ยวข้องในหลายๆ ประเทศต่างให้ความสำคัญเป็นอย่างมาก เนื่องจากทำให้ทราบถึงข้อมูลวิวัฒนาการของไวรัส การเกิดไวรัสชนิดหรือสายพันธุ์ใหม่ ลักษณะอาการใหม่ๆ และการแพร่ระบาดของโรค ส่งผลให้การตรวจวินิจฉัยโรคเป็นไปได้อย่างถูกต้องแม่นยำและรวดเร็ว นำไปสู่การควบคุมโรคอย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งใช้ในกระบวนการการกักกันและควบคุมโรคจากประเทศคู่ค้าเพื่อป้องกันการนำเข้าเชื้อไวรัสชนิดหรือสายพันธุ์ใหม่ๆ การศึกษานี้เป็นการตรวจสอบเจมีนีไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคกับพืชตระกูลแตงชนิดต่างๆ ในพื้นที่เขตภาคกลางของประเทศไทย โดยใช้เทคนิค PCR ซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการวินิจฉัยโรคได้รวดเร็วและแม่นยำกว่าวิธีการตรวจสอบพื้นฐานโดยการดูลักษณะอาการหรือการทำ ELISA นอกจากนี้ยังโคลนยีนและหาลำดับนิวคลีโอไทด์ส่วนยีน CP และบริเวณ IR ของไวรัสแต่ละชนิดที่ตรวจพบเพื่อตรวจสอบว่าในปัจจุบันมีเจมีนีไวรัสชนิดหรือสายพันธุ์ใหม่แพร่ระบาดทำความเสียหายให้แก่พืชตระกูลแตงในพื้นที่ภาคกลางต่างๆ ของประเทศหรือไม่ ซึ่งประโยชน์ที่ได้รับคือทราบข้อมูลการแพร่ระบาดของเจมีนีไวรัสชนิดหรือสายพันธุ์ใหม่ มีฐานข้อมูลพันธุกรรมไวรัสสายพันธุ์ไทยที่เป็นสาเหตุโรคของพืชตระกูลแตงเพื่อใช้ในการจัดจำแนกไวรัสสาเหตุโรค เพื่อพัฒนาชุดตรวจที่มีความจำเพาะต่อไวรัสชนิดต่างๆ รวมทั้งเพื่อหาแนวทางอื่นๆ ในการป้องกันกำจัดโรคต่อไป

## 1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 ตรวจสอบเจมีนีไวรัสที่ทำให้เกิดโรคกับพืชตระกูลแตงในพื้นที่จังหวัดนครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรีและสุพรรณบุรี

1.2.2 หาข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน CP บนจีโนมของเจมีนีไวรัส

1.2.3 วิเคราะห์ความหลากหลายของยีน CP ของเจมีนีไวรัสสายพันธุ์ไทย

### 1.3 ขอบเขตงานวิจัย

- 1.3.1 เก็บตัวอย่างพืชตระกูลแตงในเขตภาคกลาง ประกอบด้วย 4 จังหวัด ได้แก่ จังหวัด นครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรีและสุพรรณบุรีที่แสดงอาการผิดปกติที่คาดว่าเกิดจากเชื้อเจมินีไวรัส
- 1.3.2 ตรวจสอบหาไวรัสสาเหตุโรคของพืชตระกูลแตงในกลุ่มเจมินีไวรัส
- 1.3.3 สังเคราะห์ยีน CP และ IR บนจีโนมของเจมินีไวรัสที่ตรวจพบ
- 1.3.4 ศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน CP บนจีโนมของเจมินีไวรัสที่ตรวจพบ
- 1.3.5 จำแนกชนิดและศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไวรัสสายพันธุ์ไทยโดยใช้การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์และกรดอะมิโนของยีน CP

### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 ได้ข้อมูลความหลากหลายของเชื้อเจมินีไวรัสสายพันธุ์ไทยที่ทำให้เกิดโรคกับพืชตระกูลแตงซึ่งสามารถใช้เป็นข้อมูลและหลักเกณฑ์ในการจัดจำแนกและศึกษาวิวัฒนาการของเชื้อไวรัสกลุ่มนี้ในภายหลังได้
- 1.4.2 ผลการศึกษาที่ได้สามารถนำไปพัฒนาต่อยอดเพื่อนำไปสู่การใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ เชิงสาธารณะหรือเชิงนโยบายได้ เช่น การพัฒนาวิธีตรวจสอบไวรัสเพื่อการวินิจฉัยโรค และเพื่อใช้ในมาตรการการป้องกันและควบคุมโรคโดยดำนกักกันพืช
- 1.4.3 ผลงานวิจัยที่ดีพิมพ์เผยแพร่ในวารสารวิจัยระดับนานาชาติ
- 1.4.4 เกษตรกรหรือผู้ปลูกพืชตระกูลแตงมีความเข้าใจถึงสาเหตุที่ก่อให้เกิดความเสียหายที่แท้จริงและเข้าใจวิธีการป้องกันกำจัดและควบคุมโรคได้
- 1.4.5 ผลิตนักวิจัยรุ่นใหม่ โดยให้นักศึกษาระดับปริญญาตรีเป็นผู้ช่วยนักวิจัย
- 1.4.6 หากผู้วิจัยสามารถทำการศึกษาวิจัยบรรลุวัตถุประสงค์ คุณค่าของโครงการวิจัยโดยรวมจะเป็นประโยชน์ต่อผู้สนใจเป็นอย่างยิ่ง