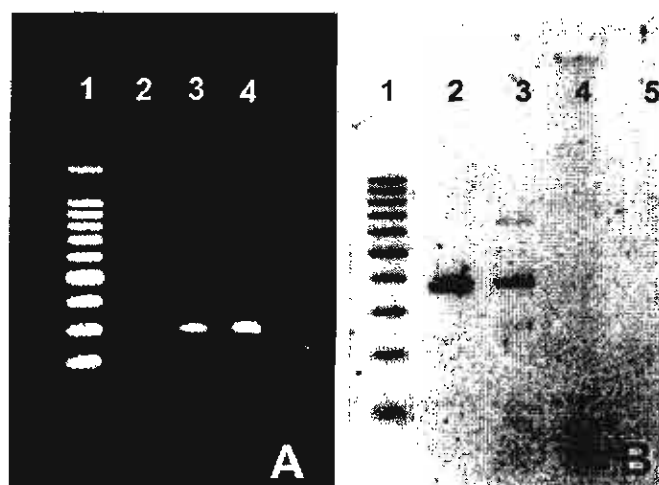




ภาพที่ 3 แสดง DNA-bands ที่มีขนาดใกล้เคียงกับ (A) Hop stunt viroid และ (B) Citrus exocortis viroid โดยในภาพ A เลนที่ 1 = molecular weight markers เลนที่ 2 = healthy grapevine leave เลนที่ 3 = disease grapevine leave และ เลนที่ 4 = symptomless grapevine shoot ในภาพ B เลนที่ 1 = molecular weight markers เลนที่ 2 = symptomless lime เลนที่ 3 = *Gynura epinasty* leave เลนที่ 4 = healthy lime และ เลนที่ 5 = healthy *Gynura*

ในการศึกษาลำดับเบสพบว่า DNA band ที่ได้จากตัวอย่างอ่อนที่มีอาการจุดเหลือง (yellow speckle) มีขนาด 298 นิวคลีโอไทด์ และมีความเหมือน (homology) กับที่มีรายงานในต่างประเทศถึง 99 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเบส T เกินมา 1 เบสที่ตำแหน่ง 90 และมีเบสที่เปลี่ยนแปลงที่ตำแหน่ง 262 จาก G ไปเป็น A (ภาพที่ 4) (Sano *et al.*, 1986) แสดงว่าเชื้อไวรัสที่พบในอ่อนพันธุ์ไวมาละกาในประเทศไทยจัดเป็นเชื้อไวรัสในกลุ่ม hop stunt viroid ส่วนในมะนาว DNA band ที่ได้จากการทำ PCR โดยใช้ primers ที่มีความจำเพาะกับเชื้อ CEVd พบว่ามีขนาด 371 นิวคลีโอไทด์ และมีความเหมือน (homology) กับเชื้อ Citrus exocortis viroid (CEVd) ที่มีรายงานแล้วโดย Gross และคณะ (1982) ถึง 98 เปอร์เซ็นต์ โดยมีเบสที่ตำแหน่ง 6, 82, 99, 130, 264, 313, และ 350 เปลี่ยนแปลงจาก T → A, C → T, + T, - G, T → G, A → G, และ C → T ตามลำดับ (ภาพที่ 5) แสดงว่ามะนาวในบ้านเรามีเชื้อ CEVd อยู่ แม้ว่าจะยังไม่เห็นอาการชัดเจนจากภายนอก ในมะม่วงอยู่ในระหว่างดำเนินการหาลำดับเบส

ภาพที่ 4 เปรียบเทียบลำดับเบสของเชื้อไวรัสจากอ่อนของประเทศไทย กับเชื้อ Hop stunt viroid ที่มีรายงานในต่างประเทศ (Sano *et al.* 1986).

1	CTGGGGAATT	CTCGAGTTGC	CGCATCAGGC	AAGCAAAGAA	AAAACAAGGC	TH-gv
1	CTGGGGAATT	CTCGAGTTGC	CGCATCAGGC	AAGCAAAGAA	AAAACAAGGC	HSVd-gv*
51	AGGGAGGTAC	TTACCTGAGA	AAGGAGCCCC	GGGGCAACTT	CTTCTCAGAA	
51	AGGGAGGTAC	TTACCTGAGA	AAGGAGCCCC	GGGGCAACT-	CTTCTCAGAA	
101	TCCAGCGAGA	GGCGTGGAGA	GAGGGCCGCG	GTGCTCTGGA	GTAGAGGCTC	
101	TCCAGCGAGA	GGCGTGGAGA	GAGGGCCGCG	GTGCTCTGGA	GTAGAGGCTC	

151	TGCCTTCGAA	ACACCATCGA	TCGTCCCTTC	TTCTTTACCT	TCTTCTGGCT
151	TGCCTTCGAA	ACACCATCGA	TCGTCCCTTC	TTCTTTACCT	TCTTCTGGCT
201	CTTCCGATGA	GACGCGACCG	GTGGCATCAC	CTCTCGGTTC	GTCCCAACCT
201	CTTCCGATGA	GACGCGACCG	GTGGCATCAC	CTCTCGGTTC	GTCCCAACCT
251	GCTTTTTGTC	TATCTGAGCC	TCTGCCGCGG	ATCCTCTCTT	GAGCCCCT
251	GCTTTTTGTC	TGTCTGAGCC	TCTGCCGCGG	ATCCTCTCTT	GAGCCCCT

หมายเหตุ TH-gv = Hop stunt viroid from grapevine yellow speckle disease in Thailand.

HSVd-gv = Hop stunt viroid from grapevine (Sano *et al.* 1986).

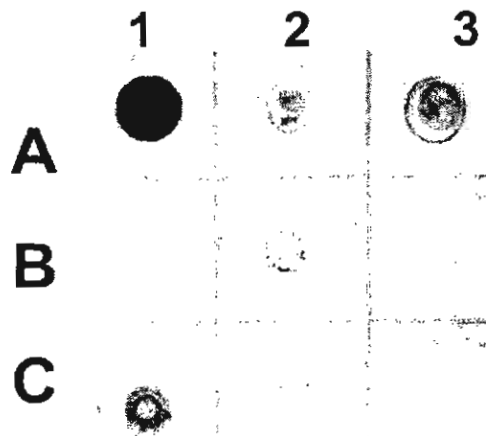
ภาพที่ 5 เปรียบเทียบลำดับเบสของ เชื้อไวรัสจากมะนาวของประเทศไทย กับเชื้อ
Citrus exocortis viroid ที่มีรายงานในต่างประเทศ (Gross *et al.* 1982)

1	CGGGATCTTT	CTTGAGGTTT	CTGTGGTGCT	CACCTGACCC	TGCAGGCAGG	Gross
1	CGGGA <u>A</u> CTTT	CTTGAGGTTT	CTGTGGTGCT	CACCTGACCC	TGCAGGCAGG	Thai
51	AAAAGAAAAA	AGAGGCGGCG	GGGGAAGAAG	TCCTTCAGGG	ATCCCCGG -G	
51	AAAAGAAAAA	AGAGGCGGCG	GGGGAAGAAG	T <u>T</u> CTTCAGGG	ATCCCCGG <u>T</u> G	
101	GAAACCTGGA	GGAAGTCGAG	GTGCGGGGGG	ACAGCTGCTTC	GGTCGCCGCG	
101	GAAACCTGGA	GGAAGTCGAG	GTGCGGGGGG -	ACAGCTGCTTC	GGTCGCCGCG	
151	GATCACTGGC	GTCCAGCGGA	GAAACAGGAG	CTCGTCTCCT	TCCTTTTCGCT	
151	GATCACTGGC	GTCCAGCGGA	GAAACAGGAG	CTCGTCTCCT	TCCTTTTCGCT	
201	GCTGGCTCCA	CATCCGATCG	TCGCTGAAGC	GCCTCGCCCC	CTCGCCCGGA	
201	GCTGGCTCCA	CATCCGATCG	TCGCTGAAGC	GCCTCGCCCC	CTCGCCCGGA	
251	GCTTCTCTCT	GGATACTACC	CGGTGGAAAC	AACTGAAGCT	TCAACCCCAA	
251	GCTTCTCTCT	GGAG <u>A</u> CTACC	CGGTGGAAAC	AACTGAAGCT	TCAACCCCAA	
301	ACCGCTTTTC	TTATATCTTC	ACTGCTCTCC	GGGCGAGGGT	GAAAGCCCTC	
301	ACCGCTTTTC	T <u>T</u> GATCTTC	ACTGCTCTCC	GGGCGAGGGT	GAAAGCCCT <u>T</u>	
351	GGAACCCTAG	ATTGGGTCCC	T			
351	GGAACCCTAG	ATTGGGTCCC	T			

หมายเหตุ Gross = Citrus exocortis viroid (Gross *et al.* 1982,)

Thai = Citrus exocortis viroid จากมะนาวของประเทศไทย

จากการศึกษาลำดับเบสที่ได้ นำมาผลิต cDNA probe เพื่อใช้ในการตรวจสอบ HSVd ในองุ่นและพืชชนิดต่าง ๆ ที่อาจเป็นพืชอาศัยของ HSVd ในการใช้ cDNA probe ที่ผลิตได้มาตรวจสอบองุ่น พบว่าองุ่นทั้งที่แสดงอาการและไม่แสดงอาการ ที่เก็บจากสวนเดียวกัน สามารถตรวจสอบพบ HSVd แม้ว่าจะตรวจสอบด้วย sPAGE ไม่พบ RNA bands แต่สามารถตรวจสอบพบได้ โดยใช้ cDNA probe ของ Hop stunt viroid ดังกล่าวข้างต้นแสดงให้เห็นว่า cDNA probe มีความไวในการตรวจสอบแม้ว่าจะมีอนุภาคไวรอยต์ในปริมาณต่ำ (ภาพที่ 6) สำหรับเชื้อ Citrus exocortis viroid ที่สกัดได้จากมะนาวนำมาผลิต cDNA probe และตรวจสอบตามวิธีที่กล่าวข้างต้น พบว่า cDNA probe ของ CEVd ที่ผลิตได้เมื่อนำมาตรวจสอบตัวอย่างมะนาว ส้มโอ (ภาพที่ 7) และมะเขือเทศ (ภาพที่ 8) ที่ผ่านการสกัดตามวิธีข้างต้น พบว่า cDNA probe ที่ผลิตได้ดังกล่าวสามารถตรวจสอบ RNA ของไวรอยต์ได้ แสดงให้เห็นว่าในพืชดังกล่าวมีเชื้อ Citrus exocortis viroid แม้ว่าจะตัวอย่างดังกล่าวจะตรวจสอบไม่พบ RNA bands ของไวรอยต์โดยวิธี sPAGE



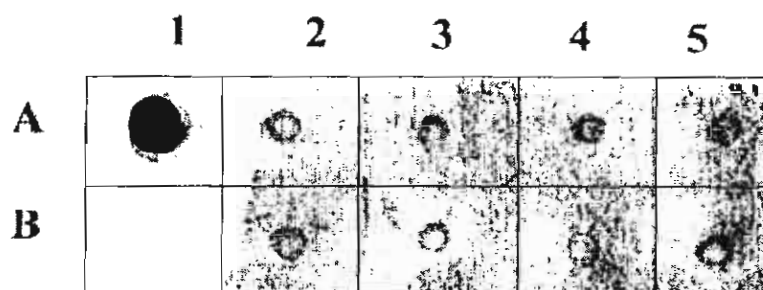
ภาพที่ 6 การทดสอบ cDNA Probe ของเชื้อ Hop stunt viroid ที่ได้จากองุ่น

- เลนที่ 1A = Positive control จาก cDNA clone
- เลนที่ 2A & 3A = องุ่นที่แสดงอาการ
- เลนที่ 1B-3B, 1C-2C = องุ่นที่ไม่แสดงอาการ
- เลนที่ 3C = ต้นปกติที่ได้จากการเพาะเมล็ด (Negative control)



ภาพที่ 7 การทดสอบ cDNA Probe ของเชื้อ citrus exocortis viroid ที่ได้จากมะนาว กับตัวอย่างมะนาวและส้มโอ

- เลนที่ 1,7 = ต้นปกติของส้ม และมะนาว ตามลำดับ (negative control)
- เลนที่ 2-6 = ตัวอย่างส้มโอจากจังหวัดปราจีนบุรี
- เลนที่ 8-9 = ตัวอย่างมะนาวจากชัยนาท
- เลนที่ 10,11 = Positive control จาก CEV-DNA จาก Plasmid



ภาพที่ 8 การทดสอบ cDNA Probe ของเชื้อ citrus exocortix viroid ที่ได้จากมะนาว กับตัวอย่างมะเชื้อเทศ

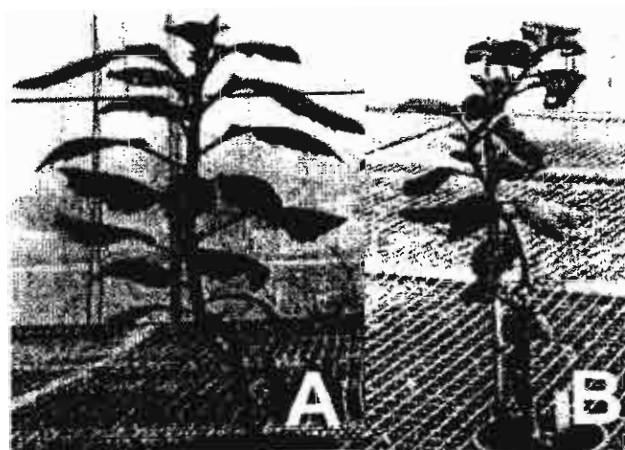
เลนที่ 1A = Positive control จาก cDNA clone

เลนที่ 1B = ต้นปกติของมะเชื้อเทศ (negative control)

เลนที่ 2A-5A และ 2B-5B = ตัวอย่างมะเชื้อเทศที่แสดงอาการยอดหงิก

การทดสอบพืชอาศัย

สามเดือนหลังการปลูกเชื้อไวรอยด์ขององุ่น มะเชื้อเทศไม่แสดงอาการผิดปกติให้เห็นเด่นชัดจากต้นปกติ ส่วนใน *Gynura aurantiaca* ซึ่งเป็นพืชทดสอบที่ติ่มากของเชื้อ CEVd พบว่า *Gynura* แสดงอาการใบโค้งงอไปทางด้านหลังใบ (leaf epinasty) อย่างเห็นได้ชัดเมื่อเทียบกับต้นปกติ (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 *Gynura aurantiaca* (B) แสดงอาการใบโค้งงอ เมื่อเทียบกับ (A) ต้นปกติ หลังปลูกเชื้อ Citrus exocortix viroid ที่ได้จากมะนาว

บทวิจารณ์

Hop stunt viroid (HSVd) ที่ตรวจพบในองุ่นพบทั้งในต้นที่ไม่แสดงอาการ และที่แสดงอาการจุดเหลือง เล็กๆ บนใบ (yellow speckle) และอาการเหลืองตามแนวเส้นใบ (yellow-vein banding) ซึ่งเหมือนกับที่มีรายงาน ในต่างประเทศคือพบเชื้อไวรอยด์ทั้งในต้นที่แสดงอาการ และต้นที่ไม่แสดงอาการ (Puchta *et al.* 1988) เชื้อไว

รอยดักที่พบในองุ่นนี้จัดเป็น variant or strain ของ Hop stunt viroid ซึ่งก่อให้เกิดโรครากต้นฮ็อบที่ใช้ในขบวนการผลิตเบียร์ โดยทำให้เกิดอาการแคระแกรน(stunt) นอกจากนี้ยังมีพืชอาศัยกว้าง (Diener, 1987).

จากการศึกษาเปรียบเทียบลำดับเบสของเชื้อไวรัสรอยดักที่พบในองุ่นในประเทศไทยกับ HSVd ที่มีรายงานแล้วในต่างประเทศพบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกันของลำดับเบสสูงมาก (ตารางที่ 1) โดยเฉพาะกับเชื้อไวรัสรอยดักที่แยกได้จากองุ่นที่รายงานโดย Sano และคณะ (1986) สูงถึง 99 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเชื่อดังกล่าวนอกจากจะก่อให้เกิดโรครากต้นองุ่นแล้ว ยังก่อให้เกิดโรครุนแรงกับพืชตระกูลแตง (Cucurbitaceae) ทำให้ต้นเกิดอาการแคระแกรน ใบหงิกเสียรูปร่างรุนแรง เชื้อ HSVd ที่แยกได้จากองุ่นนี้ยังเหมือนกับเชื้อ Cucumber pale fruit viroid (CPFVd) ถึง 94 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1) ซึ่งเชื้อ CPFVd นี้ก่อให้เกิดโรครากแตงกวา โดยพืชตระกูลแตงจะมีอาการแคระแกรน เส้นใบใส (vein-clearing) และใบหงิก (Sano *et al.*, 1984) นอกจากนี้เชื้อไวรัสรอยดักที่พบในองุ่นนี้ยังมีลำดับเบสเหมือนกับ HSVd ที่แยกได้จากพืชตระกูลส้มซึ่งเป็นสาเหตุของโรค Citrus cachexia ซึ่งเป็นโรคที่ร้ายแรงโรคหนึ่งในพืชตระกูลส้ม และเชื้อ Citrus cachexia viroid (CCaVd) ยังก่อให้เกิดโรครากพืชในตระกูล Solanaceae, Cucurbitaceae, Compositaceae และ องุ่น เชื้อไวรัสรอยดักที่แยกได้จากพืชตระกูลส้มอีกชนิดหนึ่งที่อยู่ในกลุ่ม Hop stunt viroid คือ Citrus viroid IIa ซึ่งก่อให้เกิดโรครุนแรงมากในพืชตระกูล Solanaceae ทำให้เกิดอาการแคระแกรน ใบหงิก ใบหด และตายในที่สุด (Reanwarakorn and Semancik, 1998) ในการเปรียบเทียบพบว่ามีลำดับเบสเหมือนกันถึง 95 เปอร์เซ็นต์กับ HSVd ที่พบในองุ่นในบ้านเรา (ตารางที่ 1) จากการเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ความเหมือนกันกับเชื้อ HSVd ดังกล่าว แสดงให้เห็นว่า HSVd ที่พบในองุ่นในประเทศไทยมีแนวโน้มที่จะเป็นเชื้อสาเหตุที่ก่อโรคต่างๆดังกล่าว ซึ่งควรต้องหาแนวทางการป้องกันในอนาคตต่อไป จากผลการวิจัยในครั้งนี้ทำให้ทราบว่าในการปฏิบัติดูแลสวนองุ่นต้องมีความระมัดระวังมากเนื่องจากเชื้อสามารถติดไปกับอุปกรณ์ที่ใช้ในการเกษตร ซึ่งเชื้อไวรัสรอยดักในกลุ่ม hop stunt viroid ที่พบในองุ่นมีพืชอาศัยกว้าง สามารถทำให้เกิดโรคได้ทั้งในไม้ผล พืชผัก และไม้ดอกไม้ประดับ

ตารางที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์ความเหมือนของลำดับเบสของเชื้อไวรัสรอยดักในกลุ่ม Hop stunt viroids

Viroid isolate	% SEQUENCE HOMOLOGY			
	HSV-Sano	CCaVd	CVd-IIa	CPFVd
HSV-gv	99	96	95	94

หมายเหตุ HSV-Sano = เชื้อ Hop stunt viroid รายงานโดย Sano และคณะ (1986)

CCaVd = เชื้อ Citrus cachexia viroid รายงานโดย
Reanwarakorn and Semancik (1998)

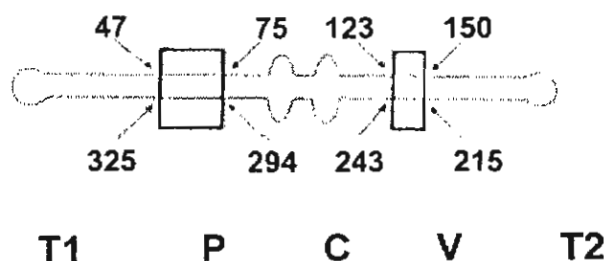
CVd-IIa = เชื้อ Citrus viroid IIa รายงานโดย Reanwarakorn and Semancik (1998)

CPFVd = เชื้อ Cucumber pale fruit viroid รายงานโดย Sano และคณะ (1984)

HSV-gv = เชื้อ Hop stunt viroid ที่พบในองุ่นของประเทศไทย grapevine in Thailand

สำหรับเชื้อไวรัสรอยดักที่แยกได้จากมะนาวที่ไม่แสดงอาการพบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนของลำดับเบสสูงถึง 98.3 เปอร์เซ็นต์กับเชื้อ CEVd ที่รายงานโดย Gross และคณะ(1982) (ตารางที่ 2) ในการทดสอบการเกิดโรคราก *Gynura* ก่อให้เกิดอาการใบโค้งงอไปด้านหลังใบ(epinasty) เนื่องจากเซลล์ด้านหลังใบตาย ซึ่งอาการและระดับความรุนแรงบน *Gynura* อาจเป็นผลเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงนิวคลีโอไทด์บนโครงสร้างของเชื้อไวรัสรอยดักเองเมื่อเข้าไปอยู่ในพืชแต่ละชนิด ดังมีรายงานแล้วใน Semancik และคณะ (1993) และใน Reanwarakorn และ

Semancik (1998) ในการทดลองนี้ได้ศึกษาลำดับเบสของเชื้อไวรอยด์ที่แยกได้จากมะนาวแล้วปลูกเชื้อให้ *Gynura* พบว่าการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสของเชื้อไวรอยด์ที่สกัดได้จาก *Gynura* เกิดขึ้นใน C-domain ($T_{99} \rightarrow A$) และ V-domain ($G_{138} \rightarrow T$ และ $C_{139} \rightarrow G$) (ภาพที่ 10 และตารางที่ 3) ซึ่งเบสบน C-domain อาจเกี่ยวข้องกับการเพิ่มปริมาณของเชื้อไวรอยด์ (Diener, 1987) การที่ Uracil เปลี่ยนเป็น Adenine อาจกระทบกับการเพิ่มปริมาณของเชื้อไวรอยด์ใน *Gynura* เพราะเชื้อไวรอยด์ที่สกัดได้จาก *Gynura* มีปริมาณต่ำมาก ซึ่งปกติควรมีปริมาณมากเนื่องจาก *Gynura* เป็นพืชดสอบที่ดีมากของ CEVd (Semancik, 1988) ส่วนนิวคลีโอไทด์ที่เปลี่ยนแปลงบน V-domain อาจเป็นเบสที่ก่อให้เกิดอาการใบโค้งงอไปด้านหลัง เพราะการเปลี่ยนแปลงเบสนี้เกิดใน *Gynura* ที่เกิดมีอาการใบโค้งงอเกิดขึ้น อย่างไรก็ตามเพื่อเป็นการพิสูจน์สมมติฐานเหล่านี้สมควรได้ทำการศึกษาต่อไปในอนาคต นอกจากนี้ในการศึกษาเปรียบเทียบลำดับเบสกับ CEVd ที่รายงานโดย Semancik และคณะ (1993) พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความเหมือนของลำดับเบสถึง 96.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเชื้อ CEVd ดังกล่าวนี้อาจก่อให้เกิดอาการรุนแรงบน Citron (*Citrus medica*) และเหมือนกับ CEVd ที่รายงานโดย Visvader และ Symons (1985) ถึง 97.8 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเชื้อดังกล่าวนี้ก่อให้เกิดโรครุนแรงบนมะเขือเทศ (ตารางที่ 2)



ภาพที่ 10 โดอะแกรมโครงสร้างของเชื้อ Citrus exocortis viroid เสนอโดย Keese and Symons (1985) โดย T1 = Left-hand terminal domain, P= Pathogenic domain, C= Conserved central domain, V= Variable domain และ T2= Right-hand terminal domain.

ตารางที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์ความเหมือนของลำดับเบสของเชื้อไวรอยด์ในกลุ่ม Citrus exocortis viroids.

Viroid isolate	% SEQUENCE HOMOLOGY		
	CEV-G	CEV-S	CEV-A
CEV-I	98.3	96.2	97.8

หมายเหตุ CEV-G = Citrus exocortis viroid รายงานโดย Gross และคณะ (1982)

CEV-S = Citrus exocortis viroid รายงานโดย Semancik และคณะ (1993)

CEV-A = Citrus exocortis viroid รายงานโดย Visvader and Symons, (1985)

ตารางที่ 3 ตารางแสดงนิวคลีโอไทด์ที่เปลี่ยนแปลงหลังจากปลูกเชื้อลงใน *Gynura aurantiaca*.

Viroid Domains	Residue numbers	CEV isolates	
		CEV-lime	CEV-gynura
C	99	T	A
V	138	G	T
	139	C	G

หมายเหตุ CEV-lime = citrus exocortis viroid of lime in Thailand

CEV-gynura = citrus exocortis viroid was isolated from infected *Gynura*.

สรุป

จากการตรวจสอบอาการใบจุดเหลือง (yellow speckle) และอาการเหลืองตามแนวเส้นใบ (yellow-vein banding) พบเชื้อ Hop stunt viroid มีขนาด 298 นิวคลีโอไทด์ มีความเหมือนกับเชื้อ HSVd ที่มีรายงานแล้วถึง 99 เปอร์เซ็นต์ สำหรับในมะนาวตรวจพบเชื้อ Citrus exocortis viroid (CEVd) จากมะนาวที่ไม่แสดงอาการ เชื้อมีขนาด 371 นิวคลีโอไทด์ และมีความเหมือนกับเชื้อ CEVd ที่รายงานก่อนแล้วถึง 98 เปอร์เซ็นต์ เชื้อ HSVd และเชื้อ CEVd เป็นเชื้อไวรอยด์ที่มีพิษอาศัยกว้าง พบทั้งในไม้ผล ไม้ดอกไม้ประดับ และพืชผัก ดังนั้นเชื้อ HSVd ที่พบในองุ่น และเชื้อ CEVd ที่พบในมะนาว ก็น่าที่จะมีพิษอาศัยกว้างเช่นกัน ฉะนั้นในการดูแลรักษาด้านองุ่นและมะนาวหรือพืชตระกูลส้มควรต้องมีความระมัดระวังเพราะเชื้อไวรอยด์สามารถติดไปกับท่อนพันธุ์และอุปกรณ์ที่ใช้ในการตัดแต่งกิ่งได้

เอกสารอ้างอิง

1. Boehringer Mannheim GmbH. 1999. "DIG High Prime DNA Labelling and Detection Starter Kit II " Bedford M. A., USA.
2. Diener,T.O. 1987. The Viroids. Plenum Press, New York. 344p.
3. Diener,T.O. and Lawson,R.H. 1973. Chrysanthemum stunt: A viroid disease. Virology 51: 94-103.
4. Desjardin,P.R., Drake,R.J., and Swiecki,S.A. 1980. Infectivity studies of avocado sunblotch causal agent, possibly a viroid rather than a virus. Plant Disease 64: 313-320.
5. Elena,S.F., Dopazo,J. Flores,R., Diener,T.O. and Moya,A. 1991.Phylogeny of viroids, viroidlike satellite RNAs, and the viroidlike domain of hepatitis δ virus RNA. Proc. Natl. Acad. Sci. 88 : 5631-5634
6. Fagoaga,C., Pina,J.A., and Duran-Vila,N. 1994. Occurrence of small rNAs in severely disease vegetable crops. Plant Disease 78: 749-753.

7. Galindo,J., Smith,D.R., and Diener,T.O. 1982. Etiology of planta macho, a viroid disease of tomato. *Phytopathology* 72:49-57.
8. Glover, D.M., and Hames, B.D. 1995. DNA Cloning 1,Core technique, A practical approach. Oxford Univ. Press Inc. New York 269 p.
9. Gross,H.J., Krupp,G., Domdey,H., Raba,M., Jank,P.,Lossow,C.,Alberty,H., Ramm,K. and Saenger, H.L. 1982. Nucleotide sequence and secondary structure of citrus exocortis and chrysanthemum stunt viroid. *Eur. J. Biochem.* 121: 249-257.
10. Promega Corporation. 1999. pGEM-T and pGEM-T Easy vector systems technical manual. Maddison, WI, USA. 30p.
11. Puchta,H., Ramm,K., and Sanger,H.L. 1988. The molecular structure of hop latent viroid (HLVd), a new viroid occurring worldwild in hops. *Nuc. Acid. Res.* 16: 4197-4217.
12. Reanwarakorn, K. and Semancik,J.S. 1998. Regulation of pathogenicity in hop stunt viroid-related group II citrus viroids. *J. Gen. Virol.* 79: 3163-3171.
13. Randles,J.W. 1975. Association of two ribonucleic acid species with cadang-cadang disease of coconut palm. *Phytopathology* 65: 163-169.
14. Rezaian, M.A. 1990. Australian grapevine viroid—evidence for extensive recombination between viroids. *Nucleic Acids Research.* 18: 1813 -1818.
15. Sano,T., Uyeda,I., Shikata,E., Ohno,T. and Okada,Y. 1984. Nucleotide sequence of cucumber pale fruit viroid: homology to hop stunt viroid. *Nuc.Acid.Res.* 12: 3427-3433.
16. Sano,T., Ohshima, K., Hataya, T., Uyeda, I., Shikata, E., Chou, T-G., Meshi, T., and Okata, Y. 1986. A viroid recembling hop stunt viroid in grapevines from Europe, the United States and Japan. *J. Gen. Virol.* 67: 1673-1678.
17. Semancik, J.S. 1986. Separation of viroid RNA by cellulose chromatography indicating conformational distinction. *Virology.* 155: 39-45.
18. Semancik, J.S. 1988. Citrus exocortis diseases 1976 to 1986. P 136-151. In *Proc 10th Conf. IOCV.* IOCV, Riverside.
19. Semancik, J.S. and Szychowski, J.A. 1992. Viroids in grapevines, a threat or an opportunity?. *Grapegrowing.* 39-43.
20. Semancik, J.S., Szychowski, J.A., Rakowski,A.G., and Symons,R.M. 1993. Isolates of CEVd recovered by host and tissue selection. *J.Gen.Virol.* 74: 2427-2436.
21. Semancik, J.S. and Weathers, L.G. 1972. Exocortis disease: Evidence for a new species of "infectious" low molecular weight RNA in plants. *Nature.* 237: 242-244.
22. Szychowski, J.A., Credi, R., Reanwarakorn, K., and Semancik, J.S. 1998. Population diversity in grapevine yellow speckle viroid-1 and the relationship to disease expression. *Virology.* 248: 432-444.
23. Visvader, J.E., and R.H. Symons. 1985. Eleven new sequence varients of citrus exocortis viroid and the corelatoin of sequence with pathogenicity. *Nucleic Acid.* 13 : 2907-2920.

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.

1. ผลงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ

จะตีพิมพ์เรื่อง

1. Hop Stunt Viroid in Thailand
2. Evidence of Citrus Viroid in Thailand

วารสารที่จะตีพิมพ์

1. Thai Journal of Agricultural Science
2. Journal of ISSAAS

2. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

- เติงวิชาการ

- 2.1. พัฒนาการเรียนการสอนในวิชา 008451(Molecular Plant Pathology), 008481 (Diagnosis of Plant Diseases), 008581(Advanced Plant Pathology), และ 008591 (Research Techniques in Plant Virology)

- 2.2. สร้างนิสิตปริญญาโทสองคน

3. กิจกรรมอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง

- รับนิสิตจาก The Institute of Land and Food Resources of The University of Melbourne ในการทำโครงการเล็กๆก่อนสำเร็จการศึกษา
- เสนอผลงานในการประชุมวิชาการ ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปี 2544 เรื่อง การตรวจสอบเชื้อไวรัสขององุ่นในประเทศไทย