สมบัติทางชีวภาพและลำดับนิวคลีโอไทด์ของบีโกโมไวรัสจาก *Malvastrum coromandelianum* (L.) Garcke ในประเทศไทย

นายศักดิ์ชัย กรรมารางกูร

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาพันธุศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2546

ISBN 974-17-5782-4

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

I21940101

BIOLOGICAL PROPERTIES AND NUCLEOTIDE SEQUENCE OF A BEGOMOVIRUS FROM *Malvastrum coromandelianum* (L.) Garcke IN THAILAND

Mr.Sakchai Kanmarangkool

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Genetics

Department of Botany
Faculty of Science
Chulalongkorn University

Academic Year 2003
ISBN 974-17-5782-4

หัวข้อวิทยานิพนธ์	สมบัติทางชีวภาพและลำดับนิวคลีโอไทด์ของบีโกโมไวรัสจาก *Malvastrum coromandelianum* (L.) Garcke ในประเทศไทย
โดย	นายศักดิ์ชัย กรรมารางกูร
ภาควิชา	พฤกษศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พงศ์ธาริน โล่ห์ตระกูล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร. วันเพ็ญ ศรีทองชัย

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(รองศาสตราจารย์ นันทนา อังกินันทน์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พงศ์ธาริน โล่ห์ตระกูล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ดร. วันเพ็ญ ศรีทองชัย)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศุภจิตรา ชัชวาลย์)

..... กรรมการ

(อาจารย์ ดร. ต่อศักดิ์ สีลานันท์)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ศักดิ์ชัย กรรมารางกูร : สมบัติทางชีวภาพและลำดับนิวคลีโอไทด์ของบีโกโมไวรัสจาก *Malvastrum coromandelianum* (L.) Garcke ในประเทศไทย (BIOLOGICAL PROPERTIES AND NUCLEOTIDE SEQUENCE OF A BEGOMOVIRUS FROM *Malvastrum coromandelianum* (L.) Garcke IN THAILAND) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พงศ์ธาริน โล่ห์ตระกูล, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ดร.วันเพ็ญ ศรีทองชัย 66 หน้า : ISBN 974-17-5782-4

Malvastrum coromandelianum เป็นวัชพืชในวงศ์ Malvaceae ที่พบได้ทั่วไปทั้งในแปลงปลูกพืชและตามธรรมชาติในประเทศไทย ไวรัสที่ใช้ในการทดลองเก็บจาก *M. coromandelianum* ที่แสดงอาการเส้นใบเหลืองในเขตดอนเมือง กรุงเทพฯ ในปีพ.ศ. 2545 ผลจากการศึกษาเบื้องต้นพบว่าอาการเส้นใบเหลืองสามารถถ่ายทอดจาก *M. coromandelianum* ต้นหนึ่งไปยังอีกต้นหนึ่งได้โดยวิธีการเสียบยอด และโดยแมลงหวี่ขาวยาสูบ (*Bemisia tabaci* Genn.) เป็นพาหะแบบ persistent แต่ไม่สามารถถูกถ่ายทอดโดยวิธีกลและทางเมล็ด เมื่อทำการทดสอบด้วยวิธี Southern blot hybridization โดยใช้ DNA-A และ DNA-B ของ *Dicliptera yellow mottle virus* เป็น probe ผลปรากฏว่า begomovirus-like DNA สามารถจับกับ probe ได้ใน DNA ที่สกัดจากตัวอย่าง *M. coromandelianum* ที่แสดงอาการเส้นใบเหลือง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไวรัสชนิดนี้เป็น bipartite virus ในสกุล *Begomovirus* จากการศึกษาการถ่ายทอดไวรัสชนิดนี้โดยแมลงหวี่ขาว พบว่าแมลงหวี่ขาวเพียง 1 ตัวต่อต้น สามารถถ่ายไวรัสได้ถึง 30 เปอร์เซ็นต์บนพืชทดลอง และถ้าใช้แมลงหวี่ขาว 40 ตัวต่อต้น ประสิทธิภาพของการถ่ายทอดเพิ่มขึ้นเป็น 90 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อแมลงหวี่ขาวได้รับไวรัสเข้าไปแล้วสามารถถ่ายทอดไวรัสได้นาน 12 วัน หรือมากกว่า การศึกษาพืชอาศัยของไวรัสชนิดนี้บนพืชเศรษฐกิจชนิดอื่นๆ จำนวน 21 ชนิด ผลไม่พบว่าไวรัสสามารถเพิ่มจำนวนได้ในพืช 18 ชนิด ยกเว้น ยาสูบ (*Nicotiana benthamiana*) และ มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum*) ซึ่งแสดงอาการใบม้วน สำหรับยาสูบใบใหญ่ (*Nicotiana tabacum* cv. White Burley) ไม่แสดงอาการผิดปกติ แต่ให้ผลเป็นบวกเมื่อทำการตรวจสอบด้วยวิธี Southern blot hybridization จากนั้นทำการเพิ่มจำนวน DNA ของไวรัสโดยวิธี PCR ทำการโคลนและศึกษาลำดับเบสของ DNA ที่ได้ ผลจากการเปรียบเทียบลำดับเบสบริเวณ common region (336 เบส) พบว่าไวรัสชนิดนี้ มีความคล้ายคลึงกับ *Cotton leaf curl Rajasthan virus* จากประเทศปากีสถาน โดยมี nucleotide sequence identity ประมาณ 79.63% ผลจาก Phylogenetic analysis แสดงให้เห็นว่าไวรัสเส้นใบเหลืองจาก *M. coromandelianum* มีความใกล้ชิดทางวิวัฒนาการกับไวรัสจากโลกเก่าโดยเฉพาะกลุ่มไวรัสที่ก่อให้เกิดโรคในฝ้ายและกระเจี๊ยบเขียวจากประเทศปากีสถาน

ภาควิชา...พฤกษศาสตร์..... ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา.....พันธุศาสตร์..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา.....2546..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4372424723 : MAJOR GENETICS
KEYWORD: BEGOMOVIRUS / *Malvastrum coromandelianum* / PHYLOGENETIC TREE
SAKCHAI KANMARANGKOOL : BIOLOGICAL PROPERTIES AND NUCLEOTIDE SEQUENCE OF A BEGOMOVIRUS FROM *Malvastrum coromandelianum* (L.) Garcke IN THAILAND. THESIS ADVISOR : ASSISTANT PROFESSOR DR. PONGTHARIN LOTRAKUL, THESIS COADVISOR : DR. WANPHEN SRITHONGCHAI, 66 pp ISBN : 974-17-5782-4

Malvastrum coromandelianum is a weed species in the family Malvaceae commonly found in agricultural fields and in nature in Thailand. In 2002, *M. coromandelianum* showing yellow vein symptom was collected from Don Muang District, Bangkok. The results from transmission studies showed that the disease symptoms could be transmitted to healthy *M. coromandelianum* plants by grafting and by whitefly (*Bemisia tabaci* Genn.) in persistent manner but not by mechanical inoculation or seed. Southern blot hybridization using DNA-A and DNA-B of *Dicliptera yellow mottle virus* as probes showed begomovirus-like DNA in DNA extracted from infected *M. coromandelianum*. The result indicated that this putative virus was possibly a bipartite virus in the genus *Begomovirus*. When the insect transmission tests were conducted, it was found that individual whitefly could transmit the virus to 30% of tested *M. coromandelianum* plants, and when a group of 40 whiteflies per plant were used, the transmission efficiency increased up to 90%. Once the insects acquired the virus, they could transmit as long as 12 days or more. The host range study on 21 economically-important plant species showed that the virus could not multiply in 18 species tested, except *Nicotiana benthamiana* and tomato (*Lycopersicon esculentum*) that showed leaf curl symptom. However, tobacco (*Nicotiana tabacum* cv. White Burley) did not show any visible symptom but the result of Southern blot hybridization was positive with DYMoV probe. The partial viral DNA was further amplified by PCR technique, cloned and sequenced. The result from nucleotide sequence comparison of the common region (336 bases) showed that the virus was slightly similar to *Cotton leaf curl Rajasthan virus* from Pakistan with approximately 79.63% nucleotide sequence identity. Phylogenetic analyses revealed that the virus from yellow-veined *M. coromandelianum* was closely related to the Old World viruses, especially viruses causing diseases in cotton and okra from *M. coromandelianum*.

Department.....Botany..... Student's signature.....
Field of study....Genetics..... Advisor's signature.....
Academic year....2003..... Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

ผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พงศ์ธาริน โล่ห์ตระกูล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ ดร.วันเพ็ญ ศรีทองชัย อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำต่างๆ ตลอดการทำวิจัย และตรวจแก้วิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์นันทนา อังกินันทน์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศุภจิตรา ชัชวาลย์ และอาจารย์ ดร.ต่อศักดิ์ สีลานันท์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้วิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์ระดับปริญญาโท-เอก ทบวงมหาวิทยาลัยและบัณฑิตวิทยาลัยที่ให้ทุนสนับสนุนในการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณคุณเครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ สำหรับความช่วยเหลือและคำแนะนำต่างๆ เป็นอย่างดี

ขอขอบคุณกลุ่มงานไวรัสวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่การทำวิจัย

ขอขอบคุณ คุณฐปนา อัครเอกปัญญา คุณสหัช จันทนาอรพินท์ คุณคมสัน นันทสุนทร คุณปารวี ธิกาศ คุณณภัศศรณ์ ปัญญาสุข และทุกท่านในภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับความช่วยเหลือและคำแนะนำในการทำวิจัย รวมถึงกำลังใจที่มีให้กันเสมอมา

ขอขอบคุณ คุณทวีสิริ มาลาพันธุ์ คุณกมลชน เธียรชัย และคุณสรสินธ์ ฉายสินสอน ที่ให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้ตลอดมา

กราบขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ น้องชายทั้งสองและทุกคนในครอบครัวที่ให้กำลังใจและความห่วงใย ตลอดจนการสนับสนุนและความช่วยเหลือในทุกๆ ด้านตลอดมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญตาราง ..... ญ

สารบัญรูปภาพ ..... ฏ

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ ..... ฐ

บทที่

1. บทนำ 1
2. ตรวจสอบเอกสาร 3
3. วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการศึกษา 12
4. ผลการทดลอง 26
   1. การแยกไวรัสจากตัวอย่างพืช 26
   2. การศึกษาสมบัติทางชีวภาพ 26
      2.1 การศึกษาการถ่ายทอดไวรัสโดยวิธีต่างๆ 26
         2.1.1 การถ่ายทอดไวรัสโดยการเสียบยอด (grafting transmission) 26
         2.1.2 การถ่ายทอดไวรัสด้วยแมลงหวี่ขาว (whitefly transmission) 28
         2.1.3 การถ่ายทอดเชื้อด้วยวิธีกล (mechanical inoculation) 28
         2.1.4 การถ่ายทอดเชื้อผ่านทางเมล็ด (seed transmission) 28
      2.2 การศึกษาประสิทธิภาพในการถ่ายทอดไวรัสของแมลงหวี่ขาว 28
         2.2.1 จำนวนแมลงหวี่ขาวต่อการถ่ายทอดไวรัส 28
         2.2.2 ระยะเวลาที่น้อยที่สุด หลังจากแมลงหวี่ขาวได้รับเชื้อไวรัสแล้ว สามารถถ่ายทอดได้ (minimum inoculation feeding period) 29
         2.2.3 ระยะเวลาที่ไวรัสสามารถอยู่ในตัวแมลงหวี่ขาวและคงสภาพการถ่ายทอดไวรัสได้ (retention period) 29
      2.3 การศึกษาชนิดพืชอาศัยของไวรัส 31
      2.4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับเซลล์ใน *M. coromandelianum* ที่ติดเชื้อไวรัส โดยใช้ transmission electron microscope (TEM) 31
   3. การตรวจสอบไวรัสด้วย molecular techniques 38

หน้า

บทที่.....

3.1 การตรวจสอบบีโกโมไวรัสด้วยเทคนิค PCR 38

4. การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของไวรัส 38

4.1 การโคลน และการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ PCR-amplified viral DNA.. 38

4.2 การออกแบบ overlapping primers เพื่อทำการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมของไวรัสที่สมบูรณ์ทั้งชิ้นด้วยเทคนิค PCR..... 41

4.3 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์และ Phylogenetic analysis 42

5. อภิปรายผลการทดลอง. 47

5.1 ขั้นตอนการแยกไวรัสจากตัวอย่างพืช. 47

5.2 การศึกษาสมบัติทางชีวภาพ..... 48

5.2.1 การศึกษาการถ่ายทอดไวรัสด้วยวิธีต่างๆ..... 48

5.2.2 การศึกษาประสิทธิภาพในการถ่ายทอดไวรัสของแมลงหวี่ขาว 49

5.2.3 การศึกษาชนิดพืชอาศัยของไวรัส..... 49

5.2.4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงระดับเซลล์ใน *M. coromandelianum* ที่ติดเชื้อไวรัสโดยใช้ transmission electron microscope (TEM) 51

5.3 การตรวจสอบไวรัสด้วยเทคนิค PCR 51

5.4 การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของไวรัส..... 52

5.4.1 การโคลน และการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของ PCR-amplified viral DNA 52

5.4.2 การออกแบบ overlapping primer เพื่อทำการเพิ่มจำนวนสารพันธุกรรมของไวรัสที่สมบูรณ์ทั้งชิ้นด้วย PCR..... 52

5.4.3 การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์และ Phylogenetic analysis 52

6. สรุปผลการทดลอง 54

6.1.การศึกษาสมบัติทางชีวภาพของบีโกโมไวรัสจาก *M. coromandelianum* 54

6.2.การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อไวรัสจาก *M. coromandelianum* 54

6.3.การศึกษาความสัมพันธ์ในเชิงวิวัฒนาการระหว่างบีโกโมไวรัสจาก *M. coromandelianum* ในประเทศไทยและประเทศอื่นๆ 54

รายการอ้างอิง..... 56

ภาคผนวก..... 62

หน้า

ภาคผนวก ก 63
ภาคผนวก ข 64
ภาคผนวก ค 65
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 66

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตาราง หน้า

1. Geminiviruses ที่ทำการจัดจำแนกด้วย genome organization และสมบัติทางชีวภาพ..... 4
2. Universal primer ที่ใช้ในการเพิ่มจำนวน DNA ของบีโกโมไวรัสด้วยวิธี PCR 21
3. ลำดับนิวคลีโอไทด์ของบีโกโมไวรัสชนิดต่างๆ ที่ใช้ในการเปรียบเทียบ 25
4. ระยะเวลาที่น้อยที่สุด หลังจากแมลงหวี่ขาวได้รับเชื้อไวรัสแล้วสามารถถ่ายทอดไวรัสเส้นใบเหลืองจาก *Malvastrum coromandelianum* ที่เป็นโรคสู่ *M. coromandelianum* ที่ไม่เป็นโรค โดยใช้แมลงหวี่ขาวจำนวน 40 ตัวต่อต้นในขั้นตอน inoculation feeding 30
5. ระยะเวลาที่ไวรัสสามารถอยู่ในตัวแมลงหวี่ขาวและคงสภาพการถ่ายทอดไวรัสเส้นใบเหลืองจาก *Malvastrum coromandelianum* ที่เป็นโรคสู่ *M. coromandelianum* ที่ไม่เป็นโรค โดยใช้ acquisition และ inoculation feeding period 24 ชั่วโมง และใช้แมลงหวี่ขาวจำนวน 40 ตัวต่อต้นในขั้นตอน inoculation feeding 30
6. ผลการถ่ายทอดเชื้อไวรัสด้วยแมลงหวี่ขาวสู่พืชชนิดอื่นจำนวน 21 ชนิด โดยใช้แมลงหวี่ขาวจำนวน 20 ตัวต่อต้นในขั้นตอน inoculation feeding โดยใช้ acquisition feeding period 24 ชั่วโมง และ inoculation feeding period 24 ชั่วโมง 32
7. ผลการถ่ายทอดเชื้อไวรัสด้วยแมลงหวี่ขาวสู่พืชชนิดอื่นจำนวน 21 ชนิด โดยใช้แมลงหวี่ขาวจำนวน 40 ตัวต่อต้นในขั้นตอน inoculation feeding โดยใช้ acquisition feeding period 24 ชั่วโมง และ inoculation feeding period 24 ชั่วโมง 33
8. การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ common region ระหว่างไวรัสเส้นใบเหลืองจาก *Malvastrum coromandelianum* กับบีโกโมไวรัสชนิดอื่นๆ 42

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

รูปประกอบ หน้า

1. DNA-A และ DNA-B ของ *Tomato yellow leaf curl virus*-Thailand 5
2. *Malvastrum coromandelianum* ต้นที่ไม่เป็นโรค (A) เปรียบเทียบกับต้นที่แสดงอาการเส้นใบเหลือง (B) 27
3. Southern Blot Hybridization ของ DNA ของ *Malvastrum coromandelianum* 27
4. จำนวนแมลงหวี่ขาวต่อการถ่ายทอดเชื้อไวรัสเส้นใบเหลือง จาก *Malvastrum coromandelianum* ที่เป็นโรคสู่ *M. coromandelianum* ที่ไม่เป็นโรค โดยใช้ acquisition feeding period 24 ชั่วโมง และ inoculation feeding period 24 ชั่วโมง 29
5. ใบของมะเขือเทศที่ไม่เป็นโรค (A) กับใบของมะเขือเทศที่ติดเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองของ *Malvastrum coromandelianum* ที่แสดงอาการใบม้วนขึ้น (B) 34
6. ใบของ *Nicotiana benthamiana* ที่ไม่เป็นโรค (A) กับใบของ *N. benthamiana* ที่ติดเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองของ *Malvastrum coromandelianum* ที่แสดงอาการใบม้วนขึ้น (B) 34
7. Southern Blot Hybridization ของ DNA ของมะเขือเทศที่ติดเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองของ *Malvastrum coromandelianum* ที่แสดงอาการใบม้วนขึ้น 35
8. Southern Blot Hybridization ของ DNA ของ *N. benthamiana* ที่ติดเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองของ *Malvastrum coromandelianum* ที่แสดงอาการใบม้วนขึ้น 36
9. Southern Blot Hybridization ของ DNA ของยาสูบใบใหญ่ พันธุ์ White Burley ที่ติดเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองของ *Malvastrum coromandelianum* แต่ไม่แสดงอาการของโรค 37
10. Chloroplast ของ *Malvastrum coromandelianum* ต้นที่ไม่เป็นโรค (A) กับ chloroplast ของ *Malvastrum coromandelianum* ต้นที่ติดเชื้อไวรัสเส้นใบเหลือง (B) 38
11. ผลการโคลน DNA ของไวรัสเส้นใบเหลืองของ *Malvastrum coromandelianum* ที่ได้จาก PCR เมื่อใช้ universal primer (Rojas *et al.*, 1993) 39
12. ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไวรัสเส้นใบเหลืองของ *Malvastrum coromandelianum* ที่เพิ่มจำนวนได้จาก primer PAL1v1978 และ PAR1c496 (Rojas *et al.*,1993) 40
13. ผลการเพิ่มจำนวน DNA ของไวรัสเส้นใบเหลืองของ *Malvastrum coromandelianum* โดยใช้ overlapping primers Sida-a และ -s 41
14. แผนภาพ strict consensus cladogram ที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างไวรัสเส้นใบเหลืองของ *Malvastrum coromandelianum* และบีโกโมไวรัสชนิดอื่นที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ common region 44

รูปประกอบ หน้า

15. แผนภาพ cladogram เพียง 1 แผนภาพที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างไวรัสเส้นใบเหลืองของ *Malvastrum coromandelianum* และบีโกโมไวรัสชนิดอื่น ที่ได้จากการวิเคราะห์บริเวณยีน AC1 (บางส่วน) 45

16. แผนภาพ 50% Majority rule cladogram แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างไวรัสเส้นใบเหลืองของ *Malvastrum coromandelianum* และบีโกโมไวรัสชนิดอื่น ที่ได้จากการวิเคราะห์บริเวณยีน AV1 (บางส่วน) 46

17 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์หาขนาดของ DNA marker..... 64

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

dNTP	=	deoxynucleotide triphosphate
dsDNA	=	double-stranded DNA
G	=	gravity
M	=	โมลาร์
mM	=	มิลลิโมลาร์
ng/µl	=	นาโนกรัมต่อไมโครลิตร
ORFs	=	Opening Reading Frames
PCR	=	Polymerase Chain Reaction
rpm	=	รอบต่อนาที
ssDNA	=	single-stranded DNA
v/v	=	ปริมาตรต่อปริมาตร
w/v	=	น้ำหนักต่อปริมาตร
µg	=	ไมโครกรัม
µg/ml	=	ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
µl	=	ไมโครลิตร
µm	=	ไมโครเมตร
µM	=	ไมโครโมลาร์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย