

119. การตรวจสอบโคลอสเตอโรไวรัสสาเหตุโรคเหี่ยวของสับปะรด โดยใช้กรดนิวคลีอิกตัวตรวจ

Detection of Closterovirus causing pineapple wilt disease by nucleic acid probe

เยาวภา ตันติวาณิช วันเพ็ญ ศรีทองชัย ดารุณี ปุณณพิทักษ์

บทคัดย่อ

โรคเหี่ยวสับปะรด (Pineapple wilt disease หรือ Mealybug wilt of pineapple) ในประเทศไทยถูก
รายงานว่าพบระบาดในแหล่งปลูกสับปะรดจังหวัดชลบุรี ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2532 ได้ทดลองตรวจสอบตัวอย่างสับปะรด
เป็นโรคเหี่ยวจากเชื้อไวรัส Pineapple mealybug wilt-associated virus (PMWaVs) ด้วยวิธี RT-PCR ที่
ปรับปรุงมาจากกรรมวิธีของ Sether และ Hu (2002) ที่ใช้ชุดไพรเมอร์ 2 ชุด คือ ชุดที่ 1 ได้แก่ 5'
ACAGGAAGGACAACACTCAC 3' กับ 5' CGCACAAACTTCA AGCAATC 3' ใช้ตรวจจำแนก PMWaV-1
และชุดที่ 2 ใช้ตรวจจำแนก PMWaV-2 ได้แก่ 5' CATACGAAGTAGACTCATACG 3' กับ 5'
CCATCCACCAATTTTACTAC 3' สกัดอาร์เอ็นเอโดยใช้ชุด MasterPure™ Complete DNA and RNA
Purification Kit (Epicentre Biotechnologies) ได้อาร์เอ็นเอที่มีคุณภาพดี เมื่อนำมาสังเคราะห์ cDNA และเพิ่ม
ปริมาณดีเอ็นเอด้วยวิธี PCR ที่เหมาะสมที่ 94 องศาเซลเซียส 10 นาที 1 รอบ และบ่มปฏิกิริยาจำนวน 35 รอบ
ของ 3 อุณหภูมิ สลับกันที่ denaturing temperature 94 องศาเซลเซียส 1 นาที 30 วินาที annealing
temperature 55 องศาเซลเซียส 1 นาที 30 วินาที และ extension temperature 72 องศาเซลเซียส 1 นาที
30 วินาที ต่อด้วย 72 องศาเซลเซียส 10 นาที 1 รอบ ได้ดีเอ็นเอ ขนาด 589 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งเป็นส่วนของ
HSP 70 homologous genes ของเชื้อไวรัส PMWaV-1 และไม่พบชิ้นดีเอ็นเอ ขนาด 609 นิวคลีโอไทด์ ของเชื้อ
ไวรัส PMWaV-2 จากนั้นโคลนดีเอ็นเอที่ได้เข้ากับพลาสมิดพาหะ แบบ cloning vector คือ pGEM-T easy
(Promega) นั้น แต่ไม่สามารถเชื่อมต่อพลาสมิดพาหะเข้ากับ cDNA ของเชื้อไวรัสสาเหตุโรคเหี่ยวของสับปะรดได้

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

คัดเลือกได้ต้นยางลูกผสมที่ให้ผลผลิตน้ำยาง