

## BA07: การถ่ายทอดลักษณะกลายด้านทานโรคเส้นใบเหลือง จากการฉายรังสีแกมมาในกระเจี๊ยบเขียว

\*กนกพร บุญศิริชัย<sup>1</sup> วไลลักษณ์ แพทย์วิบูลย์<sup>1</sup> อำนวย อรรถดลธอง<sup>2</sup> วันเพ็ญ ศรีทองชัย<sup>3</sup>

วิชัย ฐิริปัญญวานิช<sup>1</sup> และศิริลักษณ์ ชูแก้ว<sup>1</sup>

<sup>1</sup>กลุ่มวิจัยและพัฒนานิวเคลียร์ สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)

9/9 หมู่ 7 ต.ทรายมูล อ.องครักษ์ จ.นครนายก 26120

โทรศัพท์ 037 392 901 โทรสาร 037 392 913 E-Mail: kboonsir@yahoo.com

<sup>2</sup>สถาบันวิจัยพืชสวน กรมวิชาการเกษตร กทม. โทรศัพท์ 0 2940 6872

<sup>3</sup>สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กทม. โทรศัพท์ 0 2940 6872

### บทคัดย่อ

การระบาดของโรคเส้นใบเหลือง (YVMD) มีผลกระทบต่อการส่งออกกระเจี๊ยบเขียวห่าเหลี่ยมของประเทศไทย สายพันธุ์กลาย B4610 แสดงลักษณะต้านทานต่อโรคได้รับการพัฒนาขึ้นจากการกลายพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ Okura ด้วยรังสีแกมมา งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการถ่ายทอดลักษณะกลายด้านทานโรค YVMD จาก B4610 จากการกระจายตัวของความต้านทานโรคในประชากรลูกผสม  $F_2$  และ  $BC_1F_1$  จากการผสมพันธุ์ระหว่าง B4610 กับพันธุ์พิจิตร 03 ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอ พบว่าลักษณะต้านทานโรคเกิดจากการกลายในยีนเดี่ยว ( $p > 0.05$ ) และได้ทำการพัฒนาการตรวจการเกิดโรค YVMD ด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอเรส (PCR) เพื่อช่วยในการจำแนกต้นต้านทานและต้นอ่อนแอต่อโรคหลังจากการถ่ายเชื้อ พบว่าดีเอ็นเอไพรเมอร์ AV1F1 หรือ AV1F2 สามารถใช้ร่วมกับไพรเมอร์ AVIR1 ในการตรวจการกระจายของเชื้อในกระเจี๊ยบเขียวได้ โดยพบชั้นดีเอ็นเอจากการทำ PCR ด้วยดีเอ็นเอจากต้นอ่อนแอแต่ไม่พบในต้นต้านทาน การตรวจลำดับดีเอ็นเอพบว่าดีเอ็นเอที่ได้เป็นดีเอ็นเอจากยีน AV1 ของไวรัสโรคเส้นใบเหลืองจริง

คำสำคัญ: กระเจี๊ยบเขียวห่าเหลี่ยม รังสีแกมมา โรคเส้นใบเหลือง การถ่ายทอดลักษณะ

## Inheritance of Yellow Vein Mosaic Disease Resistance, a Mutant Phenotype from Gamma Radiation Mutagenesis in Okra

\*Kanokporn Boonsirichai<sup>1</sup>, Valailak Phadvivulya<sup>1</sup>, Amnuai Adthalungrong<sup>2</sup>, Wanphen Srithongchai<sup>3</sup>,

Vichai Puripunyavanich<sup>1</sup> and Sirilak Chookaew<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Thailand Institute of Nuclear Technology (Public Organization)

9/9 Moo 7, Saimoon, Ongkarak, Nakornnayok 26120

Phone: 037 392 901, Fax: 037 392 913, E-Mail: kboonsir@yahoo.com

<sup>2</sup>Horticultural Research Institute, Department of Agriculture

<sup>3</sup>Crop Protection Research and Development Office, Department of Agriculture

## Abstract

The yellow vein mosaic disease (YVMD) is one of the major diseases affecting export-grade okra production in Thailand. YVMD-resistant B4610 mutant was generated through gamma irradiation of the Okura variety of okra. This study aimed at determining the inheritance of YVMD resistance from B4610 through genetic analysis. Segregation analysis of the  $F_2$  and  $BC_1F_1$  progeny from the cross between B4610 and Pichit 03, a susceptible variety, indicated that YVMD resistance phenotype resulted from a single locus mutation ( $p > 0.05$ ). In addition, a polymerase chain reaction (PCR) assay was developed to aid in the assignment of YVMD resistance phenotype. Combinations of primers AV1F1 or AV1F2 with AV1R1 successfully amplified a DNA fragment from infected susceptible individuals but not from resistant individuals. DNA sequencing of the PCR product confirmed the identity of AV1 gene belonging to the yellow vein mosaic virus.

**Keywords:** Okra, Gamma Radiation, Yellow Vein Mosaic Disease, Inheritance

## 1. บทนำ

กระเจี๊ยบเขียวหัวเหลี่ยมเป็นผักส่งออกของประเทศไทย ซึ่งมีลูกค้าหลักคือประเทศญี่ปุ่น<sup>1</sup> โรคเส้นใบเหลืองเป็นผลให้ผักของกระเจี๊ยบเขียวหัวเหลี่ยมเป็นสีเหลืองไม่ได้มาตรฐานส่งออก นอกจากนี้ยังทำให้เส้นใบเป็นสีเหลือง ลำต้นแคระแกรน ผลผลิตลด<sup>2</sup> สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน) ร่วมกับกรมวิชาการเกษตร ใช้รังสีแกมมาปรับปรุงพันธุ์กระเจี๊ยบเขียวหัวเหลี่ยมพันธุ์ Okura ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มาจากสายพันธุ์ญี่ปุ่น ผักได้มาตรฐานการส่งออก แต่อ่อนแอต่อโรคเส้นใบเหลือง คัดเลือกได้สายพันธุ์ต้านทานโรคที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร B4610 เป็นหนึ่งในสายพันธุ์กลายที่คัดเลือกได้ซึ่งมีลักษณะผักดี<sup>3</sup>

โรคเส้นใบเหลืองในกระเจี๊ยบเขียวหัวเหลี่ยมมีสาเหตุมาจากเชื้อไวรัสชนิด geminivirus ซึ่งมีแมลงห้ำขาว *Bemisia tabaci* เป็นพาหะ ไวรัสเส้นใบเหลืองในกระเจี๊ยบเขียวหัวเหลี่ยมมีพันธุกรรมประกอบด้วยดีเอ็นเอบรรจุในเปลือกหุ้มซึ่งเป็นโปรตีน การตรวจสอบการติดเชื้อสามารถทำได้โดยวิธี enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ซึ่งอาศัยสารภูมิต้านทาน (antibody) ต่อโปรตีนเปลือกหุ้ม<sup>4</sup>

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาการถ่ายทอดลักษณะกลายต้านทานโรคเส้นใบเหลืองจากกระเจี๊ยบเขียวสายพันธุ์กลาย B4610 และเพื่อพัฒนาการตรวจสอบการติดเชื้อด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์ ซึ่งมีความซับซ้อนในการปฏิบัติน้อยกว่าวิธี ELISA

## 2. วิธีการทดลอง

## 2.1 สายพันธุ์กระเจียวเขียวและการเพาะเลี้ยง

B4610 เป็นสายพันธุ์กลายต้านทานโรคเส้นใบเหลืองจากการปรับปรุงพันธุ์ด้วยรังสีแกมมา<sup>3</sup> พันธุ์พิจิตร 03 เป็นสายพันธุ์อ่อนแอ ได้รับเมล็ดจากศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร จ.พิจิตร ประชากร  $F_2$  เป็นลูกชั่วรุ่นที่ 2 จากการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์พิจิตร 03 กับสายพันธุ์กลาย B4610 กระทำที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตร ประชากร  $BC_1F_1$  ได้จากการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์พิจิตร 03 กับลูกชั่วรุ่นที่ 1 ระหว่างพันธุ์พิจิตร 03 กับสายพันธุ์กลาย B4610 การทดสอบโรคทำในแปลงปลูกที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตรซึ่งมีการระบาดของโรคเส้นใบเหลืองในพื้นที่ วินิจฉัยการเกิดโรคด้วยสายตาจากอาการเส้นใบเหลืองที่แสดงออกทางใบ

## 2.2 การสกัดดีเอ็นเอและการวิเคราะห์การเกิดโรคด้วยเทคนิคดีเอ็นเอ

สกัดดีเอ็นเอด้วยวิธีของกนกพรและคณะ<sup>5</sup> ออกแบบไพรเมอร์สำหรับยีน AV1 ของไวรัสด้วยโปรแกรม Primer 3<sup>6</sup> โดยใช้ข้อมูลลำดับดีเอ็นเอจาก NCBI database<sup>7</sup> ทำการเปรียบเทียบลำดับดีเอ็นเอและลำดับกรดอะมิโนด้วยโปรแกรม Clustal W2<sup>8</sup> รอบการทำ PCR คือ 30 วินาทีที่ 95°C, 30 วินาทีที่ 50°C, และ 1 นาทีที่ 70°C, จำนวน 30 รอบ ตรวจขนาดของชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จาก PCR ด้วย 1.0% agarose gel electrophoresis ย้อมสีด้วย ethidium bromide

## 3. ผลการทดลองและวิจารณ์

### 3.1 การถ่ายทอดลักษณะกลายต้านทานโรคเส้นใบเหลือง

จากการปลูกทดสอบประชากร  $F_2$  และ  $BC_1F_1$  ในแปลงปลูกที่ศูนย์วิจัยพืชสวนพิจิตรซึ่งมีการระบาดของโรคเส้นใบเหลืองพบการกระจายของลักษณะความต้านทานโรคในสัดส่วน ต้นต้านทาน: ต้นอ่อนแอ สอดคล้องกับการกระจายตัวของยีนเดี่ยวคือ 3:1 และ 1:1 ตามลำดับ ( $p > 0.05$ ) (Table 1) แสดงว่าการกลายที่ก่อให้เกิดความต้านทานโรคซึ่งเป็นลักษณะกึ่งเด่นเกิดจากตำแหน่งกลายเพียงหนึ่งตำแหน่ง

**Table 1** Segregation of the yellow vein mosaic disease among okra populations

| Plant population                | Total | No. resistant : no. susceptible <sup>a</sup> |
|---------------------------------|-------|----------------------------------------------|
| Pichit 03                       | 213   | 18:195                                       |
| B4610                           | 206   | 206:0                                        |
| $F_2$ of Pichit 03 x B4610      | 416   | 313:103                                      |
| Pichit 03 x (Pichit 03 x B4610) | 408   | 206:202                                      |

<sup>a</sup>The disease was assessed at 2.5 months.

### 3.2 การพัฒนาการตรวจสอบการเกิดโรคเส้นใบเหลือง

ทำการเปรียบเทียบลำดับดีเอ็นเอของยีน AV1 จากไวรัสก่อโรคเส้นใบเหลืองไอโซเลทจากปากีสถาน อินเดีย และเม็กซิโก (GENBANK no.AJ002450, AJ002457, EU184017, DQ318936 and DQ308546) และออกแบบไพรเมอร์โดยใช้ลำดับดีเอ็นเอจากส่วนที่มีความเหมือนหรือคล้ายคลึงกันระหว่างไอโซเลท (Fig 1 และ Table 2) พบว่าเมื่อใช้ reverse primer AV1R1 คู่กับ forward primer AV1F1 หรือ AV1F2 สามารถเพิ่มจำนวนชิ้นดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่พอลิเมอร์จากตัวอย่างใบกระเจียวเขียวพันธุ์พิจิตร 03 ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอต่อโรคที่ได้รับการถ่ายเชื้อไวรัส แต่ไม่พบการเพิ่มจำนวนจากสายพันธุ์กล้วย B4610 ต้านทานโรคเส้นใบเหลือง (Figure 2) และเมื่อนำชิ้นดีเอ็นเอที่ได้ไปตรวจลำดับดีเอ็นเอ พบว่าเป็นชิ้นส่วนของยีน AV1 ของไวรัสเส้นใบเหลือง (E value = 0.0 by MegaBlast<sup>7</sup>) โดยมีความเหมือนกับไอโซเลทจากปากีสถานและอินเดีย 86.34% และเหมือนกับไอโซเลทจากเม็กซิโก 60.97% (Figure 3) แสดงว่าการจำลองตัวของอนุภาคไวรัสเป็นไปอย่างจำกัดใน B4610 เทียบกับพันธุ์อ่อนแอต่อโรค จึงตั้งสมมติฐานว่าการกลายใน B4610 ที่เกิดจากการเหนี่ยวนำด้วยรังสีแกมมา จำกัดการจำลองตัวของไวรัสซึ่งอาจจะเป็นในระดับการจำลองดีเอ็นเอหรือในระดับ particle assembly ทำให้อนุภาคไวรัสไม่สามารถกระจายตัวในวงกว้างหรือก่อให้เกิด systemic infection ได้



Fig 1 Location of AV1 primers (arrows). The coding region of AV1 is highlighted in blue.

Table 2 Sequence of AV1 primers

| Primer name | Primer type | Sequence               |
|-------------|-------------|------------------------|
| AV1F1       | Forward     | CTCGTAATTATGTCGAAGCGA  |
| AV1F2       | Forward     | AAACAGGCCTATGAACAGGAAA |
| AV1R1       | Reverse     | CTTAAGAGTAGCATACACTGG  |
| AV1R2       | Reverse     | ACAAGGAAAAACATCACCGAAT |

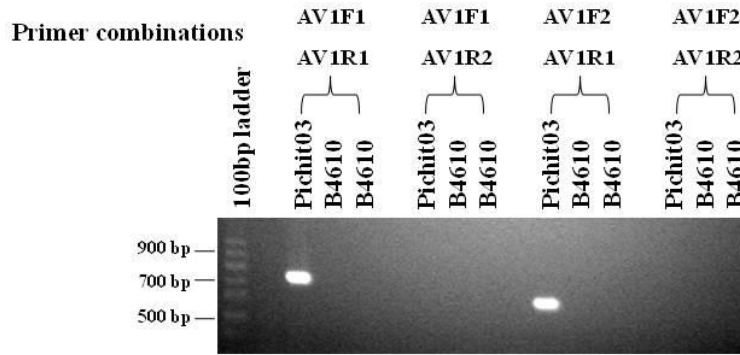


Fig 2 Testing primers for the detection of the yellow vein mosaic virus by a PCR method.

|          |                                                              |                                                              |     |
|----------|--------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|-----|
| AJ002450 | GATTTAATCTGATTCTACGCTCTGTAATATG-TGGAAGCGAGCTG-CCGATATCGTC    | ATTTCTACGCGCGCTGAAAGTACGCGGCGTGTGAACCTCGGCAGCCCATACACCAGC    | 118 |
| AJ002457 | -----GTAATTATG-TGGAAGCGAGCTG-CCGATATCGTC                     | ATTTCTACGCGCGCTGAAAGTACGCGGCGTGTGAACCTCGGCAGCCCATACACCAGC    | 93  |
| EU184017 | -----ATG-TGGAAGCGAGCTG-CCGATATCGTC                           | ATTTCTACGCGCGCTGAAAGTACGCGGCGTGTGAACCTCGGCAGCCCATACACCAGC    | 87  |
| Thailand | -----TTCTTGTAATHANHTGGAAGCGAGCTG-CCGATATCGTC                 | ATTTCTACGCGCGCTGAAAGTACGCGGCGTGTGAACCTCGGCAGCCCATACACCAGC    | 100 |
| DQ308546 | -----ATG-CCTAAGCGCGATCTCCCATGGCGCT                           | CGATC-GCGGGAAACGTCAGAGGTAGTGGAAATGCTAACT-----ATTCTCC--T      | 75  |
| DQ318936 | -----ATG-CCTAAGCGCGATCTCCCATGGCGCT                           | CGATC-GCGGGAAACGTCAGAGGTAGTGGAAATGCTAACT-----ATTCTCC--T      | 75  |
| AJ002450 | CGTGTGCTGCGCCCATATGTCGCGCTCACAAAACACAGGCATGGACAACAGGCCTATG   | AACAGGAAACCCAGAAATGTACCGGATGTACAGAACTCCGATGTTCCAAAGGGGTGTGAG | 238 |
| AJ002457 | CGTGTGCTGCGCCCATATGTCGCGCTCACAAAACACAGGCATGGACAACAGGCCTATG   | AACAGGAAACCCAGAAATGTACCGGATGTACAGAACTCCGATGTTCCAAAGGGGTGTGAG | 213 |
| EU184017 | CGTGTGCTGCGCCCATATGTCGCGCTCACAAAACACAGGCATGGACAACAGGCCTATG   | AACAGGAAACCCAGAAATGTACCGGATGTACAGAACTCCGATGTTCCAAAGGGGTGTGAG | 207 |
| Thailand | CGTGTGCTGCGCCCATATGTCGCGCTCACAAAACACAGGCATGGACAACAGGCCTATG   | AACAGGAAACCCAGAAATGTACCGGATGTACAGAACTCCGATGTTCCAAAGGGGTGTGAG | 220 |
| DQ308546 | CGTGCAGGAA-----GTGGGCCAAGAACAGGCCTCTGA-ATGGGTGACACAGGCCATG   | TACAGGAACCCAGGATCTACCGGATGTATAGACTCCGATGCGCCAGAGGTGTGAA      | 189 |
| DQ318936 | CGTGCAGGAA-----GTGGGCCAAGAACAGGCCTCTGA-ATGGGTGACACAGGCCATG   | TACAGGAACCCAGGATCTACCGGATGTATAGACTCCGATGCGCCAGAGGTGTGAA      | 189 |
| AJ002450 | GGTCCCTGTAAGGTACAGTCGTTTGAATCTCGACACGATGTGTTTCAATATGGTAAGGTA | ATGTGTATTTTCGATGTACCGGTGGAGTCGGTTTGACCATCGTATAGGTAAAGCGTTT   | 358 |
| AJ002457 | GGTCCCTGTAAGGTACAGTCGTTTGAATCTCGACACGATGTGTTTCAATATGGTAAGGTA | ATGTGTATTTTCGATGTACCGGTGGAGTCGGTTTGACCATCGTATAGGTAAAGCGTTT   | 333 |
| EU184017 | GGTCCCTGTAAGGTACAGTCGTTTGAATCTCGACACGATGTGTTTCAATATGGTAAGGTA | ATGTGTATTTTCGATGTACCGGTGGAGTCGGTTTGACCATCGTATAGGTAAAGCGTTT   | 327 |
| Thailand | GGTCCCTGTAAGGTACAGTCGTTTGAATCTCGACACGATGTGTTTCAATATGGTAAGGTA | ATGTGTATTTTCGATGTACCGGTGGAGTCGGTTTGACCATCGTATAGGTAAAGCGTTT   | 339 |
| DQ308546 | GGGCCCTTGAAGGTACAGTCCTATGAACAGCGCACGATATCTCATGTGCGGGAAGGTC   | ATGTGCATCTCGACGTGACACGTGGTAAATGGATCACTCATCGTGTGGGTAAAGCGTTT  | 309 |
| DQ318936 | GGGCCCTTGAAGGTACAGTCCTATGAACAGCGCACGATATCTCATGTGCGGGAAGGTC   | ATGTGCATCTCGACGTGACACGTGGTAAATGGATCACTCATCGTGTGGGTAAAGCGTTT  | 309 |
| AJ002450 | TGTGTCAAGTCAGTTTATGTTT-AGGTAAGATATGGATGGATGAGAACATCAAGCAAA   | GAAACATACGAATTCGGTGTATTTTCTTGTCTGTGATCGACGACCGGTAGATAAAC     | 477 |
| AJ002457 | TGTGTCAAGTCAGTTTATGTTT-AGGTAAGATATGGATGGATGAGAACATCAAGCAAA   | GAAACATACGAATTCGGTGTATTTTCTTGTCTGTGATCGACGACCGGTAGATAAAC     | 452 |
| EU184017 | TGTGTCAAGTCAGTTTATGTTT-AGGTAAGATATGGATGGATGAGAACATCAAGCAAA   | GAAACATACGAATTCGGTGTATTTTCTTGTCTGTGATCGACGACCGGTAGATAAAC     | 446 |
| Thailand | TGTGTCAAGTCAGTTTATGTTT-AGGTAAGATATGGATGGATGAGAACATCAAGCAAA   | GAAACATACGAATTCGGTGTATTTTCTTGTCTGTGATCGACGACCGGTAGATAAAC     | 458 |
| DQ308546 | TGTGTCAAGTCAGTTTATGTTT-AGGTAAGATATGGATGGATGAGAACATCAAGCTCAA  | GAAACATACGAATTCGGTGTATTTTCTTGTCTGTGATCGACGACCGGTAGATAAAC     | 428 |
| DQ318936 | TGTGTCAAGTCAGTTTATGTTT-AGGTAAGATATGGATGGATGAGAACATCAAGCTCAA  | GAAACATACGAATTCGGTGTATTTTCTTGTCTGTGATCGACGACCGGTAGATAAAC     | 428 |
| AJ002450 | ACAAGATTTTGGTGAAGTATTC-ATATGTTTGTATACGAGCCTAGTACGGCGACCGTGA  | AGAACATGTCATAGGGATCGTACACAGGTGTTGAGGAATGGCATGCAACCGTTACTGGT  | 596 |
| AJ002457 | ACAAGATTTTGGTGAAGTATTC-ATATGTTTGTATACGAGCCTAGTACGGCGACCGTGA  | AGAACATGTCATAGGGATCGTACACAGGTGTTGAGGAATGGCATGCAACCGTTACTGGT  | 571 |
| EU184017 | ACAAGATTTTGGTGAAGTATTC-ATATGTTTGTATACGAGCCTAGTACGGCGACCGTGA  | AGAACATGTCATAGGGATCGTACACAGGTGTTGAGGAATGGCATGCAACCGTTACTGGT  | 565 |
| Thailand | TCAGGATTTTGGAGAGGTTTATATGTTTGTATACGAGCCTAGTACGGCGACCGTGA     | AGAACATGTCATAGGGATCGTACACAGGTGTTGAGGAATGGCATGCAACCGTTACTGGT  | 577 |
| DQ308546 | AATGATTTTGGTGAAGTATTC-ATATGTTTGTATACGAGCCTAGTACGGCGACCGTGA   | AGAACATGTCATAGGGATCGTACACAGGTGTTGAGGAATGGCATGCAACCGTTACTGGT  | 547 |
| DQ318936 | AATGATTTTGGTGAAGTATTC-ATATGTTTGTATACGAGCCTAGTACGGCGACCGTGA   | AGAACATGTCATAGGGATCGTACACAGGTGTTGAGGAATGGCATGCAACCGTTACTGGT  | 547 |
| AJ002450 | GCAATATGCGAGTAAGGAGCAGGCTTTGGTCAAGAAGTTTGT-AGGGTTAAACAATAC   | GTTGTTTACAACCAAGCAGGAGCAGGAAATACGAGAAAT-CATA-CGGAAATGCGTTAA  | 713 |
| AJ002457 | GCAATATGCGAGTAAGGAGCAGGCTTTGGTCAAGAAGTTTGT-AGGGTTAAACAATAC   | GTTGTTTACAACCAAGCAGGAGCAGGAAATACGAGAAAT-CATA-CGGAAATGCGTTAA  | 688 |
| EU184017 | GCAATATGCGAGTAAGGAGCAGGCTTTGGTCAAGAAGTTTGT-AGGGTTAAACAATAT   | GTTGTTTACAATCAACAGGAGCAGGAAATACGAGAAAT-CATA-CGGAAATGCGTTAA   | 682 |
| Thailand | GCAATATGCGAGTAAGGAGCAGGCTTTGGTCAAGAAGTTTGT-AGGGTTAAACAATAT   | GTTGTTTACAATCAACAGGAGCAGGAAATACGAGAAAT-CATA-CGGAAATGCGTTAA   | 697 |
| DQ308546 | GRCAATATGCGAGTAAGGAGCAGGCTTTGGTCAAGAAGTTTGT-AGGGTTAAACAATAT  | GTTGTTTACAATCAACAGGAGCAGGAAATACGAGAAAT-CATA-CGGAAATGCGTTAA   | 664 |
| DQ318936 | GRCAATATGCGAGTAAGGAGCAGGCTTTGGTCAAGAAGTTTGT-AGGGTTAAACAATAT  | GTTGTTTACAATCAACAGGAGCAGGAAATACGAGAAAT-CATA-CGGAAATGCGTTAA   | 664 |
| AJ002450 | T-GCTTTATATGGCTGTACCATGCTAGCAACCCAGTGTATGCTACTTTG-AGGATTAG   | AATATATTTTTT--ATGACT-CTGTAACGAACTAATATTAATAAGCTTG            | 817 |
| AJ002457 | T-GCTTTATATGGCTGTACCATGCTAGCAACCCAGTGTATGCTACTTTG-AGGATTAG   | AATATATTTTTT--ATGACT-CTGTAACGAACTAATATTAATAAGCTTG            | 779 |
| EU184017 | T-GCTTTATATGGCTGTACCATGCTAGTACACCCAGTGTATGCTACTTTG-AGGATTAG  | TATTTTATTTTTT--ATGACT-CTGTAACGAACTAATATTAATAAGCTTG           | 771 |
| Thailand | H-GCTT-ATAAGGCGGAAACCA--NTAG-----                            | -----                                                        | 722 |
| DQ308546 | TTACTGTATATGGCATGTACTATGCTCTGAACCTGTATATGCAACTCTTTAAGATTCTH  | AATCTACTTTCT-ACGATT-CGATCAGCAATTGA-----                      | 756 |
| DQ318936 | T-ATTGTATATGGCATGTACTATGCTCTGAACCTGTATATGCAACCTTT-AAAATTCTG  | GATCTACTTTCTTACGATTTCGATCAGCAATTAA-----                      | 756 |

Fig 2 Sequence alignment of okra the yellow vein mosaic viral isolates. AJ002450 and AJ002457 were from Pakistan. EU184017 was from India. DQ308546 and DQ318936 were from Mexico. Nucleotides that are preserved among all of the isolates are highlighted in red. Nucleotides that are preserved only among Pakistani, Indian and Thai isolates are highlighted in blue.

#### 4. สรุป

จากการศึกษาการกระจายตัวของลักษณะกลายด้านทานโรคเส้นใบเหลืองโดยใช้ประชากร F2 และ BC1F1 จากการผสมพันธุ์ระหว่าง Pichit 03 และ สายพันธุ์กล้วย B4610 พบว่าสอดคล้องกับการ



กระจายตัวของยีนเดี่ยว ( $p > 0.05$ ) และได้พัฒนาวิธีการตรวจสอบการเกิดโรคเส้นใบเหลืองโดยเทคนิค PCR พบไพรเมอร์ AV1F1 และ AV1F2 สามารถใช้ร่วมกับ ไพรเมอร์ AV1R1 ในการเพิ่มจำนวนส่วนของยีน AV1 จากพันธุกรรมของไวรัสที่อยู่ในใบของต้นอ่อนแอต่อโรคได้ โดยตรวจไม่พบส่วนของยีน AV1 จากต้นต้านทานต่อโรค

## 5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนส่วนหนึ่งจากทบวงการพลังงานปรมาณูระหว่างประเทศ

Research Contract no. 12824

## 6. เอกสารอ้างอิง

1. ทวีศักดิ์ ชัยเรืองยศ, 2547. ทิศทางเกษตร: ‘แม่โจ้’ พัฒนากระเจี๊ยบเขียวต้านทานโรค. AGGIE Thai Forums. [http://www.aggiethai.com/forum8.5/forum\\_posts.asp?TID=293](http://www.aggiethai.com/forum8.5/forum_posts.asp?TID=293).
2. กลุ่มงานเตือนภัยศัตรูพืชส่วนบริหารศัตรูพืช สำนักพัฒนาคุณภาพสินค้าเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร. 2547. โรคเส้นใบเหลืองในกระเจี๊ยบเขียว. เดือนการระบาดประจำเดือนกุมภาพันธ์ 2547. ปีที่ 5 ฉบับที่ 2. <http://plantpro.doae.go.th/Forecast/month/0247/vein%20yellowing.html>
3. Phadvibulya, V., Puripanyavanich, V., Kittipakorn, K., and Adthalungrong, A. 2001. Induce mutation for resistance to yellow vein disease in okra. in *The 8<sup>th</sup> Nuclear Science and Technology Conference. Radiation and Life*. Kasetsart University, Bangkok, Thailand. pp.53-62.
4. Kittipakorn, K., A. Adthalungrong and P. Chiemsombat. 1999. Okra vein yellowing disease. *Thai Phytopathology* 14(1-2) :16-30.
5. กนกพร บุญศิริชัย, วไลลักษณ์ แพทย์วิบูลย์, อำนวย อรรถลักรอง, วันเพ็ญ ศรีทองชัย, วิชัย ภูริปัญญวานิช, 2550. การค้นหาส่วนของดีเอ็นเอที่แสดงความสัมพันธ์กับลักษณะกลายต้านทานโรคเส้นใบเหลืองในกระเจี๊ยบเขียวที่ได้จากการฉายรังสี. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีนิวเคลียร์ ครั้งที่ 10. วันที่ 16-17 สิงหาคม 2550. ศูนย์การประชุมไบเทคบางนา กรุงเทพมหานคร. BA03.
6. Primer 3 [Online]. Available from URL: <http://fokker.wi.mit.edu/primer3/input.htm>.
7. National Center for Biotechnology Information, National Institute of Health, USA. NCBI databases [Online]. Available from URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>.
8. European Bioinformatics Institute, European Molecular Biology Laboratory. ClustalW2 software [Online]. Available from URL: <http://www.ebi.ac.uk/Tools/clustalw2/index.html>.