

การคัดเลือกพันธุ์พืชวงศ์แตงต้านทานต่อเชื้อไวรัส *Cucumber mosaic virus*,
Papaya ringspot virus และ *Zucchini yellow mosaic virus*

Screening of Cucurbit Germplasm for Resistance to *Cucumber mosaic virus*,
Papaya ringspot virus and *Zucchini yellow mosaic virus*

ขวัญชนก อารีกิจ^{1,2} วิชัย โขสิตรัตน์^{1,2,3} Scott Adkins⁴ และ สุจินต์ ภัทรภูวadol^{1,2,3,*}

Kwanchanok Arikit^{1,2}, Wichai Kositratana^{1,2,3}, Scott Adkins⁴ and Sujin Patarapuwadol^{1,2,3,*}

¹ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

² ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

³ ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10900

¹ Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

² Center for Agricultural Biotechnology, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140

³ Center of Excellence on Agricultural Biotechnology (AG-BIO/PERDO-CHE), Bangkok 10900

⁴ United States Department of Agriculture, Agricultural Research Service, U. S. Horticultural Research Laboratory, 2001 South Rock Road. Fort Pierce, FL 34945, United States

รับเรื่อง: กรกฎาคม 2559 Received: July 2016

รับตีพิมพ์: สิงหาคม 2559 Accepted: August 2016

* Corresponding author: agrsujp@ku.ac.th

ABSTRACT: A total of 169 cucurbit accessions includes 34 accessions of pumpkin (*Cucurbita moschata*), 69 accessions of angled loofah (*Luffa acutangula*) and 66 accessions of watermelon (*Citrullus lanatus*) obtained from Clover Seed Ltd. (Thailand) were screened for resistance to *Cucumber mosaic virus* (CMV) isolate NK10 (CMV-NK10), *Papaya ringspot virus* (PRSV) isolate Cu014 (PRSV-Cu014) and *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) isolate Cu012 (ZYMV-Cu012) under greenhouse conditions. Mechanical inoculation of the first and second true leaves was done by rubbing with a mixture of virus inoculum and carborundum. Four weeks after inoculation, all plants were evaluated visually for symptoms of virus infection and tested by Indirect plate trapped antigen ELISA (indirect PTA-ELISA) to determine virus presence in upper, non-inoculated leaf tissue. Disease rating based on percent of infected plants classified accessions as immune, resistant, moderate resistant, moderate susceptible and susceptible. Twelve accessions of angled loofah were immune to our isolates of all three viruses. Almost all tested accessions were immune to CMV-NK10 include eighteen accessions of pumpkin, fifty accessions of angled loofah and sixty six accessions of watermelon. Seventeen and five accessions of angled loofah and watermelon, respectively, were immune to PRSV-Cu014. Sixty six accessions of angled loofah were immune to ZYMV-Cu012. The immune accessions identified in this study may prove to be significant new sources of CMV, PRSV and ZYMV resistance for breeding programs for cultivar development.

Keywords: *Cucumber mosaic virus*, *Papaya ringspot virus*, *Zucchini yellow mosaic virus*, Cucurbit

บทคัดย่อ

คัดเลือกแหล่งพันธุ์กรรมพันธุ์พีชวงศ์แตง จำนวนทั้งหมด 169 สายพันธุ์ ได้แก่ ฟักทอง 34 สายพันธุ์ บวบเหลี่ยม 69 สายพันธุ์ และแตงโม 66 สายพันธุ์ ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท โคลเวอร์ ซีดี ประเทศไทย จำกัด มาทำการประเมินความต้านทาน ต่อเชื้อ *Cucumber mosaic virus* ไอโซเลท NK10 (CMV-NK10), *Papaya ringspot virus* ไอโซเลท Cu014 (PRSV-Cu014) และ *Zucchini yellow mosaic virus* ไอโซเลท Cu012 (ZYMV-Cu012) ในสภาพโรงเรือนทดลอง โดยการปลูกเชื้อไวรัสโดยวิธีกล ให้กับต้นกล้าของพืชทดสอบในระยะใบจริงคู่แรกและ คู่ที่สอง ภายหลังจากการปลูกเชื้อไวรัส 4 สัปดาห์ เก็บใบ พืชทดสอบมาตรวจปริมาณเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค Indirect plate trapped antigen ELISA (Indirect PTA-ELISA) และบันทึกอาการของโรค นำเปอร์เซ็นต์ การเกิดโรคมารวบรวมหาความต้านทาน โดยแบ่งเป็น 5 ระดับ คือ immune (I), resistant (R), moderate resistant (MR), moderate susceptible (MS) และ susceptible (S) จากการทดลองครั้งนี้พบบวบเหลี่ยม จำนวน 12 สายพันธุ์ที่แสดงความต้านทานในระดับ I ต่อเชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิด จากสายพันธุ์พืชทั้งหมดที่ ทดสอบครั้งนี้พบฟักทอง 18 สายพันธุ์ บวบเหลี่ยม 50 สายพันธุ์ และแตงโม 66 สายพันธุ์ที่แสดงความ ต้านทานในระดับ I ต่อเชื้อ CMV-NK-10 นอกจากนี้ยัง พบว่ามีบวบเหลี่ยม และแตงโมจำนวน 17 และ 5 สาย พันธุ์ตามลำดับ แสดงความต้านทานที่ระดับ I ต่อเชื้อ PRSV-Cu014 ในขณะที่มีบวบเหลี่ยมเพียง 66 สาย พันธุ์ที่แสดงความต้านทานที่ระดับ I ต่อเชื้อ ZYMV-Cu012 สายพันธุ์พืชที่มีความต้านทานในระดับ I เหล่า นี้เป็นแหล่งพันธุ์กรรมที่สำคัญในการปรับปรุงพันธุ์พีช วงศ์แตงต้านทานต่อเชื้อ CMV, PRSV และ ZYMV ต่อไป

คำสำคัญ: เชื้อไวรัส *Cucumber mosaic virus*,

Papaya ringspot virus, *Zucchini yellow mosaic virus*, พีชวงศ์แตง

บทนำ

Cucumber mosaic virus (CMV), *Papaya ringspot virus* (PRSV) และ *Zucchini yellow mosaic virus* (ZYMV) เป็นไวรัสที่เข้าทำลายพีชวงศ์ แตงในพื้นที่ปลูกที่สำคัญทั่วโลก (Zitter *et al.*, 1996) โดยพบการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิดในรัฐ ฮาวาย ประเทศสหรัฐอเมริกา ที่ทำความเสียหายแก่ สควอชและแตงกวาถึง 100% ส่วนแตงโมเกิดความเสียหาย 10-100% (Ullman *et al.*, 1991) Coutts and Jones (2005) ได้สำรวจการแพร่กระจายของเชื้อไวรัส ในแปลงปลูกแตงกวา เมลอน ฟักทอง สควอช ใน ประเทศออสเตรเลียในช่วงปี ค.ศ. 2003-2004 พบการ เข้าทำลายของเชื้อไวรัส ZYMV และ PRSV ในแปลง ปลูกมากที่สุด รองลงมาคือเชื้อ CMV จากการเข้า ทำลายของเชื้อไวรัสเหล่านี้ทำให้มีความเสียหายต่อ อุตสาหกรรมการผลิตพีชวงศ์แตง เนื่องจากรูปร่าง ลักษณะของผลผลิตที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลายไม่เป็นที่ ต้องการของตลาด

ในประเทศไทยพบว่าเชื้อไวรัสที่มีการแพร่ ระบาดสูง และทำความเสียหายรุนแรงแก่ผลผลิตพีช วงศ์แตงมี 3 ชนิด ได้แก่ CMV, PRSV และ ZYMV โดย เชื้อไวรัสทั้งสามชนิดนี้สามารถแพร่ระบาดได้อย่าง รวดเร็ว กว้างขวาง และยากต่อการป้องกันกำจัด มี เพลี้ยอ่อนหลายชนิดที่เป็นแมลงพาหะนำโรค และ นอกจากนี้เชื้อไวรัสเหล่านี้ยังมีพืชอาศัยที่กว้าง (Kittipakorn and Srithongchai, 2002) จากผลการ สำรวจในปี ค.ศ.1990-1991 พบการแพร่ระบาดของ เชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิด ในแปลงปลูกพีชวงศ์แตงจำนวน 10 จังหวัด ทั่วประเทศไทย จากตัวอย่างทั้งหมด 365 ตัวอย่าง ตรวจพบเชื้อ CMV, PRSV และ ZYMV

เป็นจำนวน 163, 242 และ 46 ตัวอย่างตามลำดับ (Noda *et al.*, 1993) ต่อมาในปี ค.ศ. 2006–2007 มีการสำรวจและเก็บตัวอย่างพืชวงศ์แตงที่แสดงอาการของโรคไวรัสที่พบในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์พืชวงศ์แตงในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบว่า มีการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัส CMV 44%, PRSV-W 28% และ ZYMV 2% (Thonmo and Thummabenjapone, 2008) จากปัญหาการแพร่ระบาดของเชื้อไวรัสที่กล่าวมา จำเป็นต้องมีแนวทางป้องกัน กำจัด และควบคุมที่ดี เพื่อลดความสูญเสียที่เกิดขึ้น โดยแนวทางการควบคุมโรคไวรัสที่ดีและมีประสิทธิภาพที่สุด คือ การใช้พันธุ์พืชต้านทาน (Attathom, 2009) ในการปรับปรุงพันธุ์พืชวงศ์แตงจำเป็นต้องมีแหล่งพันธุกรรมของพืชต้านทาน จึงจำเป็นต้องมีการประเมินแหล่งพันธุกรรมเพื่อหาพันธุ์ต้านทาน งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกแหล่งพันธุกรรมพันธุ์พืชวงศ์แตงที่ต้านทานต่อเชื้อไวรัส CMV, PRSV และ ZYMV ในสภาพโรงเรือน โดยข้อมูลจากการประเมินในครั้งนี้สามารถนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชวงศ์แตงต่อไป

อุปกรณ์ และวิธีการ

แหล่งที่มาของเชื้อไวรัสสำหรับการประเมินความต้านทาน

เชื้อไวรัสแต่ละไอโซเลทที่ใช้เป็นแหล่งของเชื้อไวรัสในการประเมินแหล่งพันธุกรรมความต้านทานของเชื้อไวรัสในพืชวงศ์แตงนี้ ได้แก่ เชื้อ CMV ไอโซเลท NK10 (CMV-NK10), เชื้อ PRSV ไอโซเลท Cu014 (PRSV-Cu014) และ ZYMV ไอโซเลท Cu012 (ZYMV-Cu012) แยกเชื้อให้บริสุทธิ์ในพืชอาศัย จากนั้นจัดจำแนกเชื้อไวรัสโดยใช้พืชอาศัย ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคไวรัส และศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของเชื้อไวรัสตามที่รายงานไว้ใน Arikiti (2016)

การเตรียมเชื้อไวรัสและการเตรียมต้นพืชทดสอบ

สำหรับการประเมินความต้านทาน

เชื้อไวรัสที่ใช้สำหรับการประเมินความต้านทาน นำเชื้อไวรัสที่บริสุทธิ์แต่ละชนิดมาเพิ่มปริมาณในพืชอาศัย โดยเชื้อ CMV-NK10 เพิ่มปริมาณเชื้อไวรัสในยาสูบ และแตงกวา สำหรับเชื้อ PRSV-Cu014 และ ZYMV-Cu012 เพิ่มปริมาณเชื้อไวรัสในฟักทอง ภายหลังจากปลูกเชื้อตรวจสอบปริมาณเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค indirect PTA-ELISA โดยใช้แอนติซีรัมที่จำเพาะเจาะจงต่อเชื้อไวรัส CMV, PRSV และ ZYMV ดัดแปลงวิธีการจาก Clark and Adams (1977)

แหล่งพันธุกรรมพันธุ์พืชวงศ์แตงที่นำมาใช้ในการประเมินได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัท โคลเวอร์-ซีด ประเทศไทย จำกัด โดยเฉพาะกล้าพืชทดสอบในกระถาง 2.5 นิ้ว ปลูก 1 เมล็ดต่อกระถาง จำนวน 10 ต้นต่อสายพันธุ์ต่อเชื้อไวรัส ดูแลและเก็บรักษาต้นพืชตลอดระยะเวลาการทดลองภายในโรงเรือนกันแมลงของบริษัท โคลเวอร์ซีด ประเทศไทย จำกัด จังหวัดราชบุรี เมื่อพืชทดสอบมีอายุประมาณ 7 วันหลังการงอก จึงนำมาใช้ในการประเมินความต้านทาน โดยในการประเมินทุกครั้งมีสายพันธุ์พืชอ่อนแอต่อเชื้อไวรัสแต่ละชนิดเป็นสายพันธุ์ควบคุม

การคัดเลือกแหล่งพันธุกรรมพันธุ์พืชวงศ์แตงต้านทานต่อเชื้อไวรัส CMV, PRSV และ ZYMV

นำพืชอาศัยที่ใช้เป็นแหล่งเพิ่มปริมาณของเชื้อไวรัสแต่ละชนิดที่ผ่านการตรวจสอบปริมาณและความบริสุทธิ์ของเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค indirect PTA-ELISA แล้ว มาเตรียมเป็นน้ำคั้นสำหรับใช้ในการปลูกเชื้อ โดยปั่นใบพืชในโถปั่นที่แช่เย็นให้ละเอียดพอประมาณใน 0.01M phosphate buffer pH 7.0 ที่แช่เย็น อัตราส่วนใบพืชต่อบัฟเฟอร์ 1:10 (W/V) เติมผงคาร์บอนดำลงในน้ำคั้นพืชของเชื้อไวรัสแต่ละชนิดที่เตรียมไว้อัตรา 0.5 g/ml จากนั้นปลูกเชื้อไวรัสลงต้นกล้าของพืชทดสอบในระยะใบจริง คู่แรกและคู่ที่สองโดยวิธีกล (Mechanical inoculation) ภายหลังจากปลูกเชื้อ 15–20 นาที ล้างใบพืชทดสอบ

ด้วยน้ำสะอาด ทำการปลูกเชื้อไวรัสซ้ำอีกครั้งหลังการปลูก เชื้อครั้งแรก 1 สัปดาห์ สังเกตอาการเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ นำมาตรวจสอบเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค indirect PTA-ELISA เปรียบเทียบกับอาการของโรคที่ปรากฏ สรุป ผลการประเมินความต้านทานของพืชทดสอบต่อเชื้อไวรัส ซึ่งพิจารณาจากการตรวจสอบเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค

indirect PTA-ELISA นำมาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (Percent infection) และนำเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค มาระบุระดับความต้านทานของพืชแต่ละสายพันธุ์ต่อเชื้อไวรัส CMV, PRSV และ ZYMV โดยจัดทำเป็นตารางแสดง ระดับการเกิดโรค (Table 1) ตามวิธีของ Havey (1996) สูตรการคำนวณดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค} = \frac{\text{จำนวนต้นพืชที่ตรวจพบเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค ELISA}}{\text{จำนวนต้นพืชทั้งหมดที่นำมาทดสอบด้วยเทคนิค ELISA}} \times 100$$

Table 1 Disease reaction based on percentage of infection (Havey, 1996)

Disease Reaction	Percent infection (%)
Immune (I)	0
Resistant (R)	1–25
Moderately resistant (MR)	26–50
Moderately susceptible (MS)	51–75
Susceptible (S)	76–100

การตรวจสอบเชื้อไวรัสในพืช ที่แสดงความต้านทานสูง (Immune) ด้วยเทคนิค Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction

จากการประเมินแหล่งประเมินแหล่งพันธุกรรม พันธุ์พืชวงศ์แตงที่ต้านทานต่อเชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิดนี้ โดยเทคนิคที่นำมาใช้ในการตรวจสอบเชื้อไวรัสคือเทคนิค indirect PTA-ELISA ซึ่งเป็นเทคนิคที่นิยมนำมาใช้ในการตรวจสอบเชื้อไวรัส แต่ทั้งนี้เทคนิคนี้ข้อจำกัดคือสามารถตรวจสอบโปรตีนของไวรัสได้ในระดับ 0.01 ถึง 1 µg/ml (Crowther, 2001) ดังนั้น หากตัวอย่างพืชมีปริมาณของโปรตีนของเชื้อไวรัสต่ำ อาจทำให้เทคนิคนี้ไม่สามารถนำมาใช้ในการตรวจสอบได้อย่างแม่นยำ ดังนั้นจึงทำการสุ่มตรวจตัวอย่างพืชที่ผ่านการตรวจ

สอบเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค indirect PTA-ELISA ภายหลังจากการปลูกเชื้อไวรัสแต่ละชนิดที่ 4 สัปดาห์ และให้ผลว่ามีความต้านทานสูง (Immune) และพืชอ่อนแอ (Susceptible) โดยมีพืชปกติที่ไม่ได้ปลูกเชื้อไวรัสเป็นตัวอย่างควบคุมลบมาตรวจสอบการสะสมของปริมาณเชื้อไวรัสบริเวณใบ ลำต้นและราก ด้วยเทคนิค indirect PTA-ELISA เปรียบเทียบการตรวจสอบเชื้อไวรัสด้วยเทคนิค Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะเจาะจงต่อบริเวณยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคเชื้อไวรัส CMV, PRSV และ ZYMV ดัดแปลงตามวิธีการของ (Leesutthiphonchai, 2007) (Charoensilp *et al.*, 2003) และ (Tobias *et al.*, 2008) ตามลำดับ

ผลการทดลอง และวิจารณ์

แหล่งที่มาของเชื้อไวรัสสำหรับการประเมินความต้านทาน

จากการศึกษาลักษณะและจัดจำแนกเชื้อไวรัสที่นำมาใช้เป็นแหล่งของเชื้อไวรัสในการประเมินความต้านทานของเชื้อไวรัสในพืชวงศ์แตงนี้ โดยนำเชื้อไวรัสที่ผ่านการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ในพืชอาศัย มาศึกษา ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของอนุภาคไวรัส พบว่าเชื้อไวรัส CMV-NK10 มีลักษณะอนุภาคเป็นทรงกลมหลายเหลี่ยม (icosahedral) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 29 นาโนเมตร เชื้อไวรัส PRSV-Cu014 มีอนุภาคเป็นลักษณะท่อนยาวคด (flexuous) มีความยาวของอนุภาคประมาณ 760-800 นาโนเมตร และเชื้อ ZYMV-Cu012 มีอนุภาคเป็นลักษณะท่อนยาวคด (flexuous) มีความยาวของอนุภาคประมาณ 680-730 นาโนเมตร และจากการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ บริเวณยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของเชื้อไวรัส พบว่าเชื้อ CMV-NK10 ที่แยกได้จากฟักทองจากจังหวัดนครปฐม มีความคล้ายคลึงกับเชื้อ CMV-HC56 (FM999062.1) ที่เข้าทำลายแตงกวาที่พบในภาคกลางของประเทศไทย โดยมีระดับความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์อยู่ที่ 99% ส่วนเชื้อ PRSV-Cu014 ที่แยกเชื้อได้จากฟักทองจากจังหวัดสกลนคร เป็น PRSV สายพันธุ์ W และมีความคล้ายคลึงกับยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคของเชื้อ PRSV-JTK9 ที่เข้าทำลายแตงในประเศญี่ปุ่น (AB583216.1) และ PRSV strain W (AY010722.1) ที่เข้าทำลายฟักทองในจังหวัดราชบุรีจากประเทศไทย ที่ระดับ 96% ในขณะที่เชื้อ ZYMV-Cu012 ที่เข้าทำลายฟักทองในจังหวัดบึงกาฬมีความคล้ายคลึงของยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคกับเชื้อ ZYMV-Zug ที่เข้าทำลายแตงชุกินีจากประเทศโปแลนด์ (EU561045.1), ZYMV-Shanxi ที่เข้าทำลายสควอชจากประเทศจีน (AY074808.1) ที่ระดับ 94% (Ariket, 2016)

การเตรียมเชื้อไวรัสและการเตรียมต้นพืชทดสอบสำหรับการประเมินความต้านทาน

ผลการตรวจสอบปริมาณและความบริสุทธิ์ของเชื้อไวรัสในพืชอาศัยที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณเชื้อไวรัสแต่ละชนิดก่อนนำมาใช้ในการประเมินความต้านทาน ด้วยเทคนิค indirect PTA-ELISA พบว่าเชื้อ CMV-NK10, PRSV-Cu014 และ ZYMV-Cu012 มีปริมาณค่าเฉลี่ยของค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 405 นาโนเมตร อยู่ที่ 1.458, 1.565 และ 1.405 ตามลำดับ

การคัดเลือกแหล่งพันธุ์กรรมพันธุ์พืชวงศ์แตงต้นทานต่อเชื้อไวรัส CMV, PRSV และ ZYMV

จากผลการคัดเลือกแหล่งพันธุ์กรรมพันธุ์พืชวงศ์แตงทั้งหมด 169 สายพันธุ์ ได้แก่ ฟักทอง 34 สายพันธุ์ บวบเหลี่ยม 69 สายพันธุ์ และแตงโม 66 สายพันธุ์ ที่ต้านทานต่อเชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิด พบว่าภายหลังการปลูกเชื้อ ไวรัส CMV-NK10 ที่ 4 สัปดาห์ พืชหลายสายพันธุ์ไม่แสดงอาการผิดปกติ และมีพืชบางสายพันธุ์แสดงอาการของโรค ได้แก่ ใบเหลือง ใบจุด และใบด่างเล็กน้อย (Figure 1) โดยพืชทั้ง 3 ชนิดนี้ มีความต้านทานต่อเชื้อ CMV-NK10 ในระดับ Immune (I) ทั้งหมด 134 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 79 ของจำนวนพืชทดสอบทั้งหมด โดยพบในฟักทองจำนวน 18 สายพันธุ์ บวบเหลี่ยมจำนวน 50 สายพันธุ์ และแตงโมจำนวน 66 สายพันธุ์ (Table 2)

จากผลการคัดเลือกแหล่งพันธุ์กรรมพันธุ์พืชวงศ์แตงที่ต้านทานต่อเชื้อไวรัส PRSV-Cu014 ภายหลังการปลูกเชื้อ 4 สัปดาห์ พบพืชทดสอบที่อ่อนแอแสดงอาการของโรค ได้แก่ อาการใบด่าง ใบลดรูป ใบบิดเบี้ยวผิดปกติ เป็นต้น (Figure 2) พบสายพันธุ์พืชที่มีความต้านทานต่อเชื้อ PRSV-Cu014 ในระดับ I รวมทั้งหมด 22 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 13 ของจำนวนพืชทดสอบทั้งหมด ซึ่งแบ่งเป็นบวบเหลี่ยม 17 สายพันธุ์ และแตงโมเพียง 5 สายพันธุ์ จากการทดสอบนี้ไม่พบฟักทองที่แสดงความต้านทานในระดับ I (Table 2) ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับรายงานของ (Guner, 2004) ที่

คัดเลือกแตงโมที่มีความต้านทานจำนวน 60 สายพันธุ์ จากแหล่งพันธุกรรมของแตงโมทั้งหมด 1,275 สายพันธุ์ มาทดสอบความต้านทานต่อเชื้อ PRSV-W ไอโซเลท 2052 โดยผลการคัดเลือกพบว่ามีแตงโมเพียง 8 สายพันธุ์ ที่แสดงความต้านทานต่อ PRSV โดยสายพันธุ์ที่ต้านทานเหล่านี้มีอัตราการของโรคไม่รุนแรงโดยมีค่าเฉลี่ยของระดับอาการอยู่ที่ 3.6 หรือน้อยกว่า ในขณะที่สายพันธุ์ที่เหลือนั้นมีความอ่อนแอและแสดงอาการของโรคอย่างรุนแรง ซึ่งชี้ให้เห็นว่าแหล่งพันธุกรรมของแตงโมส่วนใหญ่แล้วมีความอ่อนแอต่อเชื้อ PRSV-W

จากผลการคัดเลือกแหล่งพันธุกรรมพันธุ์พืชวงศ์แตงที่ต้านทานต่อเชื้อไวรัส ZYMV-Cu012 พบพืชทดสอบสายพันธุ์อ่อนแอแสดงอาการของโรคอย่างรุนแรงภายหลังการปลูกเชื้อ 4 สัปดาห์ ได้แก่ อาการใบด่าง เหลือง ใบลดรูปผิดปกติ เส้นใบใส ต้นเตี้ยแคระ เป็นต้น (Figure 3) โดยพบความต้านทานต่อเชื้อ ZYMV-Cu012 ในระดับ I ในบวบเหลี่ยมเท่านั้น จำนวน 66 สายพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 39 ของจำนวนพืชทดสอบทั้งหมด ในขณะที่ไม่พบพื้กทองและแตงโมที่มีความต้านทานในระดับ I โดยพืชทั้ง 2 ชนิดนี้แสดงความอ่อนแอในระดับ Susceptible (S) ต่อเชื้อ ZYMV-Cu012 มากที่สุด (Table 2) โดยผลที่ได้สอดคล้องกับรายงานของ Guner (2004) ที่คัดเลือกแหล่งพันธุกรรมของแตงโมจำนวน 41 สายพันธุ์ต่อเชื้อ ZYMV สายพันธุ์ FL โดยพบว่ามีแตงโมเพียง 8 สายพันธุ์ที่แสดงความต้านทานในระดับสูงต่อเชื้อ ZYMV ไอโซเลท FL จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าแตงโมส่วนใหญ่แล้วมีความอ่อนแอต่อเชื้อ ZYMV เช่นกัน

จากการรายงานแหล่งของความต้านทานต่อเชื้อไวรัสทั้งสามชนิดนี้ในพืชวงศ์แตง สามารถพบได้ในพืชวงศ์แตงหลายชนิด โดย Brown *et al.* (2003) ได้รายงานพบแหล่งความต้านทานต่อเชื้อไวรัส CMV, PRSV และ ZYMV ในพื้กทอง (*Cucurbita moschata* cv. Nigerian Local) นอกจากนี้ Guner and Wehner (2008) พบว่า ในพืชวงศ์แตงหลายชนิด ได้แก่ แตงกวา (*Cucumis sativus*) เมล่อน (*Cucumis melo*)

พื้กทอง (*Cucurbita* spp.) แตงโม (*Citrullus lanatus*) และบวบ (*Lagenaria* spp., *Luffa* spp.) มีความต้านทานต่อเชื้อ PRSV-W สำหรับแหล่งของความต้านทานต่อเชื้อ ZYMV พบใน แตงกวา เมล่อน แตงโม และพื้กทอง สำหรับการประเมินความต้านทานของพืชวงศ์แตงในประเทศไทย Noda *et al.* (1993) ได้ประเมินความต้านทานของพืชวงศ์แตงจำนวน 47 สายพันธุ์ต่อเชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิดนี้ในสภาพแปลงปลูกธรรมชาติ พบแหล่งของความต้านทานในระดับ Immune และระดับ Resistant ในแตงกวา น้ำเต้า และแตงเทศ จำนวน 3, 1 และ 2 สายพันธุ์ ตามลำดับ ซึ่งต่างจากงานวิจัยครั้งนี้ที่พบแหล่งของความต้านทานในพืชวงศ์แตงทั้ง 3 ชนิดคือ พื้กทอง บวบเหลี่ยม และแตงโม ต่อเชื้อไวรัส CMV, PRSV และ ZYMV ซึ่งมีความต้านทานในระดับ Immune หลายสายพันธุ์ ทั้งนี้อาจเกิดจากความแตกต่างกันของวิธีการประเมิน สายพันธุ์ของเชื้อไวรัส และจำนวนของสายพันธุ์พืชทดสอบ โดยเฉพาะในบวบเหลี่ยมซึ่งเป็นพืชสายพันธุ์ป่าที่มีลักษณะพิเศษคือ ทนต่อสภาพแวดล้อม ทนต่อการเข้าทำลายของโรค และแมลง (Janprayoon, 1998) สอดคล้องกับผลการคัดเลือกบวบเหลี่ยมในการทดลองนี้ที่พบว่ามีความต้านทานสูง (Immune) ต่อเชื้อไวรัสทั้งสามชนิด

การตรวจสอบเชื้อไวรัสในพืชที่แสดงความต้านทานสูง (Immune) ด้วยเทคนิค Reverse-Transcription Polymerase Chain Reaction

จากการสุ่มตรวจสอบการสะสมของเชื้อไวรัสบริเวณใบ ลำต้น และราก ในตัวอย่างพืชที่แสดงความต้านทานสูง และอ่อนแอ ภายหลังการปลูกเชื้อไวรัสแต่ละชนิดที่ 4 สัปดาห์ ด้วยเทคนิค indirect PTA-ELISA และเทคนิค RT-PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะจะจงต่อบริเวณยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาคเชื้อไวรัสแต่ละชนิด โดยพบว่าทั้งสองเทคนิคให้ผลการตรวจสอบที่สอดคล้องกัน โดยพบว่าพืชที่แสดงความอ่อนแอสามารถตรวจพบเชื้อไวรัส CMV-NK10, PRSV-Cu014 และ ZYMV-Cu012 ได้ที่บริเวณใบ ลำต้นและ

ราก ในขณะที่ไม่พบเชื้อไวรัสในบริเวณส่วนต่าง ๆ ของพืชที่แสดงความต้านทานในระดับ Immune และพืชปกติที่ไม่ได้รับการปลูกเชื้อ (Figure 4) ซึ่งสอดคล้องกับ Zellnig *et al.* (2014) ที่ตรวจสอบการสะสมของเชื้อ ZYMV ในพื้กทอง (*Cucurbita pepo* L.) ในบริเวณส่วนต่าง ๆ ของพื้กทองภายหลังการปลูกเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน พบว่า ภายหลังการปลูกเชื้อ 3 วัน พบการสะสมของเชื้อ ZYMV ที่บริเวณราก จากนั้นภายหลังการปลูกเชื้อไวรัสอีก 5 วัน พบการสะสมของเชื้อไวรัสในบริเวณลำต้นและยอด และสามารถตรวจ

พบเชื้อไวรัสได้ในบริเวณทุกส่วนของต้นพืชภายหลังการปลูกเชื้อ 9 วัน นอกจากนี้ Choi *et al.* (2002) ได้ตรวจสอบการเข้าทำลายของเชื้อ CMV และ ZYMV ในแตงซูกินี (*Cucurbita pepo*) ด้วยเทคนิค immunological tissue-print และนำเทคนิค RT-PCR มาใช้ในการตรวจสอบยืนยันการเข้าทำลายของเชื้อไวรัสทั้ง 2 ชนิดในบริเวณเนื้อเยื่อใบซูกินีที่แสดงอาการของโรคไวรัสอีกครั้ โดยผลการตรวจสอบเชื้อไวรัสด้วยสองเทคนิคนี้ให้ผลที่สอดคล้องกันสามารถตรวจพบเชื้อไวรัสสองชนิดในใบซูกินีที่ถูกเชื้อไวรัสเข้าทำลาย



Figure 1 Symptoms on leaves inoculated with CMV-NK10 at four weeks after inoculation: (A) Pumpkin PK14-19, (B) Watermelon WM15-9015 and (C) Susceptible cucumber

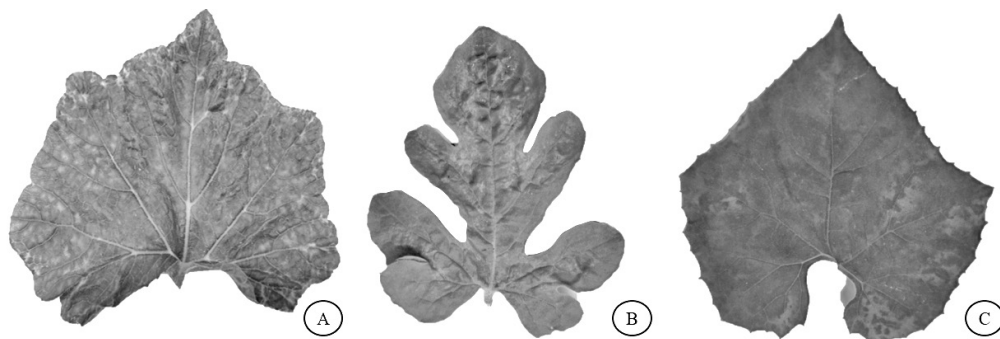


Figure 2 Symptoms on leaves inoculated with PRSV-Cu014 at four weeks after inoculation: (A) Pumpkin PK15-1030, (B) Watermelon WM15-9004 and (C) Susceptible angled loofah

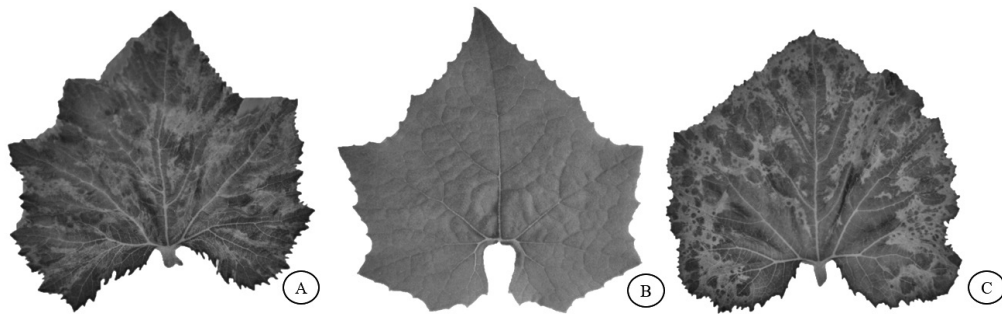


Figure 3 Symptoms on leaves inoculated with ZYMV-Cu012 at four weeks after inoculation: (A) Pumpkin PK15-1018, (B) Angled loofah RG14-9007 and (C) Susceptible pumpkin

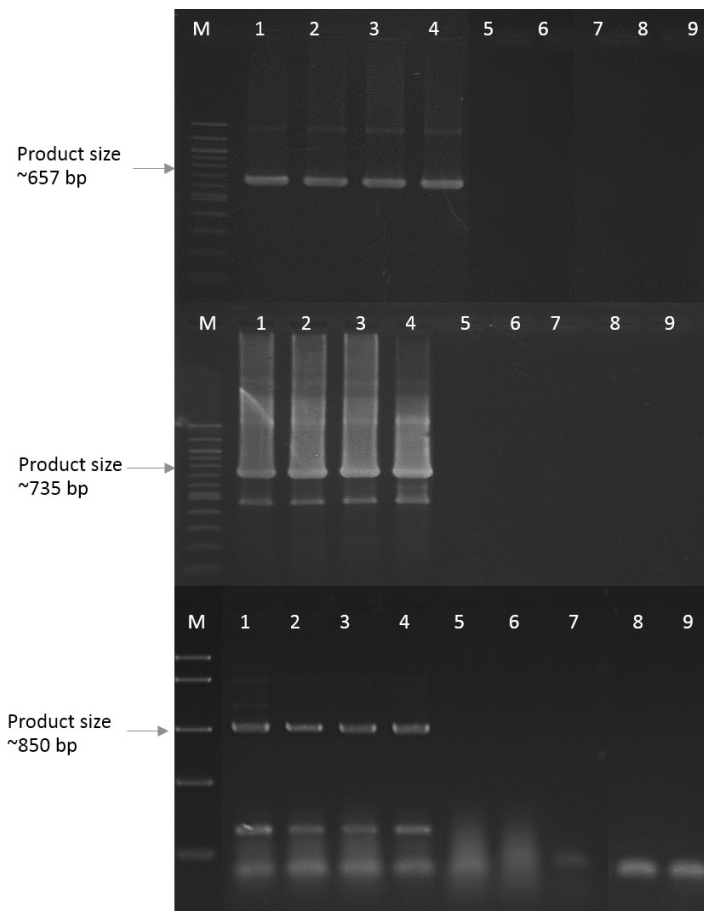


Figure 4 Detection of *CP* gene CMV-NK10, PRSV-Cu014 and ZYMV-Cu012 in leaf, stem and root of immune plants and susceptible plants after inoculation with each viruses using RT-PCR: (A.) Detection *CP* gene of CMV-NK10, (B.) Detection *CP* gene of PRSV-Cu014 and (C.) detection *CP* gene of ZYMV-Cu012. Lane M of A and B; 100bp DNA Ladders, Biolabs® Inc., Lane M of C; FastRuler™ DNA Ladders, Thermo Scientific. Lane 1; leaf of a susceptible plant, lane 2; stem of a susceptible plant, lane 3; root of a susceptible plant, lane 4; infected plant of each viruses (positive control), lane 5; leaf of a immune plant, Lane 6; stem of immune plant, Lane 7; root of susceptible plant, lane 8; non infected plant (negative control) and lane 9; distilled water (negative control)

Table 2 Reactions of 169 cucurbit accessions and lines to CMV-NK10, PRSV-Cu014 and ZYMV Cu012

Type of plant	No	Accessions	CMV-NK10			PRSV-Cu014			ZYMV-Cu012		
			Percent infection	Disease reaction	Symptom ^{1/}	Percent infection	Disease reaction	Symptom	Percent infection	Disease reaction	Symptom
Pumpkin (<i>C. moschata</i>)	1	PK14-1	50	MR	Chl	70	MS	Mot	88	S	LD, VB, St
	2	PK14-2	20	R	LY	56	MS	Mot ,Mo	56	MS	LY, VB, Mot
	3	PK14-3	30	MR	Chl	50	MR	LY	80	S	LD, VB, St
	4	PK14-4	20	R	Chl	33	MR	LY	50	MR	LY, Mo
	5	PK14-7	50	MR	Chl	80	S	LD, Mot	63	MS	LY, VB, Mot
	6	PK14-8	30	MR	LY	56	MS	Mo, LD	56	MS	LY, VB, Mot
	7	PK14-9	10	R	LY	60	MS	Mo, LD	56	MS	LY, VB, Mot
	8	PK14-10	0	I	NS	56	MS	Mo,VB	25	R	LY
	9	PK14-11	10	R	Chl	30	MR	LY	90	S	LD, VB, St
	10	PK14-15	0	I	NS	30	MR	LY	33	MR	LY, Mo
	11	PK14-18	0	I	NS	80	S	LD, Mot	50	MR	LY, Mo
	12	PK14-19	90	S	Mo,LY	90	S	LD, Mot	30	MR	LY, Mo
	13	PK14-20	60	MS	Mo,LY	100	S	LD, Mot	56	MS	LY, VB, Mot
	14	PK14-21	30	MR	LY	80	S	LD, Mot	100	S	LD, VB, St
	15	PK14-22	30	MR	LY	90	S	LD, Mot	30	MR	LY, Mo
	16	PK15-1002	10	R	Chl	100	S	LD, Mot	78	S	LD, VB, St
	17	PK15-1003	0	I	NS	100	S	LD, Mo	100	S	LD, VB, St
	18	PK15-1005	20	R	Chl	100	S	LD, Mo	100	S	LD, VB, St
	19	PK15-1006	0	I	NS	90	S	LD, Mot	70	S	LD, VB, St
	20	PK15-1007	0	I	NS	100	S	LD, Mot	88	S	LD, VB, St
	21	PK15-1008	0	I	NS	100	S	LD, Mot	100	S	LD, VB, St
	22	PK15-1009	0	I	NS	100	S	LD, Mot	89	S	LD, VB, St
	23	PK15-1012	0	I	NS	100	S	LD, Mot	100	S	LD, VB, St
	24	PK15-1014	0	I	NS	100	S	LD, Mot	33	MR	LY, Mo
	25	PK15-1015	0	I	NS	100	S	LD, Mot	100	S	LD, VB, St
	26	PK15-1016	0	I	NS	100	S	LD, Mot	100	S	LD, VB, St
	27	PK15-1017	0	I	NS	100	S	LD, Mot	89	S	LD, VB, St
	28	PK15-1018	0	I	NS	100	S	LD, Mot	100	S	LD, VB, St
	29	PK15-1019	0	I	NS	100	S	LD, Mot	100	S	LD, VB, St
	30	PK15-1020	22	R	Chl	100	S	LD, Mot	67	MS	LD, VB, Mo
	31	PK15-1023	13	R	Chl	100	S	LD, Mot	80	S	LD, VB, St
	32	PK15-1025	0	I	NS	100	S	LD, Mot	89	S	LD, VB, St
	33	PK15-1027	0	I	NS	100	S	LD, Mot	63	MS	LD, VB
	34	PK15-1030	0	I	NS	100	S	LD, Mot	100	S	LD, VB, St
Angled loofah (<i>L. acutangula</i>)	35	RG14-9077	0	I	NS	33	MR	Mo	0	I	NS
	36	RG14-9078	10	R	Chl	20	R	LY	0	I	NS
	37	RG14-9079	0	I	NS	50	MR	Mo	0	I	NS
	38	RG14-9080	0	I	NS	40	MR	Mo	0	I	NS
	39	RG14-9081	0	I	NS	60	MS	Mo,VB	0	I	NS
	40	RG14-9083	0	I	NS	40	MR	Mo	0	I	NS
	41	RG14-9084	0	I	NS	0	I	NS	0	I	NS
	42	RG14-9085	25	R	Chl	60	MS	Mo, VB	0	I	NS
	43	RG14-9086	0	I	NS	70	MS	Mo,VB	0	I	NS
	44	RG14-9087	0	I	NS	40	MR	LY	0	I	NS
	45	RG14-9088	0	I	NS	0	I	NS	0	I	NS
	46	RG14-9089	10	R	Chl	22	R	LY	0	I	NS

Table 2 Continue

Type of plant	No. Accessions	CMV-NK10			PRSV-Cu014			ZYMV-Cu012			
		Percent infection	Disease reaction	Symptom ^{1/}	Percent infection	Disease reaction	Symptom	Percent infection	Disease reaction	Symptom	
	47	RG14-9090	0	I	NS	0	I	NS	0	I	NS
	48	RG14-9091	0	I	NS	0	I	NS	0	I	NS
	49	RG14-9092	0	I	NS	33	MR	LY	0	I	NS
	50	RG14-9093	0	I	NS	50	MR	LY	0	I	NS
	51	RG14-9094	0	I	NS	20	R	LY	0	I	NS
	52	RG14-9095	0	I	NS	30	MR	Mo	0	I	NS
	53	RG14-9096	10	R	Chl	10	R	LY	0	I	NS
	54	RG14-9097	0	I	NS	70	MS	Mo, VB	0	I	NS
Angled loofah (<i>L. acutangula</i>)	55	RG14-9098	0	I	NS	50	MR	Mo	0	I	NS
	56	RG14-9099	0	I	NS	60	MS	Mo	0	I	NS
	57	RG14-9100	0	I	NS	60	MS	Mo	0	I	NS
	58	RG14-9102	0	I	NS	56	MS	Mo, VB	0	I	NS
	59	RG14-9104	0	I	NS	20	R	LY	0	I	NS
	60	RG14-9108	0	I	NS	78	S	LD, Mot	0	I	NS
	61	RG14-9110	0	I	NS	60	MS	Mo, VB	0	I	NS
	62	RG14-9116	60	MS	LY,Mo	70	MS	Mo, VB	0	I	NS
	63	RG14-9118	0	I	NS	60	MS	Mo, VB	0	I	NS
	64	RG14-9119	20	R	Chl	11	R	LY	0	I	NS
	65	RG14-9120	0	I	NS	10	R	LY	0	I	NS
	66	RG14-9121	50	MR	LY	0	I	NS	0	I	NS
	67	RG14-9122	33	MR	Chl	22	R	LY	0	I	NS
	68	RG14-9123	0	I	NS	0	I	NS	0	I	NS
	69	RG14-9124	0	I	NS	0	I	NS	0	I	NS
	70	RG14-9125	10	R	Chl	0	I	NS	0	I	NS
	71	RG14-9126	0	I	NS	0	I	NS	0	I	NS
	72	RG14-9127	0	I	NS	0	I	NS	0	I	NS
	73	RG14-9128	0	I	NS	0	I	NS	0	I	NS
74	RG14-9129	0	I	NS	13	R	LY	0	I	NS	
75	RG14-9130	0	I	NS	0	I	NS	0	I	NS	
76	RG14-9131	0	I	NS	0	I	NS	10	R	LY	
77	RG14-9132	0	I	NS	0	I	NS	0	I	NS	
78	RG14-9134	10	R	NS	0	I	NS	0	I	NS	
79	RG14-9135	20	R	Chl	0	I	NS	0	I	NS	
80	RG14-2936	0	I	NS	90	S	LD, Mot	0	I	NS	
81	RG14-2937	30	MR	Chl	60	MS	Mo, VB	0	I	NS	
82	RG14-2939	10	R	Chl	70	MS	Mo, VB	0	I	NS	
83	RG14-2940	20	R	Chl	100	S	LD, Mot	0	I	NS	
84	RG15-9141	0	I	NS	70	MS	Mo, VB	0	I	NS	
85	RG15-9142	0	I	NS	100	S	LD, Mot	0	I	NS	
86	RG15-9143	0	I	NS	90	S	LD, Mot	0	I	NS	
87	RG15-9144	0	I	NS	78	S	LD, Mot	0	I	NS	
88	RG15-9145	0	I	NS	80	S	LD, Mot	0	I	NS	
89	RG15-9146	0	I	NS	60	MS	Mo, VB	0	I	NS	
90	RG15-9147	0	I	NS	40	MR	Mo	0	I	NS	
91	RG15-9148	0	I	NS	40	MR	Mo	0	I	NS	
92	RG15-9149	20	R	Chl	70	MS	Mo, VB	0	I	NS	

Table 2 Continue

Type of plant	No. Accessions	CMV-NK10			PRSV-Cu014			ZYMV-Cu012			
		Percent infection	Disease reaction	Symptom ^{1/}	Percent infection	Disease reaction	Symptom	Percent infection	Disease reaction	Symptom	
	93	RG15-9150	30	MR	LY	90	S	LD, Mot	0	I	NS
	94	RG15-9151	0	I	NS	90	S	LD, Mot	0	I	NS
	95	RG15-9163	0	I	NS	70	MS	Mo, VB	0	I	NS
	96	RG15-9164	0	I	NS	100	S	LD, Mot	0	I	NS
	97	4RG15-9165	0	I	NS	10	R	LY	0	I	NS
	98	RG15-9166	0	I	NS	50	MR	Mo	0	I	NS
	99	RG15-9167	0	I	NS	0	I	NS	0	I	NS
	100	RG15-9168	10	R	Chl	100	S	LD, Mot	10	R	LY
	101	RG15-9170	0	I	NS	100	S	LD, Mot	11	R	LY
	102	RG15-9171	10	R	Chl	80	S	LD, Mot	0	I	NS
	103	RG15-9172	10	R	Chl	80	S	LD, Mot	0	I	NS

Watermelon (<i>C. lanatus</i>)	104	WM15-9001	0	I	NS	44	MR	Mo	100	S	LD, VB, St
	105	WM15-9002	0	I	NS	20	R	LY	100	S	LD, VB, St
	106	WM15-9004	0	I	NS	60	MS	Mo, VB	90	S	LD, VB, St
	107	WM15-9005	0	I	NS	50	MR	LY	100	S	LD, VB, St
	108	WM15-9006	0	I	NS	44	MR	LY	100	S	LD, VB, St
	109	WM15-9007	0	I	NS	20	R	LY	100	S	LD, VB, St
	110	WM15-9008	0	I	NS	40	MR	LY	100	S	LD, VB, St
	111	WM15-9009	0	I	NS	20	R	LY	100	S	LD, VB, St
	Watermelon (<i>C. lanatus</i>)	112	WM15-9010	0	I	NS	20	R	LY	100	S
113		WM15-9011	0	I	NS	33	MR	LY	70	MS	LY, VB, Mo
114		WM15-9013	0	I	NS	30	MR	LY	70	MS	LY, VB, Mo
115		WM15-9015	0	I	NS	0	I	NS	100	S	LD, VB, St
116		WM15-9016	0	I	NS	30	MR	Mo	90	S	LD, VB, St
117		WM15-9017	0	I	NS	40	MR	Mo	90	S	LD, VB, St
118		WM15-9018	0	I	NS	56	MS	Mo, VB	100	S	LD, VB, St
119		WM15-9019	0	I	NS	50	MR	Mo	90	S	LD, VB, St
120		WM15-9020	0	I	NS	30	MR	Mo	100	S	LD, VB, St
121		WM15-9021	0	I	NS	20	R	LY	90	S	LD, VB, St
122		WM15-9024	0	I	NS	22	R	LY	100	S	LD, VB, St
123		WM15-9025	0	I	NS	10	R	LY	100	S	LD, VB, St
124		WM15-9027	0	I	NS	22	R	LY	100	S	LD, VB, St
125		WM15-9028	0	I	NS	40	MR	LY	100	S	LD, VB, St
126		WM15-9029	0	I	NS	30	MR	LY	100	S	LD, VB, St
127		WM15-9030	0	I	NS	25	R	LY	100	S	LD, VB, St
128		WM15-9031	0	I	NS	22	R	LY	100	S	LD, VB, St
129		WM15-9032	0	I	NS	33	MR	Mo	90	S	LD, VB, St
130		WM15-9033	0	I	NS	33	MR	Mo	100	S	LD, VB, St
131	WM15-9034	0	I	NS	10	R	LY	80	S	LD, VB, St	
132	WM15-9035	0	I	NS	30	MR	Mo	100	S	LD, VB, St	
133	WM15-9036	0	I	NS	50	MR	Mo	100	S	LD, VB, St	
134	WM15-9037	0	I	NS	33	MR	Mo	100	S	LD, VB, St	
135	WM15-9038	0	I	NS	50	MR	Mo	100	S	LD, VB, St	
136	WM15-9041	0	I	NS	10	R	LY	100	S	LD, VB, St	
137	WM15-9043	0	I	NS	20	R	LY	100	S	LD, VB, St	
138	WM15-9044	0	I	NS	20	R	LY	100	S	LD, VB, St	
139	WM15-9045	0	I	NS	44	MR	LY	100	S	LD, VB, St	

Table 2 Continue

Type of plant	No. Accessions	CMV-NK10			PRSV-Cu014			ZYMV-Cu012		
		Percent infection	Disease reaction	Symptom ^{1/}	Percent infection	Disease reaction	Symptom	Percent infection	Disease reaction	Symptom
140	WM15-9046	0	I	NS	0	I	NS	90	S	LD, VB, St
141	WM15-9047	0	I	NS	10	R	LY	100	S	LD, VB, St
142	WM15-9048	0	I	NS	30	MR	Mo	100	S	LD, VB, St
143	WM15-9049	0	I	NS	20	R	LY	100	S	LD, VB, St
144	WM15-9050	0	I	NS	10	R	LY	100	S	LD, VB, St
145	WM15-9051	0	I	NS	0	I	NS	90	S	LD, VB, St
146	WM15-9052	0	I	NS	44	MR	LY	90	S	LD, VB, St
147	WM15-9053	0	I	NS	70	MS	Mo, VB	100	S	LD, VB, St
148	WM15-9055	0	I	NS	60	MS	Mo, VB	90	S	LD, VB, St
149	WM15-9056	0	I	NS	50	MR	Mo, VB	90	S	LD, VB, St
150	WM15-9057	0	I	NS	40	MR	Mo, VB	100	S	LD, VB, St
151	WM15-9058	0	I	NS	20	R	LY	100	S	LD, VB, St
152	WM15-9059	0	I	NS	0	I	NS	100	S	LD, VB, St
153	WM15-9060	0	I	NS	10	R	LY	100	S	LD, VB, St
154	WM15-9061	0	I	NS	20	R	LY	100	S	LD, VB, St
155	WM15-9062	0	I	NS	30	MR	Mo	90	S	LD, VB, St
156	WM15-9063	0	I	NS	38	MR	Mo	90	S	LD, VB, St
157	WM15-9065	0	I	NS	13	R	LY	89	S	LD, VB, St
158	WM15-9066	0	I	NS	30	R	LY	100	S	LD, VB, St
159	WM15-9067	0	I	NS	20	R	LY	100	S	LD, VB, St
160	WM15-9068	0	I	NS	25	R	LY	90	S	LD, VB, St
161	WM15-9071	0	I	NS	67	MS	Mo, VB	100	S	LD, VB, St
162	WM15-9072	0	I	NS	10	R	LY	100	S	LD, VB, St
163	WM15-9073	0	I	NS	33	MR	Mo	100	S	LD, VB, St
164	WM15-9077	0	I	NS	10	R	LY	100	S	LD, VB, St
165	WM15-9078	0	I	NS	0	I	NS	100	S	LD, VB, St
166	WM15-9079	0	I	NS	25	R	LY	100	S	LD, VB, St
167	WM15-9080	0	I	NS	30	MR	Mo	100	S	LD, VB, St
168	WM15-9081	0	I	NS	10	R	LY	100	S	LD, VB, St
169	WM15-9082	0	I	NS	13	R	LY	90	S	LD, VB, St

^{1/} = Symptom expression in leaves inoculated with CMV-NK10, PRSV-Cu014 or ZYMV-Cu012 four weeks after inoculation: NS = No symptoms, LY = Leaf yellowing, LD: Leaf Distortion, Mo = Mosaic, Mot =Mottle, VB = Vein banding, St = Stunt and Chl = Chlorosis

สรุป

จากการคัดเลือกแหล่งพันธุกรรมพันธุ์พืชวงศ์แตงต้านทานต่อเชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิด จำนวน 169 สายพันธุ์ พบสายพันธุ์พืชที่แสดงความต้านทานต่อเชื้อไวรัสทั้ง 3 ชนิด ในระดับความต้านทาน I คือ บวบเหลี่ยม จำนวน 12 สายพันธุ์ นอกจากนี้พบพืชทอง บวบเหลี่ยมและแตงโม ที่มีความต้านทานในระดับ I ต่อเชื้อ CMV-NK10

จำนวน 18, 50 และ 66 สายพันธุ์ตามลำดับ พบบวบเหลี่ยมและแตงโม ที่มีความต้านทานในระดับ I ต่อเชื้อ PRSV-Cu014 จำนวน 17 และ 5 สายพันธุ์ตามลำดับ ในขณะที่พบบวบเหลี่ยม 66 สายพันธุ์เท่านั้นที่มีความต้านทานในระดับ I ต่อเชื้อ ZYMV-Cu012 โดยที่ไม่พบพืชทองและแตงโมสายพันธุ์ใดที่ต้านทานต่อเชื้อ ZYMV-Cu012 ซึ่งสายพันธุ์ต้านทานที่พบเป็นประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ต้านทาน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากบริษัท โคลเวอร์ซีด ประเทศไทย จำกัด และศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่สนับสนุนอุปกรณ์เครื่องมือในการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- Arikrit, K. 2016. Evaluation of Cucurbit Germplasm for Resistance to *Cucumber mosaic virus*, *Papaya ringspot virus* and *Zucchini yellow mosaic virus*. MS Thesis, Kasetsart University, Bangkok, (in Thai)
- Attathom, S. 2009. Viruses disease of plants. Petchrung, Nontaburi. 157p. (in Thai)
- Brown, R.N., A. Bolanos-Herrera, J.R. Myers and M.M. Jahn. 2003. Inheritance of resistance to four cucurbit viruses in *Cucurbita moschata*. *Euphytica* 129: 253–258.
- Charoensilp, G., P. Attasart, M. Juricek, S. Panyim and S. Kertbundit. 2003. Sequencing and characterization of Thai Papaya Ringspot Virus Isolate Type P (PRSVthP). *Sci. Asia* 29: 89–94.
- Choi, S.K., Y.Y. Ju, H.R. Ryu, J.K. Choi, P. Palukaitis and W.M. Park. 2002. Systemic movement of a movement-deficient strain of Cucumber mosaic virus in zucchini squash is facilitated by a cucurbit-infecting potyvirus. *J. Gen. Virol.* 83: 3173–3178.
- Clark, M.F. and A.N. Adams. 1977. Characteristics of the microplate method of enzyme-linked immunosorbent assay the detection of plant viruses. *J. Gen. Virol.* 34: 475–483.
- Coutts, B.A. and R.A.C. Jones. 2005. Incidence and distribution of viruses infecting cucurbit crops in the Northern Territory and Western Australia. *Aust. J. Agric. Res.* 56: 847–858.
- Crowther, J.R. 2001. The ELISA guidebook. Humana Press, Totowa, New Jersey, USA. 419p.
- Guner, N. 2004. *Papaya ringspot virus watermelon* strain *W* and *Zucchini yellow mosaic virus* resistance in watermelon. Ph.D. Thesis, North Carolina State University, USA.
- Guner, N. and T.C. Wehner. 2008. Overview of potyvirus resistance in watermelon, pp. 445–451. *In* Pitrat M., ed. Proceedings of the IXth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Cucurbitaceae, 21–24 May 2008, INRA, Avignon, France.
- Havey, M.J. 1996. CMV resistance in three sources of cucumber. *Rep. Cucurbit Genet. Coop.* 19: 32–33.
- Janprayoon, M. 1998. Vegetable. Taitad, Bangkok, Thailand. 48p. (in Thai)
- Kittipakorn, K. and W. Srithongchai. 2002. Viruses disease of vegetable crops and oil crops. Available Source: <http://ag-ebook.lib.ku.ac.th/ebooks/2014/20140052/index.html#/2/>, March 12, 2016. (in Thai)

- Leesutthiphonchai, W. 2007. Study on neletotide sequencing of *Coat protein* gene of *Cucumber mosaic virus* isolate KPS10. B.A. Special Problem. Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Noda, C., K. Kittipakorn, P. Inchan, L. Wanapee and N. Deema. 1993. Distribution of cucurbit viruses and reactions of some cucurbit species to certain viruses. pp. 341–347. *In* Proceedings of the 31th Kasetsart University Annual Conference, 3–6 February, 1993, Bangkok, Thailand.
- Thonmo, Y. and P. Thummabenjapone. 2008. Virus diseases in cucurbit seed production fields in Northeast Thailand. KCU Agricultural Science Seminar 2008. Available Source: <http://ag.kku.ac.th/academic/lib/work/pdf/AG51--67.pdf>, October 5, 2015.
- Tobias, I., B. Szabo, K. Salanki, L. Sari, H. Kuhlmann and L. Palkovics. 2008. Seedborne transmission of *Zucchini yellow mosaic virus* and *Cucumber mosaic virus* in Styrian Hulless group of *Cucurbita pepo*. pp. 190–197. *In* Pitrat M, ed. Cucurbitaceae 2008, Proceedings of the IXth EUCARPIA meeting on genetics and breeding of Cucurbitaceae, INRA, Avignon, France, May 21–24, 2008.
- Ullman, D.E., J.J. Cho and T.L. German. 1991. Occurrence and distribution of cucurbit viruses in the Hawaiian Island. *Plant Dis.* 75: 367–370.
- Zellnig, G., M.H. Pöckl, S. Möstl and B. Zechmann. 2014. Two and three dimensional characterization of *Zucchini yellow mosaic virus* induced structural alteration in *Cucurbita pepo* L. plants. *J. Struct. Biol.* 186: 245–252.
- Zitter, T.A., D.L. Hopkins and C.E. Thomas. 1996. Compendium of cucurbit disease. APS Press, USA: 37–40.