Project Code:

PDF-28-2542

Project Title:

Production of DNA Probe for Detection of Plant Viroids.

Investigator:

Dr. Kanungnit Reanwarakorn

Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture,

Kasetsart Univ., Kamphaengsaen, Nakorn Pathom 73140.

E-mail Address:

agrknr@nontri.ku.ac.th

Project Period:

July 1, 2542 - June 30, 2544

Hop stunt viroid (HSVd) was found from grapevine orchard in both symptomless and symptom leave, yellow speckle and yellow-vein banding. It consists of 298 nucleotides displayed 99 % sequence homology to HSVd reported by Sano and his colleges (1986) and 96 % sequence similarity to Citrus cachexia viroid (CCaVd) causing a serious disease on citrus plants. HSVd from Thai-grapevine differs from HSVd in the nucleotide sequence at 2 positions, one addition( $T_{99}$ ) and one exchange ( $G_{262} \rightarrow A$ ). In lime, Citrus exocortis viroid (CEVd) causing citrus serious disease, this CEVd was found from symptomless lime shown 371 nucleotides. The nucleotide sequence was compared with the previously established sequence of CEVd which reported by Gross and his colleagues (1982). Both viroids share about 98.3 % sequence homology. Moreover, the nucleotide sequence was shown 97.8 % sequence homology to the CEVd presented by Visvader and Symons (1985).

cDNA probe produced from hop stunt viroid from Thai-grapevine was shown very good results in detection of viroids from the symptom and symptomless grapevine leave. For cDNA probe made from lime, the samples from lime and pummelo were detected by these cDNA probe displayed perfect results. Nevertheless, this cDNA probe can be used for detection in other hosts of CEVd such as tomato.

These results indicate that both HSVd from grapevine and CEVd from lime are strain or variant of HSVd as well as CEVd, respectively. Both HSVd and CEVd are plant disease causal organisms having very broad host range such as fruit crops, ornamental crops, and vegetable crops. Thus, the HSVd and CEVd were found in Thailand could be the organisms having the same those alternate hosts. For disease control, we should have a good practice for grapevine and citrus plants because both HSVd and CEVd can contaminate into plant materials and agricultural tools.

Keywords: HSVd, CEVd, Viroids, Viroid Diseases, sPAGE

ระหัสโครงการ :

PDF / 28 /2542

ชื่อโครงการ :

การผลิต DNA probe ในการตรวจสอบเชื้อไวรอยด์สาเหตุโรคพืช

ชื่อนักวิจัย :

ดร. คนึ่งนิตย์ เหรียญวรากร

ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร ม.เกษตรศาสตร์

กำแพงแสน นครปฐม 73140

agrknr@nontri.ku.ac.th

ระยะเวลาโครงการ: 1 กรกฎาคม 2542 – 30 มิถุนายน 2544

จากการสำรวจเชื้อไวรอยด์ในองุ่นและมะนาว พบเชื้อ Hop stunt viroid (HSVd) ในองุ่น ทั้งจากใบที่แสดงอาการใบจุดเหลืองและอาการแถบเหลืองตามแนวเส้นใบ นอกจากนี้ยังพบใน ใบที่ไม่แสดงอาการดังกล่าว จากการศึกษาลำดับเบสเชื้อ HSVd ที่พบมีขนาด 298 นิวคลีโอไทด์ มีความเหมือนกับเชื้อ HSVd ที่รายงานโดย Sano และคณะ(1986) ถึง 99 เปอร์เซ็นด์และ เหมือนกับเชื้อ Citrus cachexia viroid (CCaVd) ที่ก่อให้เกิดโรครุนแรงกับพืชตระกูลสัมถึง 96 เปอร์เซ็นต์ เชื้อ HSVd ที่ได้จากองุ่นในประเทศไทยต่างจาก HSVd ที่รายงานแล้ว 2 ตำแหน่ง คือ มีเบล T เพิ่มขึ้นที่ดำแหน่ง 99 และที่ดำแหน่ง 262 เบส G เปลี่ยนเป็นเบส A ส่วนใน มะนาวพบเชื้อ Citrus exocortis viroid (CEVd) ซึ่งเป็นเชื้อที่ก่อให้เกิดโรครุนแรงกับพืชตระกูล ส้มทั่วโลก เชื้อ CEVd ที่พบมีขนาด 371 นิวคลีโอไทด์ มีความเหมือนกับเชื้อ CEVd ที่รายงาน โดย Gross และคณะ(1982) ถึง 98.3 เปอร์เซ็นด์ และเหมือนกับเชื้อ CEVd ที่รายงานโดย Visvader และ Symons (1985) ถึง 97.8 เปอร์เซ็นต์

cDNA probe ที่ผลิตจากเชื้อไวรอยด์ขององุ่น สามารถใช้ตรวจเชื้อไวรอยด์ทั้งจากตันที่ แสดงอาการและไม่แสดงอาการได้เป็นอย่างดี ส่วน cDNA probe ของ CEVdที่ผลิตจากเชื้อไว รอยด์ของมะนาว สามารถใช้ในการตรวจเชื้อไวรอยด์ในมะนาวและสัมโอที่ไม่แสดงอาการแม้ว่า จะมีปริมาณเชื้อไวรอยด์ในพืชต่ำ นอกจากนี้ยังใช้ตรวจเชื้อไวรอยด์ในพืชอาศัยอื่นๆได้เป็นอย่าง ดี เช่น ใน มะเขือเทศ เป็นต้น

การทดลองในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าทั้งเชื้อ HSVd จากองุ่นและ เชื้อCEVd จากมะนาว เป็น strain หรือ variant ของเชื้อ HSVd และ เชื้อ CEVd ตามลำดับ เชื้อ HSVd และเชื้อ CEVd เป็นเชื้อไวรอยด์ที่มีพืชอาศัยกว้าง พบทั้งในไม้ผล ไม้ดอกไม้ประดับ และพืชผัก ดังนั้นเชื้อ HSVd ที่พบในองุ่น และเชื้อ CEVd ที่พบในมะนาว ก็น่าที่จะมีพืชอาศัยกว้างเช่นกัน ฉะนั้นใน การดูแลรักษาต้นองุ่นและมะนาวหรือพืชตระกูลสัมควรต้องมีความระมัดระวังเพราะเชื้อไวรอยด์ สามารถติดไปกับท่อนพันธุ์และอุปกรณ์ที่ใช้ในการตัดแต่งกิ่งได้

คำหลัก: HSVd, CEVd, Viroids, Viroid Diseases, sPAGE