การคัดเลือกพันธุ์แตงกวาต้านทานโรคไวรัสใบด่างเขียวแตง

Screening of cucumber varieties resistant to *Cucumber green mottle mosaic virus*

รัชนี ศิริยาน[1], กมล เลิศรัตน์[2], จิรวัฒน์ สนิทชน[2] และเพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล[1*,3]

Ratchanee Siriyan[1], Kamol Lertrat[2], Jirawat Sanitchon[2] and Petcharat Thummabenjapone[1*,3]

บทคัดย่อ: การค้นหาแหล่งพันธุกรรมแตงที่ต้านทานต่อเชื้อไวรัสใบด่างเขียวแตง (*Cucumber green mottle mosaic virus*, CGMMV) ได้ดำเนินการรวบรวมสายพันธุ์แตงจากแหล่งต่างๆ จำนวน 139 สายพันธุ์มาประเมินระดับความต้านทานต่อเชื้อ CGMMV ในสภาพเรือนปลูกพืชทดลองตามวิธีการคัดเลือกมาตรฐาน ดังนี้ เพาะเมล็ดแตงในวัสดุเพาะ หลังจากต้นกล้าอายุ 7 วัน จึงปลูกเชื้อ CGMMV ให้แก่ต้นกล้าแตงด้วยวิธีกล โดยทาน้ำคั้นพืชเป็นโรคจากเชื้อ CGMMV ลงบนใบเลี้ยงที่โรยผงคาร์โบรันดัม (600 mesh) บางๆ บนใบเลี้ยงทั้ง 2 ใบ ทดสอบ 10 ต้นต่อสายพันธุ์ เก็บต้นพืชทดสอบไว้ในโรงเรือนที่มีการป้องกันแมลงเพื่อสังเกตอาการของโรค ประเมินระดับการเกิดโรคที่ 14 และ 30 วันหลังปลูกเชื้อ แล้วตรวจยืนยันผลการติดเชื้อ CGMMV ด้วยวิธี ELISA นำค่าระดับการเกิดโรคในพืชแต่ละต้นไปคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรค (disease index, %DI) สำหรับนำไปประบุลักษณะความต้านทานต่อเชื้อ CGMMV ในพืชแต่ละสายพันธุ์ ผลการศึกษาพบว่ามีสายพันธุ์แตงที่มีลักษณะต้านทาน (resistant, R) จำนวน 32 สายพันธุ์ ต้านทานปานกลาง (moderately resistant, MR) จำนวน 80 สายพันธุ์ อ่อนแอปานกลาง (moderately susceptible, MS) จำนวน 15 สายพันธุ์ อ่อนแอ (susceptible, S) จำนวน 8 สายพันธุ์ และอ่อนแอมาก (highly susceptible, HS) จำนวน 4 สายพันธุ์

คำสำคัญ: แตง, ไวรัสใบด่างเขียวแตง, ดัชนีการเกิดโรค, พืชต้านทานไวรัส

[1] สาขาโรคพืชวิทยา ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น
Plant Pathology Division, Department of Plant Science and Agricultural Resources, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen

[2] ศูนย์วิจัยปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น
Plant Breeding Research Center for Sustainable Agriculture, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen

[3] ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์เทคโนโลยี (สบว.) สำนักคณะกรรมการอุดมศึกษา และศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร มหาวิทยาลัยขอนแก่น
Center of Excellence on Agricultural Biotechnology: (AG-BIO/PERDO-CHE), Bangkok, Thailand and Agricultural Biotechnology Research Center for Sustainable Economy, Khon Kaen University

[*] Corresponding author: petsir@kku.ac.th

ABSTRACT: To screen and characterize sources of *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV) resistant varieties of cucumber, the 139 cucumber varieties obtained from several commercial and germplasm collections were evaluated by mechanical inoculation in a greenhouse. The standard CGMMV screening method developed by Siriyan et al.(2006) was used. The crude sap of infected CGMMV cucumber leaves was rubbed on carborundum dusted colyledons of 7 day old cucumber seedlings (10 plants/variety). The seedlings were kept in the insect proved greenhouse for symptom observation. Type of disease symptom was evaluated at 14 and 30 days after inoculation and confirmed the presence of CGMMV by ELISA. The disease rating of each testing plant was further converted to percentage of disease index (% DI) which will be used for determination the CGMMV resistant phenotype. Result showed that 32 of cucumber varieties were resistant (R), 80 varieties were moderately resistant (MR), 15 varieties were moderately susceptible (MS), 8 varieties were susceptible (S), and 4 varieties were highly susceptible (HS).
Keywords: cucumber, CGMMV, disease index, virus resistance

บทนำ

ไวรัสใบด่างเขียวแตง หรือ *Cucumber green mottle mosaic virus* (CGMMV) จัดอยู่ในจีนัส Tobamovirus เป็นเชื้อไวรัสที่ทำให้เกิดความเสียหายแก่ผลผลิตของแตง เชื้อถ่ายทอดโดยวิธีกล เช่น การสัมผัสใบพืชที่เป็นโรคและติดไปกับเมล็ดพันธุ์ ซึ่งการติดไปกับเมล็ดพันธุ์ทำให้เกิดความเสียหายต่อธุรกิจการผลิตเมล็ดพันธุ์แตงต่างๆ ทั้งแตงกวา แตงเทศและแตงโม เชื้อนี้มีรายงานพบในยุโรป อิสราเอล ซาอุดิอาระเบีย อินเดีย ปากีสถาน เกาหลีและญี่ปุ่น (Vervari et al., 2002) อินโดนีเซีย (Daryono et al., 2005) จีน (Liu et al., 2008) และประเทศไทย (ยุทธและคณะ, 2547) เนื่องจากเชื้อนี้ไม่มีแมลงพาหะ ดังนั้นการควบคุมโรคโดยการพ่นสารเคมีกำจัดแมลงพาหะจึงไม่ได้ผล โดยทั่วไปแล้วแนวทางการควบคุมโรคจากเชื้อไวรัสที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดคือ การใช้พันธุ์ต้านทาน (Zitter et al., 1996) แต่ยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับการคัดเลือกและศึกษาแหล่งของความต้านทานต่อเชื้อ CGMMV ในแตงแต่ละสายพันธุ์ รัชนีและคณะ (2549) จึงได้พัฒนาวิธีมาตรฐานในการคัดเลือกพันธุ์แตงต้านทานต่อเชื้อ CGMMV ในระดับเรือนทดลอง สามารถแบ่งระดับการตอบสนองของสายพันธุ์แตงต่อเชื้อ CGMMV ได้ 5 ระดับ คือ ต้านทาน (R) ต้านทานปานกลาง (MR) อ่อนแอปานกลาง (MS) อ่อนแอ (S) และ อ่อนแอมาก (HS) ในงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการรวบรวมพันธุ์แตงจากแหล่งต่างๆ มาประเมินระดับความต้านทานต่อเชื้อไวรัสใบด่างเขียวแตงกวา โดยใช้วิธีมาตรฐานของการคัดเลือกพันธุ์แตงต้านทานต่อเชื้อ CGMMV ที่ได้พัฒนาขึ้นมา เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่เป็นหล่งพันธุกรรมของลักษณะความต้านทานโรค สำหรับนำไปใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์แตงให้ต้านทานต่อเชื้อ CGMMV ซึ่งเป็นแนวทางที่ดีที่สุดสำหรับการจัดการโรคไวรัสนี้

วิธีการศึกษา

การรวบรวมสายพันธุ์แตง

รวบรวมเมล็ดพันธุ์แตง (*Cucumis sativus*) จากแหล่งต่างๆ ทั้งจากร้านค้า และได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทผลิตเมล็ดพันธุ์ที่มีโครงการปรับปรุงสายพันธุ์แตงกวา แตงร้าน และประชากรแตงกวาและแตงท่อนจากโครงการปรับปรุงพันธุ์แตงของศูนย์วิจัยปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และได้รับจากแหล่งรวบรวมพันธุกรรมแตงจากต่างประเทศ โดยผ่านการประสานงานของศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ รวมทั้งสิ้น 139 สายพันธุ์ ซึ่งแบ่งออกเป็นกลุ่มย่อยตามขนาดของผลและลักษณะการบริโภค ได้แก่ แตงกวา (แตงผลสั้น) 73 สายพันธุ์ แตงท่อน (แตงผลยาวปานกลาง) 35 สายพันธุ์ และแตงร้าน (แตงผลยาว) 31 สายพันธุ์

การประเมินลักษณะความต้านทานโรคของสายพันธุ์แตง

ดำเนินการประเมินระดับความต้านทานของสายพันธุ์แตง 139 สายพันธุ์ต่อเชื้อ CGMMV ตามวิธีการมาตรฐานของรัชนีและคณะ (2549) ดังนี้ เพาะเมล็ดในถาดเพาะกล้าโดยใช้วัสดุปลูก peat moss (KLASMAN®) สายพันธุ์ละ 10 ต้น เมื่อต้นกล้าอายุ 7 วัน ปลูกเชื้อ CGMMV #9 โดยการทาน้ำคั้นพืชเป็นโรคลงบนส่วนใบเลี้ยง เตรียมน้ำคั้นใบพืชเป็นโรคโดยบดใบแตงที่มีเชื้อ CGMMV ให้ละเอียดใน 0.1 M phosphate buffer, pH 7.2 ที่แช่เย็น อัตราส่วนใบพืชต่อบัฟเฟอร์ 1:10 (w/v) แล้วใช้ก้านสำลีจุ่มน้ำคั้นพืชทาบนใบเลี้ยงแตงที่โรยผงคาร์โบรันดัม (600 mesh) ไว้บางๆ หลังจากนั้นล้างใบพืชด้วยน้ำเปล่า เพื่อกำจัดผงคาร์โบรันดัมส่วนเกินออก เก็บต้นพืชไว้ในโรงเรือนกันแมลง สังเกตอาการของโรคหลังปลูกเชื้อที่ 14 วันและ 30 วัน โดยประเมินระดับการเกิดโรคด้วยสายตาซึ่งกำหนดระดับการเกิดโรค (disease rating scale) เป็น 5 ระดับ (1 ไม่แสดงอาการโรค, 2 อาการเส้นใบใส , 3 อาการเริ่มมีใบด่างเขียวแบบไม่ชัดเจน (mottle), 4 อาการใบด่างเขียวชัดเจนบริเวณรอบเส้นใบ ใบหงิกย่น หรือ ใบขนาดเล็กลง และ 5 อาการโรคชัดเจน ใบด่างเขียวเข้มหรืออาจมีจุดเนื้อเยื่อตาย นำตัวอย่างใบที่ประเมินระดับการเกิดโรคมาตรวจสอบยืนยันผลการติดเชื้อด้วยเทคนิค ELISA คำนวณค่าดัชนีการเกิดโรค (disease index, % DI) เพื่อใช้ระบุระดับความต้านทานของแต่ละสายพันธุ์ โดยมี 5 ระดับคือ ต้านทาน (resistant, R, = 20 %DI), ต้านทานปานกลาง (moderately resistant, MR, = 21 - 40%DI), อ่อนแอปานกลาง (moderately susceptible, MS, = 41 - 60% DI), อ่อนแอ (Susceptible, S, = 61 -80%DI) และอ่อนแอมาก (Highly susceptible, HS, = 81 - 100%DI)

ผลการศึกษา

ผลการประเมินลักษณะความต้านทานต่อเชื้อ CGMMV ตามวิธีมาตรฐานในการคัดเลือกพันธุ์แตงต้านทาน พบว่า แตงทั้ง 139 สายพันธุ์ มีการตอบสนองของต่อเชื้อ CGMMV แตกต่างกัน แบ่งเป็นกลุ่มสายพันธุ์ที่มีลักษณะต้านทาน (R) จำนวน 32 สายพันธุ์, กลุ่มต้านทานปานกลาง (MR) จำนวน 80 สายพันธุ์, กลุ่มอ่อนแอปานกลาง (MS) จำนวน 15 สายพันธุ์, กลุ่มอ่อนแอ (S) จำนวน 8 สายพันธุ์ และกลุ่มอ่อนแอมาก (HS) จำนวน 4 สายพันธุ์ (**Table 1,2,3,4**) ในกลุ่มต้านทานต่อเชื้อ CGMMV (กลุ่ม R) 32 สายพันธุ์ เมื่อวิเคราะห์ตามประเภทขนาดของผล พบว่า ครอบคลุมทั้งกลุ่มแตงกวาผลสั้น แตงท่อน และแตงร้าน สีผลมีทั้งสีเขียวอ่อนและสีเขียวเข้ม และเป็นกลุ่มสายพันธุ์แตงที่ได้จากแหล่งพันธุกรรมในประเทศไทย (**Table 2**) ในขณะที่สายพันธุ์ที่อยู่ในกลุ่มอ่อนแอปานกลางถึงอ่อนแอมากมีจำนวน 12 สายพันธุ์ เป็นแตงจีนผลยาวทั้งสิ้น (**Table 4**) เมื่อพิจารณาในแง่ของความนิ่งของสายพันธุ์แล้วสายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการนำไปพัฒนาเป็นสายพันธุ์แท้ที่ต้านทาน ต่อเชื้อ CGMMV ได้รวดเร็ว ได้แก่ สายพันธุ์ No. 1 (**Figure 1A**) เป็นแตงกวาผลสั้นและเป็นพันธุ์ OP มีจำหน่ายทางการค้าแล้ว และที่เป็น F1 hybrid เป็นกลุ่มแตงผลยาวหรือแตงร้าน ได้แก่ No.30, 32 และ 33 โดยแตงร้าน สายพันธุ์ No. 30 (**Figure 1B**) เป็นแตงร้านลูกผสม มีลักษณะผลยาวและต้นแข็งแรงสำหรับเป็นทางเลือกในการใช้ปรับปรุงพันธุ์แตงกวาผลยาว นอกจากนี้ในกลุ่มต้านทานยังมีประชากรแตงกวาและแตงท่อนที่อยู่ในโครงการปรับปรุงพันธุ์แตงของศูนย์วิจัยปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน โดยประชากรแตงกวา ได้แก่ No. 54, 59, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 75, 76, 77 และ 78 และประชากรแตงท่อน ได้แก่ No. 83, 85, 87, 93, 96, 97, 99, 101, 105 และ 107 กลุ่มแตงท่อนอีก 2 สายพันธุ์ ได้แก่ No. 34 และ 48 คือ ประชากรแตงที่เกิดจากการผสมตัวเองของแตงที่นำมาใช้ในโครงการคัดเลือกพันธุ์แตงต้านทานต่อโรคไวรัสใบด่างเขียวแตงกวา ดำเนินการที่สาขาวิชาโรคพืชวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และอีก 3 สายพันธุ์ที่อยู่ในกลุ่มต้านทาน คือ No. 17 เป็นประชากรแตงกวาของบริษัท ส่วนสายพันธุ์ No. 133

และ 136 เป็นแตงกวาที่อยู่ในแหล่งพันธุกรรมของอเมริกา (**Table 1**)

ในกลุ่มสายพันธุ์ที่มีความอ่อนแอมากพบว่าเป็นกลุ่มสายพันธุ์ที่มีผลยาวทั้งหมด และเป็นสายพันธุ์จากต่างประเทศ ได้แก่ สายพันธุ์ No. 116 (**Figure 1C**), 118 และ 119 เป็นสายพันธุ์ที่เป็นแหล่งพันธุกรรมขอลักษณะที่อ่อนแอต่อเชื้อ CGMMV มากเมื่อประเมินจากค่า % DI ส่วนสายพันธุ์ No.18 เป็นแตงกวาต่างประเทศแล้วนำมาผสมตัวเองรุ่น S1 ในโครงการคัดเลือกพันธุ์แตงของสาขาวิชาโรคพืชวิทยา มหาวิทยาลัยขอนแก่น (**Table 3**)

ผลการวิจัยนี้ได้ชี้ให้เห็นว่าแหล่งของความต้านทานต่อเชื้อ CGMMV (กลุ่ม R และ MR) มีอยู่ในแหล่งพันธุกรรมแตงของประเทศไทยมากกว่าแหล่งพันธุกรรมแตงจากต่างประเทศ ซึ่งเป็นโอกาสดีสำหรับการนำมาใช้ในขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์แตงในประเทศให้ต้านทานต่อเชื้อ CGMMV และการนำไปพิจารณาปรับปรุงสายพันธุ์แตงจากต่างประเทศที่เดิมอ่อนแอต่อโรคแต่มีลักษณะดีเหมาะสมกับการบริโภคให้มีความต้านทานต่อโรคเพิ่มขึ้น นอกเหนือจากกลุ่มที่ประเมินระดับ R แล้ว ในสายพันธุ์ที่จัดเป็นระดับ MR ก็ยังอยู่ในข่ายที่น่าสนใจสำหรับนำมาสกัดเอาลักษณะที่ดีทางเขตกรรมอื่นๆ ร่วมกับลักษณะทางต้านทานต่อเชื้อ CGMMV หรือประเมินความต้านทานต่อโรคอื่นๆ ต่อไป

Table 1 Responses of cucumber varieties to *Cucumber green mottle virus* infection after evaluation by standard CGMMV resistance screening method.

Cucumber Phenotype	% Disease index (DI)	Number of cucumber variety
Resistant (R)	20	32
Moderately resistant (MR)	21-40	80
Moderately susceptible (MS)	41-60	15
Susceptible (S)	61-80	8
Highly susceptible (HS)	81-100	4
Total		139

Table 2 List of cucumber varieties showing CGMMV resistant (R) phenotype.

Number	Code	Fruit type	Type/source	DI (%)	Phenotype
1	No. 1	short	OP/market	20	R
2	No. 17	short	Population company	20	R
3	No.30	long	Hybrid/market	20	R
4	No.32	long	Hybrid/market	20	R
5	No.33	long	Hybrid/market	20	R
6	No.34	medium	Population PP	20	R
7	No.48	medium	Population PP	20	R
8	No.54	short	Population KKU	20	R
9	No.59	short	Population KKU	20	R
10	No.67	short	Population KKU	20	R

Table 2 List of cucumber varieties showing CGMMV resistant (R) phenotype (continued).

Number	Code	Fruit type	Type/source	DI (%)	Phenotype
11	No.68	short	Population KKU	20	R
12	No.69	short	Population KKU	20	R
13	No.70	short	Population KKU	20	R
14	No.71	short	Population KKU	20	R
15	No.72	short	Population KKU	20	R
16	No.73	short	Population KKU	20	R
17	No.75	short	Population KKU	20	R
18	No.76	short	Population KKU	20	R
19	No.77	short	Population KKU	20	R
20	No.78	short	Population KKU	20	R
21	No.83	medium	Population KKU	20	R
22	No.85	medium	Population KKU	20	R
23	No.87	medium	Population KKU	20	R
24	No.93	medium	Population KKU	20	R
25	No.96	medium	Population KKU	20	R
26	No.97	medium	Population KKU	20	R
27	No.99	medium	Population KKU	20	R
28	No.101	medium	Population KKU	20	R
29	No.105	medium	Population KKU	20	R
30	No.107	medium	Population KKU	20	R
31	No.133	short	Germplasm USA	20	R
32	No.136	short	Germplasm USA	20	R

Table 3 List of cucumber varieties showing CGMMV moderately resistant (MR) phenotype.

No.	Code	Fruit type	Type/source	DI (%)	Phenotype
1	No. 2	short	Hybrid/market	38	MR
2	No. 3	medium	Hybrid/market	36	MR
3	No. 5	medium	OP/market	28	MR
4	No. 6	short	Hybrid/market	30	MR
5	No. 7	short	Hybrid/market	36	MR
6	No. 8	short	Hybrid/market	24	MR
7	No. 9	medium	Hybrid/market	24	MR
8	No. 11	short	Population KKU	24	MR
9	No. 12	short	Population company	40	MR
10	No. 14	short	Population company	32	MR
11	No. 15	short	Population company	34	MR
12	No. 16	short	Population company	36	MR
13	No. 19	short	Hybrid/market	28	MR

Table 3 List of cucumber varieties showing CGMMV moderately resistant (MR) phenotype (continued).

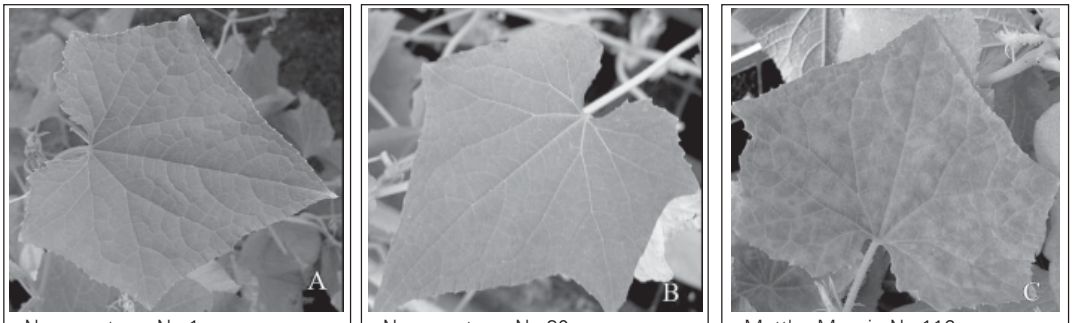
No.	Code	Fruit type	Type/source	DI (%)	Phenotype
14	No. 20	short	Hybrid/market	32	MR
15	No. 21	short	Hybrid/market	26	MR
16	No. 22	short	Hybrid/market	26	MR
17	No. 23	short	Hybrid/market	28	MR
18	No. 24	short	Hybrid/market	30	MR
19	No. 26	short	Hybrid/market	32	MR
20	No. 27	long	Hybrid/market	30	MR
21	No.28	long	OP/market	30	MR
22	No.29	long	Hybrid/market	22	MR
23	No.31	long	OP/market	24	MR
24	No.35	short	Population PP	28	MR
25	No.36	short	Population PP	22	MR
26	No.37	short	Population PP	30	MR
27	No.38	long	Population PP	22	MR
28	No.39	long	Population PP	28	MR
29	No.42	short	Population PP	24	MR
30	No.45	medium	Population PP	32	MR
31	No.47	long	Population PP	32	MR
32	No.49	short	Population PP	32	MR
33	No.50	short	Population PP	30	MR
34	No.51	short	Population KKU	22	MR
35	No.52	short	Population KKU	24	MR
36	No.53	short	Population KKU	30	MR
37	No.55	short	Population KKU	24	MR
38	No.56	short	Population KKU	26	MR
39	No.57	short	Population KKU	22	MR
40	No.58	short	Population KKU	32	MR
41	No.60	short	Population KKU	28	MR
42	No.61	short	Population KKU	34	MR
43	No.63	short	Population KKU	28	MR
44	No.64	short	Population KKU	26	MR
45	No.65	short	Population KKU	22	MR
46	No.66	short	Population KKU	24	MR
47	No.74	short	Population KKU	28	MR

Table 3 List of cucumber varieties showing CGMMV moderately resistant (MR) phenotype (continued).

No.	Code	Fruit type	Type/source	DI (%)	Phenotype
48	No.79	short	Population KKU	30	MR
49	No.80	medium	Population KKU	22	MR
50	No.81	medium	Population KKU	24	MR
51	No.82	medium	Population KKU	26	MR
52	No.84	medium	Population KKU	22	MR
53	No.86	medium	Population KKU	24	MR
54	No.88	medium	Population KKU	30	MR
55	No.89	medium	Population KKU	28	MR
56	No.90	medium	Population KKU	32	MR
57	No.91	medium	Population KKU	30	MR
58	No.92	medium	Population KKU	22	MR
59	No.94	medium	Population KKU	26	MR
60	No.98	medium	Population KKU	22	MR
61	No.100	medium	Population KKU	24	MR
62	No.102	medium	Population KKU	24	MR
63	No.103	medium	Population KKU	22	MR
64	No.104	medium	Population KKU	24	MR
65	No.106	medium	Population KKU	30	MR
66	No.108	medium	Population KKU	34	MR
67	No.109	long	Germplasm KKU	22	MR
68	No.110	long	Germplasm KKU	22	MR
69	No.113	short	Germplasm KKU	34	MR
70	No.115	long	Chinese cucumber	32	MR
71	No.123	long	Chinese cucumber	36	MR
72	No.128	short	Germplasm USA	30	MR
73	No.130	short	Germplasm USA	34	MR
74	No.131	short	Germplasm USA	38	MR
75	No.132	short	Germplasm USA	40	MR
76	No.134	short	Germplasm USA	34	MR
77	No.135	short	Germplasm USA	40	MR
78	No.137	short	Germplasm USA	30	MR
79	No.138	short	Germplasm USA	28	MR
80	No.139	long	Population PP	40	MR

Table 4 List of cucumber varieties showing CGMMV susceptible phenotype (MS, S and HS).

No.	Code	Fruit type	Type/sources	DI (%)	Phenotype
Moderately susceptible (MS)					
1	No. 4	short	Hybrid/market	46	MS
2	No. 10	short	Hybrid/market	46	MS
3	No. 13	short	Population company	42	MS
4	No. 25	short	Hybrid/market	46	MS
5	No.40	short	Population	44	MS
6	No.41	long	Population	52	MS
7	No.43	short	Population	46	MS
8	No.44	long	Population	52	MS
9	No.46	medium	Population	58	MS
10	No.62	short	Population KKU	44	MS
11	No.95	medium	Population KKU	50	MS
12	No.111	short	Germplasm KKU	56	MS
13	No.112	long	Germplasm KKU	44	MS
14	No.124	long	Chinese cucumber	50	MS
15	No.129	short	Germplasm USA	44	MS
Susceptible(S)					
1	No.114	long	Chinese cucumber	74	S
2	No.117	long	Chinese cucumber	80	S
3	No.120	long	Chinese cucumber	66	S
4	No.121	long	Chinese cucumber	66	S
5	No.122	long	Chinese cucumber	78	S
6	No.125	long	Germplasm KKU	66	S
7	No.126	long	Chinese cucumber	74	S
8	No.127	long	Chinese cucumber	62	S
Highly susceptible(HS)					
1	No. 18	long	Population PP	84	HS
2	No.116	long	Chinese cucumber	88	HS
3	No.118	long	Chinese cucumber	86	HS
4	No.119	long	Chinese cucumber	84	HS



No symptom, No.1 | No symptom, No.30 | Mottle, Mosaic No.116

Figure 1 Recommended cucumber varieties for further study in breeding for CGMMV resistance: A = Resistant variety No.1, B = Resistant variety No.30 and C = Highly susceptible variety No.116.

สรุปและวิจารณ์

การศึกษาครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นว่า วิธีมาตรฐานที่รายงานไว้โดย รัชนีและคณะ (2549) สามารถใช้ในการประเมินความต้านทานของแตงต่อเชื้อ CGMMV ได้ดีแม้แต่ในช่วงที่มีอากาศเย็น เพียงแต่ยืดเวลาการประเมินผลจาก 14 วันเป็น 30 วันหลังจากปลูกเชื้อ แตงทั้ง 139 สายพันธุ์มีการตอบสนองต่อเชื้อได้แตกต่างกันตั้งแต่ระดับต้านทานจนถึงอ่อนแอมากอย่างชัดเจน ทำให้พบแหล่งพันธุกรรมแตงกวาที่มีลักษณะต้านทานต่อเชื้อ CGMMV จำนวน 32 สายพันธุ์ ที่สามารถนำมาพัฒนาใช้ให้เกิดประโยชน์สำหรับการปรับปรุงแตงกวาสายพันธุ์ดีที่ต้านทานต่อเชื้อ CGMMV ต่อไปได้ โดยผ่านขั้นตอนการนำ germplasm เหล่านี้มาพัฒนาเป็นสายพันธุ์แท้ (inbred line) ที่ต้านทานต่อเชื้อ CGMMV

การประเมินสายพันธุ์แตงต้านทาน CGMMV ตามวิธีมาตรฐานที่ดำเนินการประเมินระดับอาการโรคที่ 14 วันหลังปลูกเชื้อ พบว่ายังไม่เหมาะสมถ้าหากทำการประเมินในช่วงที่มีอากาศเย็น ซึ่งในการวิจัยครั้งนี้ได้ดำเนินการในช่วงที่มีสภาพอากาศหนาวเย็น (อุณหภูมิสูงสุดเฉลี่ย 29.2 ํซ และอุณหภูมิต่ำสุดเฉลี่ย 16.6 ํซ) พบว่าหลังปลูกเชื้อ 14 วัน ต้นแตงทุกสายพันธุ์ยังไม่แสดงอาการของโรคที่สามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่า ซึ่งแตกต่างจากสภาพอุณหภูมิในช่วงของการพัฒนาวิธีมาตรฐานที่รายงานไว้คือ อุณหภูมิสูงสุดเฉลี่ย 33 ํซ และอุณหภูมิต่ำสุดเฉลี่ย 25 ํซ (ในสภาพแวดล้อมแบบนี้สามารถประเมินอาการโรคได้ชัดเจนหลังปลูกเชื้อ 14 วัน) ดังนั้นจึงในสภาพอากาศเย็นเมื่อยืดเวลาในการสังเกตอาการของโรคออกไปเป็นประเมินระดับความรุนแรงของอาการโรค และตรวจหาเชื้อ CGMMV โดยเทคนิค ELISA หลังปลูกเชื้อ 30 วัน พบว่ามีความเหมาะสมมากกว่าและมีความใกล้เคียงกับวิธีมาตรฐานที่กำหนดไว้ โดยสายพันธุ์ที่มีลักษณะต้านทานก็ไม่แสดงอาการของโรค ในขณะที่สายพันธุ์อ่อนแอแสดงอาการของโรคอย่างชัดเจน เหตุการณ์นี้บ่งชี้ได้ว่าการเกิดโรคจากเชื้อ CGMMV ในแตงกวาได้รับผลกระทบจากอุณหภูมิด้วย โดยอุณหภูมิมีผลต่อการแสดงอาการของโรค สอดคล้องกับรายงานของ Moreno et al. (2004) ที่แสดงให้เห็นถึงผลกระทบของอุณหภูมิต่อการเข้าไปอาศัยอยู่ของ CGMMV ภายในต้นแตงภายหลังปลูกเชื้อ 0-7 วัน ที่อุณหภูมิ 24 ํซ และ 29 ํซ ตรวจสอบปริมาณของ coat protein (CP) โดยวิธี Western immunoblot พบว่าที่ 24 ํซ ตรวจพบ CP ภายหลังการปลูกเชื้อ 6-7 วัน ขณะที่ตรวจพบการสะสมของ CP ได้ตั้งแต่ 3 วันภายหลังการปลูกเชื้อที่ 29 ํซ และเพิ่มปริมาณมากขึ้นเรื่อยๆ จนถึงวันที่ 7 การเพิ่มปริมาณของไวรัสในใบเลี้ยงที่ปลูกเชื้อในสภาพการดูแลที่อุณหภูมิ 29 ํซ มีประสิทธิภาพมากกว่าที่สภาพ 24 ํซ และแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิมีผลกระทบต่อการเพิ่มปริมาณของเชื้อ CGMMV และการเคลื่อนย้ายของเชื้อภายในเซลล์พืช นอกจากนี้ในด้านการเจริญเติบโตของแตงกวาก็มีส่วนที่ได้รับผลกระทบจากอุณหภูมิด้วยเช่นกัน โดยที่อุณหภูมิต่ำต้นแตงกวามีการเจริญพัฒนาได้ช้ากว่าที่อุณหภูมิสูงขึ้น ดังนั้นในการประเมินความต้านทานต่อเชื้อ CGMMV ของแตงกวาถ้าต้องการดำเนินการในช่วงที่อากาศเย็นจึงต้องใช้เวลานานขึ้นกว่าที่ใช้ตามวิธีมาตรฐานอีก 2 สัปดาห์

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยขอนแก่นที่สนับสนุนทุนอุดหนุนทั่วไป และศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ และศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ร่วมสนับสนุนทุนวิจัย เครื่องมือ อุปกรณ์ที่จำเป็นในการวิจัยและค่าใช้จ่ายในการนำเสนอผลงาน

เอกสารอ้างอิง

ยุทธ ทนโม๊ะ เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล และพิศาล ศิริธร. 2547. การอุบัติของเชื้อไวรัสที่มีความสัมพันธ์ทางเซรุ่มวิทยากับเชื้อ cucumber green mottle mosaic virus ในแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์แตงและวิธีการผลิตแอนติซีรั่มที่จำเพาะต่อเชื้อ. น. 227-236. ใน: การประชุมทางวิชาการประจำปี พ.ศ. 2547 ของ สมาคมเทคโนโลยีเทคชีวภาพแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 16 "นวัตกรรมเทคโนโลยีชีวภาพ: หนึ่งทางเลือกเพื่อยกระดับสู่ครัวของโลก" วันที่ 12-15 ธันวาคม พ.ศ. 2547 ณ โรงแรมท็อปแลนด์ จังหวัดพิษณุโลก.

รัชนี ศิริยาน, เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล, กมล เลิศรัตน์ และพิศาล ศิริธร. 2549. วิธีมาตรฐานในการคัดเลือกพันธุ์แตงกวาต้านทานต่อเชื้อ Cucumber Green Mottle Mosaic Virus. ว.วิทย์.กษ. 37(พิเศษ): 211-214.

Daryono, B. S., S. Somowiyarjo, and K. T. Natsuaki. 2005. Biological and molecular characrterization of melon-infecting *Kyuri green mottle mosaic virus* in Indonesia. Phytopathology 153: 588-595.

Liu, Y, Y. Wang, X. Wang, and G. Zhou. 2008. Molecular characterization and distribution of *Cucumber green mottle mosaic virus* in China. Phytopathology 157: 393-399.

Moreno, I. M., J.R. Thompson, and F. Garcia-Arenal. 2004. Analysis of the systemic colonization of cucumber plants by *Cucumber green mottle mosaic virus*. J. Gen. Virol. 85: 749-759.

Varveri, C., N. Vassilokos, and F. Bem. 2002. Characterization and detection of *Cucumber Green Mottle Mosaic Virus* in Greece. Phytoparasitica 30: 493-501.

Zitter, T. A., D. L. Hopkins, and C.E. Thomas. 1996. Compendium of Cucurbit Diseases. APS Press, USA.