มะละกอพันธุ์ใหม่ต้านทานไวรัสใบด่างจุดวงแหวนมะละกอ

New Papaya Cultivars for *Papaya Ringspot Virus* Resistance

นุชนาถ วารินทร์[1] ศรีเมฆ ชาวโพงพาง[1] อัญจนา บุญชด[1] กนกวรรณ รมยานนท์[1] ราตรี รอดอารีย์[1] วิชัย โฆสิตรัตน[2] และ สุพัฒน์ อรรถธรรม[2]

Nuchnard Warin[1], Srimek Chowpongpang[1], Anjana Bhunchoth[1], Kanokwan Romyanon[1], Ratree Rodaree[1], Wichai Kositratana[2]and Supat Attathom[2]

บทคัดย่อ

มะละกอพันธุ์ KN 1.2.3, KN 13.2.3 และ KN 49 เป็นมะละกอพันธุ์แขกนวลที่ได้รับการถ่ายยีนโปรตีนห่อหุ้มอนุภาค (CP) ของไวรัสใบด่างจุดวงแหวน (PRSV) สายพันธุ์เชียงใหม่ มีความสามารถในการต้านทานไวรัส PRSV สายพันธุ์เชียงใหม่ได้ดี และมีแนวโน้มในการต้านทานไวรัส PRSV จากจังหวัดนครปฐม ราชบุรี สุราษฎร์-ธานี สกลนคร และยโสธร ซึ่งเป็นไวรัสตัวแทนสายพันธุ์ไวรัส PRSV ในแต่ละภาคของประเทศไทย ยกเว้นพันธุ์ KN 1.2.3 ซึ่งมีแนวโน้มที่จะอ่อนแอต่อไวรัส PRSV จากจังหวัดยโสธร มะละกอพันธุ์ดังกล่าวสามารถเจริญเติบโตให้ดอก ผล และ เมล็ด เช่นเดียวกับมะละกอพันธุ์แขกนวลที่ไม่ได้ถ่ายยีน ภายใต้สภาพโรงเรือน มะละกอพันธุ์ KN 1.2.3 และ KN 13.2.3 เป็นมะละกอต้นสมบูรณ์เพศ ผลมะละกอที่ได้มีน้ำหนักเฉลี่ย 1.37 และ 1.39 กก. ความยาวของผลเฉลี่ย 27.57 และ 28.23 ซม. ตามลำดับ เนื้อหนามีสีแดง ให้เมล็ดตามปกติ มะละกอสุกมีปริมาณน้ำตาล (% mass sucrose) เฉลี่ย 10.58 และ 12.89 brix ตามลำดับ ส่วนพันธุ์ KN 49 เป็นมะละกอเพศเมีย ผลมีลักษณะค่อนข้างกลม น้ำหนักเฉลี่ย 1.18 กก. ผลยาวประมาณ 27.17 ซม. ผลสุกมีปริมาณน้ำตาลสูงถึง 15 brix ลักษณะของผลแตกต่างไปจากต้นที่ไม่ได้ถ่ายยีนเล็กน้อย โดยส่วนของผลมีผิวหยาบ เนื้อค่อนข้างนิ่ม ไม่พบอาการของโรคใบด่างจุดวงแหวนที่ผลของมะละกอทั้ง 3 พันธุ์ การที่มะละกอพันธุ์ KN 1.2.3, KN 13.2.3 และ KN 49 มีคุณสมบัติพิเศษคือมีความสามารถในการต้านทานไวรัส PRSV ในประเทศไทยได้ดี เหมาะสำหรับนำมาใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์มะละกอให้ต้านทานไวรัส PRSV นอกจากนี้พันธุ์ KN 1.2.3 และ KN 13.2.3 ยังสามารถนำมาใช้เป็นพันธุ์ทางการค้าต้านทานไวรัส PRSV ได้

ABSTRACT

Thai transgenic papaya lines KN 1.2.3, KN 13.2.3 and KN 49 are derived from Khak Nual cultivar which contained coat protein (CP) transgene from PRSV - Chiang Mai isolate. They showed the potential of viral resistance against *papaya ringspot virus* (PRSV) from Nakhon Pathom (NKP), Ratchaburi (RBR), Suratthani (SRT), Sakhonnakorn (SKN) and Yasothon (YST), except KN 1.2.3 was susceptible to YST isolate. These isolates were obtained from different geographic regions of Thailand. There was no noticeably different morphology of inflorescences, fruits and seeds between transgenic lines KN 1.2.3 and KN 13.2.3 and non-transgenic papaya under screen house conditions. The average weight and length of fruit were 1.37 and 1.39 kg and 27.57 and 28.23 cm of lines KN 1.2.3 and KN 13.2.3, respectively, while fruit color of those were red flesh and contained an average total mass sucrose of 10.58 and 12.89 brix, respectively. Seeds were free of abnormality and viable.

In the case of line KN 49, was female plant which showed slightly round fruits with an average weight of 1.18 kg and average length of 27.17 cm. The green fruits showed slightly rough skin and pale-green streaks, soft texture when rippen, but contained high sucrose content up to 15 brix. These resistant lines may benefit directly to the farmers for restoration of papaya industry and will be used as genetic materials for improvement of PRSV resistance in other cultivars.

---

[1]หน่วยปฏิบัติการพันธุวิศวกรรมด้านพืช ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน นครปฐม 73140

Plant Genetic Engineering Unit, BIOTEC, Kasetsart University, Kamphaengsaen, Nakorn Pathom 73140

[2]ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน นครปฐม 73140

Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Kamphaengsaen, Nakorn Pathom 73140

คำนำ

มะละกอเป็นพืชเศรษฐกิจของไทยที่ใช้บริโภคภายในประเทศในรูปของผลสุก และผลดิบโดยเฉพาะส้มตำ และมีการส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศในรูปของผลสดและผลไม้กระป๋อง ซึ่งทำรายได้สูงให้กับผู้ปลูก แต่อย่างไรก็ตาม มะละกอมีปัญหาเรื่องโรคและแมลงเข้าทำลายมากมาย ศัตรูที่สำคัญของมะละกอ ได้แก่ เชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่า (*Phytophthora palmivora*) โรคแอนแทรคโนส (*Collectotrichum gloeosporioides*) ไรแดง (red spider mite) เพลี้ยไฟ (thrips) และไวรัส โดยเฉพาะไวรัสใบด่างจุดวงแหวน (*papaya ringspot virus*, PRSV) สาเหตุโรคใบด่างจุดวงแหวนมะละกอ เป็นโรคที่ทำความเสียหายให้กับมะละกอเป็นอย่างมาก สามารถเข้าทำลายมะละกอได้ทุกระยะการเจริญเติบโต โรคนี้แพร่ระบาดไปทั่วทุกภาคของประเทศไทย ทำให้ผลผลิตและคุณภาพลดลงอย่างมาก ไม่เป็นที่ต้องการของตลาด เป็นผลให้มูลค่าการส่งออกของมะละกอลดลง (วิชัย และคณะ, 2542; Purcifull and Hiebert, 1972)

โรคใบด่างจุดวงแหวนมะละกอเป็นโรคที่ป้องกันกำจัดได้ยาก ประกอบกับยังไม่มีพันธุ์ต้านทานโรค การผลิตมะละกอพันธุ์ต้านทานไวรัส PRSV ด้วยเทคนิคการตัดต่อยีนเข้าไปในพืชโดยใช้ยีนจากไวรัส เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่สามารถแก้ไขปัญหาของโรคใบด่างจุดวงแหวนได้ Lius และคณะ (1997) และ Yeh และคณะ (1997) ประสบความสำเร็จในการผลิตมะละกอพันธุ์ต้านทานไวรัส PRSV ด้วยการถ่ายยีน PRSV-CP เข้าไปในมะละกอ ทำให้มะละกอต้านทานไวรัส PRSV ในหมู่เกาะฮาวาย และไต้หวัน ตามลำดับ Tennant และคณะ (2001) ได้ทดสอบความต้านทานไวรัสของมะละกอดัดแปรพันธุกรรมพันธุ์ Rainbow และ SunUp พบว่ามะละกอพันธุ์ดังกล่าวมีความสามารถในการต้านทานไวรัส PRSV ในหมู่เกาะฮาวายได้ดี แต่ไม่สามารถต้านทานไวรัส PRSV จากประเทศไทย

จากการทดลองถ่ายยีน PRSV-CP สายพันธุ์เชียงใหม่ให้กับมะละกอพันธุ์แขกนวล และทดสอบความต้านทานไวรัส PRSV พบว่ามะละกอที่ได้รับการถ่ายยีนในรุ่น R_0 line 1.2.3, 13.2.3 และ 49 มีความสามารถในการต้านทานไวรัส PRSV สายพันธุ์เชียงใหม่ได้ดีภายใต้สภาพโรงเรือน จึงให้ชื่อมะละกอ line ดังกล่าวเป็นพันธุ์

KN 1.2.3, KN 13.2.3 และ KN 49 ตามลำดับ ด้วยข้อดีดังกล่าว การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถของมะละกอพันธุ์ KN 1.2.3, KN 13.2.3 และ KN 49 ในการต้านทานไวรัส PRSV สายพันธุ์อื่นในประเทศไทย และศึกษาการเจริญเติบโตของมะละกอพันธุ์ดังกล่าว ภายใต้สภาพโรงเรือนตาข่าย เปรียบเทียบกับมะละกอพันธุ์แขกนวลที่ไม่ได้ถ่ายยีน

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมพลาสมิด p2CMCP, p2311 และ p3311

สังเคราะห์ยีน coat protein (CP) จากไวรัส PRSV สายพันธุ์เชียงใหม่ (PRSV-CMI) ด้วยเทคนิค reverse transcription–PCR (RT-PCR) โดยใช้ไพรเมอร์ CP1 (TCT AGA ATG TCC AAA ACT GAA GCT GTG) และ CP2 (GAG CTC TCA ATT GCG CAT CAA TAG GAG) แล้วโคลนเข้าสู่พลาสมิด pGEM-T (Promega) จากนั้น subclone เข้าสู่พลาสมิด pUC19 ภายใต้การควบคุมของ CaMV 35S และ nos terminator และมี *npt II* (neomycin phosphotransferase II) เป็นยีนคัดเลือก ให้ชื่อพลาสมิดว่า p2CMCP ส่วนพลาสมิด p2311 และ p3311 ได้จากการโคลน CaMV 35S-CP-NOS จากพลาสมิด p2CMCP เข้ากับ binary vector pCAMBIA 2300 และ pCAMBIA 3300 ตามลำดับ ซึ่งมียีนคัดเลือกเป็น *npt II* และ *bar* (phosphinotricin acetyl transferase) ตามลำดับ

การผลิตมะละกอต้านทานโรคใบด่างจุดวงแหวน

ถ่ายยีน PRSV-CP จากพลาสมิดดังกล่าวเข้าสู่ somatic embryo ของมะละกอพันธุ์แขกนวลโดยใช้เครื่องยิงอนุภาค (particle bombardment) ด้วยกระบวนการ particle inflow gun และเพาะเลี้ยง embyogenic callus บนอาหารคัดเลือกสูตร EM (1/2 MS, 0.2 mg/l BA และ 0.02 mg/l NAA) ที่เติม 150 mg/l kanamycin หรือ 5 mg/l phosphinotricin สำหรับ somatic embryo ที่ยิงด้วยพลาสมิด p2311 และ p2CMCP หรือพลาสมิด p3311 ตามลำดับ นำต้นที่เจริญได้บนอาหารคัดเลือกมาตรวจสอบหายีน PRSV-CP ด้วยเทคนิค PCR, dot blot และ Southern blot hybridization และนำต้นมะละกอที่ตรวจพบยีน PRSV-CP มาทดสอบความต้านทานไวรัสในขั้นตอนต่อไป

การตรวจสอบความต้านทานไวรัส PRSV

ทดสอบความต้านทานไวรัส PRSV ซึ่งมีแหล่งที่มาจากจังหวัด เชียงใหม่ นครปฐม ราชบุรี ยโสธร สกลนคร และ สุราษฎร์ธานี ด้วยวิธีการปลูกเชื้อลงบนใบมะละกอต้นที่ทดสอบ โดยนำน้ำคั้นจากมะละกอเป็นโรคใบด่างจุดวงแหวนที่เกิดจากเชื้อไวรัส PRSV ในอัตราส่วนใบมะละกอ 1 กรัม ต่อ phosphate buffer 10 มล. มาทาลงบนใบมะละกอต้นที่ได้จากการถ่ายยีนซึ่งมีใบจริง 5-7 ใบ โดยทาน้ำคั้นลงบนใบมะละกอ 3 ใบบนซึ่งแผ่เต็มที่แล้ว สังเกตอาการของโรคที่เกิดขึ้นหลังการปลูกเชื้อ โดยต้นที่ไม่ต้านทานโรคจะแสดงอาการใบด่างเกิดขึ้นภายในเวลา 2 สัปดาห์หลังการปลูกเชื้อ และต้นที่ต้านทานโรคจะไม่แสดงอาการของโรคปรากฏให้เห็นหลังการปลูกเชื้อจำนวน 3 ครั้ง นำมะละกอต้นที่ต้านทานโรคใบด่างจุดวงแหวนมาปลูกต่อในโรงเรือนตาข่ายเพื่อให้ผลิตดอกผล และเมล็ด

การศึกษาลักษณะผลของมะละกอดัดแปรพันธุกรรม

ศึกษาลักษณะผล และ เก็บเมล็ด ของมะละกอดัดแปรพันธุกรรมต้นที่ต้านทานไวรัส PRSV เปรียบเทียบกับมะละกอพันธุ์แขกนวลที่ไม่ได้ถ่ายยีน ซึ่งปลูกในโรงเรือนตาข่ายที่มีการดูแลเหมือนกับการปลูกมะละกอในแปลงปลูกโดยทั่วไป เก็บข้อมูล ลักษณะผล น้ำหนักและความยาวของผล ลักษณะของเนื้อ การติดเมล็ด และลักษณะอาการของโรคใบด่างจุดวงแหวนที่ปรากฏบนผิวของผลมะละกอ ตลอดระยะเวลาประมาณ 1 ปี นอกจากนี้ยังศึกษาคุณภาพของผลผลิตโดยประเมินจากปริมาณน้ำตาล (% mass sucrose) จากน้ำคั้นของผลมะละกอสุกผลที่สมบูรณ์ด้วยเครื่อง Refractometer วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของน้ำหนัก ความยาวของผล และปริมาณน้ำตาล โดยคำนวณค่าเฉลี่ยจากข้อมูลที่ได้ และนำมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (analysis of variance) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของน้ำหนัก ความยาวของผล และความหวานของมะละกอแต่ละพันธุ์โดยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT)

ผลและวิจารณ์

มะละกอพันธุ์ KN 1.2.3, KN 13.2.3 และ KN 49 เป็นมะละกอดัดแปรพันธุกรรมพันธุ์แขกนวลที่ได้รับการถ่ายยีน PRSV-CP สายพันธุ์เชียงใหม่จาก construct p2311, p3311 และ p2CMCP ตามลำดับ ซึ่งตรวจพบยีน PRSV-CP สอดแทรกอยู่ในโครโมโซมพืช จากการทดสอบความต้านทานไวรัส PRSV พบว่ามะละกอพันธุ์ดังกล่าวมีความสามารถในการต้านทานไวรัส PRSV สายพันธุ์เชียงใหม่ได้ดี และมีแนวโน้มในการต้านทานไวรัส PRSV จากจังหวัดนครปฐม ราชบุรี สุราษฎร์ธานี สกลนคร และยโสธร ได้ดี โดยตรวจไม่พบอาการของโรคหลังการปลูกเชื้อ PRSV 3 ครั้ง ในมะละกอพันธุ์ KN 13.2.3 และ KN 49 ในขณะที่มะละกอที่ไม่ได้ถ่ายยีนแสดงอาการของโรคหลังการปลูกเชื้อ PRSV ภายในเวลา 1-2 สัปดาห์ ส่วนมะละกอพันธุ์ KN 1.2.3 มีแนวโน้มในการต้านทานไวรัส PRSV จากจังหวัดนครปฐม และ ราชบุรี ได้ดี แต่ค่อนข้างอ่อนแอต่อไวรัส PRSV จากจังหวัดยโสธร (Figure 1) ซึ่งจากการศึกษาลำดับเบสในส่วนของยีน CP พบว่าไวรัสจากจังหวัดยโสธรมีลำดับเบสแตกต่างจากไวรัสจากจังหวัดอื่นๆ มากที่สุด (Chowpongpang *et al*., 2002)

เมื่อนำมะละกอดัดแปรพันธุกรรมต้นที่ไม่แสดงอาการของโรคมาปลูกในโรงเรือนตาข่าย พบว่ามะละกอพันธุ์ KN 1.2.3 และ KN 13.2.3 สามารถเจริญเติบโตให้ดอก ผล และเมล็ด ได้เช่นเดียวกับมะละกอพันธุ์แขกนวลที่ไม่ได้ถ่ายยีน พบดอกสมบูรณ์เพศซึ่งให้ผลหลายชนิดในต้นเดียวกันได้แก่ ผลลักษณะยาวรูปทรงกระบอก (cylindrical) ผลค่อนข้างกลมมีร่องบนผลเห็นได้ชัดเจน 5 ร่อง (obovoid) และผลบิดเบี้ยว (cat-faced) ตามลำดับ (Figure 2) ทั้งนี้เนื่องจากการเกิดดอกของมะละกอมีความผันแปรไปตามสภาพแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิ ความชื้น และการให้ปุ๋ย (สิริกุล, 2542) เป็นผลให้ผลมะละกอที่ได้มีน้ำหนักและความยาวของผลแตกต่างกัน ส่วนพันธุ์ KN 49 เป็นมะละกอเพศเมีย ผลมีลักษณะค่อนข้างกลม ให้ผลดกสม่ำเสมอ แต่ผลมีลักษณะแตกต่างไปจากพันธุ์แขกนวล โดยผลมีผิวหยาบ ผลสุกมีเนื้อค่อนข้างนิ่ม (Figure 3)

จากการวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่ามะละกอดัดแปรพันธุกรรมพันธุ์ KN 1.2.3, 13.2.3, 49 และพันธุ์แขกนวลที่ไม่ได้ถ่ายยีน ให้ผลผลิตที่มีน้ำหนัก ความยาวของผล และปริมาณน้ำตาลเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยพบว่าผลของมะละกอพันธุ์ KN 1.2.3, 13.2.3 และ 49 มีน้ำหนักเฉลี่ย 1.37, 1.39 และ1.18 กิโลกรัม ซึ่งมากกว่าพันธุ์แขกนวลที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 1.05 กิโลกรัม โดยพันธุ์

KN 49 มีน้ำหนักเฉลี่ยใกล้เคียงกับพันธุ์แขกนวลมากที่สุด มะละกอพันธุ์ KN 1.2.3, 13.2.3 และ 49 มีความยาวเฉลี่ยของผลน้อยกว่าพันธุ์แขกนวลคือ 27.57, 28.23 และ 27.17 ซม. ตามลำดับ โดยพันธุ์แขกนวลมีความยาวของผลเฉลี่ย 30.33 ซม. ผลสุกของมะละกอพันธุ์ KN 13.2.3 และ 49 มีปริมาณน้ำตาลสูงถึง 12.89 และ 13.20 brix ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าผลบางผลของมะละกอพันธุ์ KN 49 มีความหวานสูงถึง 15 brix ซึ่งสูงกว่าพันธุ์แขกนวลที่มีปริมาณน้ำตาลเฉลี่ย 12.18 brix ส่วนพันธุ์ KN 1.2.3 มีปริมาณน้ำตาลเฉลี่ยค่อนข้างต่ำคือ 10.58 brix (Table 1) ผลของมะละกอพันธุ์ KN 1.2.3, 13.2.3 และ 49 มีเนื้อหนาสีแดง ไม่พบลักษณะอาการจุดวงแหวนที่ผิวของผลมะละกอ พบเมล็ดกับผลมะละกอที่ออกดอกในช่วงเดือนมกราคมถึงกุมภาพันธ์ ซึ่งเป็นช่วงที่อุณหภูมิเหมาะสมสำหรับการผสมเกสร และจะให้ผลสุกในช่วงเดือนพฤษภาคมถึงมิถุนายน (Figure 2)

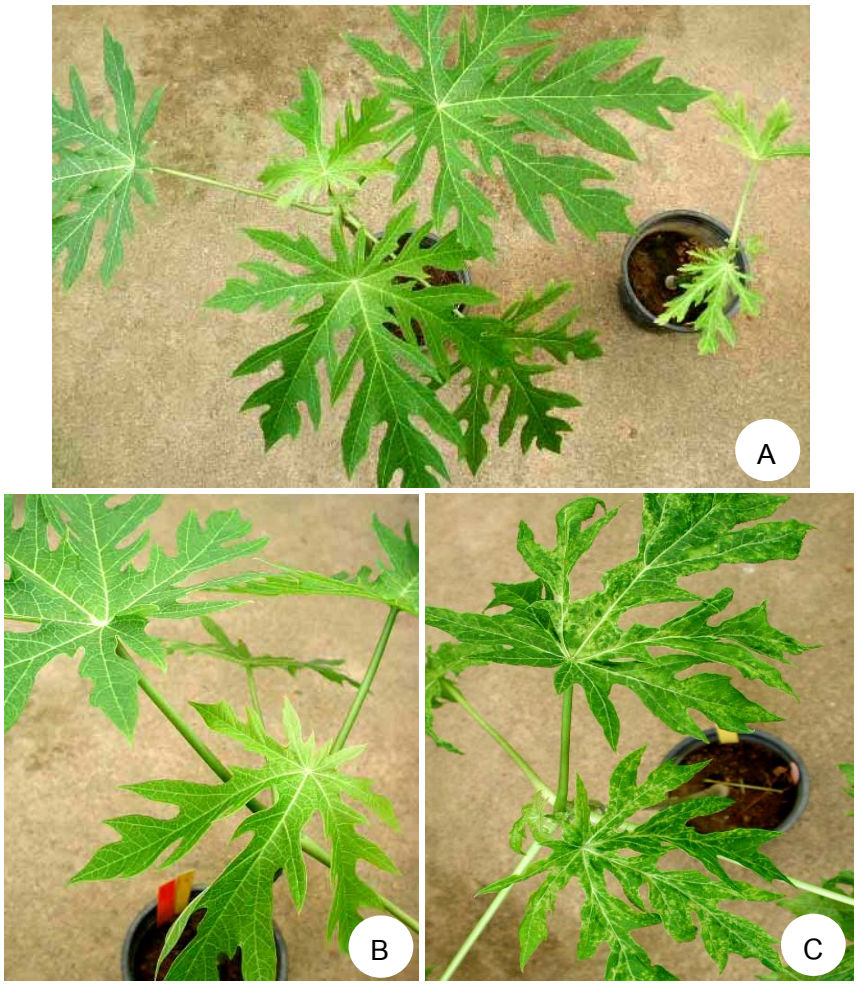

Figure 1 Symptom expression on transgenic papaya and wild type cultivar challenged with PRSV-YST at 3 months after inoculation

A) Transgenic papaya cultivar KN 13.2.3 (left) showed normal healthy plant compared with wild type (right) showed severe distortion of leaf and stunting after PRSV inoculation.

B) Transgenic papaya cultivar KN 49 showed highly resistance (no symptom) to PRSV as same as KN 13.2.3.

C) Transgenic papaya cultivar KN 1.2.3 showed severe symptoms after PRSV inoculation.

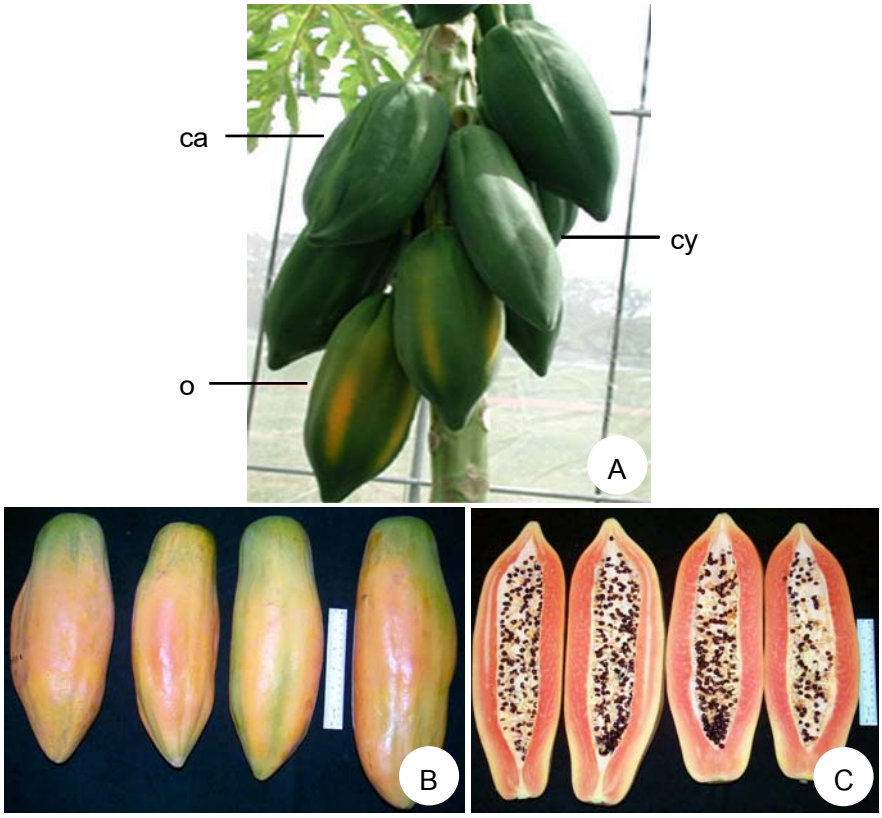

Figure 2 R_0 fruits of transgenic papaya grew in the screen house.

A) R_0 fruits of transgenic papaya showed different fruit shape: cylindrical (cy), obovoid (o), cat-faced (ca)

B) R_0 fruits of transgenic papaya cultivar KN 13.2.3 with no symptoms of ringspot caused by PRSV

C) Ripe fruits and texture of the transgenic showing red-flesh papaya with seeds of cultivar KN 13.2.3

Figure 3 R_0 fruits of transgenic papaya cultivar KN 49 generated in the screen house (A). Fruits showed some noticeable characteristics on which the skin was rough with scatter pale-green streaks (B)

Table 1 Some characteristics on fruit weight, fruit length and percent mass sucrose of transgenic papaya and wide type (Khak Nual) fruits grew in the screen house

Line	Average fruit weight (kg)	Average fruit length (cm)	% mass sucrose (brix)
1.1.3	1.44 bc	29.00 a-e	9.87d
1.2.3	1.37 cd	27.57 de	10.58 c
1.2.4	1.68 a	30.73 ab	10.54 c
1.2.5	1.35 cd	27.33 de	9.67 d
1.2.6	1.44 bc	29.73 a-d	9.91 d
1.2.7	1.44 bc	27.93 de	9.80 d
1.2.8	1.74 a	31.30 a	9.60 d
1.2.10	1.43 bc	27.30 de	9.90 d
1.2.11	1.64 ab	28.57 b-e	9.89d
1.2.12	1.72 a	30.53 abc	9.88 d
13.2.3	1.39 c	28.23 cde	12.89 a
49	1.18 de	27.17 e	13.20 a
KN	1.05 e	30.33 abc	12.18 b
KN-M	n	n	9.90 d

KN = Khak Nual, KN-M = Khak Nual from market, n = non-detection

a, b, c, d, e are significantly different at p = 0.05

สรุป

มะละกอพันธุ์ KN 1.2.3, KN 13.2.3 และ KN 49 เป็นมะละกอที่ได้รับการถ่ายยีน PRSV-CP สายพันธุ์เชียงใหม่ สามารถต้านทานไวรัส PRSV สายพันธุ์เชียงใหม่ได้ดี และมีแนวโน้มในการต้านทานไวรัส PRSV จากจังหวัดนครปฐม ราชบุรี สกลนคร ยโสธร และ สุราษฎร์ธานี ได้ ยกเว้นพันธุ์ KN 1.2.3 ซึ่งค่อนข้างอ่อนแอต่อไวรัส PRSV จากจังหวัดยโสธร มะละกอพันธุ์ดังกล่าวสามารถเจริญเติบโต ให้ดอก ผล และเมล็ด ได้เช่นเดียวกับมะละกอที่ไม่ได้ถ่ายยีน และไม่พบอาการของโรคใบด่างจุดวงแหวนปรากฏที่ผิวของผลมะละกอ

เอกสารอ้างอิง

วิชัย โฆสิตรัตน ฉลองชัย แบบประเสริฐ อดิศักดิ์ บ้วนกียาพันธุ์ รัชนี ฮงประยูร กุลวดี ตรองพาณิชย์ สุจินต์ ภัทรภูวดล สมนึก เชื้อวงศ์สกุล และ สุพัฒน์ อรรถธรรม. 2542. มะละกอและโรคใบด่างจุดวงแหวน เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 68 หน้า.

สิริกุล วะสี. 2542. มะละกอ เอกสารเผยแพร่ทางวิชาการ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 45 หน้า.

Chowpongpang, S., N. Warin, A. Bhunchoth, K. Romayanon, R. Rodaree, W. Kositratana and S. Attathom. 2002. Thai transgenic papaya protects PRSV infection to different geographical isolates. The First International Conference on Tropical and Subtropical Plant Disease. November 5-8, 2002. The Imperial Mae Ping Hotel Chiang Mai, Thailand. p.131

Lius, S., R.M. Manshardt, M.M. Fitch, J.L. Slightom, J.C. Sanford and D. Gonsalves. 1997. Pathogen-derived resistance provides papaya with effective protection against papaya ringspot virus. Molecular Breeding 3:161-168.

Purcifull, D. E. and E. Hiebert. 1972. Papaya ringspot virus: CMI AAB Descriptions of plants virus.

Tennant, P., G. Fermin, M.M. Fitch, R.M. Manshardt, J.L. Slightom and D. Gonsalves. 2001. Papaya ringspot virus resistance of transgenic Rainbow and SunUp is affected by gene dosage, plant development and coat protein homology. European Journal of Plant Pathology 107: 645-653.

Yeh, S.D., H.J. Bau, Y.H. Cheng, Y.H. Yu and J.S. Yang. 1997. Greenhouse and field evaluations of coat - protein transgenic papaya resistance to papaya ringspot virus. Acta Horticulturae 461:321-328.