บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง

1. ขั้นตอนการแยกไวรัสจากตัวอย่างพืช

จากการพบ *Malvastrum coromandelianum* ที่แสดงอาการเส้นใบเหลือง ในพื้นที่เขตดอนเมือง กรุงเทพฯ ในปี พ.ศ. 2545 เมื่อทำการสำรวจในภายหลัง (พฤศจิกายน พ.ศ.2545 ถึง ตุลาคม พ.ศ.2546) พบการแพร่กระจายของ *M. coromandelianum* ที่แสดงอาการเส้นใบเหลืองในหลายจังหวัด เช่น ขอนแก่น เชียงใหม่ พิจิตร ระยอง ลพบุรี และสมุทรสงคราม จากรายงานการศึกษาของทิวารัตน์ สินธุวิวัฒน์ (2544) ที่ทำการศึกษา Southern Blot Hybridization ของ DNA จาก *M. coromandelianum* ที่แสดงอาการดังกล่าว* โดยใช้ DNA-A ของ *Dicliptera yellow mottle virus* (DYMoV) เป็น probe พบว่าผลการทดลองเป็นบวก แต่ผลการตรวจสอบไวรัสด้วย PCR โดยใช้ universal primers ที่ออกแบบโดย Briddon และ Markham (1994) ให้ผลเป็นลบ ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จึงได้ทำการตรวจสอบไวรัสด้วย Southern Blot Hybridization อีกครั้งโดยใช้ DNA-A และ DNA-B ของ DYMoV เป็น probe ซึ่งได้ผลการทดลองเป็นบวกทั้ง 2 probe ซึ่งเป็นการยืนยันผลการทดลองของทิวารัตน์ สินธุวิวัฒน์ และทำให้ทราบว่า *M. coromandelianum* ที่แสดงอาการเส้นใบเหลืองน่าจะเป็น bipartite begomovirus

จากการถ่ายทอดเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองจาก *M. coromandelianum* ด้วยแมลงหวี่ขาว 1 ตัวต่อต้นในขั้นตอน inoculation feeding เพื่อจำกัดจำนวนอนุภาคของไวรัสที่แมลงหวี่ขาวสามารถรับมาได้ให้น้อยที่สุด (Honda *et al*., 1986) ดังนั้นจึงมีโอกาสที่จะแยกได้เฉพาะไวรัสที่สนใจศึกษาเพียงชนิดเดียวโดยไม่มีการปนเปื้อนไวรัสชนิดอื่นที่อาจมีอยู่ในต้น *M. coromandelianum* ที่เก็บจากธรรมชาติ เพื่อใช้เป็นแหล่งของไวรัสในการศึกษาขั้นต่อๆไป และเมื่อทำการตรวจสอบพืชที่แสดงอาการเส้นใบเหลืองด้วย Southern Blot Hybridization โดยใช้ DNA-A ของ DYMoV เป็น probe ผลที่ได้เป็นการยืนยันว่าลักษณะอาการเส้นใบเหลืองที่ถ่ายทอดได้โดยแมลงหวี่ขาวเกิดจากเชื้อบีโกโมไวรัสจริง สำหรับการถ่ายทอดด้วยวิธีการเสียบยอดทำให้สามารถถ่ายเชื้อไวรัสทุกชนิดที่

---

* ผลการศึกษาในขณะนั้นระบุว่าเป็น *Sida* sp. แต่การศึกษาครั้งนี้พบว่าชื่อวิทยาศาสตร์ที่ถูกต้องคือ *Malvastrum coromandelianum*

มีอยู่ในยอดพืชที่นำมาต่อ ดังนั้นเชื้อไวรัสชนิดอื่นที่ไม่เกี่ยวข้องกับอาการเส้นใบเหลืองมีโอกาสปนเปื้อนมาด้วย วิธีนี้จึงไม่เหมาะสมในการแยกสายพันธุ์ไวรัส

2. การศึกษาสมบัติทางชีวภาพ

2.1 การศึกษาการถ่ายทอดไวรัสด้วยวิธีต่าง ๆ

เมื่อทำการศึกษาการถ่ายทอดไวรัสด้วยวิธีต่างๆ พบว่าเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองจาก *M. coromandelianum* สามารถถูกถ่ายทอดได้ 2 วิธี คือ การเสียบยอด และโดยแมลงหวี่ขาวเป็นพาหะ โดยทั่วไปไวรัสทุกชนิดสามารถถูกถ่ายทอดด้วยวิธีการเสียบยอดได้ดี เนื่องจากไวรัสที่อยู่ในเนื้อเยื่อพืชจะสามารถเคลื่อนลงมายังต้นตอ ผ่านทางท่อลำเลียงและ/หรือระหว่างเซลล์โดยตรง (Honda *et al.*, 1986) และวิธีนี้จะมีประสิทธิภาพสูงถ้ายอดที่นำมาต่อไม่แห้งตายภายใน 7 วัน แต่อุปสรรคของวิธีการต่อยอดที่พบในการศึกษานี้ คือต้น *M. coromandelianum* มีขนาดเล็กและลำต้นอ่อนมาก จึงต้องใช้เวลาในการทำการทดลองอย่างรวดเร็ว เพื่อป้องกันการแห้งของเนื้อเยื่อบริเวณรอยตัด

สำหรับวิธีการถ่ายทอดไวรัสด้วยแมลงหวี่ขาว พบว่าการถ่ายทอดด้วยวิธีนี้มีความสำคัญ เนื่องจากเป็นวิธีการถ่ายทอดที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ และมีผลต่อการแพร่ระบาดของโรค (Markham *et al.*, 1994) จากการศึกษาของ Greathead (1986) พบว่าแมลงหวี่ขาว (*Bemisia tabaci*) มีพืชอาศัยมากกว่า 500 ชนิดจาก 6 วงศ์ ในประเทศแถบเขตร้อน และเขตอบอุ่น โดยเฉพาะอย่างเช่นประเทศไทย ตามธรรมชาติแมลงหวี่ขาวมีพัฒนาการจากไข่เป็นตัวอ่อน 4 ระยะถึงเป็นตัวเต็มวัย แมลงหวี่ขาวสามารถเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็วเมื่อสภาวะแวดล้อมเหมาะสม (Ghanim *et al.*, 1998) จากรายงานการศึกษาพบว่าแมลงหวี่ขาวชนิด *B. tabaci* นี้สามารถแบ่งย่อยลงไปได้หลาย biotype เช่นในรายงานของ Perring และคณะ (1991) ได้ทำการแยกแมลงหวี่ขาวออกเป็น 2 biotype คือ biotype A และ biotype B โดยใช้ลักษณะของตัวอ่อนในระยะที่ 4 ในการจำแนก ซึ่งแมลงหวี่ขาวกลุ่มใหญ่ที่สุด และเป็น biotype ที่ทำให้เกิดความเสียหายทั่วโลก คือ biotype B (Markham *et al.*, 1994) จึงเป็นที่นิยมนำมาใช้ในการศึกษาความสามารถในการถ่ายทอดไวรัส (Fauquet *et al.*, 2003) ซึ่งแมลงหวี่ขาวที่ใช้ในการทดลองในครั้งนี้เป็นแมลงหวี่ขาว biotype B

โดยส่วนใหญ่แล้วบีโกโมไวรัสไม่สามารถถูกถ่ายทอดได้ด้วยวิธีกล แต่บีโกโมไวรัสบางชนิด เช่น *Squash leaf curl virus* (SqLCV) สามารถถูกถ่ายทอดด้วยวิธีกลสู่ *Phaseolus vulgaris* และ *Nicotiana benthamiana* ได้ (Lazarowite and Lazdins, 1991) จากการทดลองนี้พบว่า

ไวรัสเส้นใบเหลืองจาก *M. coromandelianum* ไม่สามารถถ่ายทอดได้ด้วยวิธีกลเช่นเดียวกับบีโกโมไวรัสส่วนใหญ่ ซึ่งอาจเกิดจากสมบัติของเชื้อไวรัสบางประการ เช่น อนุภาคไม่สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมภายนอกเซลล์ได้ หรือบัฟเฟอร์ที่ใช้ในการทดลองยังไม่เหมาะสมสำหรับการถ่ายทอด เช่นค่า pH และปัจจัยอื่นๆ เช่นอุณหภูมิในขณะที่ทำการถ่ายทอด เป็นต้น (Honda *et al.*, 1986)

ความสามารถในการถ่ายทอดผ่านทางเมล็ด เป็นวิธีการถ่ายทอดไวรัสที่สำคัญอีกวิธีหนึ่ง เนื่องจากเมล็ดที่ติดเชื้อไวรัสเมื่องอกจะเป็นแหล่งของไวรัสตั้งแต่ต้นฤดูกาลปลูก ทำให้มีโอกาสเกิดการแพร่ระบาดของโรคในวงกว้างและมีระดับความสูญเสียทางเศรษฐกิจสูง (Rybicki *et al.*, 2000) นอกจากนี้ยังมีผลกระทบต่อเกษตรกรในการเสียค่าใช้จ่ายเพื่อซื้อเมล็ดที่ปลอดโรคในราคาแพง สำหรับการศึกษาการถ่ายทอดไวรัสผ่านทางเมล็ดโดยการนำเมล็ด *M. coromandelianum* จากต้นที่แสดงอาการเส้นใบเหลืองมาเพาะ ไม่พบว่าเมล็ดที่เพาะใหม่แสดงอาการเส้นใบเหลือง ซึ่งเหมือนกับบีโกโมไวรัสส่วนใหญ่ที่ไม่สามารถถ่ายทอดทางเมล็ดได้

2.2 การศึกษาประสิทธิภาพในการถ่ายทอดไวรัสของแมลงหวี่ขาว

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าแมลงหวี่ขาวเพียง 1 ตัวต่อต้นสามารถถ่ายทอดไวรัสเส้นใบเหลืองของ *M. coromandelianum* สู่พืชต้นใหม่ได้ถึง 30 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อจำนวนแมลงหวี่ขาวเพิ่มเป็น 40 ตัวจะสามารถถ่ายทอดไวรัสได้เกือบ 100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นโอกาสที่ไวรัสชนิดนี้จะสามารถแพร่กระจายอย่างกว้างขวางในธรรมชาติจึงมีมาก แม้ในช่วงที่มีแมลงหวี่ขาวน้อย เช่น ระหว่างเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนกุมภาพันธ์เพราะเป็นช่วงฤดูหนาว (Ghanim *et al.*, 1998) แมลงหวี่ขาวถูกจัดเป็นแมลงพาหะที่สามารถถ่ายทอดบีโกโมไวรัสแบบ persistent เพราะสามารถถ่ายทอดได้เป็นระยะเวลานานกว่า 3 วัน ซึ่งแมลงบางชนิดสามารถถ่ายทอดเชื้อไวรัสได้ตลอดอายุขัย (Ghanim *et al.*, 1998) โดยเมื่อแมลงหวี่ขาวรับเชื้อไวรัสเข้าไป เชื้อไวรัสจะถูกเคลื่อนจากเซลล์ผนังทางเดินอาหารแล้วเคลื่อนเข้าสู่กระแสเลือดก่อนเข้าสู่ต่อมน้ำลาย แล้วถูกปลดปล่อยออกมาพร้อมน้ำลายเมื่อแมลงหวี่ขาวทำการดูดน้ำเลี้ยงจากพืชต้นใหม่ (Markham *et al.*, 1994)

2.3 การศึกษาชนิดพืชอาศัยของไวรัส

ผลของการศึกษาพืชอาศัยพบว่าไวรัสเส้นใบเหลืองของ *M. coromandelianum* มีพืชอาศัยค่อนข้างแคบ (narrow host range) โดยทั่วไปบีโกโมไวรัสจะมีพืชอาศัยอยู่ใน 3 วงศ์ ได้แก่ Solanaceae Cucurbitaceae และ Malvaceae พืชหลายชนิดจาก 3 วงศ์นี้เป็นพืชเศรษฐกิจที่

สำคัญของประเทศไทย สำหรับพืชอาศัยของไวรัสเส้นใบเหลืองในการศึกษานี้ นอกจาก *M. coromandelianum* แล้ว ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าไวรัสชนิดนี้สามารถเพิ่มจำนวนได้ในมะเขือเทศ *N. benthamaina* และ ยาสูบใบใหญ่ พันธุ์ White Burley โดยในมะเขือเทศที่ติดไวรัสชนิดนี้แสดงอาการใบม้วนขึ้น ซึ่งคล้ายคลึงกับมะเขือเทศที่ติดเชื้อบีโกโมไวรัสชนิดอื่นๆ เช่น *Okra leaf-curl virus* (OLCV) *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV-Is TYLCV-Sr TYLCV-Th และ TYLCV-Ye) *Chino del tomate virus* (CdTV) *Croton yellow vein mosaic virus* (CYVMV) *Pepper mild tigre virus* (PepMTV) *Soybean crinkle leaf virus* (SCLV) *Tobacco leaf curl virus* (TLCV) *Tomato Australian leaf curl virus* (ToLCV-Au) และ *Tomato mottle virus* (ToMoV) เช่นเดียวกับ *N. benthamaina* ที่สามารถติดเชื้อไวรัสชนิดอื่น เช่น *Pepper Texas virus* (TPV) *Solanum apical leaf curl virus* (SALCV) *Tomato golden mosaic virus* (TGMV) *Cassava African mosaic virus* (ACMV) *Cassava Indian mosaic virus* (ICMV) *Chino del tomate virus* (CdTV) *Croton yellow vein mosaic virus* (CYVMV) *Tomato yellow leaf curl virus* (TYLCV-Is TYLCV-Sr TYLCV-Th และ TYLCV-Ye) และ *Tomato mottle virus* (ToMoV) แหล่งที่มา: http://image.fs.uidaho.edu/vide/descr 027.htm ดังนั้นจะเห็นได้ว่ามีบีโกโมไวรัสหลายชนิดที่สามารถเพิ่มจำนวนได้ในมะเขือเทศ และ *N. benthamaina* ซึ่งบางชนิดสามารถก่อโรคได้กับพืชทั้ง 2 ชนิด อีกทั้งยังก่อให้เกิดอาการของโรคที่คล้ายคลึงกัน ดังนั้นการวินิจฉัยชนิดของไวรัสจากอาการของโรคเพียงอย่างเดียวจึงไม่เพียงพอ ต้องทำการตรวจสอบสมบัติทางชีวภาพและลำดับนิวคลีโอไทด์อีกด้วย จึงจะสามารถวินิจฉัยชนิดของไวรัสที่เป็นสาเหตุของโรคได้ ในประเทศไทยพบว่าบีโกโมไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคเส้นใบเหลืองของกระเจี๊ยบเขียวซึ่งเป็นพืชในวงศ์เดียวกับ *M. coromandelianum* แสดงอาการเส้นใบเหลือง ต้นแคระแกร็น และ *Malaca capitata* ซึ่งเป็นวัชพืชวงศ์เดียวกับ *M. coromandelianum* แสดงอาการเส้นใบเหลือง (เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ อำนวย อรรถลังรอง และ พิสสวรรณ เจียมสมบัติ, 2543b) แต่พืชทั้ง 2 ชนิดกลับไม่แสดงอาการดังกล่าวเมื่อได้รับไวรัสเส้นใบเหลืองของ *M. coromandelianum* จากการถ่ายทอดด้วยแมลงหวี่ขาว และไม่สามารถตรวจพบไวรัสในต้นพืชทดลองด้วยวิธี Southern Blot Hybridization ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไวรัสในการศึกษานี้มีความแตกต่างจากไวรัสเส้นใบเหลืองของกระเจี๊ยบเขียว นอกจากนี้ยังพบว่าไวรัสเส้นใบเหลืองของ *M. coromandelianum* สามารถเพิ่มจำนวนได้ในยาสูบใบใหญ่ พันธุ์ White Burley แต่พืชทดลองไม่แสดงอาการผิดปกติ ซึ่งคล้ายคลึงกับผลการทดลองของ Lotrakul (2000) ที่ทำการศึกษาเชื้อบีโกโมไวรัส *Sweet potato leaf curl virus* พบว่ามันเทศที่ติดเชื้อไวรัสแสดงอาการของโรคไม่สม่ำเสมอ โดยบางครั้งพบว่าในพืชที่ไม่แสดงอาการสามารถตรวจพบไวรัสได้ ซึ่งลักษณะเช่นนี้เป็นปัญหาที่สำคัญทางด้านการเกษตรเพราะไม่สามารถใช้ลักษณะ

อาการของโรคในการตรวจสอบพืชได้ อันอาจนำไปสู่การแพร่พันธุ์พืชที่มีเชื้อไวรัสในแปลงเพาะปลูกพืชในวงกว้างโดยไม่มีการระวังป้องกัน

2.4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับเซลล์ใน *M. cocrmandelianum* ที่ติดเชื้อไวรัส โดยใช้ transmission electron microscope (TEM)

chloroplast เป็น organelle ที่พืชใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แสงโดยมีรายงานของ Lastra และ Gil (1980) ว่าเมื่อเกิดการถ่ายทอดเชื้อไวรัส *Tomato yellow mosaic virus* เข้าสู่พืช จะพบโครงสร้างที่ผิดปกติใน chloroplast และ cytoplasm กล่าวคือ โครงสร้างของ thylakoid membrane และ vesicle ส่วนใหญ่ถูกทำลายภายหลังการเข้าทำลายของไวรัส แต่อาจไม่พบอนุภาค และ fibrillar rings ที่เกิดจากการเรียงตัวของอนุภาคไวรัสจนเป็นวง จากการศึกษาไวรัสเส้นใบเหลืองของ *M. coromandelianum* พบว่า chloroplast เกิดการผิดปกติของ thylakoid membrane โดยไม่มีการเรียงตัวเป็น grana แต่ไม่พบอนุภาคของไวรัส และ inclusion bodies จากรายงานของ Sun (1965) แสดงให้เห็นความผิดปกติที่พบใน chloroplast ประกอบด้วย crystalline inclusions ในเซลล์ของใบ *Abutilon striatum* ที่ติดเชื้อไวรัส *Abutilon mosaic virus* รายงานของ Lastra และ Gil (1981) พบว่าในเซลล์ของมะเขือเทศที่ได้รับเชื้อบีโกโมไวรัส นาน 6 วันจะพบอนุภาคของไวรัสในนิวเคลียส โดยเฉพาะเซลล์จากใบอ่อนบริเวณที่แสดงอาการใบด่างเหลือง นอกจากนี้ยังพบว่า epidermal cell มีอาการหลุดลอก และด้านนอกของผนังเซลล์หนากว่าปกติ จากรายงานดังกล่าวอาจเป็นไปได้ว่าชิ้นตัวอย่างบริเวณเส้นใบที่แสดงอาการเส้นใบเหลืองของ *M. coromandelianum* ที่ใช้ในการศึกษานี้อาจได้รับเชื้อไวรัสนานเกินไป (นานกว่า 1 เดือน) ทำให้ไม่สามารถตรวจพบอนุภาคของไวรัส หรือ inclusion body

3. การตรวจสอบไวรัสด้วยเทคนิค PCR

การเพิ่มจำนวน DNA ของบีโกโมไวรัสจาก *M. coromandelianum* ในช่วงแรกของการศึกษาเลือกใช้ universal primer ที่ออกแบบโดย Briddon และ Markham (1994) ซึ่งเป็น overlapping primer ที่ออกแบบโดยใช้ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของบีโกโมไวรัสจากโลกเก่า โดยรวมถึงไวรัสที่มีจุดกำเนิดในทวีปเอเชีย ยุโรป และแอฟริกา แต่ผลการทดลองพบว่าไม่สามารถเพิ่มจำนวน DNA ของไวรัสได้ จึงได้เปลี่ยนมาใช้ universal primer ที่ออกแบบโดย Rojas และคณะ (1993) ซึ่งเป็น primer ที่เพิ่มจำนวน DNA จากบริเวณกลางยีน AC1 จนถึงกลางยีน AV1 ที่ออกแบบจากลำดับนิวคลีโอไทด์ของบีโกโมไวรัสจากโลกใหม่ ได้แก่ไวรัสชนิดที่มีจุดกำเนิดในทวีปอเมริกา ซึ่งการที่

primer ชุดนี้สามารถเพิ่มจำนวน DNA ของไวรัสที่ทำการศึกษาได้อาจเป็นเพราะความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน AC1 และ ยีน AV1 บริเวณดังกล่าวทำให้ primer สามารถเข้าจับ และเกิดการเพิ่มจำนวน viral DNA ได้

4. การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของไวรัส

4.1 การโคลน และการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ PCR – amplified viral DNA

ผลผลิตที่ได้จากการเพิ่มจำนวน DNA โดยวิธี PCR ขนาด 1,307 คู่เบส ครอบคลุมบริเวณ common region อันประกอบด้วยโครงสร้างต่าง ๆ ที่จำเป็นสำหรับกระบวนการ replication และกระบวนการ transcription ของบีโกโมไวรัส (Zhou *et al.*, 2003) บริเวณนี้ได้ถูกนำมาใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ในเชิงวิวัฒนาการของไวรัสในสกุลบีโกโมไวรัส เนื่องจากบริเวณดังกล่าวของบีโกโมไวรัสแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันมากเมื่อเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนต่างๆ ในจีโนมที่มีความแปรผันทางพันธุกรรมน้อยกว่า (Fauquet *et al.*, 2003) โดยในการศึกษานี้ทำการเลือก 1 โคลนเพื่อใช้เป็นตัวแทนของไวรัสในธรรมชาติซึ่งเป็น quasi-species ที่มีความแปรผันทางพันธุกรรมสูง แต่อย่างไรก็ตามในประชากรหนึ่งๆ จะมีกลุ่มประชากรไวรัสส่วนใหญ่ที่ปรับตัวเข้ากับเซลล์พืชเจ้าบ้านได้ดีสามารถเพิ่มจำนวน dominate ในประชากรนั้นๆ ซึ่งใช้เป็นตัวแทนของกลุ่มประชากรได้ (Hall, 2002)

4.2 การออกแบบ overlapping primer เพื่อทำการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมของไวรัสที่สมบูรณ์ทั้งชิ้นด้วย PCR

เมื่อได้ลำดับนิวคลีโอไทด์แล้วจึงทำการออกแบบ overlapping primer โดยใช้ตำแหน่งบริเวณส่วนต้นของยีน AC1 ในการเพิ่มจำนวนเพื่อให้ได้ genomic viral DNA-A ทั้งชิ้น ซึ่งบริเวณดังกล่าวมีตำแหน่งของ *Eco*RI (gaattc) เป็นประโยชน์ต่อการโคลน viral DNA ที่เพิ่มจำนวนได้ แต่จากการศึกษายังไม่สามารถ clone ได้ซึ่งอาจเป็นเพราะว่า viral DNA ที่เพิ่มจำนวนได้มีขนาดใหญ่จึงทำให้การศึกษาส่วนนี้ยังไม่สำเร็จตามวัตถุประสงค์

4.3 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์และ Phylogenetic analysis

ผลการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ common regicn พบว่าเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองของ *M. coromandelianum* มีความใกล้เคียงกับ *Cotton leaf curl Rajasthan virus*

(CLCuRV) สูงกว่า *Malvastrum yellow vein virus*-[Y47] (MYVV-Y47) ที่มีพืชอาศัยชนิดเดียวกันกับไวรัสในการศึกษานี้จากประเทศจีนที่เป็น monopatite บีโกโมไวรัส เมื่อทำการเปรียบเทียบตำแหน่ง iterative sequence พบว่า iterative sequence ของไวรัสชนิดนี้มีตำแหน่งอยู่ในบริเวณใกล้เคียงกันกับ CLCuRV แต่มีลำดับนิวคลีโอไทด์ต่างกัน โดย iterative sequence ของเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองของ *M. coromandelianum* มี 2 ชุด คือ ATTTTCG และ GTGATCA ซึ่งแตกต่างกับ CLCuRV คือ ATATCGG สำหรับบริเวณ stem-loop motif ของบีโกโมไวรัสที่มีพืชอาศัยในวงศ์ Malvaceae ที่ทำการเปรียบเทียบในการศึกษานี้ พบว่ามีลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณดังกล่าวเหมือนกันทุกชนิด คือ 5' CGGCCATCCGTATAATATTACCGGATGGCCG 3' ซึ่งข้อมูลของ iterative sequence และ stem-loop motif ที่ทำการศึกษาเปรียบเทียบนี้ ใช้ในการจัดจำแนกชนิดของบีโกโมไวรัสได้ (Faria *et al.*, 1993; Kheyr-Pour *et al.*, 2000)

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้ง 3 บริเวณในจีโนมของไวรัสที่ศึกษา ชี้ให้เห็นว่าไวรัสเส้นใบเหลืองของ *M. coromandelianun* เป็นไวรัสในกลุ่มโลกเก่า แต่ยังไม่อาจระบุได้ชัดเจนว่ามีวิวัฒนาการมาจากบีโกโมไวรัสชนิดใดบ้าง นอกจากนี้บีโกโมไวรัสที่ศึกษายังมีพืชอาศัยที่มิใช่พืชท้องถิ่นของไทย ชี้ให้เห็นว่าวิวัฒนาการของบีโกโมไวรัสที่ศึกษานี้อาจจะมาจากพืชเจ้าบ้าน (host sustaining) อย่างไรก็ตามข้อมูลที่มีอยู่ไม่อาจจะระบุได้ว่า original host น่าจะเป็นพืชชนิดใด เพียงแต่อาจจะระบุได้ว่าน่าจะอยู่ในวงศ์ Malvaceae

จากผลของ phylogenetic tree และ nucleotide sequence identity เมื่อเทียบกับบริเวณ common region ของ CLCuRV แสดงให้เห็นว่า CLCuRV จัดเป็นไวรัสชนิดที่มีความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการกับไวรัสเส้นใบเหลืองของ *M. coromandelianum* มากที่สุด โดย nucleotide sequence identity ที่ได้ 79.63 เปอร์เซ็นต์ มีค่าต่ำกว่า 89 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นเกณฑ์ที่ใช้แยกชนิดของบีโกโมไวรัส (Fauquet *et al.*, 2003) ผลของ phylogenetic analysis ของยีน AC1 (บางส่วน) พบว่าไวรัสที่ทำการศึกษายังมีความสัมพันธ์ในเชิงวิวัฒนาการใกล้ชิดกับ BYVMV-Mad มากที่สุด แต่กลับไม่สอดคล้องกับผลของความสัมพันธ์ในเชิงวิวัฒนาการในการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของยีน AV1 ที่กลับมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับ MYVV-Y47 และ *Ageratum yellow vein Sri Lanka virus* (AYVSLV) ซึ่งผลการศึกษา phylogenetic tree ของ 2 tree หลังเป็นยีนซึ่งมีความแปรผันทางพันธุกรรมน้อยกว่าบริเวณ common region จึงต้องทำการศึกษาทั้ง 3 ส่วนเปรียบเทียบกัน โดยเมื่อเทียบผลจากการศึกษาพืชอาศัยที่แตกต่างกัน และบีโกโมไวรัสที่เกิดจากพืชอาศัยชนิดเดียวกันอย่าง MYVV-Y47 มี genome เป็นแบบ monopartite ซึ่งแตกต่างกับไวรัสที่ทำการศึกษา มีความเป็นไปได้ว่าไวรัสเส้นใบเหลืองของ *M. coromandelianum* ที่ทำการศึกษาอาจเป็นบีโกโมไวรัสชนิดใหม่ (Fauquet *et al.*, 2003) แต่ทั้งนี้ต้องมีการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งของ DNA-A และ DNA-B เพิ่มเติม จึงจะสามารถสรุปได้แน่ชัด