

การค้นห QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้และการพัฒนาพันธุ์กรรม
ข้าวเหนียวหอมที่มียีน *Bph3* ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
จากฐานพันธุ์กรรมข้าวสายพันธุ์ IR57514
เพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเหนียว



ธนาธิป ทาปลัด

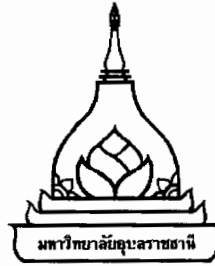
วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ปีการศึกษา 2559
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี



IDENTIFICATION OF QUANTITATIVE TRAIT LOCI CONTROLLING
BLAST DISEASE RESISTANCE AND DEVELOPMENT OF AROMATIC
GLUTINOUS RICE LINES CARRYING BROWN PLANTHOPPER
RESISTANCE GENE, *Bph3*, FROM IR57514 RICE GENETIC
BACKGROUND FOR GLUTINOUS RICE BREEDING PROGRAM

THANATHIP TAPALAD

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE
MAJOR IN AGRICULTURE FACULTY OF AGRICULTURE
UBON RATCHATHANI UNIVERSITY
ACADEMIC YEAR 2016
COPYRIGHT OF UBON RATCHATHANI UNIVERSITY



ใบรับรองการวิทยานิพนธ์
มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์

เรื่อง การค้นหา QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้และการพัฒนาพันธุ์กรรมข้าวเหนียวหอม
ที่มียืน *Bph3* ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากฐานพันธุ์กรรมข้าวสายพันธุ์ IR57514
เพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเหนียว

ผู้วิจัย นายธนาธิป ทาปลัด

คณะกรรมการสอบ

ดร.บุบผา ใจเที่ยง

ประธานกรรมการ

รองศาสตราจารย์ ดร.สุริพร เกตุงาม

กรรมการ

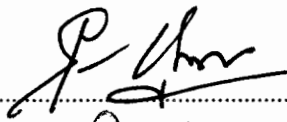
ดร.ธีรยุทธ ตูจันดา

กรรมการ

ดร.จิรพงศ์ ไกรินทร์

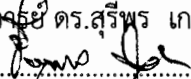
กรรมการ

อาจารย์ที่ปรึกษา



อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(รองศาสตราจารย์ ดร.สุริพร เกตุงาม)



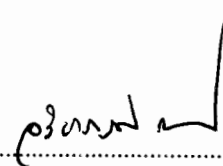
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ดร.ธีรยุทธ ตูจันดา)



(รองศาสตราจารย์ธีระพล บันสิทธิ์)

คณบดีคณะเกษตรศาสตร์



(รองศาสตราจารย์ ดร.อริยาภรณ์ พงษ์รัตน์)

รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ปีการศึกษา 2559

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัย และการจัดทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงจนสมบูรณ์ได้เพราะได้รับความกรุณาอย่างยิ่งจาก รองศาสตราจารย์ ดร.สุรพร เกตุงาม อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษา แนะนำ และถ่ายทอดความรู้ที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อตัวข้าพเจ้า และช่วยสนับสนุน ตรวจสอบแก้ไข วิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณ ดร.ธีรยุทธ ตูจินดา อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผู้ให้ความรู้ คำแนะนำ คำปรึกษา สนับสนุนการวิจัยตลอดช่วงระยะเวลาการศึกษา และตรวจแก้ไข วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอกราบขอบพระคุณ ดร.จิรพงศ์ ไกรรินทร์ ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก และ ดร.บุบผา ใจเที่ยง ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ที่ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อ ข้าพเจ้า

ขอขอบคุณโครงการทุนสถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีไทย (TGIST) สำนักงานพัฒนา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) ที่ให้ทุนการศึกษา และทุนวิจัยบางส่วน และขอขอบคุณ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่สนับสนุนทุนวิจัยของบัณฑิตศึกษา ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ และผู้ร่วมวิจัยทุกๆ ท่าน จากหน่วย ปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว (Rice Gene Discovery Unit) ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ และจากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ที่ให้ความช่วยเหลือ คำติชม กำลังใจที่ดีในการทำวิจัยและการพัฒนาตัวเองเสมอมา

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้า ขอกราบขอบพระคุณบุคคลที่อยู่เบื้องหลังความสำเร็จนี้คือ บิดา มารดา พี่สาว ญาติพี่น้องทุกๆ คน ซึ่งบุคคลเหล่านี้เป็นบุคคลสำคัญที่ทำให้กำลังใจ ห่มเทกำลังใจ กำลังทรัพย์ และช่วยเหลือผลักดันข้าพเจ้าให้สำเร็จการศึกษาในครั้งนี้

ธนธิป ทาปลัด

ผู้วิจัย

บทคัดย่อ

เรื่อง : การค้นหา QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ และ การพัฒนาพันธุ์กรรมข้าวเหนียวหอมที่มียีน *Bph3* ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากฐานพันธุ์กรรมข้าวสายพันธุ์ IR57514 เพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเหนียว

ผู้วิจัย : ธนาธิป ทาปลัด

ชื่อปริญญา : วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา : เกษตรศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก : รองศาสตราจารย์ ดร.สุรพร เกตุงาม

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : ดร.ธีรยุทธ ตูจินดา

คำสำคัญ : ข้าวเหนียว, โรคไหม้, การวางตำแหน่ง QTLs, เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล, เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก

ข้าวสายพันธุ์ IR57514 เป็นสายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง ปรับตัวได้ดีในพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝน ข้าวสายพันธุ์นี้สามารถทนต่อน้ำท่วมฉับพลัน และต้านทานโรคไหม้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อค้นหาตำแหน่งของ QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514 และพัฒนาสายพันธุ์ข้าวเหนียวหอมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มียีน *Bph3* จากฐานพันธุ์กรรมข้าวสายพันธุ์ IR57514 เพื่อใช้ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเหนียว การค้นหาตำแหน่งลักษณะปริมาณ (QTLs) ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514 นั้นทำการศึกษาในประชากร recombinant inbred lines (RILs) จำนวน 97 สายพันธุ์ ที่พัฒนามาจากคู่ผสมระหว่างข้าวสายพันธุ์ IR57514 (ต้านทานต่อโรคไหม้) และ ขาวดอกมะลิ 105 (อ่อนแอต่อโรคไหม้) โดยทำการประเมินความต้านทานโรคไหม้ด้วยเชื้อสาเหตุโรคไหม้จำนวน 11 ไอโซเลท ในระยะต้นกล้า พบว่า ความต้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514 ถูกควบคุมด้วยลักษณะปริมาณจำนวน 6 ตำแหน่ง โดยวางตัวอยู่บนโครโมโซม 4 5 10 11 และ 12 และสามารถอธิบายลักษณะต้านทานต่อโรคไหม้ได้ตั้งแต่ 18.39 ถึง 68.23 เปอร์เซ็นต์ โดย *qBL12* แสดงลักษณะต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคไหม้จำนวน 9 ไอโซเลท สามารถอธิบายความแปรปรวนของลักษณะต้านทานโรคไหม้สูงสุดได้ตั้งแต่ 4.85 ถึง 63.29 เปอร์เซ็นต์ เครื่องหมายดีเอ็นเอที่เชื่อมโยงกับ QTLs เหล่านี้ จะเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์สำหรับการนำไปใช้ช่วยในการคัดเลือกลักษณะต้านทานโรคไหม้ ผลจากการศึกษาบ่งชี้ว่า ข้าวสายพันธุ์ IR57514 สามารถใช้เป็นแหล่งพันธุ์กรรมของลักษณะต้านทานโรคไหม้ได้ การพัฒนาพันธุ์กรรมข้าวเหนียวหอมให้มียีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Bph3* ดำเนินการโดยการผสมระหว่างข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุง RGD11259-1-9-25 (BC₁F₂) และ ข้าวเจ้าสายพันธุ์ปรับปรุง R4-4-2-134-18-57 (BC₄F₅) โดยปรับปรุงพันธุ์แบบสืบประวัติ และคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลร่วมกับการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกในประชากรผสมตัวเองรุ่นที่ F₂ ถึง F₄ โดยเริ่มจากการแยกยีน *Wx^a* และ *Bph3* บนโครโมโซม 6 ออกจากกัน ในประชากร F₂ จำนวน 1,140 ต้น ที่ได้จากต้น F₁ จำนวน 1 ต้น ประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลด้วย

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากรอุบลราชธานีในระยะต้นกล้า (อายุข้าว 7 วัน) พบว่า มีต้นข้าว F₂ ที่รอดชีวิตจากการถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายจำนวน 461 ต้น และเมื่อนำมาคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมาย RM589, SSR24 และ RM588 ในลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และ Wx-Glu23 ในลักษณะข้าวเหนียว ได้ต้นข้าว F₂ ที่มีอัลลีลของยีน *Bph3* เป็นแบบโฮโมไซกัส และอัลลีลของยีน *wx* เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส (*Bph3*^{R4/R4}, *wx*^{RGD/R4}) จำนวน 6 ต้น จากนั้นปล่อยให้ต้นข้าว F₂ ดังกล่าวผสมตัวเองเพื่อสร้างประชากร F₃ แล้วนำไปประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่า มีต้นข้าว F₃ รอดชีวิตจำนวน 2 ต้น ได้แก่ สายพันธุ์ RGD13117-115-52 (*Bph3*^{R4/R4}, *wx*^{RGD/RGD}, *badh2*^{RGD/RGD}) และสายพันธุ์ RGD13117-115-53 (*Bph3*^{R4/R4}, *wx*^{RGD/RGD}, *badh2*^{RGD/R4}) จากนั้นปล่อยให้ผสมตัวเองเพื่อสร้างประชากร F₄ และ ประเมินลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ลักษณะข้าวเหนียว และลักษณะความหอม การประเมินลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะต้นกล้า (อายุข้าว 7 วัน) และระยะแตกกอ (อายุข้าว 25 วัน) โดยประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 4 ประชากร ได้แก่ อุบลราชธานี พิษณุโลก กำแพงเพชร และ น่าน พบว่า ข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงจำนวน 2 สายพันธุ์ มีระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่สูงกว่าข้าวสายพันธุ์ RGD11259-1-9-25 ซึ่งเป็นสายพันธุ์แม่ การประเมินลักษณะข้าวเหนียวและลักษณะความหอมพิจารณาจากลักษณะทางกายภาพของเมล็ดข้าวกล้องและการดมกลิ่น ตามลำดับ พบว่า ข้าวทั้งสองสายพันธุ์มีลักษณะเป็นข้าวเหนียวและมีกลิ่นหอมมาก (คะแนน 2) ถึง กลิ่นหอมปานกลาง (คะแนน 1) การค้นพบ QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514 และ การพัฒนาข้าวเหนียวหอมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากฐานพันธุ์กรรมข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุง IR57514 สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งพันธุ์กรรมที่สำคัญในการพัฒนาข้าวหน้าน้ำฝนให้ต้านทานต่อสภาวะความเครียดหลายลักษณะในพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนได้ต่อไป

ABSTRACT

TITLE : IDENTIFICATION OF QUANTITATIVE TRAIT LOCI CONTROLLING BLAST DISEASE RESISTANCE AND DEVELOPMENT OF AROMATIC GLUTINOUS RICE LINES CARRYING BROWN PLANTHOPPER RESISTANCE GENE, *Bph3*, FROM IR57514 RICE GENETIC BACKGROUND FOR GLUTINOUS RICE BREEDING PROGRAM

AUTHOR : THANATHIP TAPALAD

DEGREE : MASTER OF SCIENCE

MAJOR : AGRICULTURE

ADVISOR : ASSOC. PROF. SUREEPORN KATENGAM, Ph.D.

CO - ADVISOR : THEERAYUT TOOJINDA, Ph.D.

KEYWORDS : GLUTINOUS RICE/ BLAST DISEASE/ QTLs MAPPING/ BROWN PLANTHOPPER/ MARKER-ASSISTED SELECTION

IR57514 is a high yielding rice line wide-adapted to a rain-fed environment. It has submergence tolerance and blast resistant characteristics. The objectives of this research were to identify Quantitative Trait Loci (QTLs) controlling blast resistance in IR57514 rice line and to develop aromatic glutinous rice lines carrying *Bph3* gene to brown planthopper resistance using IR57514 as genetic background for further use in glutinous rice breeding programs. Identification of QTLs controlling blast resistance was carried out using 97 recombinant inbred lines (RILs) derived from a cross between IR57514 (blast resistant) and KDML105 (blast susceptible). RILs were challenged with eleven blast isolates at the seedling stage. Six QTLs located on chromosomes 4, 5, 10, 11, and 12 were identified. These QTLs explained 18.396 to 8.23% of the phenotypic variation. Of these QTLs, *qBL12* was consistently detected against 9 blast isolates and showed relatively high phenotypic variance ranging from 4.85 to 63.29%. Linked markers to these QTLs provided useful information for marker assisted selection. Results indicated that IR57514 can be a good genetic resource for blast resistance. The development of aromatic glutinous rice lines carrying *Bph3* gene was performed by crossing RGD11259-1-9-25 (BC₁F₂) and R4-4-2-134-18-57 (BC₄F₅). Pedigree breeding with phenotypic and marker assisted selection was employed from F₂ to F₄ generations. First, linkage drag between *Wx^a* and *Bph3* loci on chromosome 6 was broken down using 1,140 F₂ progenies derived from single F₁ plant. F₂ progenies were challenged with UBN brown planthopper (BPH) population at the seedling stage (7 DAS). 461 F₂ plants surviving from BPH infestation were genotyped for

BPH resistance and glutinous rice characters using RM589, SSR24 and RM588 and Wx-Glu23 markers respectively. Six F_2 progenies carrying $Bph3^{R4/R4}$ and $wx^{RGD/R4}$ alleles were selected and self-pollinated to generate F_3 population. After that, six F_3 populations were evaluated for BPH resistance and two F_3 plants including RGD13117-115-52 ($Bph3^{R4/R4}$, $wx^{RGD/RGD}$, $badh2^{RGD/RGD}$) and RGD13117-115-53 ($Bph3^{R4/R4}$, $wx^{RGD/RGD}$, $badh2^{RGD/R4}$) were selected. Then F_4 introgression lines (ILs) derived from these two F_3 plants were validated for BPH resistance, glutinous rice, and grain fragrance characters. BPH resistance was performed at the seeding stage (7 DAS) and tillering stage (25 DAS) using 4 BPH populations, UBN, PSL, KPP, and NAN. The results showed that all F_4 ILs had higher levels of BPH resistance than that of RGD11259-1-9-25, a susceptible parent. Glutinous rice and grain fragrance characters were validated based on the physical characteristics of brown rice and sensory test respectively. The results confirmed that the two F_4 ILs were glutinous and revealed strong (score=2) to moderate grain fragrance (score=1). The discovery of QTLs controlling blast resistance in IR57514 rice line and the development of aromatic glutinous rice lines resistant to BPH from glutinous jasmine IR57514 rice line will serve as useful genetic resources for breeding multiple stress tolerance in rain-fed lowland rice.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ง
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญภาพ	ญ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญในการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์	5
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	
2.1 ข้าวและความสำคัญของข้าว	6
2.2 ปัญหาการปลูกข้าวในเขตพื้นที่อาศัยน้ำฝนบริเวณลุ่มแม่น้ำโขง	12
2.3 การแยก linkage darg โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก	45
2.4 การปรับปรุงพันธุ์ข้าว	46
2.5 การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว	47
บทที่ 3 การค้นหา QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514	
3.1 บทนำ	49
3.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	50
3.3 วิธีการดำเนินการวิจัย	51
3.4 ผลการทดลอง	57
3.5 อภิปรายผลการทดลอง	66
บทที่ 4 การพัฒนาพันธุ์กรรมข้าวเหนียวที่มียีน <i>Bph3</i> ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จากฐานพันธุ์กรรมข้าวสายพันธุ์ IR57514	
4.1 บทนำ	70
4.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	73
4.3 วิธีการดำเนินการวิจัย	73
4.4 ผลการทดลอง	88
4.5 อภิปรายผลการทดลอง	119
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	130
เอกสารอ้างอิง	132
ภาคผนวก	150
ประวัติผู้วิจัย	176

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	การแบ่งประเภทของข้าวตามระดับปริมาณอะไมโลสที่ได้จากอัลลีลของยีน <i>Waxy</i> บนโครโมโซม 6	9
2.2	ยีน และ QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ของข้าว ตำแหน่งเครื่องหมายดีเอ็นเอ สายพันธุ์ให้ยีน และชนิดของข้าวที่เป็นแหล่งพันธุ์กรรม	18
2.3	แหล่งพันธุ์กรรมของยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล	35
2.4	การสืบค้นหายีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าว	42
3.1	เครื่องหมาย simple sequence repeat (SSR) จำนวน 97 เครื่องหมาย บนโครโมโซมข้าวทั้ง 12 โครโมโซม	52
3.2	เชื้อสาเหตุโรคไหม้ กลุ่มเชื้อ และแหล่งที่มาของเชื้อที่ใช้ในการประเมินความสามารถในการต้านทานโรคไหม้ของประชากร RILs	54
3.3	การตรวจสอบปริมาณความเสียหายของการเกิดโรคใบไหม้ ที่ใช้ในการประเมินความสามารถในการต้านทานโรคใบไหม้ในประชากร RILs	56
3.4	ระดับความรุนแรงของโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514 และ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เมื่อถูกเชื้อราสาเหตุโรคไหม้จำนวน 11 ไอโซเลท เข้าทำลาย	58
3.5	จำนวน QTLs ตำแหน่งบนโครโมโซม เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใกล้ชิด ปริมาณ และทิศทางผลกระทบของ QTLs ที่มีผลต่อการแสดงออกของลักษณะต้านทานโรคไหม้ ที่สืบค้นโดยใช้วิธี simple Interval mapping (SIM)	63
3.6	แสดงระดับความต้านทานของประชากร RILs (IR57514/KDML105) ต่อเชื้อสาเหตุโรคไหม้จำนวน 11 ไอโซเลท	65
4.1	เกณฑ์การให้คะแนนของระดับความรุนแรงจากความเสียหายของการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าว โดยวิธี SSBS ดัดแปลงจาก Standard Evaluation System	77
4.2	เกณฑ์การให้คะแนนของระดับความรุนแรงจากความเสียหายของการการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าว โดยวิธี MMTS ดัดแปลงจาก Standard Evaluation System	78
4.3	เครื่องหมายดีเอ็นเอ ตำแหน่งบนโครโมโซม สายพันธุ์ให้อัลลีลเป้าหมาย และลำดับเบสของเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ในการคัดเลือกลักษณะความหอม ลักษณะข้าวเหนียว และลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในประชากร $F_1 - F_3$	82

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.4	เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด simple sequence repeat (SSR) และ gene-specific markers สำหรับใช้ในการทำ graphical genotypes	86
4.5	เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ในการคัดเลือกลักษณะเป้าหมาย ตำแหน่งของยีนประเภทของเครื่องหมายดีเอ็นเอ สายพันธุ์ให้อัลลีลเป้าหมาย และขนาดของอัลลีลเป้าหมายที่ใช้ในการคัดเลือก	89
4.6	การจำแนกกลุ่ม Haplotype (H) และจีโนไทป์ ในประชากร F ₂ จำนวน 461 สายพันธุ์ ตามองค์ประกอบของยีนเป้าหมายที่มีอัลลีลของสายพันธุ์ให้ยีนเป้าหมายที่ควบคุมลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และลักษณะข้าวเหนียว จากการคัดเลือกด้วย เครื่องหมาย RM589, SSR24, RM588 และ Wx-Glu23	95
4.7	การคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F ₃ จำนวน 6 สายพันธุ์ ที่มีอัลลีลของยีน <i>Bph3</i> เป็นแบบโฮโมไซกัส และอัลลีลของยีน <i>wx</i> เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส (<i>Bph3</i> ^{R4/R4} , <i>wx</i> ^{RGD/R4}) โดยใช้ต้นข้าวอายุ 7 วัน เปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อแม่	97
4.8	การคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F ₃ โดยใช้ต้นข้าวอายุ 7 วัน เปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อแม่ และ สายพันธุ์เปรียบเทียบกับต้านทานและอ่อนแอ	99
4.9	ระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F ₄ โดยใช้ต้นข้าวอายุ 7 และ 25 วัน และใช้ประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 4 ประชากร ประกอบด้วย อุบลราชธานี พิษณุโลก กำแพงเพชร และ น่าน	106
4.10	ลักษณะความยาว-ความกว้างของเมล็ดข้าวเปลือกและเมล็ดข้าวกล้องสีของเมล็ดข้าวเปลือก และอัตราส่วนระหว่างความยาว-ความกว้างของเมล็ดข้าวทั้งสองแบบ	110
4.11	ลักษณะจีโนไทป์ และ ฟีนไทป์ ของลักษณะความหอมในข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุง F ₄ จำนวน 2 สายพันธุ์ ข้าวสายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 และสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 และสายพันธุ์ตรวจสอบจำนวน 4 สายพันธุ์	111
4.12	การคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F ₃ โดยใช้ต้นข้าวอายุ 25 วัน เปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อแม่ และ สายพันธุ์เปรียบเทียบกับต้านทานและอ่อนแอ	114
4.13	การคัดเลือกลักษณะข้าวเหนียวในประชากร F ₃ โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ Wx-Glu23	116

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ผ.1	การคัดเลือกจีโนไทป์ของลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และ ลักษณะข้าวเหนียวของประชากร F_2 จำนวน 461 ต้น ที่รอดชีวิตจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี จำนวน 13 วันหลังปล่อยแมลง	151
ผ.2	การคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F_3 เปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อแม่ และ สายพันธุ์เปรียบเทียบต้านทานและอ่อนแอ ที่อายุข้าว 7 วัน โดยวิธี SSBS; H = heterozygous (RH/JGIR), JGIR = Jasmine glutinous IR57514 และ RH = CNT1- <i>Bph3</i>	166
ผ.3	แสดงระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F_4 โดยใช้ต้นข้าวอายุ 7 วัน และ 25 วัน (7 DAS และ 25 DAS) และใช้ประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล อุบลราชธานี	171
ผ.4	แสดงระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F_4 โดยใช้ต้นข้าวอายุ 7 วัน และ 25 วัน (7 DAS และ 25 DAS) และใช้ประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พิษณุโลก	172
ผ.5	แสดงระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F_4 โดยใช้ต้นข้าวอายุ 7 วัน และ 25 วัน (7 DAS และ 25 DAS) และใช้ประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล กำแพงเพชร	173
ผ.6	แสดงระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F_4 โดยใช้ต้นข้าวอายุ 7 วัน และ 25 วัน (7 DAS และ 25 DAS) และใช้ประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล น่าน	174
ผ.7	แสดง graphical genotype บริเวณตำแหน่งยีน <i>Bph3</i> และ <i>wx</i> บนโครโมโซม 6 ของข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุง (Aromatic glutinous introgression lines; AG-ILs) จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13117-115-52 และ RGD13117-115-52 ตามลำดับ และประชากร F_3 จำนวน 3 กลุ่ม ได้แก่ “ R ” (resistance), “ MR ” (moderately resistance) และ “ S ” (susceptibility) ตามลำดับ	175

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ชนิดของจีโนม ลักษณะทางการเกษตรต่าง ๆ ของข้าวปลูกจำนวน 2 ชนิด และตัวแทนของข้าวป่า จำนวน 10 ชนิด	7
2.2	โครงสร้างทางเคมีของสาร 2-acetyl-1-pyrroline (2AP)	10
2.3	กระบวนการสังเคราะห์สาร 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) ในข้าว	11
2.4	โครงสร้างของเชื้อรา <i>Piricularia grisea</i> Sacc (ก) โครงสร้างของ conidiophores และ conidia (ข) โครงสร้างของ conidia ที่มีจำนวน 3 เซลล์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และ (ค) ลักษณะของ conidia ขณะงอกบนเซลล์ข้าว ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน	14
2.5	วงจรการเข้าทำลายต้นข้าวของเชื้อรา <i>P. grisea</i> โดยเริ่มจากการที่ conidia มาสัมผัสกับผิวต้นข้าว จากนั้นเกิดการงอกของ conidia เข้าทำลายต้นข้าวแล้วเกิดการเพิ่มจำนวนเส้นใย และ เกิดการสร้าง conidia บนผิวต้นข้าวใหม่เพื่อเข้าทำลายพืชใหม่	14
2.6	ลักษณะอาการของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในส่วนต่างๆของต้นข้าว ได้แก่ ใบ (leaf blast) ข้อใบ (collar blast) คอรวง (neck blast) ข้อ (node blast) กาบใบ (sheath blast) และ ช่อดอก (panicle blast) ตามลำดับ	15
2.7	ตำแหน่งยีนต้านทานโรคไหม้ที่พบในข้าว	22
2.8	ลักษณะของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (ก) ประชากร BPH (ข) ตัวเต็มวัยชนิดปีกสั้น (brachypterous form) และ(ค) ตัวเต็มวัยชนิดปีกยาว (macropterous form)	25
2.9	วงจรชีวิตและระยะการเจริญเติบโตของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล	25
2.10	ความต้านทานของข้าวต่อชีวชนิดที่แตกต่างกันของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (a) ชีวชนิด 1 สามารถเข้าทำลายสายพันธุ์ที่ไม่มียีนต้านทาน (b) ชีวชนิด 2 สามารถเข้าทำลายสายพันธุ์ที่มียีน <i>Bph1</i> และชีวชนิด 3 สามารถเข้าทำลายสายพันธุ์ที่มียีน <i>bph2</i>	33
2.11	ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลบนโครโมโซมข้าว จำนวน 5 โครโมโซมที่พบ ยีนต้านทานสูงที่สุด	36
2.12	โมเดลการตอบสนองของต้นข้าวเมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลาย	38
3.1	ขั้นตอนการพัฒนาประชากร recombinant inbred lines (RILs) จำนวน 97 สายพันธุ์ โดยวิธีแบบสืบประวัติ	52
3.2	การวัดระดับความรุนแรงของโรคใบไหม้ในข้าวตามลักษณะของแผลที่ถูกทำลาย โดยแบ่งออกเป็น 7 ระดับ	56

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
3.3	การกระจายตัวของลักษณะต้านทานโรคไหม้ในประชากร RILs จำนวน 97 สายพันธุ์ เมื่อถูกเชื้อสาเหตุโรคไหม้เข้าทำลาย (ก) TH196031, (ข) TH196036 (ค) TRG1 และ (ง) TRG2 ตามลำดับ	58
3.4	การกระจายตัวของลักษณะต้านทานโรคไหม้ในประชากร RILs จำนวน 97 สายพันธุ์ เมื่อถูกเชื้อสาเหตุโรคไหม้เข้าทำลาย (ก) TH1L219, (ข) THL557 (ค) THL690 (ง) THL810, (จ) THL1081, (ฉ) THL84 และ (ช) THL717 ตามลำดับ	59
3.5	แผนที่พันธุกรรมของข้าวจำนวน 12 โครโมโซม ซึ่งได้จากประชากร recombinant inbred lines (RILs) จำนวน 97 สายพันธุ์ จากคู่ผสมระหว่าง IR57514/ขาวดอกมะลิ 105 ประกอบด้วย เครื่องหมาย SSR จำนวน 97 เครื่องหมาย	60
3.6	แผนที่พันธุกรรมของข้าวแสดงตำแหน่ง QTLs ต้านทานโรคไหม้ จำนวน 6 QTLs (<i>qBL4 qBL5 qBL10.1 qBL10.2 qBL11</i> และ <i>qBL12</i>) บนโครโมโซม 4 5 10 11 และ 12 ตามลำดับ ซึ่งได้จากประชากร RILs จากคู่ผสม IR57514/ขาวดอกมะลิ 105 จำนวน 97 สายพันธุ์	62
4.1	แผนการดำเนินการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวเหนียวหอมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยการใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก	75
4.2	แผนการดำเนินการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวเหนียวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ประชากร F ₃ และ การทำ Graphical genotypes โดยใช้ข้าวอายุ 25 วัน	87
4.3	ผลการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวเหนียวหอมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยการใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก	91
4.4	ระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประชากร F ₂ เมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี เข้าทำลาย	93
4.5	ความเสียหายของต้นข้าวประชากร F ₂ จำนวน 1,140 ต้น โดยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี เข้าทำลาย	93
4.6	พื้นที่ใต้กราฟ (AUC) ระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F ₃ ที่ถูกทำลายโดยแมลงประชากร อุบลราชธานี	98
4.7	ระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุงประชากร F ₃ ที่ผ่านการคัดเลือก จำนวน 3 สายพันธุ์โดยแมลงประชากร อุบลราชธานี (RH) หมายถึง Rathu Heenati, (CNT1) หมายถึง R4-4-2-134-18-57 (สายพันธุ์พ่อ), (1) หมายถึง RGD13117-36, (2) หมายถึง RGD13117-115, (3) หมายถึง RGD13117-331 และ (D117) หมายถึง RGD11259-1-9-25(สายพันธุ์แม่) และ TN1 หมายถึง Taichung Native 1	98

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.8	ระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F_4 ที่อายุข้าว 7 วัน หลังเพาะเมล็ด เมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 4 ประชากร เข้าทำลาย	102
4.9	ระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F_4 ที่อายุข้าว 25 วัน หลังเพาะเมล็ด เมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 4 ประชากร เข้าทำลาย	105
4.10	ระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F_4 ที่ข้าวอายุ 7 วัน (7 DAS) เปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ (RGD11259-1-9-25), สายพันธุ์พ่อ (R4-4-2-134-18-57), พันธุ์ตรวจสอบต้านทานต่อ BPH (Rathu Heenati) และพันธุ์ตรวจสอบอ่อนแอต่อ BPH (TN1)	107
4.11	ระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F_4 ที่ข้าวอายุ 25 วัน (25 DAS) เปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ (RGD11259-1-9-25), สายพันธุ์พ่อ (R4-4-2-134-18-57), และ พันธุ์ตรวจสอบต้านทานต่อ BPH (Rathu Heenati)	107
4.12	ลักษณะข้าวเปลือก และข้าวกล้อง ของข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุงประชากร F_4 จำนวน 2 สายพันธุ์ และสายพันธุ์พ่อแม่	108
4.13	ระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุง F_3 ที่ข้าวอายุ 25 วัน โดยแมลงประชากร อุบลราชธานี โดยที่ (A) (B) (C) (D) คือ ต้นข้าวที่มียีน <i>Bph3</i> (<i>Bph3</i> ^{RGD/RG4}) และ (E) คือ ต้นข้าวที่ไม่มียีน <i>Bph3</i> (<i>Bph3</i> ^{RGD/RGD})	113
4.14	ผลการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวเหนียวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร F_3 โดยใช้ข้าวอายุ 25 วัน และการทำ Graphical genotypes บริเวณตำแหน่งยีน <i>Bph3</i> และ wx บนโครโมโซม 6	115
4.15	แสดง graphical genotype บริเวณตำแหน่งยีน <i>Bph3</i> และ wx บนโครโมโซม 6 ของข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุง (Aromatic glutinous introgression lines; AG-ILs) จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13117-115-52 และ RGD13117-115-52 ตามลำดับ และประชากร F_3 จำนวน 3 กลุ่ม ได้แก่ “R” (resistance), “MR” (moderately resistance) และ “S” (susceptibility) ตามลำดับ; (สีแดง) หมายถึง พันธุ์กรรมของสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57, (สีน้ำเงิน) หมายถึง พันธุ์กรรมของสายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25, (สีฟ้า) หมายถึง พันธุ์กรรมที่เป็นแบบเฮเทอโรไซกัสที่เหมือนทั้งสายพันธุ์พ่อและแม่, (สีเหลือง) หมายถึง พันธุ์กรรมของพันธุ์ Rathu Heenati ที่แตกต่างจากสายพันธุ์พ่อ และ (สีดำ) หมายถึง ตำแหน่งที่ไม่ได้รับการจีโนไทป์	118

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญในงานวิจัย

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญและดำรงอยู่คู่ประเทศไทยมาช้านาน คนไทยนิยมบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวทั่วประเทศ ประมาณ 66 ล้านไร่ ได้ผลผลิตข้าวเปลือกประมาณ 36.175 ล้านตัน คิดเป็นมูลค่ากว่า 143 แสนล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2556) โดยเป็นพื้นที่ปลูกข้าวเจ้าประมาณ 45 ล้านไร่ และเป็นพื้นที่ปลูกข้าวเหนียวประมาณ 21 ล้านไร่ ในพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนมีพันธุ์ข้าวที่นิยมปลูกกันมาก ได้แก่ ข้าวดอกมะลิ 105 กข15 และ กข6 โดยสายพันธุ์ข้าวเหนียวเป็นข้าวที่นิยมปลูกกันมากในเขตทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคกลางบางส่วนของประเทศไทย ทั้งนี้เนื่องจากวิถีชีวิตและวัฒนธรรมการบริโภคที่มีการสืบทอดกันมาตั้งแต่บรรพบุรุษ ปัจจุบันพันธุ์ข้าวเหนียว กข6 เป็นที่นิยมปลูกกันมากในประเทศไทย เนื่องจากข้าวที่หุงสุกจะมีความอ่อนนุ่ม และมีกลิ่นหอม อย่างไรก็ตามข้าวพันธุ์ดังกล่าวมีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของโรคและแมลง โดยเฉพาะโรคไหม้ และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ซึ่งเป็นปัญหาหลักของพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝน ทำให้เกิดความเสียหายเป็นวงกว้างประจำปี ส่งผลกระทบต่อความมั่นคงทางด้านอาหารและรายได้ของเกษตรกร

การเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ (Climate Change) ส่งผลให้อุณหภูมิของโลกสูงขึ้น โดยในช่วง 100 ปีที่ผ่านมา อุณหภูมิเฉลี่ยของโลกสูงขึ้นถึง 1 องศาเซลเซียส (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2555) ซึ่งปัจจัยดังกล่าวส่งผลทำให้ฤดูกาลเปลี่ยนแปลง การกระจายตัวของน้ำฝนไม่สม่ำเสมอ เกิดปัญหาน้ำท่วม ฝนแล้ง และมีการระบาดของโรค และแมลงเพิ่มขึ้น ซึ่งส่งผลกระทบต่อการผลิตข้าวทำให้ผลผลิตข้าวลดลงเป็นอย่างมาก โดยพื้นที่ปลูกข้าวในที่ราบลุ่มแม่น้ำโขง ซึ่งครอบคลุมพื้นที่ในหลายประเทศ ได้แก่ พม่า ไทย ลาว กัมพูชา และเวียดนาม ตามลำดับ มากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ปลูกข้าวเป็นพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝน (Toojinda et al., 2005) มีรายงานว่าสภาวะโลกร้อนสร้างผลกระทบกับการปลูกข้าวขาวดอกมะลิในเขตทุ่งกุลาร้องไห้ ซึ่งมีบริเวณกว้างถึง 2.1 ล้านไร่ กินพื้นที่ 5 จังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย จากปรากฏการณ์ดังกล่าว ได้ส่งผลกระทบต่อระบบการปลูกข้าวอย่างชัดเจน ทำให้ผลผลิตของข้าวหอมไทยมีผลผลิตลดลงมากถึง 45 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเกษตรกรต้องเจอกับภัยน้ำท่วมสลับกับความแห้งแล้งที่เกิดขึ้น (ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว, 2559) ด้วยการตระหนักถึงปัญหาดังกล่าว ที่ส่งผลกระทบต่อผลผลิตข้าว ซึ่งเป็นผลสืบเนื่องจากสภาวะโลกร้อน ดังนั้นการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาวะที่ภูมิอากาศเปลี่ยนแปลงถือเป็นงานวิจัยเชิงประยุกต์ที่มีความสำคัญอย่างมากในยุคปัจจุบัน นั่นก็คือ การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้สามารถต้านทานสภาพเครียดหลายลักษณะ (multiple stress tolerance) ได้แก่ สภาวะน้ำท่วมฉับพลัน แห้งแล้ง ต้านทานต่อโรค และแมลง โดยเฉพาะโรคไหม้และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ซึ่งนับวันยิ่งทวีความรุนแรงมากยิ่งขึ้นจึงถือเป็นประเด็นของการปรับปรุงพันธุ์ข้าวที่มีความสำคัญในยุคปัจจุบัน

ข้าวสายพันธุ์ IR57514 เป็นข้าวลูกผสมสามทาง ซึ่งได้รับการผสมพันธุ์จากสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) และคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่สถานีทดลองข้าวพิมาย จังหวัดนครราชสีมา จากการทดสอบการให้ผลผลิตในเขตพื้นที่อาศัยน้ำฝนบริเวณลุ่มน้ำโขง ซึ่งมีสภาพภูมิประเทศที่มีการกระจายตัวของฝนไม่สม่ำเสมอ สาเหตุมาจากฝนทิ้งช่วงทำให้เกิดความแห้งแล้ง พบว่า ข้าวสายพันธุ์ดังกล่าวเป็นสายพันธุ์ข้าวที่ให้ผลผลิตสูง ทนแล้ง และทนน้ำท่วมฉับพลัน ปรับตัวได้ดีในพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนบริเวณลุ่มน้ำโขงข้างต้น (Jerakongman et al., 1995; Romyen et al., 1998; Cooper et al., 1999; Wade et al., 1999; Ouk et al., 2006; Kate-ngam et al., 2011) จากการทดสอบข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงในเขตพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งพบมีการระบาดของโรคไหม้เป็นประจำทุกๆ ปี โดยโรคไหม้ข้าวมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Magnaporthe grisea* สร้างความเสียหายต่อผลผลิตข้าวได้ตั้งแต่ 10 ถึง 90 เปอร์เซ็นต์ (Zeigler et al., 1994) และสามารถเข้าทำลายข้าวได้ในทุกระยะของการเจริญเติบโต โรคไหม้มีการระบาดรุนแรงในช่วงประมาณเดือน กรกฎาคม ถึง กันยายน ซึ่งเป็นช่วงที่สภาพอากาศมีความเหมาะสมต่อการเกิดโรคไหม้ เนื่องจากมีความชื้นในอากาศสูง โดยในปี 2557 ช่วงเดือนดังกล่าวมีการระบาดของโรคไหม้มากกว่า 30,000 ไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2558)

ผลจากการทดสอบพันธุ์ในแปลงเกษตรกรทางภาคอีสาน ซึ่งถือเป็นพื้นที่ที่มีการระบาดของโรคไหม้บ่อยมากที่สุด พบว่า ข้าวสายพันธุ์ IR57514 มีลักษณะต้านทานโรคไหม้อย่างกว้างขวาง (broad-spectrum resistance) ในสภาพแปลงเขตพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ติดต่อส่วนตัว: ดร. อธิรุทธ ตูจินดา โครงการวิจัยและพัฒนาข้าวนาข้าวไร่โดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ) จากข้อมูลความสามารถของลักษณะต้านทานโรคไหม้ของข้าวสายพันธุ์ IR57514 ในสภาพแปลงปลูกข้าวของเกษตรกรในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แสดงให้เห็นถึงศักยภาพทางพันธุกรรมที่ส่งผลให้ข้าวสายพันธุ์ดังกล่าวมีลักษณะทางการเกษตรที่ดีในหลายๆ ลักษณะ ดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น (Jerakongman et al., 1995; Romyen et al., 1998; Cooper et al., 1999; Wade et al., 1999; Ouk et al., 2006; Kate-ngam et al., 2011) ซึ่งจากข้อมูลเบื้องต้นในลักษณะต้านทานโรคไหม้ ถือเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์อย่างมากที่จะนำไปสู่การค้นพบแหล่งพันธุกรรมต้านทานโรคไหม้แหล่งใหม่ เป็นการเพิ่มขีดความสามารถในการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้ให้มีความต้านทานแบบกว้าง เพื่อให้ครอบคลุมกับจำนวนของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ซึ่งมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง ซึ่งมีการรายงานว่าความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในพื้นที่ปลูกข้าวทางภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย พบประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้มากถึง 2,293 ไอโซเลต สามารถจำแนกสายพันธุ์เชื้อได้ทั้งสิ้นจำนวน 552 สายพันธุ์ (พูนศักดิ์ และคณะ, 2554) ซึ่งในประเทศ ฟิลิปปีนส์ สหรัฐอเมริกา โคลัมเบีย และทวีปยุโรป พบมีเชื้อราสาเหตุโรคไหม้เพียงแค่ 10 8 6 และ 6 ไอโซเลต ตามลำดับ เท่านั้น (อัจฉราพร และพูนศักดิ์, 2554; L; Levy et al., 1993; Chen et al., 1995; Roumen et al., 1997) ดังนั้น การค้นหา ยีน/QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้แหล่งใหม่ ถือเป็นการใช้ประโยชน์ของแหล่งพันธุกรรมแหล่งใหม่ นำไปสู่การรวมยีนต้านทานโรคไหม้หลายๆ ยีน (blast resistance genes pyramiding) เข้าสู่ข้าวสายพันธุ์เดียว ซึ่งปัจจุบันก็มีแหล่งพันธุกรรมเดิมที่มีการใช้อยู่ปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานโรคไหม้อยู่แล้วได้แก่ *qBl1* และ *qBl11* มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซม 1 และ 11 ตามลำดับ ได้ยีนต้านทานจากข้าวพันธุ์

เจ้าหอมนิล (Noenplab et al., 2006) *qBl2* มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซม 2 ได้ยีนต้านทานจากสายพันธุ์ IR64 และ *qBl12* มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซม 12 ได้ยีนต้านทานจากพันธุ์ Azucena (ติดต่อส่วนตัว: ดร. ชีรยุทธ ตูจินดา) ถือเป็นการใช้ประโยชน์จากแหล่งพันธุกรรมที่มีความหลากหลายให้เกิดประโยชน์สูงสุด ซึ่งการค้นหาแหล่งพันธุกรรมต้านทานโรคไหม้จากข้าวสายพันธุ์ IR57514 ถือเป็นส่วนข้อมูลเบื้องต้นที่สำคัญต่อการพัฒนาข้าวไทยในอนาคต ดังนั้น จึงมีความจำเป็นที่จะต้องทำการค้นหา QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514 เพื่อรับมือกับการระบาดของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่มีการปรับตัวเพื่อความอยู่รอดของเผ่าพันธุ์โรคไหม้

สายพันธุ์ IR57514 เป็นข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสสูง ไม่มีกลิ่นหอม เมื่อหุงสุกจะมีลักษณะร่วนแข็ง จึงไม่เป็นที่นิยมปลูกของเกษตรกร เนื่องจากส่วนใหญ่จะปลูกข้าวเจ้าเพื่อการค้าทำให้ผลผลิตข้าวที่ได้ราคาไม่สูง ต่อมา Katengam et al. (2011) ได้ปรับปรุงข้าวสายพันธุ์ IR57514 ให้มีลักษณะความหอม คุณภาพการหุงต้มและรับประทานคล้ายข้าวหอมมะลิ และ Khanthong et al. (2012) ได้ผนวกรวมยีนต้านทานโรคไหม้ *qBl1* และ *qBl11* ซึ่งทั้งสองยีนมีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซม 1 และ 11 ตามลำดับ เข้าสู่ข้าวสายพันธุ์ปรับปรุง IR57514 ที่มีคุณภาพการหุงต้มคล้ายข้าวหอมมะลิ และได้ทำการคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือก (markers assisted selection: MAS) จนได้ข้าวสายพันธุ์ใหม่เป็นข้าวเหนียวหอมต้านทานโรคไหม้ โดยการผสมระหว่างข้าวสายพันธุ์ กข6 (*qBl1* และ *qBl11*) เป็นสายพันธุ์ให้ยีนต้านทานโรคไหม้และลักษณะข้าวเหนียว กับข้าวสายพันธุ์ปรับปรุง IR57514 (ที่มีลักษณะคุณภาพคล้ายข้าวหอมมะลิ และทนน้ำท่วมฉับพลัน) เป็นสายพันธุ์รับทำการปรับปรุงพันธุ์จนได้สายพันธุ์ข้าวเหนียวหอมต้านทานโรคไหม้ ซึ่งสอดคล้องกับวิถีชีวิตของเกษตรกรในภูมิภาคลุ่มแม่น้ำโขง ซึ่งมีการบริโภคข้าวเหนียวเป็นอาหารหลัก

อย่างไรก็ตาม พบว่า การปลูกข้าวในเขตลุ่มแม่น้ำโขงมีปัญหาการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล นอกจากนี้ ยังพบว่าบางพื้นที่ของภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่สามารถปลูกข้าวได้ตลอดทั้งปี เนื่องจากมีระบบชลประทานที่ดีขึ้น ส่งผลให้พื้นที่ดังกล่าวมีสภาพเหมาะสมเอื้อประโยชน์ต่อการสะสมของโรคและแมลง โดยเฉพาะเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญของระบบการปลูกข้าว เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Brown planthopper: Nilaparvata lugens* Stal) สามารถเข้าทำลายต้นข้าวได้ในทุกระยะของการเจริญเติบโต ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยจะดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นข้าวทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์โปรตีน และคาร์โบไฮเดรตในต้นข้าวลดลง อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง เจริญเติบโต และการให้ผลผลิตข้าวลดลงส่งผลให้ต้นข้าวแสดงอาการ hopperburn จากการรายงานของกรมส่งเสริมการเกษตร (2555) การระบาดศัตรูข้าวพบเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในพื้นที่ 22 จังหวัด ระหว่างวันที่ 29 มีนาคม ถึง 4 เมษายน 2555 พบเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลใน 20 จังหวัด จำนวน 102 อำเภอ รวมพื้นที่ 1,114,330 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 13.41 ของพื้นที่ปลูกข้าวทั้งหมด

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลพบมีการระบาดเป็นครั้งแรกในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือเข้าทำลายต้นข้าวที่อยู่ในระยะแตกกอช่วงอายุประมาณ 40-60 วัน และอายุมากกว่า 60 วัน มีการระบาดกินพื้นที่บริเวณกว้างกว่า 60,000 ไร่ จำนวน 6 จังหวัด ได้แก่ ศรีสะเกษ อุบลราชธานี อำนาจเจริญ ยโสธร สุรินทร์ และ สกลนคร (กรมการข้าว, 2557) อย่างไรก็ตาม เนื่องจากพื้นที่ปลูกข้าวในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พื้นที่ปลูกข้าวส่วนใหญ่มีการปลูกข้าวเหนียว พันธุ์ที่นิยมปลูกกันมาก คือ กข6 ซึ่งไม่มีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยพื้นที่ปลูกประมาณ

90 เปอร์เซนต์ ใช้วิธีหว่านเมล็ดข้าวแห้งแทนการปักดำ ดังนั้น การระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในพื้นที่ดังกล่าวจะส่งผลกระทบต่อความมั่นคงทางด้านอาหารของเกษตรกรเป็นอย่างมาก ถ้าหากพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนบริเวณลุ่มน้ำโขงมีสายพันธุ์ข้าวเหนียวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลก็จะประโยชน์อย่างสูงสุดของเกษตรกรผู้ปลูกข้าวเหนียวในเขตปลูกข้าวบริเวณนี้

การป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีหลายวิธี เช่น การใช้สารเคมีฉีดพ่น หรือการฉีดพ่นน้ำหมักชีวภาพ เชื้อราบิวเวอร์เรีย และป้องกันโดยศัตรูธรรมชาติ แต่วิธีการป้องกันที่มีประสิทธิภาพยั่งยืนและเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมคือ การใช้พันธุ์ต้านทาน เนื่องจากการใช้ข้าวพันธุ์ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจะช่วยให้เกษตรกรลดต้นทุนการผลิตอันเนื่องจากการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ดังนั้น การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวให้ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจึงเป็นการป้องกันการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลอย่างยั่งยืน และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมอย่างแท้จริง

เกษตรกรส่วนใหญ่ในพื้นที่ปลูกข้าวลุ่มน้ำโขงบริโภคข้าวเหนียวเป็นอาหารหลัก จึงทำให้วิถีชีวิตของเกษตรกรผูกพันกับข้าวเหนียวมาเป็นระยะเวลายาวนาน การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะต้านทานหลายลักษณะพร้อมกัน (multiple stress tolerance) นั้นกระทำได้ยากโดยการปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม (conventional breeding) เนื่องจากจะคัดเลือกต้นข้าวจากลักษณะที่ปรากฏ หรือฟีโนไทป์ ดังนั้น การแสดงออกของลักษณะดังกล่าวข้างต้น จึงมีอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง ทำให้เกิดความคาดเคลื่อนในการคัดเลือกลักษณะดังกล่าว และการทดสอบลักษณะต้านทานโรค และแมลง ต้องใช้แรงงาน ระยะเวลา และค่าใช้จ่ายสูง และที่สำคัญไม่สามารถคัดเลือกหลายลักษณะได้พร้อมๆ กัน เช่น ลักษณะต้านทานโรค ต้านทานแมลง ลักษณะทนทานต่อน้ำท่วมฉับพลัน และลักษณะคุณภาพการหุงต้ม เป็นต้น ปัจจุบันเทคโนโลยีชีวภาพเข้ามามีบทบาทมากขึ้นในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว มีการประยุกต์ใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือก (MAS) ร่วมกับการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม ดังนั้น การปรับปรุงพันธุ์ให้มีลักษณะต้านทานหลายลักษณะพร้อมกันจึงสามารถกระทำได้ โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก ซึ่งเป็นการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการคัดเลือก มีความแม่นยำสูง เนื่องจากการคัดเลือกจีโนไทป์โดยตรงไม่มีอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง และสามารถคัดเลือกได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้า ไม่ทำลายต้นพืชที่สำคัญคือ สามารถคัดเลือกได้หลายลักษณะพร้อมกัน (สุรพร เกตุงาม, 2546)

ปัจจุบันมีการค้นพบตำแหน่งยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Bph3* ซึ่งมีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซม 6 และมีรายงานความสำเร็จในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเจ้า ได้แก่ ข้าวดอกมะลิ 105 และข้าวชัยนาท 1 ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก (จิรพงศ์ ไกรรินทร์ และคณะ, 2552; เจตน์ ศฤกษ์ และคณะ, 2554) แต่พบว่ายังไม่มีเชื้อพันธุ์กรรมข้าวเหนียวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) บนโครโมโซม 6 ที่ได้รับพันธุ์กรรมต้านทานจากข้าวพันธุ์ Rathu Heenati ดังนั้น การพัฒนาสายพันธุ์เหนียวหอมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มียีนต้านทาน *Bph3* โดยใช้ฐานพันธุ์กรรมของข้าวสายพันธุ์ IR57514 ที่มีลักษณะสำคัญ เช่น ทนแล้ง ทนน้ำท่วมฉับพลัน ให้ผลผลิตสูง ต้านทานโรคไหม้แบบกว้าง และสามารถปรับตัวได้ดีในพื้นที่ปลูกนาข้าวในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จึงเป็นแนวทางการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวเพื่อเตรียมความพร้อมต่อสภาวะอากาศที่เปลี่ยนแปลงแปลงโดยมีความสามารถในการต้านทานต่อ

สภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม รวมทั้งให้มีลักษณะต้านทานโรคไหม้และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในพื้นที่ปลูกข้าวบริเวณลุ่มแม่น้ำโขง

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1.2.1. เพื่อค้นหาตำแหน่งของ QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514
- 1.2.2. เพื่อพัฒนาสายพันธุ์ข้าวเหนียวหอมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มียีน *Bph3* จากฐานพันธุ์กรรมข้าวสายพันธุ์ IR57514 เพื่อใช้ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเหนียว

บทที่ 2

การตรวจเอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้าวและความสำคัญของข้าว

ข้าว เป็นธัญพืชมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Oryza sativa* L. จัดอยู่ในวงศ์ Gramineae ถือได้ว่าเป็นทรัพยากรทางอาหารที่สำคัญหลักที่ให้คาร์โบไฮเดรตที่สำคัญในการดำรงชีวิตของประชากรโลก โดยข้าวปลูกถูกแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ ข้าวแอฟริกา (*Oryza glaberrima* Steud.) ปลูกเฉพาะในเขตร้อนของทวีปแอฟริกาเท่านั้น และ ข้าวเอเชีย (*Oryza sativa* L.) ปลูกทั่วไปทุกประเทศ และข้าวชนิดนี้ยังสามารถแยกออกได้เป็นเป็น 3 กลุ่ม คือ อินดิกา (indica) จาปอนิกา (japonica) และ จาวานิกา (javanica) ข้าวอินดิกาเป็นข้าวที่ปลูกในประเทศต่างๆในเขตร้อน เช่น ศรีลังกา อินเดีย อินโดนีเซีย บังกลาเทศ ฟิลิปปินส์ เวียดนาม พม่า ลาว และ ไทย และข้าวจาปอนิกา เป็นข้าวที่ปลูกในเขตประเทศเขตอบอุ่นประเทศ เช่น จีนตอนเหนือ และ ตะวันออก ญี่ปุ่น เกาหลี ส่วนข้าวจาวานิกา เป็นข้าวที่ปลูกในประเทศอินโดนีเซียเท่านั้น

ข้าวถือเป็นพืชชนิดหนึ่งที่จัดได้ว่ามีความหลากหลายทางพันธุกรรม โดยมีลักษณะของจีโนมที่มีความแตกต่างกันซึ่งพันธุกรรมหรือยีนในจีโนมนี้ทำให้ข้าวมีลักษณะทางการเกษตรต่างๆที่แตกต่างกันออกไป เช่น ลักษณะความสูง ลักษณะรวง ลักษณะเมล็ด และลักษณะต้านทานโรคและแมลง ไปจนถึงการให้ผลผลิตที่แตกต่างกันเป็นต้น (ภาพที่ 2.1) โดยในโลกมีได้แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ได้แก่ ข้าวปลูก และข้าวป่า ตามลำดับ โดยข้าวปลูกยังสามารถแยกออกเป็น 2 ชนิด (*Oryza sativa* L. และ *Oryza glaberrima* Steud.) โดยข้าวกลุ่มนี้จะมีจำนวนโครโมโซม $12 (2n=2x=24)$ มีจีโนมชนิด AA ส่วนข้าวป่ามีจำนวน 22 ชนิด ซึ่งถือว่าเป็นตัวแทนของข้าวบนโลกที่มีวิวัฒนาการ และการคัดเลือกโดยธรรมชาติ โดยข้าวป่าทั้งหมดนี้จะมีจำนวนโครโมโซม 12 และ 24 ($2n=2x=24$ และ 48) ตามลำดับ มีจีโนมที่แตกต่างกันออกไป ประกอบด้วย AA, BB, CC, BBCC, CCDD, EE, FF, GG, KKLL, และ HHJJ ตามลำดับ (Zhang and Wing, 2013) โดยปัจจุบันได้มีการจัดกลุ่มของข้าวเหล่านี้โดยใช้ทั้งลักษณะฟีโนไทป์ต่างๆ หรือแม้แต่การใช้ลำดับเบสของแต่ละสายพันธุ์ในการจัดกลุ่ม เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของจีโนม ซึ่งปัจจุบันได้นำเทคโนโลยีเข้ามาช่วยในการค้นหา ลำดับเบสทั้งจีโนมของข้าวจำนวน 3,000 สายพันธุ์ ที่เก็บรวบรวมจากทั่วทุกมุมโลก เพื่อเร่งค้นหา พันธุกรรมดีต่าง ๆ จากพันธุ์ข้าวเหล่านี้ (Li, Wang and Zeigler, 2014) เป็นการเตรียมข้อมูลเบื้องต้นในการใช้ประโยชน์ทางพันธุกรรมของข้าวเหล่านี้ในการพัฒนาสายพันธุ์ข้าว เพื่อบรรเทาผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศและการสูญเสียที่ดินทำกิน เพื่อเพิ่มศักยภาพในการให้ผลผลิตของข้าวในแต่ละพื้นที่ให้มีผลผลิตข้าวที่เพียงพอต่อการบริโภคของประชากรทั้งในประเทศ และต่างประเทศ เป็นการสร้างความมั่นคงทางด้านอาหารเพื่อพัฒนาคุณภาพชีวิตและความเป็นอยู่ของประชาชน



ภาพที่ 2.1 ชนิดของจีโนม ลักษณะทางการเกษตรต่างๆ ของข้าวปลูกจำนวน 2 ชนิด และตัวแทน
ของข้าวป่า จำนวน 10 ชนิด ตามลำดับ
ที่มา: Zhang and Wing (2013)

จากความหลากหลายของข้าวดังที่ได้กล่าวไว้ข้างต้น ในประเทศไทยข้าวถือเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญลำดับต้นๆ ของประเทศ เนื่องจากข้าวเป็นอาหารหลักของคนไทย ผลผลิตข้าวมากกว่าร้อยละ 55 ถูกนำมาใช้ในการบริโภคของคนในประเทศ ส่วนที่เหลืออีกประมาณร้อยละ 45 ส่งออกไปยังตลาดต่างประเทศ โดยการส่งออกข้าวจำหน่ายทั้งตลาดภายในประเทศ และต่างประเทศ สินค้าข้าวที่ส่งออกมีคุณภาพสูงเป็นที่ยอมรับของทั่วโลก โดยเฉพาะข้าวหอมมะลิมีปริมาณการส่งออกในปี พ.ศ. 2555 จำนวนหลายล้านตัน คิดเป็นมูลค่าประมาณ 57 หมื่นล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2556) ปัจจุบันมีการส่งออกข้าวไทยไปประเทศต่างๆ ทั่วโลกมากกว่า 160 ประเทศ ในจำนวนปีละประมาณ 7 ล้านตัน โดยไทยมีส่วนแบ่งการตลาดประมาณร้อยละ 30 ของปริมาณการค้าข้าวของโลก คู่แข่งที่สำคัญของไทยคือ เวียดนาม จีน อินเดีย และสหรัฐอเมริกา โดยมีตลาดข้าวที่สำคัญคือ ประเทศแถบเอเชียและตะวันออกกลาง ซึ่งมีประเทศคู่ค้าที่สำคัญคือ อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ จีน อิหร่าน และซาอุดีอาระเบีย ประเทศไทยนอกจากเป็นผู้ส่งออกข้าวรายใหญ่ของโลกแล้ว ยังเป็นผู้ส่งผลิตภัณฑ์แปรรูปจากข้าวในรูปแบบต่างๆ เช่น ผลิตภัณฑ์แป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวเหนียว เส้นหมี่ เส้นก๋วยเตี๋ยว และขนมกบกรอบ รวมทั้งผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางชนิดต่างๆ ซึ่งในปัจจุบันมีการแปรรูปข้าวเพื่อเพิ่มมูลค่าที่หลากหลาย การบริโภคข้าวในปัจจุบันมีอัตราที่สูงขึ้นมากกว่าในอดีตอย่างมาก มีการคาดการณ์ว่าความต้องการบริโภคข้าวจะเพิ่มมากถึง 40 เปอร์เซ็นต์ ในปี 2030 หรือ พ.ศ. 2573 (Khush, 2005)

ปัจจุบันประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวทั่วทั้งประเทศประมาณ 66 ล้านไร่ ได้ผลผลิตข้าวเปลือกประมาณ 36.175 ล้านตัน คิดเป็นมูลค่ากว่า 143 แสนล้านบาท (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2556) โดยเป็นพื้นที่ปลูกข้าวเจ้าประมาณ 45 ล้านไร่ และเป็นพื้นที่ปลูกข้าวเหนียวประมาณ 21 ล้านไร่ โดยข้าวเหนียวเป็นที่นิยมปลูกกันมากในเขตทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคกลางบางส่วนของประเทศไทย โดยสายพันธุ์ข้าวเหนียวที่นิยมปลูกกันมากในประเทศไทยคือ

ข้าวพันธุ์ กข6 เนื่องจากเป็นพันธุ์ข้าวเหนียวที่สุกแล้วอ่อนนุ่ม และมีกลิ่นหอม โดยมีพื้นที่ปลูกประมาณ 15.3 ล้านไร่ และคิดเป็น 26.77 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ปลูกข้าวทั้งหมด อย่างไรก็ตามข้าวพันธุ์ดังกล่าว มีความอ่อนแอต่อโรคขอบใบแห้ง โรคไหม้ และการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (กรมการข้าว, 2556) ซึ่งเป็นปัญหาหลักของพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝน

2.1.1 ข้าวเจ้า และข้าวเหนียว

การจำแนกข้าวที่ใช้บริโภคตามคุณสมบัติของเมล็ดข้าว โดยคุณสมบัติของเมล็ดข้าวจะประกอบด้วยแป้งส่วนใหญ่ 2 ชนิดคือ อะไมโลเพคติน (amylopectin) และอะไมโลส (amylose) โดยที่แป้งอะไมโลเพคติน จะทำให้เมล็ดข้าวมีสีข้าวขุ่น เวลาต้มสุกแล้วจะเหนียว ส่วนแป้งอะไมโลส จะทำให้ข้าวมีสีข้าวใส เมื่อต้มสุกจะมีสีข้าวขุ่นและร่วน จากการจำแนกโดยดูจากคุณสมบัติของแป้งในเมล็ด สามารถจำแนกได้ 2 ชนิด ดังนี้

ข้าวเจ้า (non-glutinous rice) โดยทั่วไปนั้นมีลักษณะเมล็ดข้าวสารใส เมื่อข้าวสุกจะมีสีข้าวขุ่นและร่วนกว่าข้าวเหนียว โดยข้าวเจ้านั้นจะมีปริมาณอะไมโลเพคตินสูง ประมาณ 70-90 เปอร์เซ็นต์ ที่เหลือเป็นอะไมโลส ซึ่งข้าวแต่ละสายพันธุ์เมื่อหุงสุกแล้วจะมีความเหนียวนุ่มแตกต่างกันตามปริมาณอะไมโลสในเมล็ด ซึ่งอยู่ประมาณระหว่าง 10-30 เปอร์เซ็นต์ ตัวอย่างข้าวเจ้าพันธุ์ดีที่ทางการแนะนำ ได้แก่ ข้าวดอกมะลิ 105, ขาวตาแห้ง 17, เหลืองปะทิว 123, กำผาย 41, กข1, กข5 และ กข7 เป็นต้น

ข้าวเหนียว (glutinous rice or sticky rice) โดยทั่วไปเป็นข้าวที่มีเมล็ดข้าวสารสีข้าวขุ่น เมื่อนึ่งแล้วจะได้ข้าวสุกที่จับตัวติดกัน เหนียวแน่น และมีลักษณะใส ประกอบด้วยแป้งชนิดอะไมโลเพคติน เป็นส่วนใหญ่ ประมาณ 95-100 เปอร์เซ็นต์ และมีแป้งอะไมโลส อยู่เพียงเล็กน้อย ประมาณ 0-5 เปอร์เซ็นต์ หรือไม่มีเลย (อรอนงค์ นัยวิกุล, 2550) ส่วนพันธุ์ข้าวเหนียวที่ทางการแนะนำ ได้แก่ เหนียวสันป่าตอง, กข2, กข4, กข6, กข8 และ กข10 เป็นต้น

ลักษณะทางพันธุกรรมที่ควบคุมความปริมาณแป้งภายในเมล็ดข้าว ที่สามารถทำให้แยกชนิดของข้าวออกเป็นข้าวเหนียว และข้าวเจ้าได้นั้น เกิดจากการถ่ายทอดทางพันธุกรรมของยีน *Waxy* (*Wx*) ซึ่งมีตำแหน่งบนโครโมโซม 6 โดยยีนดังกล่าวมีหน้าที่ในการสังเคราะห์เอนไซม์ที่มีชื่อว่า granule bound starch synthase I (GBSSI) ที่จำเป็นต่อกระบวนการสังเคราะห์อะไมโลสในเมล็ดข้าว (กมลวรรณ เรียบร้อย, 2554; Wanchana et al., 2003a; Mikami et al., 2008) จึงทำให้ปริมาณอะไมโลสในเมล็ดข้าวมีปริมาณที่แตกต่างแตกต่างกัน ซึ่งต่อมา มีการค้นพบการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสตรงบริเวณตำแหน่งของยีน *Waxy* โดย Wanchana et al. (2003a) ได้พบว่าการเพิ่มขึ้นของเบสจำนวน 23 เบส บริเวณ exon2 ของ *Waxy* gene มีผลทำให้ข้าวเจ้าเปลี่ยนเป็นข้าวเหนียว นอกจากนี้ในปี 2008 ทีมวิจัยของ Mikami et al. (2008) ได้รายงานว่า นอกเหนือจากรูปแบบของอัลลีลของยีน *Waxy* จำนวน 3 อัลลีล (Wx^a , Wx^b และ wx) ที่มีหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของลักษณะปริมาณอะไมโลส ยังพบว่าการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสตรงตำแหน่งยีนดังกล่าวอีก ซึ่งจากการเปลี่ยนแปลงลำดับเบสตรงตำแหน่งต่างๆ ของยีน *Waxy* บนโครโมโซม 6 นี้ทำให้สามารถจัดแบ่งประเภทข้าวตามชนิดอัลลีลของยีน *Waxy* ได้จำนวน 5 กลุ่ม (ตารางที่ 2.1)

ตารางที่ 2.1 การแบ่งประเภทของข้าวตามระดับปริมาณอะไมโลสที่ได้จากอัลลีลของยีน *Waxy* บนโครโมโซม 6

ลำดับ	ประเภทข้าว	ปริมาณอะไมโลส (%)	อัลลีลของยีน <i>Waxy</i>
1	ข้าวเหนียว	0 – 2	<i>wx</i>
2	ข้าวเจ้าอะไมโลสต่ำมาก	3 – 9	<i>Wx^{op}</i>
3	ข้าวเจ้าอะไมโลสต่ำ	10 – 19	<i>Wx^b</i>
4	ข้าวเจ้าอะไมโลสปานกลาง	20 – 25	<i>Wxⁱⁿ</i>
5	ข้าวเจ้าอะไมโลสสูง	มากกว่า 25	<i>Wx^o</i>

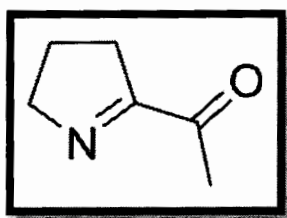
ที่มา: กมลวรรณ เรียบร้อย (2554); Mikami et al. (2008)

2.1.2 ความหอมของข้าว (fragrance in rice)

ลักษณะความหอมในข้าวถือได้ว่าเป็นลักษณะเด่นที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของการค้าข้าวในตลาดโลก ถือเป็นปัจจัยลำดับต้นๆของการกำหนดคุณภาพ และราคาของข้าว โดยข้าวหอมจัดเป็นข้าวที่มีคุณภาพสูง (high premium) เป็นที่ต้องการของผู้บริโภคทั่วโลก เช่น ข้าวหอมมะลิของประเทศไทย และข้าวบาสมати (Basmati) ของอินเดียและปากีสถาน ถือเป็นข้าวหอมที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคมากที่สุด (Sakthivel et al., 2009) โดยข้าวหอมมะลิจจะมีกลิ่นหอมคล้ายดอกไม้ (flowery aroma) ส่วนข้าวบาสมามีกลิ่นหอมคล้ายถั่ว (nutty aroma) ซึ่งจะเห็นได้ว่าข้าวแต่ละพันธุ์จะมีกลิ่นหอมที่แตกต่างกันไปตามพันธุกรรมในข้าวพันธุ์นั้นๆ นอกจากข้าวหอมทั้งสองพันธุ์นี้แล้วยังมีข้าวหอมอีกหลายพันธุ์ที่เกษตรกรนิยมปลูก เช่น ข้าวพันธุ์ Della และ Dellmont ของประเทศสหรัฐอเมริกา พันธุ์ Goolarah ของประเทศออสเตรเลีย พันธุ์ Hieri ของประเทศญี่ปุ่น พันธุ์ Malagkit Sungsong และ Milagrosa ของประเทศฟิลิปปินส์ พันธุ์ Seratus Malam ของประเทศอินโดนีเซีย เป็นต้น (กมลวรรณ เรียบร้อย และคณะ, 2556; Sakthivel et al., 2009)

กลิ่นหอมของข้าวเกิดจากการผสมผสานของสารระเหยมากกว่า 200 ชนิด ได้แก่ acetone, toluene, ethylbenzene hydrocarbon, alcohol, aldehyde, ketone, acid, ester, phenol, pyridine, pyrazine 2-acetyl-1-pyrroline, alkanal, alk-2-enal, alka-2,4-dienal, 2-pentylfuran, 2-phenylethanol, 2-aminoacetophenone และ 3-hydroxy-4,5-dimethyl-2 (5H) furanone และอื่นๆ ที่ส่งผลต่อการแสดงออกของยีนความหอม (Vanavichit and Yoshihashi, 2010; Mahatheeranont et al., 2001; Yajima et al., 1979; Buttery et al., 1982; Petrov et al., 1996) แต่มีสารที่เป็นองค์ประกอบหลักที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวนซึ่งทำหน้าที่ในการสร้างกลิ่นหอมของข้าว คือ สาร 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) ซึ่งพบมากในพืชตระกูลใบเตย (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) โดยสารชนิดนี้มีกลิ่นหอมคล้ายใบเตย หรือกลิ่นข้าวโพดคั่ว สามารถพบได้ทุกส่วนของต้นข้าว ยกเว้นบริเวณราก (Buttery et al., 1983) ลักษณะกลิ่นหอมจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับระดับปริมาณของสาร 2AP โดยในพืชตระกูลใบเตยพบว่ามีปริมาณเข้มข้นของ 2AP สูงกว่าข้าวหอมประมาณ 10 เท่า และสูงกว่าข้าวไม่หอมถึง 100 เท่า (กมลวรรณ เรียบร้อย และคณะ, 2556; ไวกัญ กันจุง และคณะ, 2556)

สารหอม 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า 5-acetyl-3,4-dihydro-2H-pyrroline เป็นสารประกอบในกลุ่ม pyrrole มีลักษณะโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนห้าเหลี่ยมที่มีไนโตรเจน (nitrogen; N) เกาะอยู่ภายในวงแหวน โดยจะมีพันธะคู่ 1 พันธะ ระหว่างคาร์บอน (C) กับไนโตรเจน (N) และมีหมู่ acetyl เกาะกับคาร์บอนตรงตำแหน่งที่สอง โดยมีสูตรโครงสร้างทางเคมี คือ C_6H_9NO ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับกรดอะมิโน proline (ภาพที่ 2.2) พบในข้าวหอมทุกพันธุ์ และสามารถพบได้ในพืชอีกหลายชนิด เช่น ใบเตย (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) ข้าว (*Oryza sativa* L.) ดอกขมनाด (*Vallis glabra* Ktze) ข้าวสาลี (*Triticum aestivum* L.) ข้าวฟ่าง (*Sorghum bicolor* (Linnaeus) Moench) ถั่วเหลือง (*Glycine max*) *Bacillus cereus* bakers' yeast เสือโคร่ง (*Panthera tigris tigris*) เป็นต้น (Ariket et al., 2011)



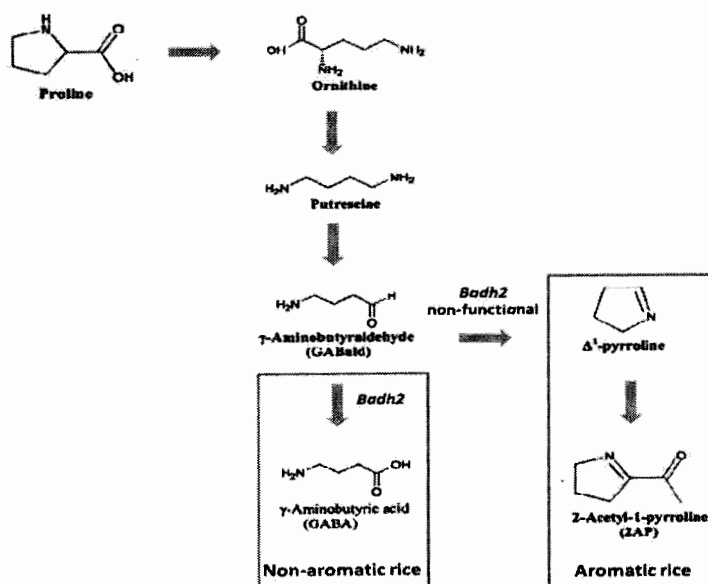
ภาพที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของสาร 2-acetyl-1-pyrroline (2AP)

ที่มา: Bradbury et al. (2008)

ลักษณะความหอมในข้าวถูกควบคุมด้วยยีนด้อย (recessive gene) ที่เรียกว่า *badh2* gene (betaine aldehyde dehydrogenase homologue 2) หรือ *OS2AP* gene (*Oryza sativa* 2-acetyl-1-pyrroline) หรือ *fgr* gene (fragrance gene) มีตำแหน่งบนโครโมโซม 8 (Ahn et al., 1992; Lorieux et al., 1996; Bradbury et al., 2005; Wanchana et al., 2005; Chen et al., 2006) นอกจากยีนด้อยบนโครโมโซม 6 แล้วจากนั้นอีกไม่นานมีกลุ่มนักวิจัยที่ศึกษาเกี่ยวกับยีนความหอมในข้าวได้รายงานไว้ว่า ลักษณะความหอมถูกควบคุมด้วยยีน *badh1* ซึ่งมีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซม 4 แต่อย่างไรก็ตามยีน *badh2* ยังคงเป็นยีนหลัก (major gene) ที่มีอิทธิพลต่อลักษณะความหอมมากกว่ายีน *badh1* (Amarawathi et al., 2008; Vanavichit and Yoshihashi, 2010)

การค้นพบยีนความหอมในข้าว โดยทีมนักวิจัยจากหน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ได้ประสบความสำเร็จในการค้นพบยีนความหอมในข้าวหอมพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ของประเทศไทย ในการสร้างแผนที่ทางพันธุกรรม และแผนที่ทางกายภาพอย่างละเอียด โดยใช้ข้าวสายพันธุ์คู่แฝด (isogenic line) ของข้าวหอมพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ทำให้พบว่า มีการขาดหายของนิวคลีโอไทด์จำนวน 8 เบส (8 bp deletion) บริเวณเอ็กซอน 7 ของยีน *Os2AP* (*badh2*) บนโครโมโซม 8 จากการขาดหายไปของเบสทั้งแปดทำให้เกิดการหยุดการแปลรหัสก่อนกำหนด (premature stop codon) ส่งผลให้ข้าวมีกลิ่นหอม ซึ่งสอดคล้องกับของ Bradbury et al. (2005) ที่มีการรายงานไว้ว่า พบการขาดหายไปของลำดับนิวคลีโอไทด์จำนวน 8 เบส บริเวณเอ็กซอน 7 ของยีน *badh2* บนโครโมโซม 8 ในข้าวพันธุ์ Kyeema

ด้วยความก้าวหน้าทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทำให้สามารถศึกษากระบวนการสังเคราะห์สารหอมมีความก้าวหน้ามากขึ้น ซึ่งพบว่า สาร 2AP ถูกสังเคราะห์ในวิถี polyamine และมีกรดอะมิโน proline เป็นสารตั้งต้น โดยยีนเด่น *Badh2* บนโครโมโซม 8 มีความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์ ประมาณ 5,800 คู่เบส ประกอบไปด้วย เอ็กซอน (exon) จำนวน 15 เอ็กซอน และอินตรอน (intron) จำนวน 14 อินตรอน ยีนจะทำงานอย่างสมบูรณ์จำเป็นต้องมีการสร้างกรดอะมิโนจำนวน 503 ชนิด (Bradbury et al., 2005; Chen et al., 2008; Shi et al., 2008) ซึ่งยีน *Badh2* นี้ จะทำหน้าที่ในการสังเคราะห์เอนไซม์ Betaine aldehyde dehydrogenase (BADH) หรือเอนไซม์ amino aldehyde dehydrogenase (AMADH) จากการควบคุมของยีน *Badh2* (*Os2AP*) เพื่อทำหน้าที่เปลี่ยนจากสาร γ -aminobutyraldehyde (GABald) เป็นสาร γ -aminobutyric acid (GABA) แต่เมื่อยีนเกิดการกลายพันธุ์เป็นยีนด้อย (*badh2*) หรือข้าวพันธุ์อื่นๆ มียีนตำแหน่งนี้เป็นยีนด้อย จะส่งผลทำให้ไม่สามารถสังเคราะห์เอนไซม์ BADH เพื่อไปเปลี่ยนสาร GABald เป็นสาร GABA ได้ ข้าวจึงมีการสร้างสาร 2AP ขึ้นมาแทน ทำให้ข้าวต้นนั้นหรือพันธุ์นั้น มีกลิ่นหอม โดยกระบวนการสร้างสาร 2AP ในข้าวหอม พบว่า ยีน *badh2* เกี่ยวข้องกับการสร้างโปรตีนควบคุมความหอมในข้าว และการสังเคราะห์สาร 2AP เกิดขึ้นในวัฏจักร polyamine (polyamine pathway) โดยกระบวนการดังกล่าวเปลี่ยนสารตั้งต้น proline เป็นกรดอะมิโน GABA ผ่านเส้นทางของ polyamide จากนั้นจะเปลี่ยนเป็น ornithine และ putrescine ตามลำดับ (Vanavichit et al., 2005) (ภาพที่ 2.3) ยีน *Badh2* บนโครโมโซม 8 แล้ว Bradbury et al. (2008) ได้ให้เหตุผลว่ายีน *Badh1* บนโครโมโซม 4 อาจจะมีสารตั้งต้นเป็น GABald เช่นเดียวกับ *Badh2* ซึ่งเมื่อยีน *Badh1* ทำงานปกติจะส่งผลให้การสะสมของสาร 2AP ลดลง และการสูญเสียหน้าที่ของยีน *Badh1* (ระดับการแสดงออกของยีนให้น้อยลง) อาจส่งผลในการเพิ่มการสะสมของสารหอม 2AP ในข้าวหอมให้สูงขึ้นได้ (Amarawathi et al., 2008)



ภาพที่ 2.3 กระบวนการสังเคราะห์สาร 2-acyl-1-pyrroline (2AP) ในข้าว
ที่มา: Bradbury et al. (2008)

อย่างไรก็ตามระดับของกลิ่นหอมของข้าวที่มาจากปริมาณสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) ยังคงมีปัจจัยอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องต่อความสามารถในการให้ความหอมที่แตกต่างกันในข้าวแต่ละพันธุ์ และแต่ละสภาพแวดล้อมที่ปลูก (Itani et al., 2004; Yoshihashi, 2002) ตัวอย่างเช่นข้าวหอมมะลิของประเทศไทยเมื่อใช้พันธุ์ข้าวปลูกเดียวกันแต่ต่างกันเฉพาะพื้นที่ปลูก เช่น ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ หรือแม้แต่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือเหมือนกันแต่คนละพื้นที่ระดับความหอมของข้าวที่ได้ยังมีระดับที่แตกต่างกัน โดยข้าวขาวดอกมะลิที่ปลูกในบริเวณทุ่งกุลาร้องไห้จะผลิตข้าวที่มีความหอมในปริมาณสูง (strong aroma) เนื่องจากเป็นพื้นที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์ของดินต่ำ มีลักษณะเป็นดินทราย และมีกบประสบปัญหาความแห้งแล้ง โดยเฉพาะในช่วงที่ข้าวอยู่ในระยะเมล็ดสุกแก่ (ripening stage) ซึ่งปัจจัยดังกล่าวน่าจะเป็นสิ่งหนึ่งที่ส่งเสริมให้มีการแสดงออกของยีนความหอมตามส่วนต่างๆ ของต้นข้าว ทำให้มีปริมาณสารหอม 2AP สูงขึ้น (Yoshihashi, Nguyen and Kabaki, 2004) ทำนองเดียวกับข้าวหอม Basmati ที่ปลูกในพื้นที่ Punjab ของประเทศอินเดีย และปากีสถาน ผลผลิตข้าวที่ได้จะมีประสิทธิภาพในการให้ความหอมสูงมากกว่าพื้นที่ปลูกข้าวบริเวณอื่นๆ (Itani et al., 2004) จากปัจจัยของสภาพพื้นที่ปลูกมีผลต่อปริมาณสารหอม 2AP Wanchana et al., (2003b) พบว่า การแสดงออกของยีน *Badh1* บนโครโมโซม 4 มีมากขึ้นในสภาพแล้งและดินเค็ม โดยไม่มีการตอบสนองในยีน *Badh2* ดังนั้น การผลิตข้าวหอมในพื้นที่ปลูกข้าวที่มีสภาพดินเค็ม และมีความแห้งแล้ง คาดว่าน่าจะมีผลให้ข้าวมีความหอมมากขึ้น

2.2 ปัญหาการปลูกข้าวในเขตพื้นที่อาศัยน้ำฝนบริเวณลุ่มแม่น้ำโขง

การปลูกข้าวในเขตบริเวณลุ่มแม่น้ำโขง พื้นที่ส่วนใหญ่เป็นพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝน ซึ่งจัดเป็นพื้นที่ปลูกข้าวที่สำคัญแห่งหนึ่งของโลก ครอบคลุมพื้นที่มากถึง 5 ประเทศ ได้แก่ พม่า ไทย ลาว กัมพูชา และเวียดนาม จากการเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศ อันเนื่องมาจากภาวะเรือนกระจกหรือที่เรียกกันว่า ภาวะโลกร้อน ถือได้ว่าเป็นวิกฤตการณ์ที่ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตอย่างมาก ทั้งสภาวะร้อนจัด หนาวจัด น้ำท่วม และฝนแล้งซึ่งนับวันยิ่งทวีรุนแรงขึ้นเรื่อยๆ อย่างที่ไม่เคยเป็นมาก่อน สภาพเช่นนี้ไม่เพียงแต่ส่งผลกระทบต่อมนุษย์โดยตรงแล้ว แต่ยังส่งผลกระทบต่อระบบการปลูกข้าว ซึ่งเป็นธัญพืชอาหารที่สำคัญชนิดหนึ่งของโลก โดยมากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ปลูกข้าวในเขตนี้ มักประสบปัญหาสำคัญ คือ ปริมาณน้ำฝน ฝนทิ้งช่วง น้ำท่วมฉับพลัน และการระบาดของโรคและแมลง โดยเฉพาะโรคไหม้ และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล สร้างความเสียหายต่อผลผลิตข้าวเป็นอย่างมาก (Toojinda et al., 2005)

2.2.1 โรคไหม้ (blast disease)

โรคไหม้ ถือเป็นโรคที่สำคัญลำดับต้นๆของระบบการปลูกข้าว สร้างความเสียหายให้กับผลผลิตข้าวทั่วโลกมากกว่า 85 ประเทศ (Babujee and Gnanamanickam, 2000) โรคชนิดนี้ส่งผลกระทบต่ออย่างมากที่สุดต่อพื้นที่ปลูกข้าวในทวีปเอเชีย เช่น จีน อินเดีย ฟิลิปปินส์ เกาหลี และไทย เป็นต้น เนื่องจากสภาพแวดล้อมมีความเหมาะสมต่อการระบาดของโรค ประกอบกับโรคไหม้มีความสามารถเข้าทำลายข้าวได้ในทุกระยะของการเจริญเติบโต มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Pyricularia grisea* Sacc ส่งผลให้ผลผลิตของข้าวลดลง โดยพบการระบาดรุนแรงในเขตพื้นที่ปลูกข้าวที่มีอากาศหนาวเย็น พื้นที่สูง และมีความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศสูง ถือเป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการระบาดของโรคนี้ ซึ่งอุณหภูมิต่ำ และความชื้นสูงจะเป็นปัจจัยในการกระตุ้นให้เชื้อก่อโรคเข้าทำลายต้นข้าว

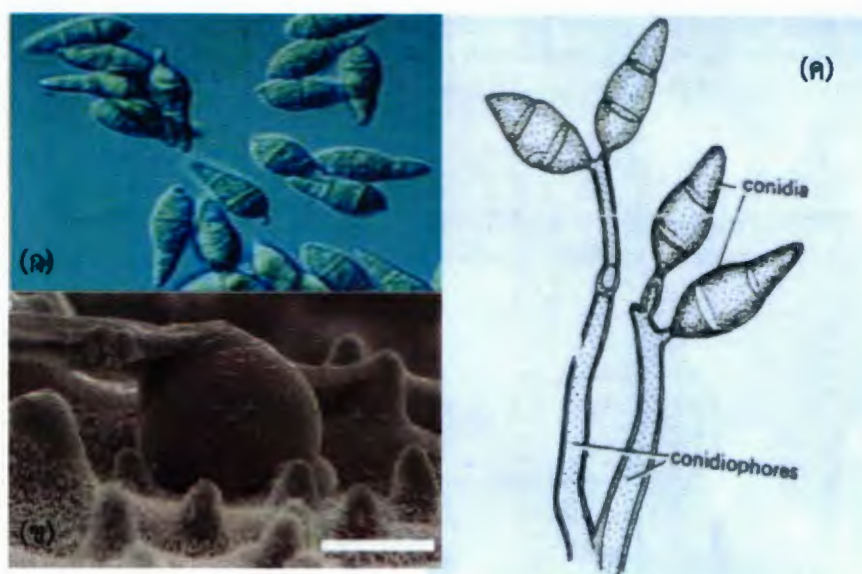
2.2.1.1 เชื้อสาเหตุโรคไหม้ และวงจรการเข้าทำลาย

เชื้อรา *P. grisea* จัดเป็นราชั้นสูงในกลุ่ม deuteromycotina หรือ anamorph phase (imperfect stage) ซึ่งเป็นเชื้อราที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (asexual reproduction) แต่เมื่อมีสภาพแวดล้อมเหมาะสมเชื้อราโรคไหม้จะสร้างแอสโคสปอร์ ซึ่งเป็นการการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual reproduction) ซึ่งจะเรียกเชื้อราชนิดนี้ว่า *Magnaporthe grisea* จัดอยู่ในกลุ่ม ascomycotina เป็น teleomorph (perfect stage) ของเชื้อรา *P. grisea* ลักษณะทางพันธุกรรมมีจำนวนโครโมโซม $2n=14$ ขนาดจีโนมประมาณ 40 ล้านเบส (Mbp)

ลักษณะทางสัณฐานของเชื้อราโรคไหม้ จะมีโครงสร้างที่เรียกว่า conidiophores เป็นเส้นใยตรง และเรียบ สีนํ้าตาลอ่อน มีการสร้างสปอร์ที่เรียกว่า conidia อยู่ที่บริเวณด้านล่างมีส่วนที่เรียกว่า basal hilum ยื่นออกมาเพื่อใช้ยึดติดกับ sterigma ซึ่งเป็นบริเวณที่ใช้สร้าง conidia โครงสร้างของ conidia จะมี 3 เซลล์ มีผนังที่เรียกว่า septate กันอยู่ 2 ผนัง รูปร่างค่อนข้างยาวรี หัวและท้ายแหลม เซลล์ตรงกลางจะมีลักษณะกว้างสีน้ำตาลซีดกว่าเซลล์ทั้งสองที่บริเวณหัวท้าย โดยที่ conidia จะมีขนาดประมาณ $8-10 \times 19-27$ นาโนเมตร (Richard and Valent, 1996; Sharma et al., 2005) (ภาพที่ 2.4)

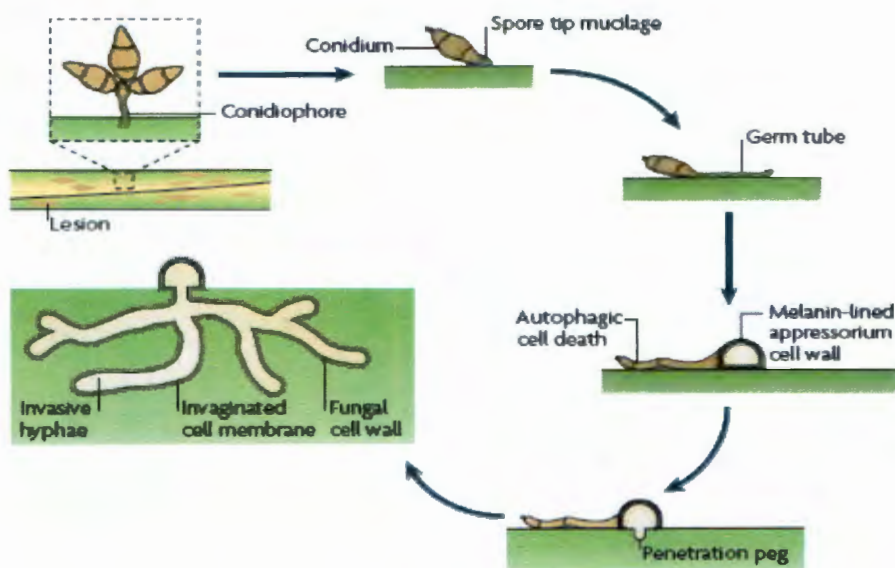
วงจรการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. grisea* เริ่มจาก conidia ของเชื้อสาเหตุโรคตกลงบนผิวต้นข้าว เมื่อได้รับสภาพแวดล้อมที่พอเหมาะ conidia จะสร้าง spore tip mucilage (STM) ซึ่งเป็นสารเมือกเหนียวอยู่ที่ด้านปลายของ conidia ซึ่งเป็นโครงสร้างพิเศษที่ใช้ในการยึดเกาะกับผิว หลังจากนั้นจะมีการสร้าง single germ tube ขึ้น และขยายออกจนมีรูปร่างคล้ายกับตะขอ (hook) (Richard and Valent, 1996) เรียกว่า appressorium ซึ่งบริเวณดังกล่าวนี้ จะมีการปล่อยสารเคมีออกมาสัมผัสกับผิวข้าว เพื่อย่อยผนังเซลล์ จากนั้นจะมีการสร้างโครงสร้างคล้ายเข็ม (penetration peg) เพื่อใช้ในการแทงผ่าน cuticle และ cell wall ของของต้นข้าวเข้าไปภายในเซลล์ หลังจากนั้นเชื้อสาเหตุโรคจะสร้างเส้นใย (hyphae) จำนวนมากในเซลล์ของต้นข้าว สุดท้ายจะเกิดแผลปรากฏให้เห็นภายใน 7 วัน หลังจากเชื้อราสัมผัสกับต้นข้าว ขนาดเดียวกันจะมีการสร้าง conidia บนแผลเพื่อเข้าทำลายพืชซ้ำ โดยที่การเพิ่มขึ้นของ conidia บนแผลจะสัมพันธ์กับความชื้นที่ได้รับ (ภาพที่ 2.5)

เชื้อรา *P. grisea* มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงมาก เนื่องจากสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้เป็นอย่างดี ประกอบกับมีการปรับตัวเพื่อเอาชนะข้าวที่มีพันธุกรรมต้านทาน โดยในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย พบประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่มีความหลากหลายมาก สามารถจำแนกสายพันธุ์เชื้อได้ทั้งสิ้นจำนวน 552 สายพันธุ์ จากประชากรทั้งสิ้น 2,293 ไอโซเลท (พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ และคณะ, 2554) ในประเทศไทย เรื่องของความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้พบว่ามีสูงกว่าที่พบในประเทศอื่นๆ มาก โดยมีการรายงานไว้ว่า ประเทศฟิลิปปินส์ พบมีจำนวน 10 ไอโซเลท ทวีปยุโรป พบมีจำนวน 6 ไอโซเลท ส่วนสหรัฐอเมริกา และโคลัมเบีย พบมีจำนวน 8 และ 6 ไอโซเลท ตามลำดับ (อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ และ พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์, 2554; Levy et al., 1993; Chen et al., 1995; Roumen et al., 1997)



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของเชื้อรา *Pyricularia grisea* Sacc (ก) โครงสร้างของ conidia ที่มีจำนวน 3 เซลล์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์, (ข) ลักษณะของ conidia ขณะงอกเป็นเซลล์ข้าวภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และ (ค) โครงสร้างของ conidiophores และ conidia

ที่มา: Wilson and Talbot (2009); ICAR (2016); Sharma, Johansen and Midha (1998)



ภาพที่ 2.5 วงจรการเข้าทำลายต้นข้าวของเชื้อรา *P. grisea* โดยเริ่มจากการที่ conidia มาสัมผัสกับผิวต้นข้าว จากนั้นเกิดการงอกของ conidia เข้าทำลายต้นข้าวแล้วเกิดการเพิ่มจำนวนเส้นใย และ เกิดการสร้าง conidia บนผิวต้นข้าวใหม่เพื่อเข้าทำลายพืชใหม่

ที่มา: Wilson and Talbot (2009)



ภาพที่ 2.6 ลักษณะอาการของโรคไหม้ในส่วนต่างๆของต้นข้าว ได้แก่ ใบ (leaf blast) ข้อใบ (collar blast) คอรวง (neck blast) ข้อ (node blast) กาบใบ (sheath blast) และ ช่อดอก (panicle blast)

ที่มา: IRRI (n.d.); Jia (2009); ICAR (2016)

2.2.1.2 ลักษณะอาการและความเสียหาย

ลักษณะอาการและความเสียหายที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา *P. grisea* เข้าทำลายต้นข้าวในส่วนที่อยู่เหนือพื้นดินได้ทุกส่วน โดยสามารถแบ่งโรคไหม้ ออกได้เป็น 4 ลักษณะ ตามการเข้าทำลาย และแสดงอาการบริเวณส่วนต่างๆของต้นข้าว ได้แก่ โรคใบไหม้ (leaf blast) ข้อต่อระหว่างกาบใบและแผ่นใบ (collar blast) ตรงข้อ (node blast) และ เข้าทำลายรวงข้าว เรียกว่า โรคไหม้คอรวง (neck blast) จากลักษณะการเข้าทำลายที่แตกต่างกันนี้จึงเป็น pathosystem ที่ต่างกัน ลักษณะอาการของโรคสามารถแบ่งตามระยะการเจริญเติบโตของข้าว ดังนี้

ระยะกล้า ที่ใบมีแผลจุดสีน้ำตาล ลักษณะคล้ายรูปตา มีสีเทาอยู่ตรงกลางแผล มีขนาดแตกต่างกันไป ความกว้างระหว่าง 2-5 มิลลิเมตร และความยาวประมาณ 15-20 มิลลิเมตร จุดแผลนี้สามารถขยายลุกลามจนแผลรวมกันทั่วบริเวณใบ ในกรณีที่โรครุนแรง กล้าข้าวจะแห้ง และพุ่มตาย อาการคล้ายถูกไฟไหม้

ระยะแตกกอ อาการของโรคพบได้ที่ใบ กาบใบ ข้อต่อของใบและข้อต่อของลำต้น ขนาดของแผลจะใหญ่กว่าที่พบในระยะกล้า แผลลุกลามติดต่อกันได้ ที่บริเวณข้อต่อใบจะมีลักษณะแผลช้ำสีน้ำตาลดำ และใบมักหลุดจากกาบใบเสมอ

ระยะคอรวง ถ้าข้าวเพิ่งจะเริ่มให้รวง เมื่อถูกเชื้อรานี้เข้าทำลาย เมล็ดจะลีบหมด แต่ถ้าเชื้อราเข้าทำลายตอนรวงข้าวแก่ใกล้เก็บเกี่ยว คอรวงจะปรากฏรอยแผลช้ำสีน้ำตาล ทำให้เปราะหักพับง่าย รวงข้าวร่วงหล่นเสียหายมาก โดยในระยะนี้ พบว่า มีการระบาดของโรคไหม้บริเวณพื้นที่

ปลูกข้าวในแถบภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ทำให้พื้นที่ปลูกข้าวได้รับความเสียหาย

ได้มีการรายงานความเสียหายจากการระบาดของโรคไหม้ในประเทศ จีน อินเดีย ฟิลิปปินส์ เกาหลี และไทย โดยพบว่า ในปี 1960-1961 ผลผลิตข้าวในประเทศอินเดียลดลง 5-10 เปอร์เซ็นต์ และยังพบการระบาดของโรคมามากถึงสองรอบในประเทศ ฟิลิปปินส์ ในปี 1963 พบการระบาดของผลให้ผลผลิตข้าวเสียหายประมาณ 50-60 เปอร์เซ็นต์ และอีก 5 ปี ต่อมาพบการระบาดครั้งใหญ่โดยทำให้ผลผลิตลดลงประมาณ 70-85 เปอร์เซ็นต์ ส่วนประเทศจีน และเกาหลี ผลผลิตข้าวลดลงประมาณ 8 และ 14 เปอร์เซ็นต์ ในปี 1970 และ 1980 ตามลำดับ สำหรับประเทศไทย พบปัญหาการระบาดของโรคไหม้ในปี 1982 ส่งผลกระทบต่อผลผลิตข้าวทำให้ผลผลิตลดลงประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ (Wang et al., 2014)

2.2.1.3 พันธุกรรมควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้

ลักษณะความต้านทานโรคไหม้ถูกควบคุมโดยพันธุกรรมหรือยีนในจีโนมข้าวซึ่งพันธุกรรมต้านทานโรคไหม้จะเป็นตัวหน้าที่ในการกำจัดเชื้อราสาเหตุโรค ลดความเสียหายที่เกิดจากการเข้าทำลาย ช่อมแซมเนื้อเยื่อหรือทำลายเนื้อเยื่อบริเวณที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย เป็นต้น ส่งผลทำให้ต้นข้าวสามารถดำรงชีวิตจนครบวัฏจักร และสามารถให้ผลผลิตได้ สามารถแบ่งรูปแบบของยีนต้านทานโรคไหม้ออกเป็น 2 ลักษณะ ประกอบด้วย ลักษณะคุณภาพ และลักษณะปริมาณ โดยที่ลักษณะคุณภาพ (qualitative traits) หรือยีนต้านทานหลัก (major genes) เป็นลักษณะที่ถูกควบคุมโดยยีนจำนวนน้อยคู่ อาจจะเพียงยีนเดียวหรือ 2-3 ยีน โดยที่ยีนแต่ละตัวแสดงระดับความต้านทานออกมาเด่นชัด อาจกล่าวได้ว่ายีนต้านทานโรคไหม้ที่ถูกควบคุมด้วยยีนหลักนี้จะมีมีความต้านทานที่จำเพาะกับเชื้อรา *P. grisea* โดยยีนสามารถการเข้าทำลายของเชื้อได้อย่างสมบูรณ์ (complete resistance) ทำให้ต้นข้าวไม่แสดงอาการของโรค ที่สำคัญอิทธิพลของสภาพแวดล้อมจะไม่ส่งผลต่อการแสดงออกของยีนต้านทาน ส่วนลักษณะปริมาณ (quantitative traits loci: QTLs) หรือยีนต้านทานรอง (minor genes) เป็นลักษณะของยีนต้านทานโรคไหม้ที่ถูกควบคุมด้วยยีนจำนวนมากกว่าคู่หรือเป็นกลุ่มยีน โดยยีนจะมีระดับความต้านทานไม่สูงมากเหมือนยีนลักษณะคุณภาพ กล่าวคือ ลักษณะต้านทานโรคไหม้ที่ถูกควบคุมด้วยยีนหลายคู่ มีความต้านทานที่ไม่จำเพาะเจาะจงกับเชื้อสาเหตุโรคเชื้อใดเชื้อหนึ่ง แต่สามารถต้านทานได้หลายๆเชื้อ และแสดงระดับความต้านทานตั้งแต่ต้านทานต่ำจนถึงปานกลาง เป็นความต้านทานต่อโรคไหม้ที่คงทนอยู่ได้นาน โดยที่เชื้อสามารถเข้าทำลายได้ในระดับหนึ่ง จึงเรียกการต้านทานแบบนี้ว่า “ลักษณะต้านทานแบบบางส่วน (partial resistance)” ซึ่งเป็นลักษณะต้านทานที่ไม่สมบูรณ์ โดยลักษณะต้านทานโรคไหม้ที่ถูกควบคุมดังกล่าวจะแปรเปลี่ยนไปตามอิทธิพลของสภาพแวดล้อม (Babujee and Gnanamanickam, 2000; Ballini et al., 2008; Koide et al., 2009)

ปัจจุบันมีการรายงานการค้นพบยีน/QTLs ต้านทานโรคไหม้มากกว่า 100 ยีน หรือ QTLs มีตำแหน่งกระจายทั่วทั้ง 12 โครโมโซม ยกเว้นโครโมโซม 3 ซึ่งปัจจุบันยังไม่มี การค้นพบยีนต้านทานโรคไหม้ (Iman et al., 2014; Yang et al., 2013 and Wang et al., 2012) ดังตารางที่ 2.2 ซึ่งแต่ละโครโมโซมมีจำนวนยีนเท่ากับ 7, 11, 0, 4, 3, 19, 1, 7, 3, 2, 23 และ 18 ตามลำดับ (Wang et al., 2014) โดยที่มีการวางตำแหน่ง QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ไม่น้อยกว่า

347 ตำแหน่ง (Koide et al., 2009) ซึ่งพันธุกรรมต้านทานโรคไหม้ส่วนใหญ่ได้มาจากข้าวจาปอนิกา 45 เปอร์เซ็นต์ ข้าวอินดิกา 51 เปอร์เซ็นต์ และข้าวชนิดอื่นๆ 4 เปอร์เซ็นต์ (Iman et al., 2014) โดยพันธุ์ข้าวส่วนใหญ่จะเป็นข้าวพื้นเมือง (landrace rice) มีเพียงยีนต้านทาน *Pi9*, *Pit33* และ *Pi40(t)* ที่มีแหล่งกำเนิดมาจากข้าวป่า *Oryza minuta* *O. rufipogon* และ *O. australiensis* ตามลำดับ (ชัชวาล จันทราสุริยรัตน์ และ สุรพร เกตุงาม, 2552; Koide et al., 2009) จากความก้าวหน้าทางด้านอนุพันธุศาสตร์ทำให้ได้มีการโคลนยีนต้านทานโรคไหม้ เพื่อให้ทราบตำแหน่งบนโครโมโซม และการทำงานของยีนต้านทานเหล่านั้น ซึ่งในปัจจุบันมีอย่างน้อย 22 ยีนที่ได้มีการโคลนยีน (Chen et al., 2014; Iman et al., 2014)

ตารางที่ 2.2 แสดงยีนต้านทานโรคไหม้ที่ค้นพบในตำแหน่งต่างๆ บนโครโมโซมของข้าว ซึ่งพบว่า ยีนต้านทานโรคไหม้ในข้าวส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นยีนเด่นทั้งหมด ยกเว้นยีนต้านทาน *pi21* ที่มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซม 4 ที่เป็นยีนด้อย (single recessive gene) อยู่ระหว่างเครื่องหมาย RFLP ได้แก่ G271 และ G317 ตามลำดับ (ชัชวาล จันทราสุริยรัตน์ และ สุรพร เกตุงาม, 2552; Fukuoka and Kuho, 2001) ความสามารถของยีนในการต้านทานโรคไหม้จำแนกตามจำนวนเชื้อสาเหตุโรคที่ได้มีการทดสอบทั้งในห้องปฏิบัติการและสภาพแปลง สามารถจำแนกได้เป็น 2 กลุ่มคือ ยีนต้านทานโรคไหม้แบบแคบ (narrow spectrum resistance gene) และยีนต้านทานโรคไหม้แบบกว้าง (broad spectrum resistance gene) ซึ่งยีนเหล่านี้ได้วางตำแหน่งบนโครโมโซมข้าวทั่วทั้ง 12 โครโมโซม

ตารางที่ 2.2 ยีน และ QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ของข้าว ตำแหน่ง เครื่องหมาย ดีเอ็นเอ สายพันธุ์ให้ยีน และชนิดของข้าวที่เป็นแหล่งพันธุกรรม

Chr.	Gene	Donor rice		Map position (cM)	Markers
		Variety	Rice type		
1	<i>Pi27(t)*</i>	Q14	-	28.4-38.8	RM151, RM259
1	<i>Pip(t)</i>	Tetep	Indica	114.1	RM246
1	<i>Pit</i>	Tjiahdja	Japonica	12.2	t311, t256, t8042
2	<i>Pi14(t)</i>	Maowangu	-	-	Amp-1
2	<i>Pi16(t)</i>	Aus373	-	-	Amp-1
2	<i>PiDa(t)</i>	Dacca6	-	10.8-14.4	RM211, RM5529
2	<i>Pid1(t)</i>	Digu	Indica	87.5-89.9	RM262
2	<i>Pitq-5</i>	Teqing	Indica	150.5-157.5	RG520, RZ446b
2	<i>Pig(t)</i>	Guangchangzhan	Indica	142.0-154.1	RM166, RM208, Ken53-33
2	<i>Piy(t)</i>	Yanxian No.1	Indica	153.2-154.1	RM3284, RM208
4	<i>Pi39(t)</i>	Chubu 111	Japonica	107.4-108.2	RM3743, RM5473
4	<i>pi21</i>	Owarihatamochi	Japonica	58.6	P702D03_#79, G271, G317
5	<i>Pi10(t)</i>	Tongil	Indica	88.5-102.8	RG13
5	<i>Pi23(t)</i>	Suweon 365	Japonica	59.3-99.5	-
6	<i>Pi2-1</i>	Tianjingyeshengdao	-	Allilic to Pi2/9	AP4791, AP4007
6	<i>Pi2-2</i>	Jefferson	-	58.7	RM19817, AP5659-5
6	<i>Pi8(t)</i>	Kasalath	Indica	74.6-78.2	Amp-3
6	<i>Pi13(t)</i>	Maowangu	-	74.6-78.2	Amp-3
6	<i>Pi13(t)</i>	Kasalath	Indica	67.7-68.5	RM2123, RM20155
6	<i>Pi22(t)</i>	Suweon 365	Japonica	38.4-41.9	-
6	<i>Pi26(t)</i>	Gumei 2	Indica	51.0-61.6	B10, R674
6	<i>Pi40(t)</i>	IR65482-4-136-2-2	<i>O. australiensis</i>	54.1-61.6	RM527, RM3330
6	<i>Pi50(t)</i>	Er-Ba-Zhan	-	46.8	GDAP51, GDAP16
6	<i>Pigm(t)</i>	Gumei 4	Indica	65.8	C5483, C0428
6	<i>Piz</i>	Zenith	-	58.7	z4792, z60510, z5765
6	<i>Pitq-1</i>	Teqing	Indica	103.0-124.4	C236, RG653
7	<i>Pi17(t)</i>	DJ123	-	94.0-104.0	Est9
8	<i>Pi42(t)</i>	Zhe733	-	58.5	RM72
8	<i>Pi33(t)</i>	IR64	Indica	45.4	RM72, C483
8	<i>Pi55(t)</i>	Yuejingsimiao 2	-	99.1-102.1	RM1345, RM3452
8	<i>PiGD-1(t)</i>	Sanhuangzhan 2	-	53.7	RG1034
9	<i>Pi3(t)</i>	C104PKT	-	31.3-33.0	40N23r
9	<i>Pi15(t)</i>	GA25	-	31.3-34.9	CRG3, CRG4
9	<i>Pi56(t)</i>	Sanhuangzhan 2	-	31.3	RM24022
10	<i>PiGD-2(t)</i>	Sanhuangzhan 2	-	-	R16, R14B

ที่มา: Wang et al. (2014); Miah et al. (2013)

ตารางที่ 2.2 ยีน และ QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ของข้าว ตำแหน่ง เครื่องหมาย ดีเอ็นเอ สายพันธุ์ให้ยีน และชนิดของข้าวที่เป็นแหล่งพันธุกรรม (ต่อ)

Chr.	Gene	Donor rice		Map position (cM)	Markers
		Variety	Rice type		
11	<i>Pi18(t)</i>	Suweon 365	Japonica	117.9	RZ536
11	<i>Pi38(t)</i>	Tadukan	Indica	79.1-88.7	RM206, RM21
11	<i>Pi44(t)</i>	Moroberekan	Japonica	91.4-117.9	AF349
11	<i>PiCO39(t)</i>	CO39	Indica	49.1	S2712
11	<i>Pilm-2</i>	Lemont	Japonica	56.2-117.9	R4, RZ536
11	<i>Pi7(t)</i>	Moroberekan	Japonica	71.4-84.3	RG103, RG16
11	<i>Pi47(t)</i>	Xiangzi 3150	-	104.2-120.1	RM206, RM224
11	<i>Pi43(t)</i>	Zhe733	-	109.5	RM1233
11	<i>Piks</i>	Bengal, M201	-	115.1-117.3	RM224, RM1233
11	<i>Pikg(t)</i>	GA20	-	119.9-120.3	-
11	<i>Ply(t)</i>	Yunyin	-	54	RM202
11	<i>Pizy(t)</i>	Ziyu44	-	102.9	RM206
12	<i>Pi19(t)</i>	Aichi Asahi	Japonica	50.4-51.5	RM27937, RM1337
12	<i>Pita-2</i>	Tetep, Pi No.4	-	50.4	-
12	<i>Pi6(t)</i>	Apura	-	12.2-47.9	RG457, RG869
12	<i>Pi62(t)</i>	Yashiro-mochi	Japonica	12.2-26.0	RG9, RZ816
12	<i>Pi24(t)*</i>	Zhong 156	Indica	51.5	RG241A
12	<i>Pi12(t)</i>	Moroberekan	Japonica	47.9	RG869
12	<i>Pi20(t)</i>	IR24	Indica	51.5-51.8	RM1337, RM5364, RM7102
12	<i>PiGD-3</i>	Sanhuangzhan 2	-	55.8	RM179
12	<i>Pi51(t)</i>	Tianjingyeshengdao	-	-	RM5364, RM27990
12	<i>Pi39(t)*</i>	Q15	-	50.4	RM27933, RM27940
12	<i>Pi41(t)</i>	93-11	Indica		RM28130
12	<i>Pi157(t)</i>	Moroberekan	Japonica	49.5-62.2	RG341, RG9
12	<i>Pi48(t)</i>	Xiangzi 3150	-		RM5364, RM7102
12	<i>Pitq-6</i>	Teqing	Indica	47.9	RG869, RZ397
12	<i>Pih1(t)</i>	Hongjiaozhan	-	47.9	RG869, RG81

ที่มา: Wang et al. (2014); Miah et al. (2013)

1) การวางตำแหน่งยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ในข้าว

การวางตำแหน่งยีนต้านทานโรคไหม้ถือเป็นการระบุตำแหน่งของยีน/QTLs บนโครโมโซมข้าว โดยยีนเหล่านี้สามารถถ่ายทอดทางพันธุกรรมไปยังรุ่นลูกหลานได้ ซึ่งยีน/QTLs ที่ทราบตำแหน่งเหล่านี้จะมีความใกล้ชิดกับเครื่องหมายดีเอ็นเอบนแผนที่พันธุกรรมของข้าว (ตารางที่ 2.2) ทำให้นักปรับปรุงพันธุ์สามารถติดตามการถ่ายทอดยีน/QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ได้ทุกรุ่นที่ทำการปรับปรุงพันธุ์ ปัจจุบันมีการวางตำแหน่งยีนต้านทานโรคไหม้อย่างแพร่หลาย เช่น การสร้างแผนที่พันธุกรรมของ QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคใบไหม้ ในพันธุ์ข้าว

Pongsu Seribu2 ได้รับความต้านทานจากพันธุ์ Malaysian ซึ่งมีความต้านทานแบบ wide-spectrum resistance ต่อโรคไหม้ ทำการศึกษาในประชากร F_3 (families) จำนวน 188 สายพันธุ์ของคู่ผสมระหว่างพันธุ์ Mahsuri (อ่อนแอ) เป็นพันธุ์ข้าวที่นิยมปลูก และพันธุ์ Pongsu Seribu2 (ต้านทาน) ใช้เครื่องหมายชนิด SSR ในการสร้าง linkage map ที่ครอบคลุม 10 โครโมโซม ซึ่งมีจำนวน 63 เครื่องหมาย ผลการศึกษาพบ 13 QTLs ตำแหน่งบนโครโมโซมที่ 1 2 3 5 6 10 11 และ 12 อธิบายความต้านทานโรคไหม้เมื่อวิเคราะห์แบบ QTL เดี่ยวๆ (single QTLs analysis) มีค่าตั้งแต่ 2 ถึง 13 เปอร์เซ็นต์ และอธิบายความต้านทานโรคไหม้ของประชากร F_3 เท่ากับ 80 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะความต้านทานเฉพาะส่วนของใบในพันธุ์กรรมต้านทานของข้าวพันธุ์ Pongsu Seribu2 เมื่อรวมผลการแสดงออกแสดงให้เห็นถึงผลดังกล่าวว่า มีทั้งยีนต้านทานโรคไหม้ที่เป็นยีนต้านทานหลัก และยีนต้านทานรอง (Ashkani et al., 2013)

Jia et al. (2011) ค้นหา QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ ภายใต้การสำรวจเพื่อเก็บข้อมูลความต้านทานโรคไหม้ของพันธุ์ต้านทานและพันธุ์อ่อนแอ โดยใช้เชื้อ 12 ไอโซเลท จากการทดสอบทำให้ได้เชื้อจำนวน 6 ไอโซเลท จากทั้งหมด 12 ไอโซเลท เพื่อใช้ในการทำแผนที่พันธุ์กรรม ศึกษาในประชากร RILs จำนวน 227 สายพันธุ์ จากการผสมระหว่างข้าวพันธุ์ Lemont (moderately susceptible japonica cultivar) และ พันธุ์ Jasmine 85 (moderately resistant indica cultivar) จากการศึกษาพบจำนวน QTLs ที่ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ จำนวน 9 QTLs โดยสามารถอธิบายลักษณะความต้านทานโรคไหม้ได้ตั้งแต่ 5.17 ถึง 26.53 เปอร์เซ็นต์ มีตำแหน่งบนโครโมโซมที่ 3 8 9 11 และ 12 ตามลำดับ จากการจัดค้นหา QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ข้างต้นเป็นการประเมินลักษณะความต้านทานโรคไหม้ในสภาพโรงเรือน ซึ่งเป็นสภาพที่มีการจัดการสภาพแวดล้อมได้ทั่วถึง ทำให้การทดลองไม่มีความแปรปรวนมากเมื่อเทียบกับการทดสอบความต้านทานโรคไหม้ในสภาพแปลงที่มีการระบาดของจริง ดังนั้น จึงมีกลุ่มนักวิจัยได้จัดทำแผนที่พันธุ์กรรม QTLs ควบคุมความต้านทานในสภาพแปลง (field blast resistance) ตัวอย่างเช่น Sato et al. (2006) จัดทำ QTLs mapping สำหรับความต้านทานโรคไหม้สภาพแปลงของข้าวไร่ญี่ปุ่น (japanese upland rice) พันธุ์ Norin12 คือ URN12 ทำการศึกษาในประชากร F_3 จำนวน 136 สายพันธุ์ จากคู่ผสมระหว่าง URN12 (ต้านทานต่อโรคไหม้) และ koshihikari (อ่อนแอต่อโรคไหม้) ทั้งคู่เป็นข้าว japonica ข้อมูลจีโนมที่ใช้เครื่องหมาย SSR ที่แยกความแตกต่างระหว่างพ่อแม่ จำนวน 125 เครื่องหมาย สำหรับสร้างแผนที่พันธุ์กรรม ส่วนข้อมูลฟีโนไทป์ประเมินในสภาพแปลงโดยใช้เชื้อไอโซเลท AI 79-142 (race 037.3) ผลการทดลองพบว่า มี QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ จำนวน 2 QTLs (*qBFR3* และ *qBFR11*) มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซม 3 และ 11 ระหว่างเครื่องหมาย RM3513-RM2334 และ RM209-RM5349 สามารถอธิบายความต้านทานโรคไหม้สภาพแปลง (R^2) เท่ากับ 8.3 และ 39.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และทั้งสอง QTLs วิเคราะห์แบบ multiple analysis มีค่า R^2 เท่ากับ 40.8 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกันกับ Sabouri et al. (2011) ตรวจสอบ QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้สภาพแปลงในข้าวของประชากร $F_{2:3}$ จำนวน 192 สายพันธุ์ จากการผสมระหว่างข้าวอิหร่านสองพันธุ์ประกอบด้วย พันธุ์อ่อนแอ คือ Tarom Mahalli (TAM) และ พันธุ์ต้านทาน คือ Khazar (KHZ) ใช้เครื่องหมาย SSR ที่ครอบคลุมจีโนม 1231.50 cM สร้างแผนที่พันธุ์กรรมโดยใช้ SSR จำนวน 74 เครื่องหมาย สืบค้น QTLs ควบคุม

ลักษณะต้านทานโรคไหม้ด้วยวิธี interval mapping พบว่า มี QTLs ควบคุมความต้านทานโรคไหม้สภาพแปลงทั้งหมด 7 QTLs มีตำแหน่งบนโครโมโซม 1 3 4 5 และ 11 ตามลำดับ ทั้ง 7 QTLs อธิบายความต้านทานโรคไหม้สภาพแปลงค่อนข้างสูง ดังนั้น จึงถึงเป็นข้อมูลทางพันธุกรรมที่สำคัญในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวหอมให้ต้านทานโรคไหม้เพื่อเพิ่มศักยภาพของสายพันธุ์ข้าวต่อไป

นอกจากจัดทำแผนที่พันธุกรรมในประชากรข้าว เพื่อค้นหาตำแหน่งยีนต้านทานโรคไหม้ในข้าวแล้วนั้น Sreewongchai et al. (2009) จัดทำแผนที่พันธุกรรมของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ที่เป็นเชื้อที่สามารถเข้าทำลายต้นข้าวที่ยีนต้านทานโรคไหม้ (avrulence gene) ซึ่งเชื้อราสาเหตุโรคมีความสัมพันธ์ตรงกับ QTLs ที่ควบคุมลักษณะต้านทานโรคใบไหม้ และ ช่อดอก ในข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิล คณะนักวิจัยได้ศึกษาลักษณะของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ชนิด avirulence ของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ไอโซเลท TH16 ศึกษาในประชากรเชื้อสาเหตุโรคที่มีการกระจายตัว โดยทำการผสมสปอร์ (random ascospore progenies) จำนวน 140 สปอร์ ได้จากการผสมระหว่างเชื้อสาเหตุโรคไหม้ไอโซเลท B1-2 เก็บจากต้นข้าว (*Oryza sativa* L.) ในประเทศไทย และไอโซเลท TH16 ที่เก็บจากข้าวบาร์เลย์ (*Hordeum vulgare* L.) วิเคราะห์การกระจายตัวของลักษณะ avirulence บนข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิลจำนวน 2 ระยะ ได้แก่ ระยะต้นกล้า และ ระยะออกดอก ในประชากรที่จัดทำแผนที่พันธุกรรม เครื่องหมายโมเลกุลที่ใช้สร้างแผนที่พันธุกรรม ได้จากแผนที่พันธุกรรมที่มีการอ้างอิง โดยใช้เครื่องหมายชนิด SSR จำนวน 39 เครื่องหมาย ซึ่งครอบคลุมทั้ง 7 โครโมโซม ของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ ซึ่งมีระยะห่างแต่ละเครื่องหมายเท่ากับ 11.9 cM จากการทดลอง ประชากรเชื้อสาเหตุโรคไหม้ที่ใช้ทำแผนที่พันธุกรรมมีการกระจายตัวที่เป็น pathogenic และ non-pathogenic บนข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิลเท่ากับ 1:1 ทั้งสองระยะการเจริญเติบโตของต้นข้าว เมื่อวิเคราะห์ตำแหน่ง QTLs พบว่า QTLs ของ avirulence gene มีตำแหน่งบนโครโมโซม 2 ระหว่างเครื่องหมาย Pym305 และ Pym345 อธิบายค่า PVE ในระยะต้นกล้าและออกดอกของต้นข้าว เท่ากับ 16.69 และ 20.26 ตามลำดับ โดยใช้ชื่อตำแหน่งของ QTLs นี้ถูกกำหนดให้เป็น Avr-JHN(lb) and Avr-JHN(pb) ตรงกับลักษณะโรคใบไหม้และไหม้คอร่วง จากศึกษาทั้งนี้กลุ่มนักวิจัยสามารถใช้เป็นขั้นตอนในการเริ่มต้นการโคลนนิ่งเพื่อค้นหาตำแหน่งของ avirulence gene ที่มีต่อโรคใบไหม้ และไหม้คอร่วง

จากการศึกษาข้างต้น จะเห็นได้ว่ามีทั้งการจัดทำแผนที่พันธุกรรมควบคุมโรคไหม้ทั้งในพันธุ์ข้าวหรือเชื้อสาเหตุโรค ถือเป็นข้อมูลที่มีความสำคัญมากในงานปรับปรุงพันธุ์ข้าว ทำให้นักวิจัยมีข้อมูลทั้งสองทาง เพื่อการใช้ประโยชน์ให้เกิดประโยชน์สูงสุดในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว เพื่อรับมือกับการระบาดของโรคไหม้ที่อาจเกิดได้ทุกเมื่อ ปัจจุบันมีรายงานการวางตำแหน่งยีนต้านทานโรคไหม้บนจีโนมข้าวอย่างแพร่หลาย ซึ่งข้อมูลตำแหน่งยีนต้านทานโรคไหม้ถือเป็นประโยชน์อย่างมากในการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวให้ต้านทานโรคไหม้ ตัวอย่างของตำแหน่งยีนดังกล่าวแสดงใน (ภาพที่ 2.7) หลังจากทราบตำแหน่งของยีนต้านทานโรคไหม้แล้ว นักวิจัยหลายๆ กลุ่มยังทำการศึกษ เพื่อให้ทราบถึงการทำหน้าที่ หรือแม้แต่โครงสร้างต่างๆ ทั้งทางเคมีหรือแม้แต่ปฏิกิริยาการตอบสนองของต้นข้าวเมื่อมียีนต้านทานเหล่านี้ในพันธุกรรม เพื่อให้รู้กลไกการทำงานที่ของยีน ทำให้การนำยีนที่ทำการค้นพบนี้ไปใช้ประโยชน์ได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด

พบบ่อยที่สุดของยีนต้านทานในยีนต้านทานโรคไหม้ (20 ยีน) มีเพียงยีน *Pid2* และ *pi21* ที่ไม่มีโปรตีนแบบ NBS-LRR โดยยีนทั้งสองมีชนิดโปรตีนแบบ B-lectin kinase protein และ proline containing protein ตามลำดับ (Liu et al., 2010; Wang et al., 2014) โดยโปรตีนชนิด NBS-LRR ประกอบด้วยยีนต้านทานโรคไหม้ที่คาดว่าจะเป็นส่วนที่เกิดปฏิกิริยาต่อยีนก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในข้าวซึ่งเป็นไปตามกฎ gene-for-gene (Flor, 1971)

3) การปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้

จากการทราบข้อมูลตำแหน่งยีน/QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้บนจีโนมข้าวจะนำไปสู่การปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้ให้มีความยั่งยืนโดยการนำเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใกล้ชิดกับยีนต้านทานเหล่านั้นมาเป็นเครื่องมือช่วยในการคัดเลือก เพื่อให้ได้มาซึ่งข้าวสายพันธุ์ใหม่ที่มีความเด่นในลักษณะต้านทานโรคไหม้ แต่ยังคงลักษณะเดิมที่ดีอยู่แล้วไว้ อย่างไรก็ตามเชื้อสาเหตุโรคไหม้มีความหลากหลายมาก และแต่ละฤดูกาลมีการระบาดของเชื้อที่ต่างไอโซเลทกันออกไปตามแต่ฤดูกาลนั้นๆ ดังนั้น จึงมีความจำเป็นต้องใช้แหล่งพันธุกรรมต้านทานที่มียีนต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคหลายไอโซเลต หรือการรวมตำแหน่งยีนต้านทานหลายตำแหน่งในพันธุ์เดียว (pyramiding breeding) พันธุ์ข้าวเจ้าหอมนิลถือเป็นแหล่งพันธุกรรมหนึ่งที่มียีนต้านทานโรคไหม้แบบกว้าง (broad spectrum resistance) มาเป็นแหล่งพันธุกรรมต้านทาน โดยพัฒนาประชากร recombinant inbred lines (ลูกผสมชั่วรุ่น F_6) จากคู่ผสมระหว่างเจ้าหอมนิล และข้าวดอกมะลิ 105 จำนวน 587 สายพันธุ์ เพื่อนำมาวิเคราะห์ตำแหน่งของยีนต้านทานโรคไหม้ โดยยีนต้านทานโรคไหม้ในเจ้าหอมนิลนั้นพบว่าการวางตัวอยู่บนโครโมโซมที่ 1 และ 11 ซึ่งมีตำแหน่งอยู่ระหว่างเครื่องหมายดีเอ็นเอ RM121-RM319 มีระยะห่าง 1.8 cM และ RM224-RM144 มีระยะห่าง 3.1 cM ตามลำดับ (ชนากานต์ วงษพรหม และคณะ, 2555) จากการทราบข้อมูลตำแหน่ง QTLs ของยีนต้านทานโรคไหม้แบบกว้าง ของยีนต้านทานโรคไหม้แบบกว้าง ชนากานต์ วงษพรหม และคณะ (2555) จึงได้นำข้อมูลดังกล่าวมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเหนียว กข6 ให้ต้านทานโรคไหม้โดยใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบผสมกลับและใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก พัฒนาสายพันธุ์ลูกผสมกลับจนได้ลูกผสมกลับชั่วรุ่นที่ 4 ที่มียีนต้านทาน (*qBL1* และ *qBL11*) จากเจ้าหอมนิล และนำไปทดสอบกับเชื้อสาเหตุโรคจำนวน 8 ไอโซเลต พบว่าสายพันธุ์ข้าวปรับปรุง กข6 ที่มียีนต้านทานมีระดับความต้านทานต่อโรคไหม้สูง และมีลักษณะทางการเกษตรทั้งคุณภาพการหุงต้มและรับประทานคล้ายกับข้าวเหนียว กข6 ซึ่งสามารถนำไปสายพันธุ์ข้าวปรับปรุงที่ได้ไปแนะนำส่งเสริมให้เกษตรกรในพื้นที่ปลูกข้าวเหนียวปลูกแทนพันธุ์ กข6 ที่มีความอ่อนแอได้

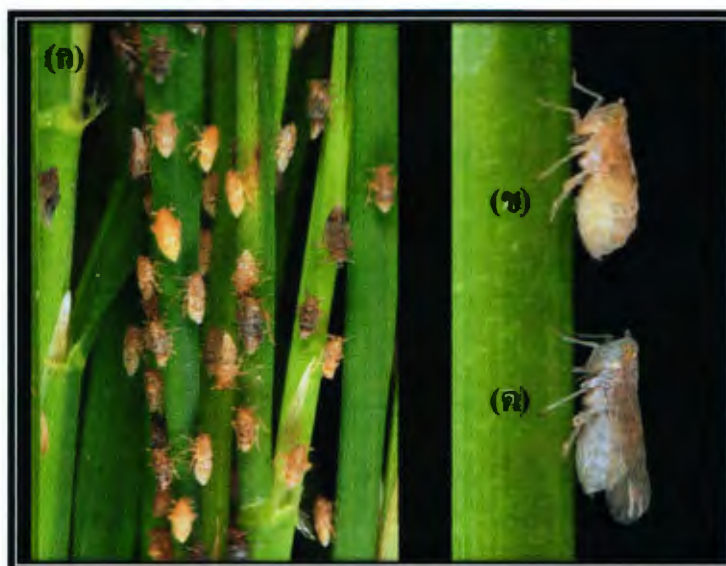
การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานโรคไหม้โดยใช้พันธุกรรมต้านทานแบบกว้างถือเป็นกลยุทธ์ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายเพื่อลดความเสี่ยงของการแข่งขันของเชื้อราสาเหตุโรคเพื่อเอาชนะยีนต้านทานในต้นข้าวที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อเชื้อใดเชื้อหนึ่ง (race-specific) ซึ่งเป็นการเพิ่มแรงกดดันให้ตัวเชื้อสาเหตุโรคเอง แต่การใช้พันธุกรรมต้านทานแบบกว้างก็มีข้อจำกัดคือ กระทำได้ยากในการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม เนื่องจากการแสดงออกของยีนต่อเชื้อราสาเหตุโรคมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายไม่สูง หรือต้านทานปานกลาง และยังมีสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องอีกด้วย แต่ปัจจุบันมีการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่เชื่อมโยงตำแหน่งของ QTLs มาช่วยในการคัดเลือกทำให้สามารถถ่ายทอดยีนต้านทานจากข้าวสายพันธุ์ให้เข้าสู่ข้าวสายพันธุ์รับหรือพันธุ์ที่ต้องการให้มียีน

ต้านทานโรคไหม้ และที่สำคัญสามารถช่วยคัดเลือก background selection ในรุ่น BC₄ ให้เหมือนพันธุ์รับได้ถึง 98 เปอร์เซ็นต์ ของประชากรข้าวเจ้าหอมนิล และ กข6 (Wongsaprom et al., 2010)

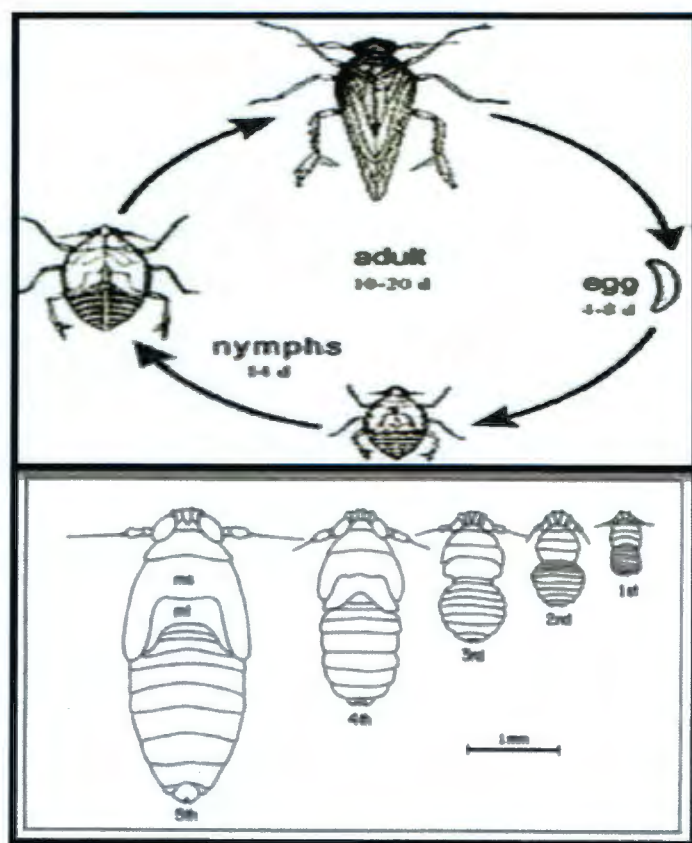
การรวมยีนต้านทานเป็นการเพิ่มความสามารถในการต้านทานโรคไหม้ให้กับสายพันธุ์ข้าว เพื่อให้ข้าวมีความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคไหม้ได้อย่างกว้างขวาง เพื่อลดความเสียหายเนื่องจากความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ Sreewongchai et al. (2010) รวมยีนต้านทานโรคไหม้จำนวน 4 QTLs จากข้าว 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์เจ้าหอมนิล มี QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้บนโครโมโซม 1 และ 11 พันธุ์ IR64 และ Azucena มี QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้บนโครโมโซม 2 และ 12 ตามลำดับ ทำการผสมพันธุ์ระหว่างข้าวสองสายพันธุ์ ได้ประชากรลูกผสม F₁ ปลอ่ยให้ผสมตัวเองจนได้ประชากร F₂ ถึง F₆ แต่ละช่วงรุ่นใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกจนได้ข้าวลูกผสมที่มียีนต้านทานโรคไหม้เป็นสายพันธุ์แท้ (Homozygous) ทั้ง 4 ตำแหน่ง

2.2.2 เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (Brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stal) จัดเป็นแมลงศัตรูข้าว วงศ์ Delphacidae อันดับ Homoptera ตัวเต็มวัยสามารถแบ่งได้ 2 ชนิด ตามสรีระที่มองเห็นได้แก่ ชนิดปีกยาว (macropterous form) และชนิดปีกสั้น (bracrypterous form) ตัวเต็มวัยเพศเมียชนิดปีกยาวมีขนาด 4-4.5 มิลลิเมตร เพศผู้มีขนาด 3.5-4 มิลลิเมตร ตัวเต็มวัยมีชีวิตประมาณ 2 สัปดาห์ (ภาพที่ 2.8 และ ภาพที่ 2.9) ชนิดปีกยาวสามารถเคลื่อนย้ายอพยพไปได้ไกลและไกลโดยอาศัยกระแสลม การดำรงชีวิตจะอยู่ตามบริเวณโคนต้นข้าวเหนือระดับน้ำเพียงเล็กน้อย โดยตัวเมียจะวางไข่บริเวณเส้นกลางใบหรือกาบใบข้าวไข่ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีลักษณะเป็นกลุ่มเรียงเป็นแถวในแนวตั้งฉากกับกาบใบคล้ายหูกกล้วยโดยการวางไข่จะเป็นกลุ่มประมาณ 8-10 ฟอง ไข่มีลักษณะเป็นรูปกระสวยโค้ง คล้ายกล้วยหอม มีสีขาวขุ่น วางไข่ตั้งแต่ 4 -300 ฟอง ระยะไข่ 7-8 วัน ตัวอ่อนมี 5 ระยะ นาน 16-17 วัน วงจรชีวิตประมาณ 28-35 วัน (ภาพที่ 2.9) ตัวเต็มวัยและตัวอ่อนมีตั้งแต่สีน้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลดำ ขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของประชากรขณะนั้น หากประชากรเบาบางลำตัวแมลงจะเป็นสีน้ำตาลอ่อน แต่หากประชากรหนาแน่นมากจะเป็นสีน้ำตาลดำ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจัดเป็นแมลงศัตรูที่สำคัญมากของระบบการผลิตข้าว เพลี้ยชนิดนี้ไม่เพียงเป็นแค่ศัตรูข้าวเพียงอย่างเดียว แต่ยังเป็นพาหะนำเชื้อ สาเหตุของโรคใบหงิก (ragged stunt) และโรคเขียวเตี้ย (grassy stunt) ยิ่งเพิ่มผลกระทบต่อผลผลิตข้าวมากขึ้นไปอีก สำหรับวงจรชีวิตของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล



ภาพที่ 2.8 ลักษณะของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (ก) ประชากร BPH (ข) ตัวเต็มวัยชนิดปีกสั้น (bracrypterous form) และ (ค) ตัวเต็มวัยชนิดปีกยาว (macropterous form)
ที่มา: IRRI (2011)



ภาพที่ 2.9 วงจรชีวิตและระยะการเจริญเติบโตของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
ที่มา: IRRI (n.d.); Mochida and Okada (1979)

2.2.2.1 ลักษณะการเข้าทำลาย และความเสียหาย

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยจะใช้ปากดูด (stylet) เจาะดูดกินน้ำเลี้ยงบริเวณโคนต้นข้าวเหนือระดับน้ำเพียงเล็กน้อย ในขณะที่เดียวกัน จะคอยขับถ่ายมูลน้ำตาล (honeydew) ออกมา เมื่อมีเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวนมากดูดกินน้ำเลี้ยงต้นข้าว จะทำให้ต้นข้าวแสดงอาการใบเหลืองแห้ง คล้ายถูกน้ำร้อนลวก ซึ่งเรียกว่า “Hopperburn” ถ้ารุนแรงมาก ต้นข้าวจะแห้งตาย โดยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นข้าวส่งผลทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ โปรตีน และคาร์โบไฮเดรตในต้นข้าวลดลง ทำให้อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง การเจริญเติบโต และการให้ผลผลิตข้าวลดลงตามไปด้วย เนื่องจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็นแมลงปากดูด ขณะดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นข้าวเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจะปล่อยน้ำลายออกมาภายในเนื้อเยื่อของข้าว ซึ่งในน้ำลายจะมีองค์ประกอบที่จะกระตุ้นระบบความต้านทานหรือมีการส่งสัญญาณภายในต้นข้าวเพื่อสร้างสารเคมีภูมิคุ้มมาขัดขวางการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (ปิยะดา ต้นตสวัสดิ์, 2554) โดยเพลี้ยชนิดนี้มีประชากรที่มีความหลากหลายตามแหล่งที่อยู่อาศัยและความรุนแรงของการระบาดจะแตกต่างกันไปตามความสามารถในการต้านทานของข้าวที่มีถิ่นกำเนิดที่ไม่เหมือนกันต่อประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลนั้นๆ

สำหรับความเสียหายจากการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในประเทศไทยพบมีการระบาดอย่างรุนแรงในภาคกลาง ภาคเหนือตอนล่าง และบางจังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นประจำทุกๆ ปี โดยเกิดการระบาดครั้งใหญ่ในปี พ.ศ. 2532 พื้นที่เสียหายเกือบสี่ล้านไร่ และเกิดการระบาดครั้งใหญ่อีกครั้งในปี พ.ศ. 2552 ทำให้พื้นที่ปลูกข้าวเสียหายเกือบสองล้านไร่ (จิรพงศ์ ไจรินทร์, 2553) และเมื่อล่าสุดเกิดการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในภาคตะวันออกเฉียงเหนือจำนวน 6 จังหวัด ได้แก่ ศรีสะเกษ อุบลราชธานี อำนาจเจริญ ยโสธร สุรินทร์ และ สกลนคร สร้างความเสียหายเป็นบริเวณกว้างกว่า 60,000 ไร่ โดยเข้าทำลายต้นข้าวที่อยู่ในระยะแตกกอช่วงอายุประมาณ 40-60 วัน และอายุมากกว่า 60 วัน (กรมการข้าว, 2557)

2.2.2.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

การระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายๆปัจจัยที่เอื้ออำนวยแก่การระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ปัจจัยที่เอื้ออำนวยให้เกิดการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีทั้งปัจจัยที่มีชีวิต (biotic factors) ได้แก่ พืชอาศัย และศัตรูธรรมชาติของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เป็นต้น อีกปัจจัยหนึ่งคือ ปัจจัยไม่มีชีวิต (abiotic factors) ได้แก่ อุณหภูมิ ความเป็นกรดเป็นด่างของดิน และปัจจัยการผลิตต่างๆ เป็นต้น ปัจจัยเหล่านี้ทำให้ความต้านทานของข้าวและประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเปลี่ยนไปจากเดิม เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีการปรับตัวเพื่อให้อยู่รอดในสภาพนั้น ๆ และเพิ่มจำนวน ทำให้เกิดการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลกันอย่างกว้างขวางแทบในทุก ๆ พื้นที่ปลูกข้าวของประเทศไทย

1) ปัจจัยที่มีชีวิต (biotic factors)

การระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว สิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศของนาข้าวล้วนมีผลต่อการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและยังเป็นปัจจัยในการเพิ่มหรือลดจำนวนประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล มีดังนี้

1.1) พืชอาศัย (host plant) ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและศัตรูธรรมชาติ เป็นพืชที่แมลงทั้งแมลงศัตรูข้าวและแมลงศัตรูธรรมชาติ ใช้เป็นแหล่งอาหารที่เป็นประโยชน์

แหล่งอาศัย แหล่งหลบภัย และแหล่งขยายพันธุ์ ข้าวเป็นพืชอาศัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ความถี่ของระยะการปลูก ความสูงของข้าว และอายุของข้าว ล้วนแต่มีผลต่อการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จากการรายงานของกรมการข้าว วิธีการปลูกข้าว การปลูกข้าวแบบนาหว่านน้ำตมก่อให้เกิดปัญหาการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมากกว่านาดำ เพราะนาหว่านมีจำนวนต้นข้าวหนาแน่น ทำให้อุณหภูมิและความชื้นในแปลงนาเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ประกอบกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามารถทำลายข้าวในนาหว่านได้อย่างต่อเนื่อง จากการปลูกข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 และ กข 23 ซึ่งเป็นพันธุ์ต้านทานอย่างต่อเนื่องติดต่อกัน 6 ฤดูปลูก จะทำให้การระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวพันธุ์ต้านทานสองพันธุ์นี้มีจำนวนมากขึ้นในการปลูกข้าวต่อเนื่องกัน (อภิชาติ ลาวัณย์ประเสริฐ, สุวัฒน์ รวยอารีย์ และ สาธิต ทยาพัชร, 2546) ทำให้เป็นสาเหตุหนึ่งต่อการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล Gurr et al. (2004) ได้ศึกษาระบบนิเวศของพืชอาศัยของแมลง โดยจัดระบบนิเวศวิทยาในนาข้าว ให้มีสภาพสมดุลคืนสู่ธรรมชาติอย่างยั่งยืน แมลงศัตรูธรรมชาติจะคอยควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลไม่ให้มีปริมาณสูงจนทำความเสียหายให้กับผลผลิตข้าวได้ การจัดการระบบนิเวศในนาข้าวเป็นการลดการทำลายสภาพแวดล้อม ต้นทุนในการผลิตข้าวต่อไร่ของเกษตรกรลดลง อีกทั้งยังมีรายได้จากการขายผลผลิตจากพืชที่ปลูกในระบบนิเวศในนาข้าวอีกด้วย ซึ่งคล้ายกันกับการศึกษาของ ชัยรัตน์ จันทรหนู และคณะ (2553) ทำการศึกษาการจัดการระบบนิเวศเพื่อลดจำนวนแมลงศัตรูข้าว โดยใช้พืชที่มีดอกสีเหลือง และดอกสีขาว ได้แก่ ไม้ดอก เช่น ตีนตุ๊กแก และกระดุมทอง พืชผัก เช่น บวบ และฟักทอง เพื่อเป็นแหล่งน้ำหวาน และดึงดูดแมลงศัตรูธรรมชาติ จากการศึกษาพบว่าแปลงนิเวศ (E-E site) มีจำนวนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และแมลงศัตรูธรรมชาติ มากกว่าแปลงควบคุม (control site) ซึ่งแมลงศัตรูธรรมชาติมีจำนวนมากพอในการควบคุมจำนวนของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ นลินี เจริญวรรณ และคณะ (2554) ที่ได้ศึกษาปริมาณประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เปลี่ยนแปลงตลอดฤดูกาล และเปรียบเทียบปริมาณศัตรูข้าวและศัตรูธรรมชาติในแปลงนาที่ไถและไถจากคันนาที่ปลูกพืชเสริม โดยมีการสุ่มจับแมลงในแปลงที่มีการปลูกพืชดอกสีเหลือง และสีขาว พบว่ามีปริมาณแมลงศัตรูธรรมชาติที่มากพอต่อการลดปริมาณการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

1.2) พันธุกรรมความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าว ปัจจุบันมีการส่งเสริมให้ใช้พันธุ์ต้านทาน สามารถลดความเสียหายของผลผลิตข้าวจากการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พันธุ์ต้านทานนี้จะมีพันธุกรรมที่มียีนต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลซึ่งจะมีลักษณะของพันธุ์ที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ความอยู่รอด การวางไข่และฟักไข่ของแมลง (จิรพงศ์ ไกรรินทร์, 2542) การที่พันธุ์ข้าวมีความต้านทานต่อการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้นั้น จะมีลักษณะกลไกการต้านทานต่อแมลงอย่างใดอย่างหนึ่ง หรือหลายอย่างร่วมกัน เช่น ความต้านทานของพืชต่อพฤติกรรมของแมลง (antixenosis) ภาวะยับยั้งหรือผลเสียต่อชีววิทยาของแมลง (antibiosis) และความทนทานของพืชต่อแมลง (tolerance) จิรพงศ์ ไกรรินทร์ (2542) กล่าวว่าความต้านทานของข้าวแบบ antixenosis และ antibiosis สองลักษณะนี้มีแนวโน้มที่จะกระตุ้นให้แมลงปรับตัวและพัฒนาเป็นไบโอไทป์ใหม่ได้ ซึ่งการปรับตัวอาจเกิดภายใน 6-7 อายุขัย พันธุ์ข้าวแต่พันธุ์มีลักษณะทางสรีรวิทยาทางกายภาพ และการผลิตสารชีวเคมีแตกต่างกันไป สารชีวเคมีที่ข้าวผลิตขึ้นมาเป็นปัจจัยหลักที่ดึงดูดหรือขับไล่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ซึ่งพันธุ์ข้าวที่ต้านทานอาจผลิตสารพิษที่เมื่อเพลี้ยกระโดด

สีน้ำตาลดูกินน้ำเลี้ยงในต้นข้าวส่งผลให้แมลงมีอัตราการตายเพิ่มมากขึ้น ขนาดและน้ำหนักตัวลดลง ระยะการเป็นตัวอ่อนยาวนาน และตัวเต็มวัยมีอายุสั้น (Painter, 1941) จากพันธุกรรมของข้าวพันธุ์ต้านทานดังกล่าวมีผลทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลดจำนวนในนาข้าวได้

1.3) แมลงศัตรูธรรมชาติ เป็นแมลงที่มีประโยชน์ในการควบคุมการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแบบ ยั่งยืนที่ทำให้ระบบนิเวศในนาข้าวมีความสมดุล ศัตรูธรรมชาติจะทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้งไข่และตัวเต็มวัยตามแต่ชนิดของแมลงในการเป็นผู้ล่าในห่วงโซ่อาหาร เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีศัตรูธรรมชาติทั้งตัวห้ำและตัวเบียน โดยระยะไข่ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจะมีทั้งแตนเบียนและตัวห้ำที่นับว่าสำคัญ ได้แก่ มวนเขียวจุดไข่ (*Cyrtorhinus lividipennis*) เป็นตัวห้ำดูดกินไข่ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ทำให้ลดปริมาณลงได้มาก ระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจะมีศัตรูธรรมชาติช่วยควบคุมปริมาณแมลง ตัวห้ำที่สำคัญ ได้แก่ แมงมุมโลโคซ่าหรือสุนัขป่า (*Lycosa pseudoannulata*) และแมงมุมเขียวยาว (*Tetragnatha maxillosa*) คอยจับกินเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็นอาหาร ได้ศึกษาพฤติกรรมของมวนตัวห้ำดูดไข่ (*Cyrtorhinus lividipennis*) ในการทำลายไข่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและเพลี้ยจักจั่นสีเขียว เป็นแมลงตัวห้ำทั้งระยะตัวอ่อน และ ตัวเต็มวัย ประสิทธิภาพของตัวเต็มวัยเพศเมียมีความสามารถทำลายไข่เหี่ยวได้ดีกว่าตัวเต็มวัยเพศผู้มีประสิทธิภาพในการทำลายไข่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมากถึง 51 เปอร์เซ็นต์ และตัวห้ำดูดไข่ทำลายไข่ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดีกว่าไข่เพลี้ยจักจั่นสีเขียว (ทรงยศ พิสิษฐกุล และ เกียรติสยาม แก้วดอกกรัก, 2547ข) และ พัทณี ชัยวัฒน์ และ ประวิทย์ จันทร์อุทัย (2541) พบว่าแมลงศัตรูธรรมชาติสามารถลดการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลระยะตัวอ่อนและตัวเต็มวัยได้ โดยแมลงมุมเขียวยาว และแมลงมุมโลโคซ่า มีความสามารถฆ่าเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ถึง 2.7 และ 3-4 ตัว/วัน

2) ปัจจัยที่ไม่มีชีวิต (abiotic factors)

การระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าว จากปัญหาภาวะโลกร้อนที่เกิดขึ้นในโลกได้ส่งผลอย่างมากต่อพื้นที่การผลิตข้าวหลายๆประเทศในเอเชีย หลังจากการปฏิวัติเขียวทำให้ระบบการปลูกข้าวแบบดั้งเดิมที่ให้ผลผลิตต่ำเปลี่ยนมาเป็นการปลูกข้าวสายพันธุ์ให้ผลผลิตสูงและตอบสนองต่อปัจจัยการผลิตสูงเป็นพื้นที่จำนวนมากและต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทำให้มีการปรับปรุงสายพันธุ์ข้าวหลังจากนั้นมา และมีปัจจัยการเพิ่มผลผลิต เช่น ระบบการจัดการปุ๋ย การใช้สารป้องกันกำจัดแมลง (Dale and Kenneth, 2012) ปัจจัยที่ไม่มีชีวิตที่ส่งผลต่อการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ได้แก่

2.1) ความเป็นกรดเป็นด่างของดิน (soil pH) และ ปุ๋ยไนโตรเจน (nitrogen fertilizer) ความเป็นกรดเป็นด่างมีผลต่อการเจริญเติบโต การให้ผลผลิตของข้าว และยังเกี่ยวข้องกับความสามารถในการต้านทานแมลงของข้าว จีรพงศ์ ไกรจันทร์ (2542) กล่าวว่า แมลงแต่ละชนิดจะอยู่อาศัยเจริญเติบโต และขยายพันธุ์บนต้นพืชที่ปลูกในดินที่มีระดับ pH ต่างๆกัน แมลงบางชนิดเจริญเติบโตบนต้นพืชที่ปลูกในดินที่มีค่า pH < 5.4 ดีกว่าพืชที่ปลูกในดินที่มีค่า pH เป็นกลาง Salim, Saxena and Akbar (1990) ได้ศึกษาผลกระทบต่อน้ำข้าวทนเค็มต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดหลังขาว พบว่าต้นข้าวที่ปลูกในดินเค็มจะมีไนโตรเจนเพิ่มขึ้นและมีโพแทสเซียมลดลง การผลิต allelochemicals ของต้นข้าวลดลง เพลี้ยกระโดดหลังขาวที่เลี้ยงบนพันธุ์ข้าวที่ปลูกในดินเค็มเจริญเติบโตได้ดี อายุยืน และเพิ่มจำนวนได้รวดเร็ว ซึ่งหมายถึงความต้านทานของต้นข้าวต่อแมลง

ลดลง โดยทาง ทรงยศ พิสิทธิ์กุล และ เกียรติสยาม แก้วดอกกรัก (2547ก) ศึกษาการเพิ่มระดับความต้านทานของข้าวพันธุ์ ขาวดอกมะลิ 105 ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยใช้ปูนขาวในการปรับ pH ของดิน พบว่า ต้นข้าวที่ใส่ปูนขาวเพียงอย่างเดียวสามารถเพิ่มความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้มากกว่าการใส่ปุ๋ยแบบต่างๆ โดยดูจากการวัดดัชนีการเจริญเติบโตของแมลง และการสกัดมูลหวนของแมลง ซึ่งการศึกษานี้จะสอดคล้องกับคำกล่าว Panda and Khush (1995) ที่ว่าแมลงบางชนิดจะเจริญเติบโตได้ดีบนต้นพืชที่ปลูกในดินที่มีความเป็นกรด

ปัจจุบันมีการใช้ปุ๋ยเคมีในการเพิ่มผลผลิตของข้าวกันอย่างแพร่หลาย การใช้ปุ๋ยเคมีของเกษตรกรทุกวันนี้ยิ่งเร่งให้ประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพิ่มมากขึ้น พุทธิธนา นันทะวรการ และ จตุพร เทียรมา (2553) กล่าวว่า การเจริญเติบโตของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสัมพันธ์กับการใช้ปุ๋ยเคมีโดยเฉพาะปุ๋ยที่มีไนโตรเจนสูงพื้นที่ที่มีการใช้ปุ๋ยเคมีมากเป็นระยะเวลา ยาวนานจะก่อให้เกิดสภาพแวดล้อมที่เอื้อต่อการเจริญเติบโตของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้เป็นอย่างดี ต้นข้าวที่มีไนโตรเจนสูง (ใส่ปุ๋ยเคมีมาก) เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจะอยู่รอดได้ดีกว่าต้นข้าวที่มีปุ๋ยเคมี น้อยและจะแพร่ขยายพันธุ์มากกว่า เพราะไนโตรเจนทำให้มีการเจริญเติบโตทางใบมาก และเซลล์ของ ต้นข้าวมีสภาพอวบน้ำ (สุจินต์ จันทรสะอาด, ม.ป.ป.) จึงเหมาะแก่การขยายพันธุ์ของแมลงและตัวอ่อน เพลี้ยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ซึ่งจะมีความสามารถในการอยู่รอดบนต้นข้าวได้มากขึ้นและมีวงจรชีวิต สั้นลง ขณะที่ตัวเต็มวัยเพศเมียจะตัวใหญ่ วางไข่มากขึ้นและมีชีวิตยาวนานขึ้น ปุ๋ยไนโตรเจนในต้นข้าว ช่วยเพิ่มความทนทานต่อสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมให้กับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้เป็นอย่างดี

2.2) สารเคมีกำจัดแมลง (insecticide) การใช้สารเคมีหรือสารฆ่าแมลงเป็น อีกหนึ่งปัจจัยในการนำมาใช้ในการป้องกันกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพื่อลดการระบาดของเพลี้ยใน พื้นที่ เกษตรกรส่วนใหญ่หันมาใช้สารเคมีกันมากจึงเป็นสาเหตุหนึ่งของการระบาดที่รุนแรงเกิดใช้สาร ฆ่าแมลงอย่างไม่ถูกวิธี ทำให้สารฆ่าแมลงไม่สัมฤทธิ์ผลในการลดประชากรแมลงให้อยู่ในระดับที่ ควบคุมได้และยังก่อให้เกิดปัญหาการสร้าง ความต้านทานต่อสารเคมีของแมลง และทำให้ศัตรู ธรรมชาติถูกทำลายลงจนเสียสภาพสมดุลของนิเวศในนาข้าว ปรีชา วังศิลาบัตร (2545) สรุปไว้ว่า สารไพรีทรอยด์สังเคราะห์ และสารผสมสารไพรีทรอยด์สังเคราะห์ไม่สามารถลดการระบาดของเพลี้ย กระโดดสีน้ำตาลได้และยังทำลายวนเขี้ยวดูดไข่ การใช้สารเคมีผิด สารที่ใช้ นั้นจะไปกระตุ้นให้เพิ่ม อัตราการกิน (feeding rate) หรือเพิ่มอัตราการขยายพันธุ์ (reproductive rate) ของเพลี้ยกระโดด สีน้ำตาล (สุจินต์ จันทรสะอาด, ม.ป.ป.) ปริมาณต่อความเข้มข้นของสารเคมีถูกกำหนดให้กระตุ้นอัตรา การตายที่ไม่ชัดเจนในประชากรแมลงที่ใช้ทดลองขณะที่ผลของความเข้มข้นของสารเคมีจะถูกกำหนด ที่เป็นผลมาจากทั้งด้านสรีรวิทยาหรือพฤติกรรมของแมลงที่รอดจากการสัมผัสกับสารกำจัดแมลง (Desneux et al., 2007) งานวิจัยในอดีตเกี่ยวกับกลไกการฟื้นตัวของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมุ่งเน้นไป ที่บทบาทของสารเคมีกำจัดแมลงในการกระตุ้นการสืบพันธุ์ของตัวเต็มวัยเพศเมีย ต่อมาการศึกษา แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพสารเคมีกำจัดแมลง เช่น ไตรอะโซฟอส และ เดลทาเมทริน กระตุ้นการ เพิ่มโปรตีนของต่อมเสริมเพศชาย “male accessory glands (MAGs)” ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล สารเหล่านี้ส่งผลในการเพิ่มความดกของไข่ของตัวเต็มวัยเพศเมียจะถูกกระตุ้นผ่านการผสมพันธุ์ (Wang et al., 2010 และ Ge et al., 2010) Yu et al. (2012) กล่าวว่าโปรตีนของต่อมเสริมเพศชาย หลังการผสมพันธุ์ลดลงโดยมีการเพิ่มความเข้มข้นของไตรอะโซฟอสที่อุณหภูมิต่างๆ เมื่อเทียบกับ

ระดับโปรตีนก่อนการผสมพันธุ์ และโปรตีนของรังไข่ตัวเต็มวัยเพศเมียก่อนและหลังการผสมพันธุ์ที่อุณหภูมิต่างๆ ที่ทุกความเข้มข้นของไตรอะโซฟอส มีความแตกต่างสูงกว่าไม่มีการใช้สารไตรอะโซฟอส การใช้สารกำจัดแมลงชนิดเดียวติดต่อกันหลายๆ ครั้งและใช้ไม่ถูกวิธี เช่น ผสมรวมกันหลายๆ ตัวและผสมรวมกันกับสารกำจัดวัชพืช อาจทำให้เกิดผลทางตรงข้ามกันกับจุดประสงค์การใช้จะทำให้แมลงปรับตัวต่อสารเคมีชนิดนั้นและผลผลิตโปรตีนหรือสารชีวเคมีที่จะส่งผลต่อการเพิ่มจำนวนมากขึ้นได้

2.3) อุณหภูมิ (temperature) การเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศส่งผลให้โลกร้อนขึ้น เอื้อให้เกิดสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของโรคและแมลง อุณหภูมิที่สูงขึ้น ทำให้แมลงหลายชนิดมีระยะฟักตัวและวงจรชีวิตสั้นลง รวมไปถึงเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่สามารถเจริญเติบโตและแพร่พันธุ์ได้อย่างมากในเวลาอันรวดเร็ว ประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจะมีการแพร่พันธุ์อย่างรวดเร็วเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น พุทธิณานันทะวรการ และ จตุพร เทียรมา (2553) รายงานว่า โดยปกติการเจริญเติบโตในระยะไข่เป็นตัวอ่อนใช้เวลา 7 วัน และจากตัวอ่อนใช้เวลา 16 วัน ในการลอกคราบเพื่อเจริญเติบโตเป็นตัวเต็มวัย ตัวเต็มวัยเพศเมีย 1 ตัว สามารถวางไข่ครั้งละ 100-300 ฟอง โดยที่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพศเมีย 1 ตัว สามารถวางไข่ได้มากประมาณ 8 ล้านฟองต่อการทำนาหนึ่งรอบ และสามารถเจริญเติบโตและแพร่พันธุ์ได้ 3 ชั่วรุ่น ต่อการทำนาหนึ่งรอบ แต่เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ระยะไข่จะใช้เวลาเพียง 3 วัน ก็จะฟักเป็นตัวอ่อน และตัวอ่อนใช้เวลาเพียง 12 วัน ในการเติบโตเป็นตัวเต็มวัย ดังนั้น ในการทำนาหนึ่งรอบ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจึงสามารถเติบโตและแพร่พันธุ์เพิ่มขึ้นได้ถึง 5 รุ่น ด้วยกัน ซึ่งอุณหภูมิที่สูงขึ้น เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพศเมีย 1 ตัว สามารถวางไข่ได้เพิ่มขึ้นถึง 320,000 ล้านฟองต่อการทำนาหนึ่งรอบ เมื่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีการเพิ่มจำนวนมากขึ้นจะส่งผลต่อพฤติกรรมการค้นหาที่อยู่อาศัยหรือพืชอาศัยใหม่ โดยจะอพยพจากพืชอาศัยเดิมคือต้นข้าวที่อ่อนแอไปหาพืชอาศัยใหม่แล้วปรับตัวพัฒนาเป็นโอโอไพบ์ใหม่เพื่อให้สามารถเข้าทำลายข้าวที่เป็นแหล่งอาศัยใหม่นั้น ผลของอุณหภูมิที่สูงขึ้นยังไปมีผลต่อการกระตุ้นการเพิ่มของปริมาณโปรตีนของต่อมเสริมเพศชาย (male accessory gland: MAG) ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เมื่อทดสอบผลของอุณหภูมิระดับต่างๆ กับสารกำจัดแมลงที่ความเข้มข้นต่างๆ โปรตีนเหล่านี้จะส่งผลต่อการเพิ่มความดกของไข่ของตัวเต็มวัยเพศเมียจะถูกกระตุ้นผ่านการผสมพันธุ์ (Wang et al., 2010) อุณหภูมิที่สูงขึ้นในปัจจุบันจะส่งผลต่อการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลรุนแรงมากในหลายพื้นที่ที่มีการปลูกข้าว

นอกจากนี้ อุณหภูมิยังมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตของทั้งพืชและแมลงสามารถทำให้ระดับความต้านทานของพืชเปลี่ยนแปลงได้ เช่น การเปลี่ยนแปลงของธาตุอาหาร และ แอลลีโลททางเคมี (allelochemicals) ภายในต้นพืชรวมทั้งลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพืช มีผลทำให้พืชสามารถต้านทานต่อการเข้าทำลายของแมลงได้มากขึ้นหรือลดลง (จิรพงศ์ ไกรรินทร์, 2542) Wang et al. (2010) รายงานการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิสูงห้าระดับตั้งแต่ 22 ถึง 34 องศาเซลเซียส ที่มีผลต่อลักษณะการต้านทานของข้าวสองสายพันธุ์ ที่มียืนต้านทานต่างกัน ได้แก่ พันธุ์ข้าว IR26 มียืน *Bph1* และพันธุ์ข้าว IR36 มียืน *bph2* โดยใช้พันธุ์ข้าว TN ที่เป็นพันธุ์อ่อนแอเป็นพันธุ์เปรียบเทียบกับ ความต้านทานในระยะต้นกล้าของข้าวพันธุ์ IR26 และพันธุ์ IR36 ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลค่อยๆ ลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 25 ถึง 34 องศาเซลเซียส และความต้านทานลดลงเต็มที่เมื่ออุณหภูมิสูงถึง 31 และ 34 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่แตกต่างกันมีผลต่ออัตราการ

เจริญเติบโตของประชากรเพื่อยกระดับระดับน้ำตาล โดยจะส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิต อัตราวิวัฒนาการของตัวเต็มวัย อัตราการผสมพันธุ์ ความคมของการวางไข่ และการฟักไข่ แตกต่างกันตามระดับของอุณหภูมิ (Liu et. al. 2004) ในพันธุ์ข้าวต้านทานและพันธุ์อ่อนแอจะมีปริมาณ oxalic acid ที่แตกต่างกัน oxalic acid ที่พืชสร้างขึ้นเป็นสารขับไล่แมลงหรือสารยับยั้งการกินอาหารในพันธุ์ข้าวต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจะมีในปริมาณสูง มีรายงานว่าพฤติกรรมการกินอาหารของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีความสัมพันธ์กับปริมาณ oxalic acid ในต้นข้าว และปริมาณการกินอาหารของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลดลงการเพิ่มของปริมาณ oxalic acid ในต้นข้าวเพิ่มขึ้น จากผลการศึกษาของ Wane et al. (2010) อุณหภูมิสูงอาจทำให้ความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสายพันธุ์ข้าวลดลงเนื่องจากปริมาณ oxalic acid ในต้นข้าว

2.2.2.4 ไบโอไทป์และความหลากหลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

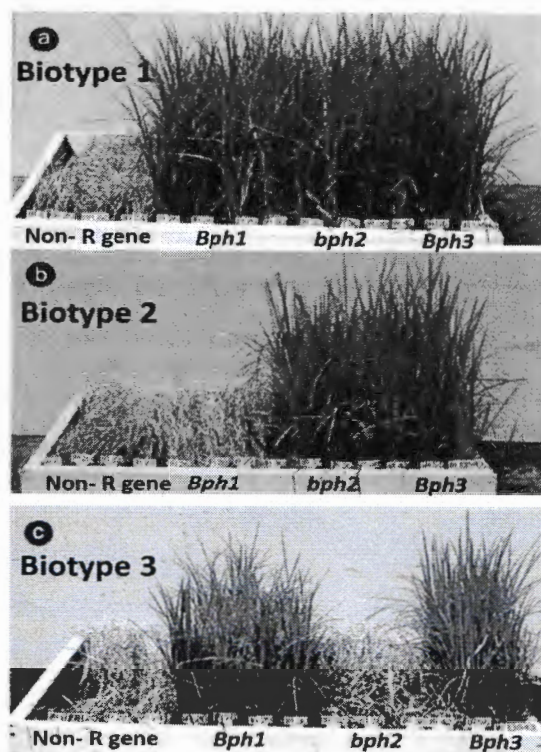
ประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามารถปรับตัวเพื่อความอยู่รอดได้ดีในหลายสภาพแวดล้อม สามารถอพยพเคลื่อนย้ายได้ไกลโดยอาศัยลมมรสุมและปรับเปลี่ยนประชากรอยู่ตลอดเวลา โดยพบว่า เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มาจากสภาพภูมิศาสตร์และสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน หรือ มาจากต่างพื้นที่จะมีรูปแบบความรุนแรงในการเข้าทำลายพันธุ์ข้าวแตกต่างกัน ซึ่งพันธุ์ข้าวที่ต้านทานต่อประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในพื้นที่หนึ่งอาจจะอ่อนแอต่อประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในเขตพื้นที่อื่น นอกจากนั้นยังมีความหลากหลายในการเข้าทำลายพันธุ์ข้าวที่มีถิ่นต้านทานแตกต่างกัน เรียกความแตกต่างนี้ว่า “ไบโอไทป์” (biotype) (Claridge and Hollander, 1980) การเกิดไบโอไทป์ใหม่เป็นกระบวนการการพัฒนาและปรับตัวเพื่อความอยู่รอดของแมลง (รวมถึงการอยู่รอดและมีการพัฒนาวัยบนต้นข้าว หรือการใช้ต้นข้าวเป็นแหล่งให้สารอาหาร และวางไข่เพื่อขยายเผ่าพันธุ์) (Claridge and Den Hollander, 1983; Diehl and Bush, 1984) ถือเป็นปฏิสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์ข้าวกับแมลง และสภาพแวดล้อม ซึ่งถือเป็นวิวัฒนาการร่วมระหว่างสิ่งมีชีวิตและสภาพแวดล้อมในขนาดนั้น จากการปรับตัวดังกล่าวทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเกิดการกลายพันธุ์ ซึ่งสุดท้ายแล้วแมลงเหล่านั้นก็จะสามารถเข้าทำลายพันธุ์ข้าวต้านทานได้ ทำให้เกิดเป็น ไบโอไทป์ใหม่ขึ้น และพันธุ์กรรมที่ถูกปรับเปลี่ยนไปเหล่านั้นจะสามารถถ่ายทอดไปสู่รุ่นต่อไป ทำให้มีลักษณะทางพันธุ์กรรมที่ปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อม และพันธุ์ต้านทานใหม่ๆ ได้ (ภมร ปิตตาวะตัง, เจตน์ ศษฤกษ์ และ สุรเดช ปาละวิสุทธิ, 2554; Saxena et al, 1983)

ไบโอไทป์ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่รู้จักกันดีในงานวิจัยเกี่ยวกับข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล มีจำนวน 4 ไบโอไทป์ ประกอบด้วย ไบโอไทป์ 1 และ 2 มีการกระจายกันอย่างแพร่หลายในทวีปเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ และเอเชียตะวันออก โดยศึกษาในข้าวพันธุ์ต้านทาน Mudgo ซึ่งมียีน *Bph1* (Jena and Kim, 2010) และไบโอไทป์ 3 เป็นแมลงที่ได้จากทดลองในห้องปฏิบัติการโดยทำการศึกษากับข้าวพันธุ์ต้านทาน ASD7 ที่มียีน *bph2* (Panda and Khush, 1995) ส่วนไบโอไทป์ 4 เป็นประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่รุนแรงมากสามารถเข้าทำลายพันธุ์ข้าวที่มียีน *Bph1* และ *bph2* ได้ แต่ไม่สามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์ Rathu Heenati ที่มียีน *Bph3* พันธุ์ข้าวที่มียีน *bph2* พบว่า มีความอ่อนแอต่อไบโอไทป์ที่พบในเอเชียใต้ เรียกว่า ไบโอไทป์ 4 (Chang, Zhu and He, 2013) แต่พันธุ์ข้าวที่มีถิ่นต้านทาน *Bph3* สามารถที่จะต้านทานเมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลไบโอไทป์นี้เข้าทำลาย ดังนั้น ประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ไม่สามารถเข้าทำลาย

พันธุ์ข้าวใดๆ ที่มียืนต้านทานเรียกว่า ไบโอไทป์ 1 ในขณะที่ประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่สามารถเข้าทำลายต้นข้าวที่มียืน *Bph1* และ *bph2* ได้จะเรียกประชากรแมลงเหล่านั้นว่าเป็นไบโอไทป์ 2 และ 3 ตามลำดับ (ภาพที่ 2.10)

ประเทศไทยมีการศึกษาไบโอไทป์ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและค้นหาพันธุ์กรรมต้านทานตั้งแต่ปี พ.ศ. 2518 (จิรพงศ์ ไจรินทร์, 2553) ในอดีตมีการศึกษาเพื่อค้นหาไบโอไทป์ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประเทศไทยพบเพียง 1-4 ไบโอไทป์ โดยการระบาดในช่วงแรกไบโอไทป์ 1 และ 2 มีบทบาทในการเข้าทำลายพันธุ์ข้าวได้รุนแรง เนื่องจากเกษตรกรใช้พันธุ์ข้าวที่ไม่ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล แต่มีการรายงานโดย Jain et al. (2007) เกี่ยวกับไบโอไทป์ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประเทศไทยพบมีอย่างน้อย 4 ไบโอไทป์ ได้มีนักวิจัยในประเทศไทยได้ทำการศึกษาความรุนแรงในการเข้าทำลายพันธุ์ข้าวที่มียืนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลต่างๆ พบว่าสามารถแยกความแตกต่างของแมลงตามความรุนแรงการเข้าทำลายพันธุ์ข้าวได้มากถึง 7 กลุ่ม (Thanyasiriwat et al., 2009) ซึ่งสอดคล้องกับ พุฒิพงษ์ เพ็งฤกษ์ และคณะ (2554) ทำการศึกษาประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในเขตภาคเหนือตอนล่าง พบว่า สามารถจัดกลุ่มไบโอไทป์ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลบริเวณพื้นที่ดังกล่าวได้มากถึง 9 ไบโอไทป์ โดยจำนวน 3 ใน 9 ไบโอไทป์ พบว่าเป็นแมลงกลุ่มเดิมที่มีการรายงาน ได้แก่ ไบโอไทป์ 2, 3, และ 4 ตามลำดับ นอกจากนั้นเป็นไบโอไทป์ที่ไม่สามารถจำแนกได้รวมทั้งสิ้น 6 ไบโอไทป์ ได้แก่ UKPHS1, UKTK2, UKUT1, UKLS1, และ UKST1 จากการศึกษาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าประชากรแมลงตามสภาพธรรมชาติมีความหลากหลายของไบโอไทป์ปะปนกันภายในประชากรที่พบในสภาพธรรมชาติ ซึ่งยากต่อการควบคุม ณ ปัจจุบันยังไม่มีข้อพิสูจน์ที่ชัดเจนได้ว่าการเปลี่ยนแปลงไบโอไทป์ที่เกิดขึ้นนั้นเกิดจากการใช้พันธุ์ต้านทานติดต่อกันหรือเกิดจากการเปลี่ยนแปลงพันธุ์กรรมภายในประชากรของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเอง หรือเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์พึ่งพาอาศัยภายในตัวของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (Jain et al., 2013; Ferrater et al., 2013)

นอกจาก ภาพที่ 2.10 แล้ว ยังมีการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อจำแนกกลุ่มของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแสดงให้เห็นว่า สายพันธุ์ข้าวที่มียืน *Bph1* จะสามารถต้านทานต่อการเข้าทำลายของไบโอไทป์ 1 และ 3 และ ข้าวสายพันธุ์ใดที่มียืน *bph2* จะสามารถต้านทานต่อการเข้าทำลายของไบโอไทป์ 1 และ 2 และข้าวสายพันธุ์ใดๆ ที่มียืน *Bph3*, *bph4*, *bph8* และ *Bph9* จะสามารถต้านทานต่อการเข้าทำลายของไบโอไทป์ 1, 2, 3 และ 4; และ ถ้าหากข้าวที่มียืน *bph5*, *Bph6* และ *bph7* จะต้านทานเพียงแคไบโอไทป์ 4 เท่านั้น (Khush and Brar, 1991; Panda and Khush, 1995) ไบโอไทป์ใหม่สามารถเกิดขึ้นได้ตลอดเวลาจากการที่มีปลูกข้าวสายพันธุ์ที่มียืนต้านทานเพียงยืนเดียว และปลูกติดต่อกัน จะทำให้พันธุ์ข้าวเหล่านั้นสูญเสียความต้านทาน และเกิดเป็นไบโอไทป์ใหม่ที่สามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์เหล่านั้นได้ แต่ถ้าหากมีการรวมยืนต้านทานหลายๆ ยืน หรือหลายๆ QTLs ก็จะทำให้เกิดความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่คงทน (BPH durable resistance)



ภาพที่ 2.10 ความต้านทานของข้าวต่อชีวชนิดที่แตกต่างกันของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
(a) ชีวชนิด1 สามารถเข้าทำลายสายพันธุ์ที่ไม่มียีนต้านทาน (b) ชีวชนิด2 สามารถ
เข้าทำลายสายพันธุ์ที่มียีน *Bph1* และชีวชนิด3 สามารถเข้าทำลายสายพันธุ์ที่มียีน
bph2

ที่มา: Pathak and Khan (1994)

2.2.2.5 พันธุกรรมควบคุมลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

ความเสียหายของผลผลิตข้าวอันเนื่องมาจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็นปัญหาที่ต้องได้รับการแก้ไข จึงเป็นผลที่นำไปสู่การค้นหาลำดับพันธุกรรมต้านทานเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ ข้าวป่าและข้าวพื้นเมืองถือได้ว่าเป็นพันธุ์ข้าวที่สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมลักษณะต่างๆ ได้อย่างกว้างขวาง ได้แก่ สภาพความเครียดของโรคและแมลง ความแห้งแล้ง และน้ำท่วมขัง โดยเฉพาะเป็นแหล่งพันธุกรรมต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลศัตรูที่สำคัญในระบบการปลูกข้าวในปัจจุบัน

แหล่งพันธุกรรมของยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบในพันธุกรรมข้าวพื้นเมือง และข้าวป่า มีการนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว เพื่อลดการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลกันอย่างต่อเนื่อง ปัจจุบันเทคโนโลยีชีวภาพและงานวิจัยทางด้านจีโนมข้าวก้าวหน้าอย่างรวดเร็ว ได้มีการค้นพบตำแหน่งยีนต้านทานใหม่ๆ เพิ่มขึ้นมีการรายงานการค้นพบตำแหน่งยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลบนโครโมโซมข้าวมาจำนวน 29 ยีน (Ali and Chowdhury, 2014; Wang et al., 2015) ที่ได้รับจากข้าวปลูกพันธุ์พื้นเมือง (*O. sativa*) และพันธุ์ป่า เช่น *O. australiensis*, *O. eichingeri*, *O. latifolia*, *O. officinalis*, *O. rufipogon*, *O. glaberrima* และ

O. minuta ตามลำดับ (Hu et al., 2013; Fujita et al., 2013) (ตารางที่ 2.3) โดยมีการโคลนยีนเพื่อศึกษาหน้าที่ และกลไกต่างๆ ที่ส่งผลให้เกิดความต้านทานแล้วจำนวน 4 ยีน ได้แก่ *Bph14*, *BPH26*, *Bph3* และ *BPH29* ทั้งสี่ยีนมีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซม 3 12 4 และ 6 ตามลำดับ (Du et al., 2009; Tamura et al., 2014; Liu et al., 2014; Wang et al., 2015) ข้าวป่าถือได้ว่าเป็นแหล่งพันธุกรรมต้านทานแมลงที่สำคัญมากแหล่งหนึ่ง มีการรายงานว่ามียีนหลักมากกว่า 21 ยีน สำหรับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล แบ่งออกเป็น 11 ยีนจากข้าวปลูก และอีกจำนวน 5 ยีนจากข้าวป่า *O. officinalis*, จำนวน 2 ยีน จากข้าวป่า *O. australiensis* และอีก 2 ยีน จากข้าวป่า *O. minuta* เป็นต้น (Liang et al., 2008; Rahman et al., 2009) เมื่อไม่นานมานี้มีการรายงานว่ายีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประมาณ 20 ยีน ที่มีการระบุตำแหน่งบนโครโมโซมพบความสัมพันธ์ของยีนต้านทานเหล่านี้และโปรตีนของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีความสัมพันธ์แบบ gene-for-gene ซึ่งเป็นความสัมพันธ์ที่มีการพบบ่อยในโรคพืช (Chang, Zhu and He, 2013; Kobayashi et al., 2014)

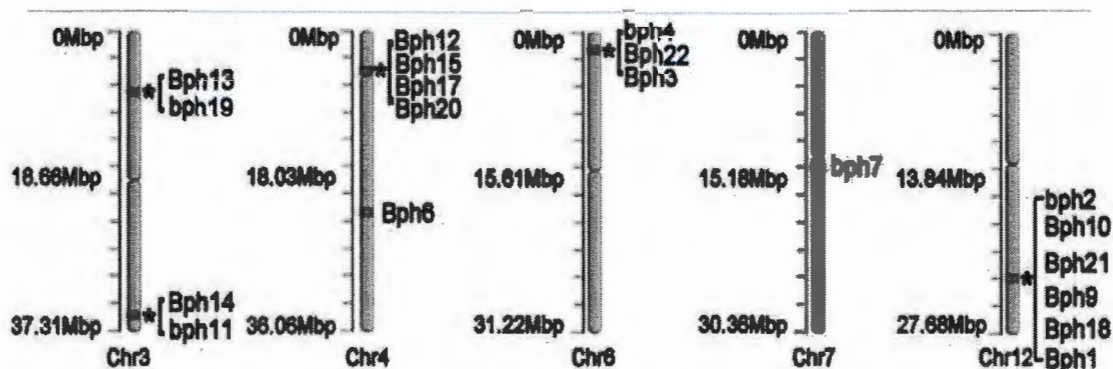
ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลส่วนใหญ่พบว่าเป็นยีนเด่น (dominant genes) เช่น *Bph1*, *Bph3*, *Bph6*, *Bph9*, *Bph10*, *Bph12*, *Bph13*, *Bph14*, *Bph15*, *Bph16*, *Bph17*, *Bph18*, *Bph20*, *Bph21*, *Bph22*, *Bph23* และ *Bph24* เป็นต้น อย่างไรก็ตามพบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เป็นยีนด้อย (recessive genes) เช่นกัน เช่น *bph2*, *bph4*, *bph5*, *bph7*, *bhp8*, *bhp11* และ *bph19* เป็นต้น ยีนต้านทานเหล่านี้ ล้วนแล้วแต่ได้ใช้เทคนิคทางด้านเครื่องหมายดีเอ็นเอเข้ามาช่วยในการวางตำแหน่งยีน ซึ่งยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เป็นยีนหลักเหล่านี้จะมีตำแหน่งบนโครโมโซมที่ใกล้ชิดกับเครื่องหมาย AFLP, RAPD, RFLP, SSR หรือ STS เป็นต้น โดยยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีการกระจายตัวทั่วทั้ง 12 โครโมโซม แต่พบว่ามีเพียง 6 โครโมโซมเท่านั้น ที่มีการค้นพบยีนต้านทานมากที่สุด คือ 2, 3, 4, 6, 11 และ 12 ตามลำดับ ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ ของการกระจายตัวของตำแหน่งยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จะมีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซม 4 ด้านแขนสั้น และโครโมโซม 12 ด้านแขนยาว (ภาพที่ 2.11)

ผลจากการศึกษาพันธุกรรมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเหล่านี้ พบว่าพันธุกรรมต้านทานที่มีจำนวนหลายยีน (polygenes) หรือ กลุ่มของยีน เรียกว่า QTLs ส่วนมากแล้วจะให้ความต้านทานที่คงทนมากกว่ายีนหลักเพียงยีนเดียวที่อยู่ตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งบนโครโมโซม ความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ควบคุมด้วย QTLs พบมีมากกว่า 30 QTLs ที่มีการระบุตำแหน่งบนโครโมโซม 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, 9, 10 และ 12 ตามลำดับ (Alam and Cohen, 1998; Huang et al., 2001; Su et al., 2002; Soundararajan et al., 2004; Liu et al., 2009; Chang, Zhu and He, 2013) นอกจากยีนต้านทานหลัก (major genes) แล้วยังมียีนต้านทานที่เป็นยีนรอง (minor genes) อีกจำนวนมากที่ได้มีการค้นพบตำแหน่งในสายพันธุ์ข้าวต่างๆ ซึ่งต้นข้าวที่มียีน หรือ QTLs ที่ควบคุมลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจะมีกลไกความต้านทาน เพื่อยับยั้งการเข้าทำลายและซ่อมแซมความเสียหายอันเนื่องมาจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

ตารางที่ 2.3 แหล่งพันธุกรรมของยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

No.	R gene	Source/Variety
1	<i>Bph1</i>	Mudgo, CO22 (IT 000588), TKM6, Milyang30, Milyang34 (IT 006216), Nampungbye, Chilseongbye, Andabye, Kanto PL4 (IT173362), Cheongcheongbye, Changsongbye, Baekunchalbye, IR26 (IT001886), IR28 (IT001892), IR29 (IT001893), IR30 (IT001899), Hangangchalbye, Yeongpungbye, Namyongbye, Gayabye, Samgangbye, Namcheonbye, MTU15, IR26, IR28, IR29, IR30, IR34, IR44, IR45, IR46, IR64 และ MGL2
2	<i>bph2</i>	ASD7, ASD9, IR 1154-243, Norin-PL4, Hwacheongbye, PTB18, PTB33, H105, Palasithari 601, H5, IR32, IR36, IR38, IR40, IR42, IR48, IR50, IR52, IR54, IR65
3	<i>Bph3</i>	Rathu Heenati, PTB19, Gangala, Horana Mawee, Muthumanikam, Kuruhondarawala, MuduKiriya, PTB33, IR56, IR58, IR60, IR62, IR68, IR70, IR72, IR74
4	<i>bph4</i>	Babawee, Gambada Samba, Hotel Samba, Kahata Samba, Thirissa, Sulai, Vellai Illankali, Heenhoranamawee, Kulu Kurawe, Lekam Samba, Senawee and IR66
5	<i>bph5</i>	ARC10550
6	<i>Bph6</i>	Swarnalata, <i>O. officinalis</i> (acc.00896)
7	<i>Bph7</i>	T12
8	<i>bph8</i>	Chin Saba, Col. 5 Thailand and Col. 11 Thailand
9	<i>Bph9</i>	Pokkali, Balamee and Kaharamana
10	<i>Bph10</i>	<i>O. australiensis</i> and IR65482-4-136-2-2
11	<i>bph11</i>	<i>O. officinalis</i> , DV85 and IR54751-2-44-15-24-3
12	<i>Bph12</i>	<i>O. officinalis</i> , <i>O. latifolia</i> , B14 and IR54751-2-34-10-6-2
13	<i>Bph13</i>	<i>O. eichingeri</i> , <i>O. officinalis</i> (acc.00896), acc105159 and IR54745-2-21-12-17-6
14	<i>Bph14</i>	<i>O. officinalis</i> , RI35 and B5
15	<i>Bph15</i>	<i>O. officinalis</i> and B5
16	<i>Bph17</i>	Rathu Heenati
17	<i>Bph18</i>	<i>O. australiensis</i> and IR65482-7-216-1-2
18	<i>bph19</i>	AS20-1
19	<i>Bph20</i>	<i>O. minuta</i> (acc. 101141), IR71033-121-15 and ADR 52
20	<i>bph21</i>	ADR52, <i>O. minuta</i> (acc. 101141) and IR71033-121-15
21	<i>Bph22</i>	IR75870-5-8-5-B-2-B and IR75870-5-8-5-B-1-B
22	<i>Bph23</i>	IR71033-121-15
23	<i>bph24</i>	IR73678-6-9-B
24	<i>Bph25(t)</i>	ADR52
25	<i>Bph26(t)</i>	ADR52
26	<i>Bph27</i>	GX2183
27	<i>Bph28(t)</i>	DV85
28	<i>BPH29</i>	TR539 (<i>O. rufipogon</i>)

ที่มา: Ali and Chowdhury (2014)



ภาพที่ 2.11 ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลบนโครโมโซมข้าว จำนวน 5 โครโมโซม ได้แก่ โครโมโซม 3, 4, 6, 7 และ 12 ตามลำดับ ที่พบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวนมาก
ที่มา: Chang, Zhu and He (2013)

1) โครงสร้างและหน้าที่ของยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

ความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็นความสามารถของข้าวในการขับไล่หรือทนต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล รวมทั้งการฟื้นตัวของข้าวจากความเสียหายในการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ลักษณะความต้านทานของข้าวทางชีวเคมีหรือสัณฐานวิทยาของข้าว ที่มีผลต่อพฤติกรรมและกระบวนการเมแทบอลิซึมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ทำให้ข้าวยับยั้งการเพิ่มขึ้นจำนวนของประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และทำให้ข้าวได้รับความเสียหายลดลง ในพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ข้าวจะปรับตัวจากการเข้าทำลายของประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทำให้ข้าวสามารถอยู่รอดจนถึงให้ผลผลิตได้ ในการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าว ข้าวจะแสดงลักษณะต้านทานต่อไอบีโอของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยสามารถจำแนกกลไกความต้านทานต่อแมลงของพืชเป็นสามลักษณะ ดังนี้ (จิรพงศ์ ไจิรินทร์, 2542)

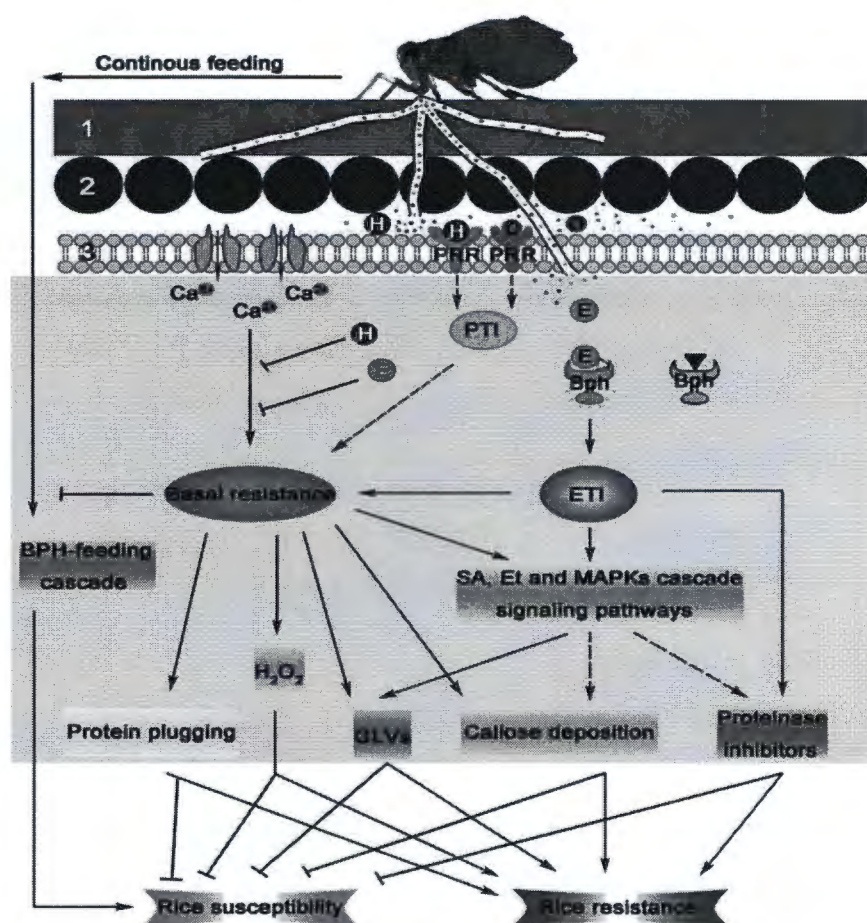
1.1) ความต้านทานของพืชต่อพฤติกรรมของแมลง (antixenosis) เป็นกลไกความต้านทานของข้าวเพื่อขัดขวางยับยั้ง การเข้าทำลายมีผลทำให้จำนวนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เข้าทำลายมีปริมาณลดลง กลไกการต้านทานลักษณะนี้ จะไม่เอื้อต่อการเพิ่มประชากรหรือรบกวนพฤติกรรมการผสมพันธุ์ การวางไข่ การกินอาหาร และการย่อยดูดซึมอาหาร บางครั้งอาจทำให้แมลงอดอาหารตายในที่สุด ซึ่งเกิดขึ้นจากปัจจัยทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา และชีวเคมีในพืช

1.2) ภาวะยับยั้งหรือผลเสียต่อชีววิทยาของแมลง (antibiosis) เป็นกลไกความต้านทานของข้าวที่แสดงลักษณะที่มีผลร้ายต่อวงจรชีวิตเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เมื่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายและดูดกินน้ำเลี้ยงจากข้าว จะส่งผลให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล มีอัตราการตายเพิ่มมากขึ้น ขนาดและน้ำหนักตัวลดลง ระยะเวลาการเป็นตัวอ่อนลดลง ตัวเต็มวัยมีอายุสั้น สาเหตุของการต้านทานลักษณะนี้ เกิดเนื่องข้าวผลิตสารที่เป็นพิษต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

1.3) ความทนทานของพืชต่อแมลง (tolerance) เป็นกลไกหรือความสามารถของข้าวที่เจริญเติบโต ขยายพันธุ์ และให้ผลผลิต สามารถซ่อมแซมส่วนที่เสียหายอันเนื่องมาจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยผลผลิตของข้าวไม่ลดลงหรือลดลงเพียงเล็กน้อย

หลังจากมีการโคลนยีนต้านทานเพื่อยกกระโดดสีน้ำตาลได้สำเร็จ ซึ่งปัจจุบันมีจำนวน 4 ยีน ได้แก่ *Bph14*, *BPH26*, *Bph3* และ *BPH29* ได้มีการศึกษาโครงสร้างพื้นฐานทางโมเลกุลเพื่อศึกษาหน้าที่ของยีนต้านทานเหล่านี้ ศึกษาการตอบสนองเมื่อถูกแมลงเข้าทำลาย และเพื่อให้ทราบถึงโครงสร้างโปรตีนที่ทำให้เกิดการแสดงออกของยีน และส่งผลให้ข้าวมีความต้านทานเมื่อเพี้ยกระโดดสีน้ำตาลใช้ปากเจาะส่วนต่างๆ ของต้นข้าว ในยีน *Bph14* และ *BPH26* บนโครโมโซม 3 และ 12 ตามลำดับ โปรตีนที่ทำให้ข้าวเกิดความต้านทานคือ coiled-coil nucleotide-binding และ leucine-rich repeat (CC-NB-LRR) ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งในครอบครัว NB-LRR (Du et al., 2009; Tamura et al., 2014) ซึ่งเป็นประเภทยีนที่คล้ายกับโปรตีนต้านทานโรคในพืช (R proteins) การแสดงออกของ *Bph14* จะกระตุ้น salicylic acid ทำการส่งสัญญาณทำให้เกิดการสะสมของ แคลโลส (callose) ในโพเลมของต้นข้าว และผลิตสารยับยั้งทริปซิน (trypsin inhibitor production) หลังจากที่ถูกแมลงเข้าทำลาย ซึ่งทำให้ลดอัตราการกิน อัตราการเจริญเติบโต และยืดอายุการเป็นตัวอ่อน และทำให้เพี้ยกระโดดสีน้ำตาลตายในที่สุด ซึ่งทำนองเดียวกับการทำงานของยีน *BPH26* ซึ่งจะไปยับยั้งการกินอาหารของเพี้ยกระโดดสีน้ำตาลในโพเลม ซึ่งอาจจะทำให้สารอาหารที่เพี้ยกระโดดสีน้ำตาลต้องการเปลี่ยนไป ส่งผลทำให้อัตราการกินลดลง จนสุดท้ายแมลงอดอาหาร และตายไปในที่สุด ส่วนในยีน *Bph3* บนโครโมโซม 4 มีกลุ่มยีนจำนวน 3 ยีนที่เกี่ยวข้องกับการทำหน้าที่ของ lectin receptor kinases ตรงเยื่อหุ้มบางๆ ที่อยู่ติดกับผนังเซลล์ (plasma membrane) ที่มีหน้าที่ควบคุมการแสดงออกทำให้ต้นข้าวต้านทานเพี้ยกระโดดสีน้ำตาล และความต้านทานที่คงทนเมื่อถูกเพี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลาย (Liu et al., 2014) การศึกษายีน *BPH29* บนโครโมโซม 6 พบว่าการตอบสนองของข้าวเมื่อถูกเพี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลาย จะมีกรด salicylic acid ส่งสัญญาณเพื่อยับยั้งหรือยกเลิกการสร้าง jasmonic acid/ethylene-dependent pathway ส่งผลทำให้ต้นข้าวป้องกันไม่ให้เพี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลาย ซึ่งกลไกดังกล่าวมีความคล้ายคลึงกับการตอบสนองของพืชเพื่อป้องกัน biotrophic pathogens (Wang et al., 2015) ในพันธุ์ข้าวต้านทานที่มียีน *Bph14*

การตอบสนองเพื่อสารภูมิคุ้มกันทำให้ต้นข้าวสามารถต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยธรรมชาติทั่วไปตัวกลางในการรับส่งสัญญาณบอกเหตุว่ามีสิ่งแปลกปลอมอื่นๆ เข้ามาสู่เซลล์พืช ซึ่งอาจจะเป็นสารที่ติดมากับแมลงโดยตรง หรืออาจจะเป็นสารที่พืชผลิตขึ้นมาเพื่อเป็นการส่งสารไปยังองค์ประกอบต่างๆ ที่มีหน้าที่ในการทำงานของยีนต้านทาน เช่น ถ้าหากพืชถูกโรคเข้าทำลายจะถูกกระตุ้นเพื่อส่งสัญญาณของ recognition of pathogen หรือ microbe-associated molecular patterns (PAMPs or MAMPs) โดย pattern recognition receptors (PRRs) เป็นการตอบสนองของภูมิคุ้มกันที่เรียกว่า PAMP-triggered immunity ในการศึกษาอื่นๆ เกี่ยวกับภูมิคุ้มกันเชื้อโรคและแมลง คือ herbivore-associated molecular patterns (HAMPs) เป็นส่วนที่ได้รับจากแมลงโดยตรง ซึ่งอาจจะเป็น โปรตีนไคติน หรือกรดอะมิโนเป็นต้น และ damage-associated molecular patterns (DAMPs) เป็นส่วนที่พืชตอบสนองเมื่อถูกแมลงทำลาย ซึ่งเกิดจากความเสียหายของเนื้อเยื่อบริเวณที่แมลงเข้าทำลาย ซึ่งเป็นการตอบสนองที่เหมือนกันทั้งเมื่อเพี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลาย และโรคเข้าทำลาย (Heil, 2009)



ภาพที่ 2.12 โมเดลการตอบสนองของต้นข้าวเมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลาย
ที่มา: Chang, Zhu and He (2013)

นอกจากนี้ยังค้นพบว่า การกระตุ้นให้ต้นข้าวตอบสนองเพื่อป้องกันการเข้าทำลายของแมลงโดย PRRs เช่น ความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของข้าวที่มียีน *Bph3* บนโครโมโซม 4 ซึ่งอาจถูกกระตุ้นจาก HAMPs ที่มากับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล หรือ DAMPs ที่พืชสร้างขึ้นเองหรืออาจจะเป็นไปได้ทั้ง 2 กรณี (Hogenhout and Zipfel, 2015)

ฮอร์โมนพืชถือเป็นการส่งสัญญาณที่มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการตอบสนองเพื่อป้องกันการเข้าทำลายของศัตรูพืช ล่าสุดมีการค้นพบว่า Ca^{2+} MAPKs และ OsRac GTPase มีบทบาทสำคัญต่อการตอบสนองของภูมิคุ้มกันในต้นข้าว (Chang, Zhu and He, 2013) การป้องกันการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เกิดจากฮอร์โมนพืชนั้น มีความซับซ้อนมาก ตัวที่พบมากและมีความสำคัญต้นข้าวเมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลาย คือ Jasmonic acid (JA), salicylic acid (SA), และ ethylene (Et) ที่ต้นข้าวผลิตขึ้น จากที่กล่าวมาข้างต้น Chang, Zhu and He (2013) ได้สร้างโมเดลการตอบสนองของต้นข้าวเมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลาย ทั้งที่เป็น การตอบสนองของภูมิคุ้มกันของข้าวที่เป็นสายพันธุ์ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และการตอบสนองของภูมิคุ้มกันของข้าวที่เป็นสายพันธุ์อ่อนแอ (ภาพที่ 2.12)

2) การวางตำแหน่งยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

การวางตำแหน่งยีนควบคุมลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลบนแผนที่พันธุกรรม อาศัยหลักการกระจายตัวของยีนที่ศึกษา โดยจะดำเนินการในประชากรที่มีการกระจายตัวทางพันธุกรรมสูง (segregation population) เช่น ประชากรลูกผสมชั่วรุ่นที่ 2 (F_2 population) ประชากรลูกผสมกลับ (backcross population) ประชากรรีคอมบิแนนท์อินเบรดสาย (recombinant inbred line) และประชากร Double haploid เมื่อได้ประชากรที่มีการกระจายตัวทางพันธุกรรมแล้ว จากนั้นทำการคัดเลือกเครื่องหมายดีเอ็นเอที่แสดงความแตกต่างระหว่างพ่อและแม่ในลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล หลังจากคัดเลือกเครื่องหมายโมเลกุลที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์พ่อแม่แล้ว นำเครื่องหมายโมเลกุลดังกล่าวมาจีโนไทป์ประชากรที่ใช้สร้างแผนที่พันธุกรรม (เปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่ และลูกผสมชั่วรุ่นที่ 1) จากนั้นวิเคราะห์ความเชื่อมโยงระหว่างเครื่องหมายโมเลกุลและลักษณะจีโนไทป์ เพื่อจัดวางตำแหน่งเครื่องหมายโมเลกุลบนแผนที่พันธุกรรมของข้าว โดยนำข้อมูลประชากรของต้นข้าวแต่ละต้นที่มีลักษณะต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมาวิเคราะห์ความสัมพันธ์กับตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุล ที่มีการจัดวางไว้บนโครโมโซมต่างๆ บนแผนที่พันธุกรรม (ตารางที่ 2.4) ตัวอย่างเช่น Jairin et al. (2007) วางตำแหน่งของยีน *Bph3* ที่สัมพันธ์กับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากข้าว Rathu Heenati โดยใช้ประชากรลูกผสมกลับ BC_3F_2 ซึ่งเกิดจากการผสมระหว่างข้าวพันธุ์ Rathu Heenati กับพันธุ์ ข้าวดอกมะลิ 105 แล้วทดสอบความต้านทานโดยใช้ประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เก็บรวบรวมจากที่ต่างๆ ของประเทศไทย พบว่า ยีน *Bph3* มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่ 6 และอยู่ใกล้ชิดกับเครื่องหมายโมเลกุล RM588 และ RM589 ต่อมามีการศึกษาพบ ยีน *Bph4* มีตำแหน่งใกล้ชิดกับยีน *Bph3* บนโครโมโซมที่ 6 ซึ่งอยู่ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล RM586 และ RM589 ทำการศึกษาในประชากร F_2 (TN1 x Babawee และ Babawee x ข้าวดอกมะลิ 105) การค้นพบยีนต้านทาน *Bph3* ในสายพันธุ์ข้าวสายพันธุ์ Rathu Heenati และ PTB33 ซึ่งสายพันธุ์ข้าวทั้งสองมีความต้านทานต่อประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ใช้ทดสอบที่สถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) และยังสามารถต้านทานต่อประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประเทศไทย อินเดีย ฟิลิปปินส์ เวียดนาม จีน บังคลาเทศ และลาว (Jairin et al., 2007) ยีนต้านทาน *Bph3* มีกลไกความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประกอบด้วย ความชอบของแมลงในการใช้พืชอาศัย (Anitoxenosis) การรอดชีวิตของแมลงบนพืชอาศัย (Antibiosis) และความทนทานของพืชต่อการดูดกินของแมลง (Tolerance) (วิศรุต สุขะเกตุ และคณะ, 2553) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sarao and Bentur (2016) ที่ทำการศึกษากลไกความต้านทานแบบ anitoxenosis และ tolerance ในข้าวพันธุ์ Rathu Heenati จากกลไกความต้านทานที่หลายลักษณะนี้จึงทำให้ยีนต้านทาน *Bph3* เป็นแหล่งพันธุกรรมที่สำคัญอย่างยิ่งในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพื่อลดความเสียหาย

จิรพงศ์ ไจรินทร์ และคณะ (2552) รายงานว่า ยีนที่ต้านทานต่อประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลส่วนใหญ่ ได้แก่ ยีน *Bph3*, *Bph11*, *Bph12*, *Bph14*, และ *Bph15* และยังมีพันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทานบางยีน เช่น *Bph13*, *bph16*, *Bph17*, *Bph18* และ *bph19* ที่ยังไม่ได้นำมาศึกษาและทดสอบกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประเทศไทย จากการประเมินความต้านทานของพันธุ์ข้าว Rathu Heenati ที่มียีนต้านทาน *Bph3* และพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอต่อ

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะต้นกล้าและระยะแตกกอ โดยทดสอบความชอบและอัตราการกิน ซึ่งคาดว่าลักษณะความต้านทานน่าจะเกี่ยวข้องกับอินทรีย์เคมีภายในต้นข้าวที่สามารถยับยั้งการกินของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

Hou et al. (2011) ได้จัดทำแผนที่พันธุกรรม และวิเคราะห์พันธุกรรมความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของยีน *Bph22(t)* และ *Bph23(t)* ในประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 (F_2) ที่ได้จากการผสมระหว่างข้าวสายพันธุ์ WB01 ซึ่งรับยีนต้านทานจากข้าวป่า *Oryza rufipogon* Griff. กับข้าวอินดิกาสายพันธุ์ 9311 โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล simple sequence repeat (SSR) จำนวน 141 เครื่องหมาย ในการจีโนไทป์ประชากร F_2 และใช้สำหรับจัดทำแผนที่ยีนดังกล่าว ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตำแหน่งของเครื่องหมายโมเลกุล และบันทึกข้อมูลความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยทดสอบกับประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประเทศจีน พบว่า ยีน *Bph22(t)* และ *Bph23(t)* มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่ 4 และ 8 มีตำแหน่งอยู่ระหว่างเครื่องหมาย RM8212-RM261 และ RM2655-RM3572 ตามลำดับ

Yang et al. (2012) จากการสร้างแผนที่พันธุกรรมเพื่อค้นหาตำแหน่งยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์ RBPH54 ซึ่งมีแหล่งพันธุกรรมจากข้าวป่า *Oryza rufipogon* (Griff.) พบยีนต้านทานที่เป็นยีนด้อยจำนวน 2 ยีน ได้แก่ *bph20(t)* ระหว่างเครื่องหมาย RM435-RM540 บนโครโมโซม 6 และ *bph21(t)* ระหว่างเครื่องหมาย RM222-RM224 บนโครโมโซม 10 ตามลำดับ จากนั้นทำการสร้างแผนที่แบบละเอียดตรงตำแหน่งของยีน *bph20(t)* ด้านแขนสั้นของโครโมโซม 6 พบว่าเครื่องหมายดีเอ็นเอใหม่ที่เพิ่มเข้าไปช่วงระหว่าง 2.5 cM ของ RM540 มีเครื่องหมาย SSR จำนวน 2 เครื่องหมาย คือ BYL7 และ BYL8 ที่ขนานกับยีน *bph20(t)* จากการทำแผนที่กายภาพทำให้คาดการณ์ว่ายีนต้านทาน *bph20(t)* น่าจะอยู่ที่ 75 kb และเชื่อมโยงกับ PAC clone คือ P0514G12 ซึ่งเป็นข้อมูลที่มีการรายงานจากพื้นฐานลำดับเบสของข้าว Nipponbare แต่ยังไม่สามารถสร้างแผนที่กายภาพของยีน *bph21(t)* ได้ ปัจจุบันได้มีการโคลนยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากข้าวป่า *O. rufipogon* บนโครโมโซม 6 สำเร็จแล้ว โดยมีการตั้งชื่อยีนใหม่นี้ว่า BPH29 (Wang et al., 2015)

ยีนต้านทานจากข้าวป่า *Oryza rufipogon* (Griff.) มีความต้านทานที่ไม่ดีเท่าที่ควร อย่างไรก็ตามพบว่ามีการใช้ประโยชน์จากแหล่งพันธุกรรมนี้ได้ เนื่องจากความต้านทานที่ได้สูงเกินไปจะทำให้แมลงมีการพัฒนาไปโอไฮโบใหม่ช้าลง และอีกประการคือจีโนมของข้าวป่าพันธุ์นี้เป็นแบบ AA genome ซึ่งเป็นแบบเดียวกันกับข้าวปลูก *Oryza sativa* L. จึงทำให้มีฐานพันธุกรรมไม่ห่างกันมากเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวป่าชนิดอื่นที่มีรูปแบบจีโนมต่างกันมากทำให้ลูกผสมที่ได้นั้นมักเป็นหมัน ซึ่งยากต่อการปลูกขยายเพื่อพัฒนาต่อไป (Yang et al., 2012) Huang et al. (2012) วิเคราะห์ QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวป่า Dongxiang (*Oryza rufipogon* Griff.) โดยใช้ประชากรข้าว 2 ประชากร ได้แก่ BC_1F_5 จำนวน 202 สายพันธุ์ และ BC_3F_3 จำนวน 195 สายพันธุ์ ซึ่งได้จากการผสมระหว่างข้าวสายพันธุ์ Dongxiang (wild rice) เป็นสายพันธุ์ให้ และ Xieqingzao B (indica) เป็นสายพันธุ์รับ ทำการวิเคราะห์ QTLs ที่ควบคุมลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่า มี 2 QTLs ที่ควบคุมลักษณะความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวป่า Dongxiang ได้แก่ *qBph2* มีตำแหน่งระหว่างเครื่องหมาย RM29-RG157

บนโครโมโซม 2 และ *qBph7* อยู่ระหว่างเครื่องหมาย RM11–RM234 บนโครโมโซม 7 มีเปอร์เซ็นต์การแสดงออกของความแปรปรวนลักษณะฟีโนไทป์ (Phenotypic variation explained (%): PVE (%)) เท่ากับ 21.8 และ 67.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เนื่องจากยีนต้านทานที่ค้นพบบนตำแหน่งต่างๆ ทั้งทั้ง 12 โครโมโซม เมื่อใช้ยีนเหล่านั้นเพื่อปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกอย่างแพร่หลาย หลังจากที่ถูกเกษตรกรปลูกพันธุ์ต้านทานไประยะหนึ่ง กลับพบว่ามีประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่สามารถเข้าทำลายพันธุ์ต้านทานได้ จากเหตุผลนี้จึงทำให้นักวิจัยหลายๆ กลุ่มพากันตั้งสมมติฐานจากเหตุที่เกิดขึ้นเกี่ยวกับการพบเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลไบโอไทป์ใหม่ๆ โดยนักวิจัยบางกลุ่มเชื่อว่าการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์พึ่งพาอาศัยภายในตัวแมลง หรือนักวิจัยบางกลุ่มเชื่อว่าเป็นลักษณะที่ถูกควบคุมด้วยยีนและถ่ายทอดทางพันธุกรรม จึงทำให้เกิดการค้นหาลำดับยีนที่เกี่ยวข้องกับไบโอไทป์บนโครโมโซมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ทำให้ทราบตำแหน่งยีนที่น่าจะเป็นสาเหตุหลักของการแยกความแตกต่างของไบโอไทป์ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (จิรพงศ์ ไกรรินทร์ และคณะ 2556; Jairin et al., 2013) ซึ่งจะนำไปสู่การศึกษา เพื่อค้นหายีนที่ควบคุมไบโอไทป์ในเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในอนาคตต่อไป ถือเป็นงานแยกไบโอไทป์ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลวิธีใหม่ นอกเหนือจากการทดสอบกับพันธุ์ข้าวที่มียีนต่างๆ

ตารางที่ 2.4 การสืบค้นหายีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าว

Gene	Chr.	Parentage used	Reference
<i>Bph1</i>	12	IR28 x Koshihikari	Hirabayashi and Ogawa (1995)
	12	Mudgo x Nagdongbyeo	Cha et al. (1999)
	12	Norin-PL3 x Tsukushibare	Sharma et al. (2003)
	12	Cheongcheongbyeo x Hwayeongbyeo	Cha et al. (2008)
<i>bph2</i>	12L	IR1154-243	Murata et al. (1998)
<i>bph2</i>	12	ASD x C418	Hong et al. (2006)
<i>bph2</i>	12	Nipponbare x Kasalath	Gamalath et al. (2009)
<i>Bph3</i>	6S	PTB33 x RD6	Jairin et al. (2007)
	6S	Rathu Henati x KDML 105	Jairin et al. (2007)
<i>Bph3</i>	4S	Rathu Henati x 02428	Liu et al. (2014)
<i>bph4</i>	6S	Babawee x IR24/Tsukushibare.	Kawaguchi et al. (2001)
	6S	TN1 x Babawee	Jairin et al. (2010)
	6S	Babawee x KDML 105	Jairin et al. (2010)
<i>Bph6</i>	4L	9311 x Nipponbare	Qiu et al. (2010)
<i>Bph6</i>	11	IR54741-3-21-22	Jena et al. (2002)
<i>Bph7</i>	4	-	He. (2007)
<i>bph7</i>	4	T12	Kabir and Khush (1988)
<i>bph8</i>	4	Col.5T Col.11T	Nemoto et al. (1989)
<i>bph8</i>	4	Chinsaba	Nemoto et al. (1989)
<i>Bph8</i>	4	-	He. (2007)
<i>Bph9</i>	12L	Nipponbare x Kasalath, Norin-PL3 x Pokkali	Murata et al. (2001)
<i>Bph9</i>	12L	Karahamana	Su et al. (2006)
<i>Bph10</i>	12L	<i>Oryza australiensis</i>	Ishii et al. (1994)
<i>Bph10</i>	12	IR31917-45-3-2/IR54742	Lang and Buu (2003)
<i>bph11</i>	9	-	Takita (1996)
<i>bph11(t)</i>	3	<i>Oryza officinalis</i>	Hirabayashi et al. (1998)
<i>bph12(t)</i>	4	<i>Oryza officinalis</i>	Hirabayashi et al. (1999)
<i>Bph12(t)</i>	4S	Taichung Native 1 x B14	Yang et al. (2002)
<i>Bph13(t)</i>	2	<i>Oryza eichingeri</i> x 02428	Guoqing et al. (2001)
<i>Bph13(t)</i>	3S	<i>Oryza officinalis</i>	Renganayaki et al. (2002)
<i>Bph14</i>	3L	B5	Huang et al. (2001)
<i>Bph15</i>	4S	B5	Huang et al. (2001)
<i>Bph17</i>	4	Rathu Heenati x 02428	Sun et al. (2005)
<i>Bph18</i>	12	IR31917-45-3-2	Jena et al. (2006)
<i>bph19</i>	3	AS20-1	Chen et al. (2006)
<i>Bph20(t)</i>	4	IR71033-121-15 x Junambyeo	Rahman. (2009)
<i>Bph21(t)</i>	12	IR71033-121-15 x Junambyeo	Rahman (2009)
<i>Bph22</i>	4	<i>Oryza rufipogon</i>	Hou et al. (2011)
<i>Bph23</i>	8	<i>Oryza rufipogon</i>	Hou et al. (2011)
<i>Bph25</i>	6S	ADR52	Myint (2012)
<i>Bph26</i>	12L	ADR52	Myint (2012)
<i>Bph27(t)</i>	4L	Balamawee x 02428	He. et al. (2013)
<i>Bph27</i>	12	GX2183	Huang et al. (2013)
<i>Bph28(t)</i>	11L	DV85 x Kinmaze and DV85 x 9311	Wu et al. (2014)
<i>BPH29</i>	6S	Taichuang Native 1 x TR539 (<i>Oryza rufipogon</i>)	Wang et al. (2015)

ที่มา: Ali and Chowdhury (2014)

2.2.2.6 การปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลนั้น มีการศึกษาวิจัยกันอย่างกว้างขวาง ตั้งแต่การสืบค้นหายีนเป้าหมาย การถ่ายโอนยีนเป้าหมายไปสู่สายพันธุ์ที่ต้องการปรับปรุงพันธุ์ การสร้างประชากรลูกผสมที่มียีนเป้าหมาย และการคัดเลือกลูกผสมให้มีลักษณะต้องตามความต้องการ รวมถึงการกำจัดยีนที่ไม่ต้องการที่มีตำแหน่งอยู่ใกล้ชิดกับยีนเป้าหมาย (linkage drag) เช่น

จิรพงศ์ ไกรรินทร์ และคณะ (2552) ได้ปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประเทศไทย โดยใช้การปรับปรุงแบบผสมกลับ ใช้คู่ผสมระหว่างพันธุ์ต้านทาน Rathu Heenati ข้าวพื้นเมืองของศรีลังกาเป็นสายพันธุ์ให้ยีนต้านทาน *Bph3* และข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เป็นสายพันธุ์รับ โดยใช้เครื่องหมาย RM589 ที่มีตำแหน่งใกล้ชิดกับยีนต้านทาน *Bph3* และเครื่องหมาย RM190, B03_127.8 และ GT11 ในการติดตามลักษณะคุณภาพหุงต้ม (ปริมาณอะไมโลสและความคงตัวของแป้งสุก) ความหอม และ อุณหภูมิแป้งสุก ตามลำดับ และได้แยก linkage drag ระหว่างอัลลีล *Wx^a* ของยีน *Waxy* ที่มีตำแหน่งอยู่ใกล้ชิดกับยีนต้านทาน *Bph3* บนโครโมโซม 6 จากพันธุ์ข้าว Rathu Heenati ผลการศึกษาพบว่า สายพันธุ์ข้าวปรับปรุงที่คัดเลือกได้ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้หลายประชากร และยังคงลักษณะอื่นๆ เหมือนข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

เจตน์ คชฤกษ์ และคณะ (2554) ได้พัฒนาข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ให้ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก ทำการถ่ายยีนต้านทาน *Bph3* จากสายพันธุ์ให้ คือ introgression lines ซึ่งได้จากการผสมระหว่างข้าวขาวดอกมะลิ 105 และ Rathu Heenati โดยใช้การปรับปรุงพันธุ์แบบผสมกลับเข้าไปสู่พันธุ์ชัยนาท 1 จนถึงชั่วที่ BC₃F₁ เพื่อสร้างประชากรผสมกลับชั่วที่ BC₄F₁ ถึง BC₄F₃ และประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของข้าวสายพันธุ์ปรับปรุง โดยใช้เครื่องหมาย RM170 และ RM190 ซึ่งเชื่อมโยงกับยีน *Bph3* คัดเลือกในแต่ละชั่วรุ่นควบคู่กับคัดเลือกลักษณะทรงต้น ผลการประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลพบว่า ข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงส่วนใหญ่มีความต้านทานในระดับดีกว่าพันธุ์ชัยนาท 1

Toojinda et al. (2005) ได้พัฒนาข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ด้วยวิธีการรวมยีนและ QTL จำนวน 5 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะทนต่อสภาพน้ำท่วมฉับพลัน ต้านทานต่อโรคขอบใบไหม้ ต้านทานต่อโรคไหม้ ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ความหอม และลักษณะที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพการหุงต้ม 3 ลักษณะ ได้แก่ (ปริมาณอะไมโลส (amylose content), อุณหภูมิแป้งสุก (gelatinization temperature), และความคงตัวของแป้งสุก (gel consistency) โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก โดยทำการคัดเลือกต้นข้าวแบบรายต้นจากประชากรทั้งหมด โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการคัดเลือกประชากร แล้วทำการประเมินทุกลักษณะที่ได้ทำการปรับปรุง ผลการศึกษาพบว่า ประชากรที่ได้รับการคัดเลือกนั้น มีความดีเด่นกว่าข้าวขาวดอกมะลิ 105 และยังคงรักษาลักษณะทางการเกษตร ความหอม และคุณภาพการหุงต้มเช่นเดียวกับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

Suh et al. (2011) ได้ทำการรวมยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Bph18* ซึ่งเป็นยีนต้านทานแบบกว้างต่อประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จากข้าวป่า *Oryza australiensis*

เข้าสู่ข้าวสายพันธุ์ Junambyeo (*Oryza japonica*) ที่มีลักษณะที่ติดอยู่แล้ว โดยการผสมกลับหาสายพันธุ์รับ Junambyeo โดยใช้เครื่องหมาย 7312.T4A เป็นเครื่องหมาย STS ในการคัดเลือกยีนเป้าหมาย (Foreground selection) และคัดเลือกแบบ Background selection โดยใช้เครื่องหมาย SSR จำนวน 260 เครื่องหมายซึ่งกระจายทั่วทั้ง 12 โครโมโซม ผลการศึกษาพบว่า ข้าวที่ได้รับยีนต้านทาน *Bph18* สามารถต้านทานต่อประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประเทศเกาหลี และมีลักษณะอื่นเหมือนข้าวพันธุ์ Junambyeo

Qiu et al. (2012) พัฒนาสายพันธุ์ข้าวจาปอนิกาให้มีลักษณะต้านทานต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยรวมยีนต้านทาน *BPH12* และ *BPH6* โดยยีนต้านทาน *BPH12* มีตำแหน่งอยู่ช่วง 1.9 cM บนโครโมโซม 4 ระหว่างเครื่องหมาย RM16459-RM1305 สามารถอธิบายความต้านทานเท่ากับ 73.8 เปอร์เซ็นต์ การวางตำแหน่ง QTLs ใช้ประชากร F_2 จากการผสมระหว่าง 93-11 กับ B14 ได้รับยีนต้านทานจากข้าวพันธุ์ B14 (indica rice) ซึ่งมีแหล่งพันธุ์กรรมต้านทานจากข้าวป่า *O. latifolia* จากนั้นทำการรวมยีนต้านทานทั้งสองโดยการผสมพันธุ์ระหว่าง near-isogenic line NIL-*BPH12* กับ NIL-*BPH6* ที่มี genetic background เหมือนข้าวจาปอนิกาพันธุ์ Nipponbare ทำการคัดเลือกจนได้ pyramid line (PYL) ที่มียีน *BPH12* และ *BPH6* เมื่อทำการทดสอบความต้านทานแมลง มีความแตกต่างในความต้านทานของข้าวแบบ non-preference หรือ antixenosis เมื่อเปรียบเทียบระหว่างข้าวสายพันธุ์ปรับปรุง near-isogenic line (NILs) และ pyramid line (PYL) กับสายพันธุ์แม่ Nipponbare พบว่าเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีการพัฒนาการเจริญเติบโตช้าและมีอัตราการรอดชีวิตที่ต่ำบนข้าว NIL-*BPH12* และ NIL-*BPH6* เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเมื่อให้ข้าวพันธุ์ PYL-*BPH12*+*BPH6* เป็นพืชอาศัยจะมีอัตราการเจริญเติบโต (population growth rates (PGR)) ที่ต่ำกว่าพันธุ์ NIL-*BPH12*, NIL-*BPH6* และ Nipponbare แสดงอัตราการเจริญเติบโตเท่ากับ 46.4, 26.8 และ 72.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตของแมลงลดลงมากกว่าพันธุ์ที่มียีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลยีนเดียว และไม่มียีนต้านทานเลย ผลจากการศึกษาทำให้นักปรับปรุงพันธุ์ทราบผลกระทบที่มีต่อแมลงจากกลไกความต้านทานแบบ antixenosis และ antibiosis ของยีนต้านทาน ซึ่งเป็นข้อมูลที่มีความสำคัญมากในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวจาปอนิกาให้ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

Hu et al. (2013) รวมยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลยีนเด่นจำนวนสามยีน (*Bph14*, *Bph15*, *Bph18*) เข้าสู่ข้าวอินดิกาสายพันธุ์ต้นพันธุ์ 9311 และข้าวลูกผสม โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือกร่วมกับการคัดเลือกลักษณะฟีโนไทป์ ปรับปรุงพันธุ์จนได้ข้าวที่มียีนต้านทานทั้งที่มี หนึ่งยีน สองยีน สามยีน และไม่มียีน ตามลำดับ หลังจากนั้นทำการประเมินระดับความต้านทานของยีนเพื่อดูผลกระทบของยีนที่แสดงออกเมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายประเมินในระยะต้นกล้า และระยะข้าวเจริญเติบโตเต็มที่ ทำการวัดน้ำหนักมูลหوانและอัตราการรอดชีวิตของแมลง ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่า ข้าวที่มียีนต้านทานทั้งสามตัวมีระดับความต้านทานที่ดีกว่ามียีนต้านทานเพียงหนึ่งหรือสองยีน ($14/15/18 \geq 14/15 > 15/18 \geq 15 > 14/18 \geq 14 \geq 18 > \text{none}$) ตามลำดับ และยีนที่ระดับความต้านทานที่สูงที่สุดคือ *Bph15* ที่สำคัญสายพันธุ์ pyramiding line มีลักษณะทางการเกษตรอื่นๆเหมือนข้าวพันธุ์ 9311

2.3 การแยก Linkage drag โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก

“linkage drag” เป็นพันธุกรรม หรือ ยีนที่ไม่ต้องการ ซึ่งเป็นยีนที่ติดมากับสายพันธุ์ที่นำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์โดยการผสมพันธุ์ เช่น สายพันธุ์ให้ยีนต้านทานโรคและแมลง โดยยีนเหล่านี้เป็นยีนที่มีความใกล้ชิดหรือเกาะติดกับยีนเป้าหมายที่สนใจ ซึ่งจะมีระยะห่างระหว่างยีนเป้าหมายและยีนที่ไม่ต้องการใกล้ชิดกันมาก ทำให้การถ่ายทอดทางพันธุกรรมในรุ่นสู่รุ่นของยีนทั้งสองตัวนี้มีการถ่ายทอดไปด้วยกันและยากที่จะแยกจากกัน ในกระบวนการแบ่งตัวของเซลล์ซึ่งจะมีการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนโครโมโซม (recombination or crossing over) ในระยะไมโอซิส (meiosis) ดังนั้น ในการแยก linkage drag โดยการปรับปรุงพันธุ์พืชแบบมาตรฐานจึงทำได้ยาก เนื่องจากต้องใช้ประชากรลูกผสมขนาดใหญ่หรือมีจำนวนมาก เพื่อค้นหาต้นข้าวที่มียีนที่ต้องการทั้งสองตำแหน่งบนโครโมโซม แต่ปัจจุบันการแยก linkage drag กระทำได้ง่ายและมีความแม่นยำมากขึ้น โดยการนำเครื่องหมายดีเอ็นเอมาช่วยในการคัดเลือก ซึ่งกระทำโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความใกล้ชิดกับยีนทั้งสองบนโครโมโซมมาช่วยคัดเลือกต้นข้าวที่มีอัลลีลที่ต้องการ ตัวอย่างที่ประสบความสำเร็จในการแยก linkage drag ในข้าว ได้แก่

Wen-qiang et al. (2009) แยก linkage drag ระหว่างลักษณะต้านทานโรคไหม้ (*Pi25(t)*) และลักษณะของผลผลิต ได้แก่ ลักษณะเมล็ดสมบูรณ์ (spikelet fertility (*qSF-6*)) และ จำนวนเมล็ดต่อรวง (number grains per panicle (*qNFGP-6*)) มีตำแหน่งบนโครโมโซม 6 ซึ่งทั้งสองเป็นลักษณะที่มีความสัมพันธ์ต่อลักษณะการให้ผลผลิต โดยทำการแยก linkage drag ในประชากรข้าว recombinant inbred lines (RIL) จำนวน 373 สายพันธุ์ จากคู่ผสมระหว่าง Zhong 156 กับ Gumei 2 จากนั้นใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกจนได้ข้าวที่มีความต้านทานโรคไหม้และมีลักษณะเมล็ดที่สมบูรณ์

Jairin et al. (2009) ทำการแยก linkage drag ระหว่าง *Bph3* และ *Wx^a* อัลลีล เพื่อให้ได้ข้าวที่มียีน *Bph3* และ *Wx^a* จากการศึกษาพบว่า ยีนต้านทาน *Bph3* ในพันธุ์ข้าว Rathu Heenati มีตำแหน่งใกล้กับยีน waxy (*Wx*) ที่สร้าง granule-bound starch synthase (GBSS) ซึ่งจำเป็นสำหรับการสังเคราะห์อะไมโลส บนโครโมโซม 6 ซึ่งมีระยะห่างทั้งสองยีนประมาณ 380 kb โดยอัลลีล *Wx^a* เป็นอัลลีลที่ทำให้เมล็ดมีปริมาณอะไมโลสค่อนข้างสูง หรือ ลักษณะข้าวสุกแข็ง แต่โปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์ต้องการข้าวเจ้าต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) และมีคุณภาพการหุงต้มคล้ายกับข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยได้ทำการแยก linkage drag ในประชากรข้าว BC₃F₂ ระหว่างคู่ผสม Rathu Heenati และ KDML105 จำนวนทั้งหมด 2,343 ต้น จากนั้นใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้กับยีนทั้งสองบนโครโมโซม 6 ทำการคัดเลือกต้นข้าวจนได้ข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงที่สามารถต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลอย่างกว้างขวาง และยังคงลักษณะอื่นๆ เหมือนข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จากการแยก linkage drag ดังกล่าว ต้องใช้จำนวนประชากรมากถึง 2,343 ต้น แสดงให้เห็นถึงโอกาสการที่จะได้ต้นข้าวที่มียีนที่ต้องการมีโอกาสน้อยมาก ดังนั้นการคัดเลือกในประชากรที่มีการกระจายตัวและขนาดประชากรใหญ่ จึงเป็นการเพิ่มโอกาสในการได้ต้นข้าวที่ต้องการ ซึ่งถ้าเป็นการปรับปรุงพันธุ์แบบมาตรฐานกระทำได้ยากเนื่องจากมีข้อจำกัดหลายปัจจัย เช่น แรงงาน ค่าใช้จ่าย และระยะเวลา เป็นต้น แต่เมื่อนำเอาเครื่องหมายดีเอ็นเอมาช่วยในการคัดเลือกยีนเป้าหมายทั้ง 2 ยีน ทำให้การค้นพบต้นข้าวที่ต้องการเร็วขึ้นเนื่องจากสามารถคัดเลือกได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้า

(สุริพร เกตุงาม, 2557) ไม่เพียงแต่ข้าวเท่านั้นที่ประสบปัญหาการติดมาของยีนที่ไม่ต้องการในพืช น้ำมัน เช่น เรพซีด (rapeseed) *Brassica napus* L. จัดอยู่ในวงศ์ Brassicaceae เป็นพืชน้ำมันที่มีปริมาณการผลิตเป็นอันดับ 3 ของโลก รองจากน้ำมันปาล์มและถั่วเหลือง ซึ่งนอกจากจะผลิตเพื่อเป็นน้ำมันสำหรับการทำอาหารแล้ว ยังเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตไบโอดีเซลในทวีปยุโรป ปัญหาการเกิด linkage drag ของพืชชนิดนี้พบว่ามีมากกว่า 46 เปอร์เซนต์ ของพันธุ์ที่มีอยู่ พบมีการถ่ายทอดทางพันธุกรรมร่วมกันของสองลักษณะบนโครโมโซม A8 คือ ลักษณะการลดลงของปริมาณกรดอีรูจิกในเมล็ด (low seed erucic acid content trait) และลักษณะการลดลงของปริมาณน้ำมันในเมล็ด (low seed oil content trait) ซึ่งกรดไขมันอีรูจิกเป็นกรดไขมันชนิดโอเมก้า 9 เป็นกรดไขมันแบบไม่อิ่มตัวที่พบมากในน้ำมันจากเมล็ดของเรพซีด ซึ่งนำมาผลิตน้ำมันในเชิงพาณิชย์มีชื่อเรียกเฉพาะว่า คาโนลา (Canola oil) ดังนั้น การแยกอัลลีลของยีนที่ควบคุมสองลักษณะนี้จึงมีความสำคัญในการพัฒนาสายพันธุ์ของเรพซีด (Cao et al., 2010)

2.4 การปรับปรุงพันธุ์ข้าว

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวมีหลายวิธีขึ้นอยู่กับความเหมาะสมในการเลือกใช้ และปัจจัยต่างๆที่เป็นตัวกำหนดในการเลือกใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์ข้าว เช่น การคัดเลือกหมู่ (mass selection) การคัดเลือกกรวม (bulk selection) การคัดเลือกแบบสืบประวัติ (pedigree selection) ซึ่งแต่ละวิธีเป็นวิธีการคัดเลือกพืชสายพันธุ์ดี และเป็นการสร้างสายพันธุ์บริสุทธิ์ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมแบบพันธุ์แท้ที่สามารถนำสายพันธุ์ที่คัดเลือกไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆต่อไป และอีกวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กันมากในงานด้านปรับปรุงพันธุ์ข้าว คือ การปรับปรุงพันธุ์แบบผสมกลับ (backcross breeding) เป็นวิธีที่นักปรับปรุงพันธุ์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ให้กลับสายพันธุ์ที่มีลักษณะด้อยอยู่แล้วแต่ยังคงขาดลักษณะบางประการ เช่น ต้านทานโรค และแมลง วิธีการผสมกลับจะประกอบด้วยสายพันธุ์ผู้ให้ (donor parent) และสายพันธุ์ผู้รับ (recurrent parent) มักใช้ข้าวพันธุ์ดีแต่ขาดลักษณะบางประการเป็นพันธุ์รับเพื่อรับลักษณะที่ต้องการปรับปรุงพันธุ์ จากพันธุ์ที่เป็นสายพันธุ์ผู้ให้โดยทำการผสมข้ามระหว่างสองสายพันธุ์ดังกล่าวจะได้รุ่นลูก หลังจากนั้นนำรุ่นลูกที่ได้ทำการผสมกลับมายังสายพันธุ์รับหลายๆครั้ง เพื่อให้ได้ข้าวที่มีลักษณะที่ดีเหมือนสายพันธุ์รับทุกประการ และมีการเพิ่มลักษณะที่ต้องการจากสายพันธุ์ผู้ให้เรียกสายพันธุ์นี้ว่า near-isogenic lines ซึ่งสามารถใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ครั้งต่อไป หรือใช้เป็นพันธุ์ใหม่

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานโรคและแมลงโดยใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม (conventional breeding) กระทำได้ยากเนื่องจากจะคัดเลือกต้นข้าวจากลักษณะที่ปรากฏด้วยสายตาหรือฟีโนไทป์ ดังนั้น การแสดงออกของลักษณะที่สนใจจึงมีอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง ทำให้ความแม่นยำในการคัดเลือกลดลง และการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานโรค และแมลงเป็นลักษณะที่มีความซับซ้อนยากในการคัดเลือกด้วยฟีโนไทป์เพียงอย่างเดียว อีกทั้งการทดสอบลักษณะความสามารถในการต้านทานโรค และแมลง ในแต่ละประชากรที่จะคัดเลือกต้องใช้แรงงาน ระยะเวลา และค่าใช้จ่ายสูง ปัจจุบันเทคโนโลยีชีวภาพเข้ามามีบทบาทมากขึ้นในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว มีการประยุกต์ใช้เครื่องหมายโมเลกุลมาช่วยในขั้นตอนการคัดเลือก (marker-assisted selection: MAS) อย่างแพร่หลายร่วมกับการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการคัดเลือก

การคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุลนี้จะคัดจากจีโนไทป์โดยตรง ไม่มีอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง และสามารถคัดเลือกได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้า ที่สำคัญคือสามารถคัดเลือกได้หลายลักษณะพร้อมกัน ดังนั้น ผลการคัดเลือกจึงมีความแม่นยำ และช่วยลดระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้สั้นลง

2.5 การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวเป็นกระบวนการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะดีตามความต้องการ เช่น ผลผลิตสูง ปรับตัวได้ดีในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมและต้านทานต่อโรคแมลง การปรับปรุงพันธุ์ข้าวโดยทั่วไปหรือ การปรับปรุงพันธุ์แบบมาตรฐาน จะทำการประเมินลักษณะ และคัดเลือกสายพันธุ์ตามวัตถุประสงค์ที่ต้องการ โดยทั่วไปจะใช้วิธีสังเกตลักษณะสัณฐานวิทยา (morphological characters) หรือลักษณะที่ปรากฏ (phenotype) เพียงอย่างเดียว ซึ่งลักษณะที่ปรากฏนี้เป็นผลจากการแสดงออกของจีโนไทป์ สภาพแวดล้อม และเป็นการคัดเลือกจากลักษณะที่ปรากฏอาจทำให้ผลที่ได้คลาดเคลื่อนไปจากความเป็นจริงได้ เนื่องจากผลของปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างยีนกับสภาพแวดล้อม (genotype by environment interaction)

ปัจจุบันเครื่องหมายดีเอ็นเอถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว เนื่องจากการจัดกลุ่มหรือการจำแนกสิ่งมีชีวิตโดยอาศัยลักษณะจีโนไทป์ทำได้ยาก โดยเฉพาะสายพันธุ์ข้าวที่มีลักษณะคล้ายคลึงกัน ทำให้ความแม่นยำในการคัดเลือกลดลง ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวมีการประยุกต์ใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอมาช่วยคัดเลือกอย่างแพร่หลายร่วมกับการปรับปรุงพันธุ์แบบมาตรฐาน เนื่องจากเครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกสามารถคัดเลือกลักษณะที่ต้องการหลายๆ ลักษณะพร้อมกันได้ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตพันธุ์ข้าวใหม่ๆ อย่างมีประสิทธิภาพ การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม สามารถใช้ได้หลายขั้นตอน เช่น การคัดเลือกคู่ผสม การคัดเลือกต้นข้าวที่มียีนที่ต้องการในลูกผสมที่มีการกระจายตัวในช่วงต่างๆ และการทดสอบความบริสุทธิ์ของพันธุ์ เป็นต้น (ธีรยุทธ ตูจินดา, 2546) ดังนั้น การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจึงสามารถกระทำได้ โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการคัดเลือก ร่นระยะเวลา ลดแรงงานในการดูแลรักษา คัดเลือกในประชากรที่มีจำนวนมากมีประสิทธิภาพสูงทั้งลักษณะเชิงปริมาณและคุณภาพ และการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอนี้เป็นการคัดเลือกจากจีโนไทป์โดยตรง ไม่มีอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง และสามารถคัดเลือกได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้า (สุริพร เกตุงาม, 2546)

การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก เป็นวิธีการปรับปรุงพันธุ์ที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางในงานปรับปรุงพันธุ์ข้าว เพื่อพัฒนาสายพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะตามที่ต้องการหรือการเพิ่มลักษณะบางลักษณะให้กับสายพันธุ์ที่มีลักษณะอื่นๆ ที่ติดอยู่แล้ว เช่น ลักษณะที่ทนทานต่อความเครียดที่เกิดจากปัจจัยที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต ลดโอกาสการได้ลักษณะที่ไม่ต้องการซึ่งติดมากับลักษณะที่ต้องการคัดเลือก (linkage drag) ปัจจัยที่เป็นตัวกำหนดความสำเร็จของการประยุกต์ใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในงานปรับปรุงพันธุ์ข้าว ได้แก่ จำนวนของยีนเป้าหมาย ความแม่นยำของตำแหน่งยีนเป้าหมายบนโครโมโซม ระยะห่างระหว่างเครื่องหมายดีเอ็นเอกับยีนเป้าหมายควรน้อยกว่า 5 เซนติมอร์แกน (centimorgan: cM หรือ หน่วยแผนที่) ชนิดและจำนวนเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้

ปฏิกริยาสัมพันธ์ระหว่างยีนกับสภาพแวดล้อม ความสัมพันธ์ของยีนในการทำงานร่วมกัน ขนาดของประชากรที่ใช้ในการคัดเลือก และจำนวนครั้งที่ใช้ในการคัดเลือก (ธีรยุทธ ตูจินดา, 2546; Collard and Mackill, 2008)

การประยุกต์ใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวที่นิยมใช้กันมากสามารถแบ่งได้ 5 รูปแบบ ดังนี้ (สุริพร เกตุงาม, 2557; Collard and Mackill, 2008) ได้แก่ 1) การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในการตรวจสอบเชื้อพันธุกรรมที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ (marker-assisted evaluation of breeding material) 2) การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกในการปรับปรุงพันธุ์แบบผสมกลับ (marker-assisted backcrossing; MAB) 3) การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการรวมยีน (marker-assisted pyramiding) 4) การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกชั่วรุ่นแรกๆ ในโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์ (early generation marker-assisted selection) และ 5) การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกร่วมกับการคัดเลือกด้วยฟีโนไทป์ (combined marker-assisted selection) ตามลำดับ

บทที่ 3

การค้นหา QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514

3.1 บทนำ

IR57514-PMI-5-B-1-2 หรือเรียกกันโดยทั่วไปว่า “IR57514” เป็นสายพันธุ์ข้าวที่ได้รับการผสมพันธุ์จากสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) ประเทศฟิลิปปินส์ และได้รับการคัดเลือกที่สถานีทดลองข้าวพิมาย (ปัจจุบันคือ ศูนย์วิจัยข้าวนครราชสีมา) ในปี พ.ศ. 2530 ลักษณะดีเด่นทนแล้ง ผลผลิตสูง และปรับตัวได้ดีในเขตพื้นที่อาศัยน้ำฝน โดยเฉพาะบริเวณพื้นที่ปลูกข้าวแถบลุ่มน้ำโขง (Jongdee et al., 2006; Ouk et al., 2006; Romyen et al., 1998; Jerakongman et al., 1995) ซึ่งมักประสบปัญหาความไม่แน่นอนของปริมาณน้ำฝน ข้าวสายพันธุ์นี้ได้จากการผสมพันธุ์ แบบผสมหลายทางของ IR43581-57-3-3-6/KDML105 (IR55017)/(IR21836-90-3) IR18197/IR4570-124-3-2-2-2 พบว่ามีเชื้อพันธุกรรมของสายพันธุ์ข้าว ขาวดอกมะลิ 105 น้ำสะเกียว 19 และมีเชื้อพันธุกรรมของสายพันธุ์ข้าว ที่มีลักษณะดี ให้ผลผลิตสูง ต้านทานโรคแมลง ทนแล้งดี ที่น่าสนใจและสำคัญเช่น ข้าวพันธุ์ IR8, IR24, TKM6, TETEP, IR44, IR46, IR54, FR13A และ PTB18 เป็นต้น ทำการปลูกคัดเลือกพันธุ์เมื่อปี 2532 ในโครงการไทย-อิหร่าน สถานีทดลองข้าวพิมาย จากนั้นทำการทดสอบคัดเลือกพันธุ์ข้าวที่ศูนย์วิจัยข้าว และสถานีทดลองเครือข่าย ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คัดเลือกสายพันธุ์ข้าวในโครงการจนได้สายพันธุ์ IR57514-PMI-5-B-1-2 ระหว่างปี 2533-2537 และได้มีการทดสอบในพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนในลุ่มแม่น้ำโขง โดยพบว่าข้าวสายพันธุ์ดังกล่าวให้ผลผลิตสูงสม่ำเสมอทั้งสภาพปกติและสภาพแล้งในหลายท้องที่ มีคุณภาพเมล็ดดี และลักษณะทรงต้นดีได้มาตรฐานสามารถปรับตัวเข้ากับพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝน อย่างไรก็ตาม ข้าวสายพันธุ์ IR57514 ไม่ได้รับความนิยมปลูกอย่างแพร่หลาย เนื่องจากคุณภาพการหุงต้มและรับประทาน (cooking and eating quality) ยังไม่เป็นที่ยอมรับของเกษตรกร และผู้บริโภค โดยเมื่อหุงสุกข้าวมีลักษณะแข็งกระด้าง ร่วน เพราะมีปริมาณอะไมโลสสูง (AC = 26-34 เปอร์เซ็นต์) และอุณหภูมิแป้งสุกสูง (ASV = 1-2) ซึ่งต้องใช้อุณหภูมิและระยะเวลาการหุงต้มให้ข้าวสุกนาน

Kate-ngam et al. (2011) ได้พัฒนาสายพันธุ์ข้าว IR57514 ให้มีความหอม มีคุณภาพการหุงต้ม และรับประทานคล้ายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ ซึ่งข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงที่ได้เมื่อมีการหุงสุกจะมีลักษณะนุ่มเหนียว และมีกลิ่นหอม โดยยังคงลักษณะดีเด่นของข้าว สายพันธุ์ IR57514 นี้ไว้ คือ ให้ผลผลิตสูง ทนแล้ง ทนน้ำท่วมฉับพลัน และสามารถปรับตัวเข้ากับพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนได้ดี ซึ่งเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวนี้ให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ยังคงความสามารถในการให้ผลผลิต และความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนในบริเวณลุ่มแม่น้ำโขงได้ สาเหตุที่เลือกปรับปรุงข้าวสายพันธุ์นี้ เนื่องจากมีลักษณะทางการเกษตรอื่นๆ ที่ดีและปรับตัวเมื่ออยู่ภายใต้สภาวะความเครียดในพื้นที่ปลูกข้าวดังกล่าว จนได้ข้าวสายพันธุ์ดีเด่น Jasmine IR57514 โดยข้าวสายพันธุ์ข้าวเจ้าปรับปรุงนี้ ได้แสดงศักยภาพ

ของการทนทานต่อน้ำท่วมฉับพลันในพื้นที่ปลูกข้าว อำเภอ วารินชำราบ จังหวัด อุบลราชธานี ในปี ที่ประสบปัญหาน้ำท่วม (ติดต่อส่วนตัว: รศ.ดร. สุรพร เกตุงาม) ซึ่งต่อมาได้ตั้งชื่อใหม่เป็น “ข้าวเจ้าหอมวาริน” ต่อมาในปี 2555 Khanthong et al. (2012) ได้ผนวกยีนต้านทานโรคไหม้เข้าสู่ สายพันธุ์ข้าว Jasmine IR57514 ที่มีคุณภาพการหุงต้มคล้ายข้าวขาวดอกมะลิ 105 และได้พัฒนา สายพันธุ์ใหม่เป็นข้าวเหนียวหอมต้านทานโรคไหม้ โดยการผสมระหว่างข้าวสายพันธุ์ปรับปรุง กข6 ที่มียีนต้านทานโรคไหม้ *qBl1* และ *qBl11* บนโครโมโซมที่ 1 และ 11 เป็นสายพันธุ์ให้ยีนต้านทาน โรคไหม้และลักษณะข้าวเหนียว กับข้าวสายพันธุ์ Jasmine IR57514 ที่มีลักษณะคุณภาพคล้าย ข้าวดอกมะลิ 105 และ ทนน้ำท่วมฉับพลัน เป็นสายพันธุ์รับ Jasmine IR57514/RD6-Blast No.334 ทำการปรับปรุงพันธุ์จนได้สายพันธุ์ข้าวเหนียวหอมต้านทานโรคไหม้

ข้าวสายพันธุ์ IR57514 เป็นสายพันธุ์ข้าวที่ให้ผลผลิตสูง ทนแล้งและทนน้ำท่วมฉับพลัน ปรับตัวได้ดีในพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนบริเวณลุ่มน้ำโขง (Kate-ngam et al., 2011; Jongdee et al., 2006; Ouk et al., 2006; Romyen et al., 1998; Jerakongman et al., 1995) จากการ ทดสอบผลผลิตของข้าวสายพันธุ์ดีเด่นในโครงการวิจัยและพัฒนาพันธุ์ข้าวนาข้าวไร่โดยใช้ เทคโนโลยีชีวภาพในปี พ.ศ. 2556 พบว่า สายพันธุ์ข้าว IR57514 สามารถต้านทานโรคไหม้ในสภาพ แปลงทดสอบสายพันธุ์เขตพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งมีการระบาดของโรค ไหม้เป็นประจำทุกๆ ปี โดยในปีดังกล่าวนี้พบการระบาดของโรคไหม้ที่สามารถเข้าทำลายข้าวสายพันธุ์ ปรับปรุง กข6 ที่มีพันธุกรรมต้านทานโรคไหม้ *qBl11* บนโครโมโซม 11 จากข้าวเจ้าหอมนิลได้ แต่ไม่ สามารถเข้าทำลายข้าวสายพันธุ์ IR57514 (ติดต่อส่วนตัว: ดร. ธีรยุทธ ตูจินดา โครงการวิจัยและ พัฒนาข้าวนาข้าวไร่โดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ) ดังนั้น การค้นหาตำแหน่งยีน/QTLs ควบคุมลักษณะ ต้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ดังกล่าวจะเป็นพื้นฐานการต่อยอดการนำไปใช้ประโยชน์ในการ ปรับปรุงพันธุ์ข้าวไทยในอนาคต จากข้อมูลความสามารถในการต้านทานโรคไหม้ของข้าวพันธุ์ IR57514 ถือเป็นข้อมูลที่เป็นประโยชน์อย่างมาก ที่จะเตรียมความพร้อมในการหาแหล่งพันธุกรรม ต้านทานโรคไหม้แหล่งใหม่ที่มีความจำเพาะต่อพื้นที่ปลูกข้าวของประเทศไทย ซึ่งนำไปสู่การค้นพบ แหล่งพันธุกรรมต้านทานใหม่ เพื่อเพิ่มขีดความสามารถในการต้านทานโรคไหม้และยังเป็นการใช้ ประโยชน์จากแหล่งพันธุกรรมที่มีความหลากหลายให้เกิดประโยชน์สูงสุด ซึ่งการค้นหาแหล่ง พันธุกรรมต้านทานโรคไหม้ถือเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่สำคัญต่อการพัฒนาข้าวไทย

3.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อค้นหาตำแหน่งของ QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514

3.3 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.3.1 สายพันธุ์พ่อแม่ (Plant Materials)

ข้าวสายพันธุ์แม่ IR57514 หรือ IR57514-PMI-5-B-1-2 เป็นข้าวสายพันธุ์ที่ทำการผสมพันธุ์ที่สถาบันวิจัยข้าวระหว่างประเทศ (IRRI) ด้านทานโรคไหม้ในสภาพแปลงปลูกข้าวเขตพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ติดต่อด้านตัว: ดร. ธีรยุทธ ตูจันดา โครงการวิจัยและพัฒนาข้าวทนน้ำฝนโดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ)

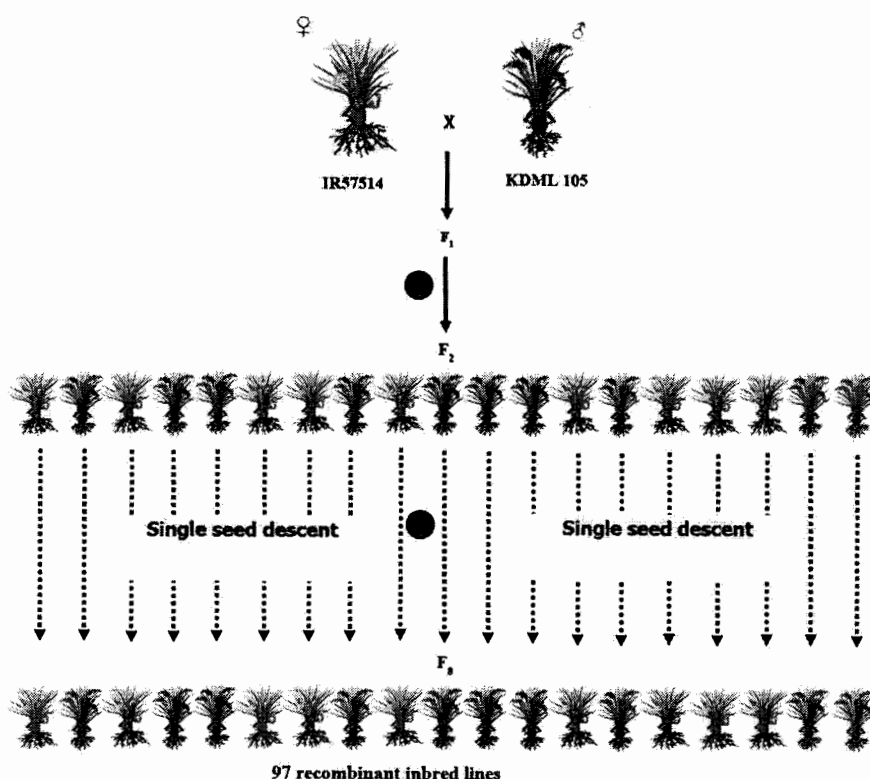
ข้าวพันธุ์พ่อ ขาวดอกมะลิ 105 (KDML105) เป็นข้าวที่นิยมปลูกมากในเขตพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนทั้งภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย เนื่องจากเป็นข้าวที่มีคุณภาพการหุงต้มและรับประทานที่ดี เมื่อหุงสุกแล้วจะมีกลิ่นหอม และอ่อนนุ่ม จึงเป็นที่นิยมปลูกของเกษตรกร แต่อย่างไรก็ตามข้าวสายพันธุ์นี้มีความอ่อนแอต่อโรคไหม้ ซึ่งถือเป็นปัญหาระดับต้นๆของพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

3.3.2 การพัฒนาประชากร (Population development)

พัฒนาประชากรข้าวเพื่อใช้ในการค้นหาตำแหน่งของ QTLs ควบคุมลักษณะด้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514 โดยการผสมพันธุ์ระหว่างข้าวสายพันธุ์ IR57514 เป็นสายพันธุ์แม่ และ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เป็นพันธุ์พ่อ (IR57514/KDML105) โดยได้ทำการผสมพันธุ์ ณ ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก และทำการปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีแบบสืบประวัติ (pedigree method) ทำการคัดเลือกพันธุ์ข้าวลูกผสมแบบหนึ่งเมล็ดต่อต้น (single seed descent) จนได้ข้าวประชากร recombinant inbred lines (RILs) ช่วงรุ่นที่ F₈ จำนวน 97 สายพันธุ์ (ภาพที่ 3.1) จากนั้นทางหน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์จากยีนข้าว (Rice Gene Discovery Unit) ได้นำประชากรนี้มาทำการคัดเลือกและพัฒนาต่อในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวของทางหน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว ซึ่งขั้นตอนตั้งแต่การผสมและปลูกคัดเลือกทั้งหมดได้รับความอนุเคราะห์จากหน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว

3.3.3 การสร้างแผนที่พันธุกรรม (Map Construction)

สร้างแผนที่พันธุกรรมโดยใช้ประชากรข้าว RILs จำนวน 97 สายพันธุ์ จากคู่ผสมระหว่าง IR57514 กับ ขาวดอกมะลิ 105 และ เครื่องหมาย SSR จำนวน 97 เครื่องหมาย ที่มีตำแหน่งกระจายครอบคลุมทั้ง 12 โครโมโซม (ตารางที่ 3.1) เพื่อใช้สำหรับสร้างแผนที่พันธุกรรม ได้รับการอนุเคราะห์จาก (ติดต่อด้านตัว: ดร.จุฑารัตน์ จันทบูรณ์ และคณะ)



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการพัฒนาประชากร recombinant inbred lines (RILs) จำนวน 97 สายพันธุ์ โดยวิธีแบบสืบประวัติ

ตารางที่ 3.1 เครื่องหมาย simple sequence repeat (SSR) จำนวน 97 เครื่องหมาย บนโครโมโซมข้าวทั้ง 12 โครโมโซม

โครโมโซม	จำนวน	เครื่องหมาย SSR
1	13	RM495 RM84 RM220 RM243 RM23 RM3412 RM562 RM5 RM246 RM8097 RM212 RM5781 RM3285
2	8	RM154 RM279 RM174 RM424 RM341 RM263 RM6 RM208
3	5	RM3202 RM569 RM5761 RM16 RM168
4	10	RM335 RM119 RM273 RM252 RM7187 RM317 RM3474 RM3534 RM280 RM559
5	9	RM153 RM122 RM159 RM169 RM516 RM3838 RM164 RM26 RM334
6	8	RM170 RM204 RM314 RM121 RM564 RM541 RM7309 RM30
7	9	RM5711 RM11 RM182 RM3826 RM1132 RM18 RM234 RM248 RM172
8	12	RM152 RM38 RM72 RM44 RM515 RM3459 RM210 RM256 RM149 RM447 RM458 RM264
9	4	RM316 RM5799 RM219 RM7306
10	6	RM222 RM216 RM258 RM228 RM333 RM591
11	5	RM116 RM202 RM287 RM209 RM224
12	8	RM20 RM19 RM101 RM1047 RM309 RM463 RM235 RM12

3.3.4 การประเมินความต้านทานโรคไหม้ (Evaluation of blast resistance)

ประเมินความต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในประชากรข้าว RILs จำนวน 97 สายพันธุ์ โดยใช้เชื้อสาเหตุโรคไหม้ที่เก็บรวบรวมจากพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนจำนวน 11 ไอโซเลท โดยมีข้าวสายพันธุ์อ่อนแอต่อโรคไหม้ที่เป็นพันธุ์มาตรฐาน sariceltic และพันธุ์ กข6 เป็นพันธุ์ตรวจสอบอ่อนแอต่อโรคไหม้ และมีข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิล เป็นพันธุ์ตรวจสอบต้านทานโรคไหม้ วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) จำนวน 3 ซ้ำ ซึ่งมีขั้นตอนการดำเนินงานดังนี้

3.3.4.1 เชื้อราสาเหตุโรคไหม้

การประเมินลักษณะต้านทานโรคไหม้ในครั้งนี้ ใช้เชื้อสาเหตุโรคไหม้จำนวน 11 ไอโซเลท ประกอบด้วย 4 ไอโซเลท ได้แก่ TH196031 TH196036 (ได้รับการอนุเคราะห์จาก ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี) TRG1 และ TRG2 เป็นเชื้อไอโซเลทใหม่ที่มีการระบาดและสามารถเข้าทำลายข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุง (กข6-ต้นเตี้ย) ที่มีพันธุกรรมต้านทาน *qB11* บนโครโมโซม 11 จากข้าวเจ้าหอมนิล ในสภาพแปลงปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (ได้รับการอนุเคราะห์จากหน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว) และ 7 ไอโซเลท เป็นเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่พบในพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนของประเทศไทยและได้มีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมโดยใช้เครื่องหมาย AFLP ในการจัดกลุ่มเชื้อราสาเหตุโรคไหม้เหล่านี้ (ตารางที่ 3.2) (ติดต่อส่วนตัว: ดร. กัญญาณัฐ ศิริธัญญา และคณะ) โดยข้อมูลฟีโนไทป์ระดับความต้านทานโรคไหม้ทั้ง 7 ไอโซเลท ของประชากร RILs ทั้ง 97 สายพันธุ์ ได้รับการอนุเคราะห์จากหน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว

3.3.4.2 การเตรียมสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคไหม้

เพาะเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ทั้ง 11 ไอโซเลท บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำการเพิ่มจำนวนเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ โดยนำแผ่นกระดาษกรองที่เก็บเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ เรียกว่า starter ของเชื้อ ที่ทำการเก็บไว้ในตู้เย็นที่มีอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อรา (ซึ่งประกอบไปด้วย วัุ้น 25 กรัม รำละเอียด 20 กรัม Yeast extract 2 กรัม และปรับปริมาตรด้วยน้ำจนได้ปริมาตร 1 ลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที แล้วเทลงในจานเลี้ยงเชื้อ) จากนั้นนำอาหารที่ได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์เป็นเวลา 14 วัน แล้วทำการกระตุ้นให้เชื้อราสร้างสปอร์ โดยใช้ช้อนปลายแบนปลอดเชื้อถูผิวหน้าของอาหาร (scraping) แล้วย้ายอาหารที่มีเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ ไปบ่มภายใต้แสง black light เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อประมาณ 5 มิลลิลิตร ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วใช้แท่งแก้วปลอดเชื้อขูดเบา ๆ ที่ผิวหน้าของจานอาหารเลี้ยงเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ เพื่อเก็บเกี่ยวสปอร์ของเชื้อรา แล้วนับปริมาณสปอร์ของเชื้อราด้วย hemacytometer ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และปรับความเข้มข้นของสปอร์ให้เท่ากับ 5×10^4 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ก่อนการใช้งานเพื่อให้สปอร์เกาะติดกับใบข้าวดียิ่งขึ้น

ตารางที่ 3.2 เชื้อสาเหตุโรคไหม้ กลุ่มเชื้อ และแหล่งที่มาของเชื้อที่ใช้ในการประเมินความสามารถในการต้านทานโรคไหม้ของประชากร RILs

ลำดับ	เชื้อสาเหตุ	กลุ่มเชื้อ ^{1/}	แหล่งที่มา
1	TH196031	-	ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี
2	TH196036	-	ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี
3	TRG1	-	จังหวัดหนองคาย
4	TRG2	-	จังหวัดหนองคาย
5	THL219	UN	จังหวัดปทุมธานี
6	THL557	UN	จังหวัดตรัง
7	THL690	6	จังหวัดลำพูน
8	THL810	3	จังหวัดอุบลราชธานี
9	THL1081	3	จังหวัดหนองคาย
10	THL717	11	จังหวัดปทุมธานี
11	THL84	7	จังหวัดพิษณุโลก

หมายเหตุ: (-) หมายถึง ไม่ได้จัดกลุ่มเชื้อ

(UN) หมายถึง ไม่ทราบกลุ่มที่ชัดเจน (Unknown)

3.3.4.3 การเตรียมต้นข้าวเพื่อทำการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคไหม้

การเตรียมต้นข้าวเพื่อใช้ในการประเมินความต้านทานโรคไหม้ ทำการเตรียมเมล็ดข้าวประชากร RILs จำนวน 97 สายพันธุ์ สายพันธุ์แม่ (IR57514) และพันธุ์พ่อ (ข้าวดอกมะลิ 105) และพันธุ์ตรวจสอบที่เป็นพันธุ์ต้านทาน (เจ้าหอมนิล) และพันธุ์อ่อนแอ (กข6 และ sariceltic) มาเพาะให้งอกแล้วย้ายลงปลูกในถาดหลุม โดยปลูกข้าวหลุมละ 4 ต้น ใส่ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต (21-0-0) เมื่อต้นข้าวมีอายุ 7 วัน และ 16 วัน แล้วปล่อยให้ต้นกล้าเจริญเติบโตจนต้นกล้ามีอายุครบ 21 วัน ซึ่งพร้อมสำหรับการปลูกเชื้อ (inoculation) ด้วยสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่เตรียมมา (ขั้นตอนที่ 3.3.4.2)

3.3.4.4 การปลูกเชื้อราสาเหตุโรคไหม้

นำสารละลายสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่เตรียมไว้มาฉีดพ่นลงบนต้นกล้าข้าวที่มีอายุ 21 วัน ให้ทั่วทั้งต้นกล้า ที่เก็บไว้ในถังพลาสติกขนาด 60 X 90 เซนติเมตร ที่มีการบรรจุน้ำไว้ภายในเพื่อเป็นการเพิ่มความชื้นให้เหมาะสมกับการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จากนั้นเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น เพื่อให้มีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเข้าทำลายต้นข้าวของสปอร์เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จากนั้นย้ายต้นกล้าออกจากถังพลาสติกมาเลี้ยงไว้ในโรงเรือน

3.3.4.5 การตรวจวัดปริมาณความเสียหายของการเกิดโรคใบไหม้ในข้าว

ทำการวัดระดับความรุนแรงของโรคไหม้ในสายพันธุ์ข้าวที่นำมาทดสอบ หลังจากผ่านการฉีดด้วยสปอร์ของเชื้อราแล้ว 7 วัน โดยมีเกณฑ์การให้คะแนนความเสียหาย หรือ การวัดระดับความรุนแรงของโรค แบ่งเป็น 7 ระดับ ซึ่งการให้ค่าคะแนนเป็นช่วงตั้งแต่ 0 – 6 ตามวิธีการของ (Roumen et al., 1997) ดังรายละเอียดต่อไปนี้ ที่ระดับความรุนแรงเท่ากับ 0 - 2 แสดงว่าข้าวมีความต้านทานต่อโรคได้ดี (R) ที่ระดับความรุนแรงเท่ากับ 3 - 4 แสดงว่าข้าวมีความต้านทานต่อโรคระดับปานกลาง (MR) และที่ระดับความรุนแรงเท่ากับ 5 - 6 แสดงว่าข้าวไม่มีความต้านทานต่อโรค (S) (ตารางที่ 3.3 และ ภาพที่ 3.2)

3.3.4 การวิเคราะห์ QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้

การวิเคราะห์ QTLs เพื่อค้นหาตำแหน่งยีน/QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้บนโครโมโซมข้าวประกอบด้วยข้อมูลที่มีความสำคัญ จำนวน 3 ส่วน ได้แก่ ข้อมูลฟีโนไทป์ของลักษณะต้านทานโรคไหม้ของประชากร RILs จำนวน 97 สายพันธุ์ (blast resistance data) ข้อมูลจีโนไทป์ของประชากร RILs จำนวน 97 สายพันธุ์ โดยเครื่องหมาย SSR จำนวน 97 เครื่องหมาย (genotype data) และข้อมูลแผนที่พันธุกรรม (genetic map) (จากหัวข้อ 3.3.3) ในการวิเคราะห์ QTLs ใช้วิธี simple interval mapping (SIM) โดยใช้โปรแกรม nQTL (Tinker and Martha, 1995) วิเคราะห์ที่ 1,000 รอบ โดยมีช่วงการวิเคราะห์ทุก 5 cM ที่ความคลาดเคลื่อน (Type I error) 5 เปอร์เซ็นต์ กำหนดค่า LOD score มากกว่า 3

3.3.6 การวิเคราะห์ความสามารถในการอธิบายความต้านทาน QTLs (R^2)

เป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการอธิบายความต้านทานของ QTLs ที่พบ (R^2) ต่อลักษณะความต้านทานโรคไหม้ (phenotypic variance explained) โดยใช้โปรแกรม STATGRAFIC plus 3.0

ตารางที่ 3.3 การตรวจสอบปริมาณความเสียหายของการเกิดโรคใบไหม้ ที่ใช้ในการประเมินความสามารถในการต้านทานโรคใบไหม้ในประชากร RILs

ระดับความรุนแรงของโรคใบไหม้	ลักษณะของแผลบนใบข้าว	การประเมินความรุนแรง ^{1/}
0	ไม่มีการเข้าทำลายด้วยเชื้อราโรคใบไหม้	R
1	จุดสีน้ำตาลขนาดเล็กกว่า 0.5 มม. ไม่มีการสร้างสปอร์	
2	จุดสีน้ำตาลขนาด 0.5 -1.0 มม. ไม่มีการสร้างสปอร์	
3	แผลรูปร่างกลมถึงรียาวขนาด 1-3 มม. มีสีเทาตรงกลาง และมีสีน้ำตาลตามขอบ ไม่มีการสร้างสปอร์	MR
4	มีแผลเป็นรูปกระสวยที่สามารถสร้างสปอร์ได้ ขนาดตั้งแต่ 3 มม. ขึ้นไป แผลมีสีเทาตรงกลางและสีน้ำตาลแดงโดยรอบ	
5	มีแผลเหมือนระดับ 4 แต่ใบข้าวเริ่มมีการแห้งเหี่ยว	S
6	ใบข้าวแห้งเหี่ยวและมีละอองสปอร์ของเชื้อรามากมาย	

หมายเหตุ: ^{1/}(R) หมายถึง ข้าวมีความต้านทานต่อโรคใบไหม้ได้ดี (MR) หมายถึง ข้าวมีความต้านทานต่อโรคใบไหม้ระดับปานกลาง (S) หมายถึง ข้าวอ่อนแอต่อโรคใบไหม้



ภาพที่ 3.2 การวัดระดับความรุนแรงของโรคใบไหม้ในข้าวตามลักษณะของแผลที่ถูกทำลาย โดยแบ่งออกเป็น 7 ระดับ
ที่มา: Sreewongchi (2008)

3.4 ผลการทดลอง

การค้นหา QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514 ดำเนินงานโดยใช้ประชากร recombinant inbred lines (RILs) จำนวน 97 สายพันธุ์ จากคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ IR57514 และข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML105) ซึ่งมีรายละเอียดของผลการดำเนินงานดังนี้

3.4.1 การสร้างแผนที่พันธุกรรม (Map construction)

การสร้างแผนที่พันธุกรรมข้าวโดยใช้เครื่องหมาย SSR จำนวน 97 เครื่องหมาย ที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพ่อแม่ (IR57514 และ KDML105) ซึ่งกระจายตัวครอบคลุมทั้ง 12 โครโมโซม (ตารางที่ 3.1) ที่ได้ทำการจีโนไทป์ประชากร RILs จำนวน 97 สายพันธุ์ ซึ่งแต่ละสายพันธุ์จะมีการเกิด recombination ของตำแหน่งเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ทำการตรวจสอบแตกต่างกันไปตามพันธุกรรมที่ได้รับมาจากสายพันธุ์แม่ (IR57514) และพันธุ์พ่อ (KDML105) เมื่อทำการวิเคราะห์พันธุกรรมโดยการเก็บข้อมูลจีโนไทป์ของประชากร RILs พบว่า แผนที่พันธุกรรมข้าวที่ได้จากประชากร RILs ได้แผนที่พันธุกรรมจำนวน 12 linkage group โดยมีความยาวรวม 1,417.9 cM (centimorgan: cM) มีระยะห่างระหว่างเครื่องหมายดีเอ็นเอบนโครโมโซมโดยเฉลี่ยประมาณ 14.62 cM และมีจำนวนเครื่องหมาย SSR บนโครโมโซมโดยเฉลี่ยประมาณ 8 เครื่องหมายต่อโครโมโซม (ภาพที่ 3.5)

3.4.2 การประเมินความต้านทานโรคไหม้ (Evaluation of blast resistance)

ผลการประเมินความต้านทานโรคไหม้ ในประชากรข้าว RILs จำนวน 97 สายพันธุ์ และสายพันธุ์แม่ IR57514 และพันธุ์พ่อ KDML105 โดยใช้เชื้อสาเหตุโรคไหม้จำนวน 11 ไอโซเลท พบว่าเชื้อสาเหตุโรคไหม้ทั้ง 11 ไอโซเลท สามารถก่อให้เกิดอาการของโรคไหม้ได้ดี และสามารถแยกความแตกต่างระหว่างข้าวสายพันธุ์พ่อแม่ได้อย่างชัดเจน โดยเชื้อสาเหตุโรคไหม้อิโซเลท TH196031 TH196036 THL219 THL690 และ THL810 พบว่า ข้าวสายพันธุ์ IR57514 แสดงอาการต้านทานระดับความเสียหายในระดับข้าวมีความต้านทานต่อโรคใบไหม้ได้ดี (R) และข้าวพันธุ์ KDML105 แสดงอาการอ่อนแอระดับความเสียหายในระดับข้าวไม่มีความต้านทานต่อโรคใบไหม้ (S) และไอโซเลท TRG1 TRG2 THL557 และ THL1081 พบว่า ข้าวสายพันธุ์ IR57514 แสดงอาการต้านทานระดับความเสียหายในระดับข้าวมีความต้านทานต่อโรคใบไหม้ได้ดี (R) และข้าวพันธุ์ KDML105 แสดงอาการต้านทานระดับความเสียหายในระดับข้าวมีความต้านทานต่อโรคใบไหม้ระดับปานกลาง (MR) ส่วนไอโซเลท THL717 และ THL84 ข้าวสายพันธุ์ IR57514 แสดงอาการต้านทานระดับความเสียหายในระดับข้าวมีความต้านทานต่อโรคใบไหม้ระดับปานกลาง (MR) และข้าวพันธุ์ KDML105 แสดงอาการต้านทานระดับความเสียหายในระดับข้าวมีความต้านทานต่อโรคใบไหม้ได้ดี (R) (ตารางที่ 3.4)

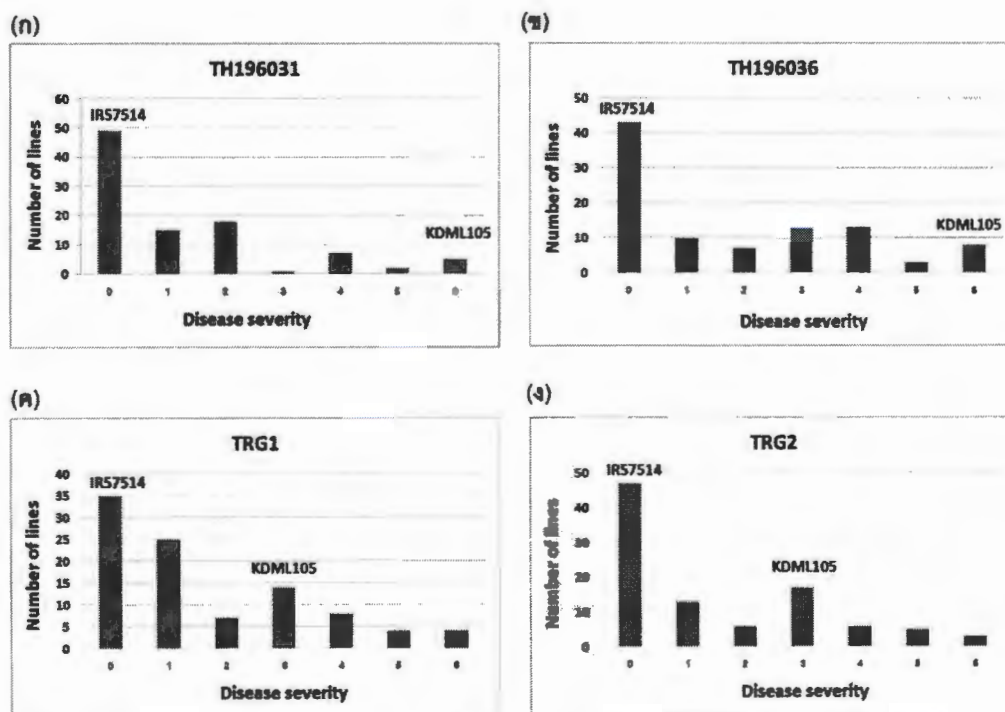
การกระจายตัวของลักษณะต้านทานโรคไหม้ของประชากร RILs จำนวน 97 สายพันธุ์ เมื่อทดสอบกับเชื้อสาเหตุโรคไหม้ทั้ง 11 ไอโซเลท พบว่า มีการกระจายตัวตั้งแต่ระดับข้าวต้านทานต่อโรคใบไหม้ได้ดี (R) ไปจนถึงระดับข้าวอ่อนแอต่อโรคใบไหม้ (S) ตามการวัดระดับความรุนแรงของการเกิดโรค ซึ่งการให้ค่าคะแนนเป็นช่วงตั้งแต่ 0 ถึง 6 (Roumen et al., 1997) โดยมีการกระจายตัวของลักษณะฟีโนไทป์ภายในประชากร RILs เมื่อถูกเชื้อสาเหตุโรคไหม้แต่ละไอโซเลท เข้าทำลาย (ภาพที่ 3.3 และ ภาพที่ 3.4)

ตารางที่ 3.4 ระดับความรุนแรงของโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514 และ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เมื่อถูกเชื้อราสาเหตุโรคไหม้จำนวน 11 ไอโซเลต เข้าทำลาย

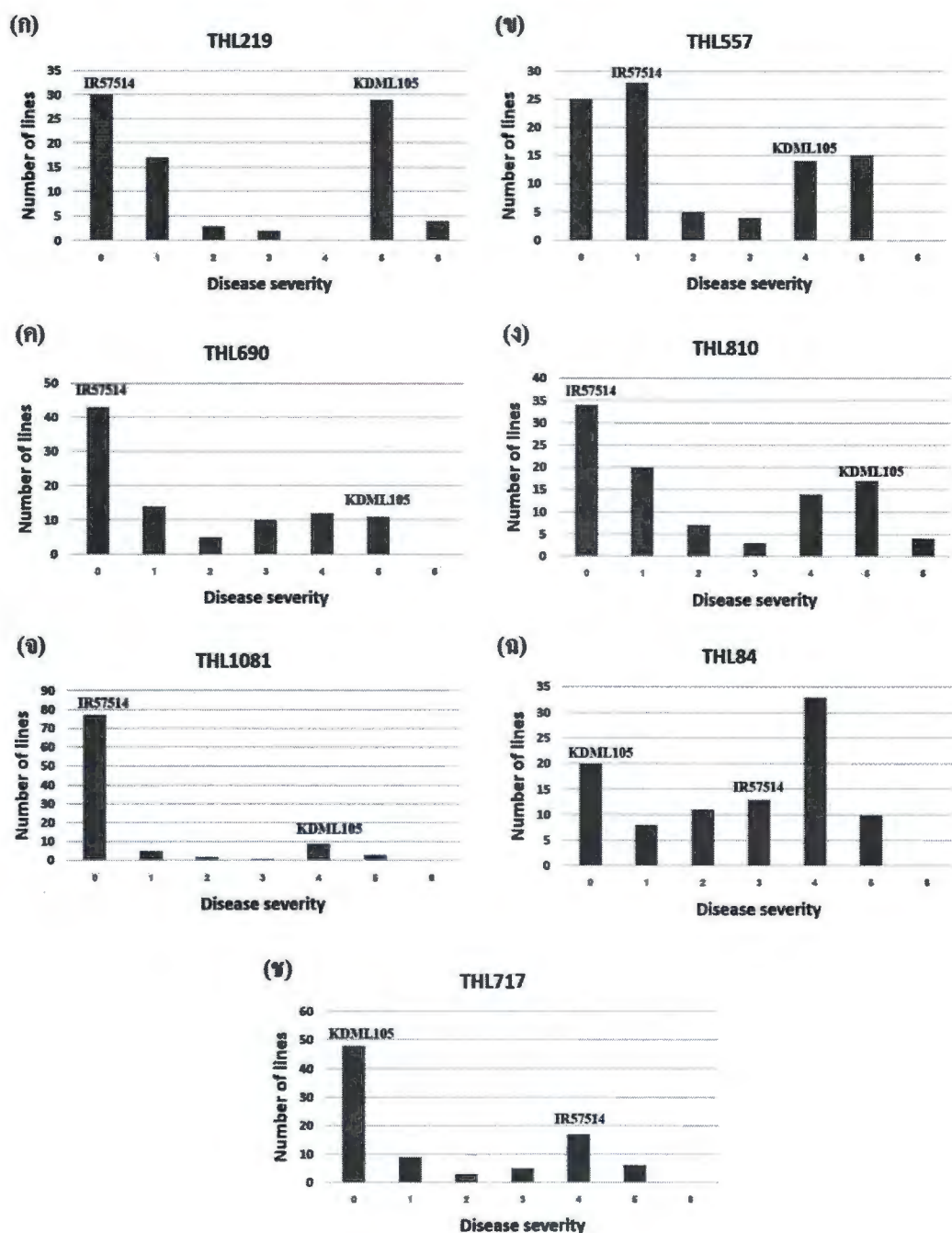
กลุ่มเชื้อ	เชื้อสาเหตุโรคไหม้	ระดับความรุนแรงของโรคไหม้			
		IR57514	การประเมินความรุนแรง	KDML105	การประเมินความรุนแรง
-	TH196031	0.3±1.0	R	5.2±1.6	S
-	TH196036	0.0±0.0	R	5.3±0.9	S
-	TRG1	0.0±0.0	R	2.2±2.1	MR
-	TRG2	0.0±0.0	R	3.4±0.7	MR
UN	THL219	0.7±0.6	R	5.3±0.6	S
UN	THL557	1.5±0.6	R	4.0±0.0	MR
6	THL690	0.0±0.0	R	5.0±0.6	S
3	THL810	0.0±0.0	R	5.0±0.0	S
3	THL1081	0.0±0.0	R	3.7±0.6	MR
11	THL717	3.7±0.6	MR	0.0±0.0	R
7	THL84	3.3±1.2	MR	0.0±0.0	R

หมายเหตุ: (-) หมายถึง ไม่ได้จัดกลุ่มเชื้อ

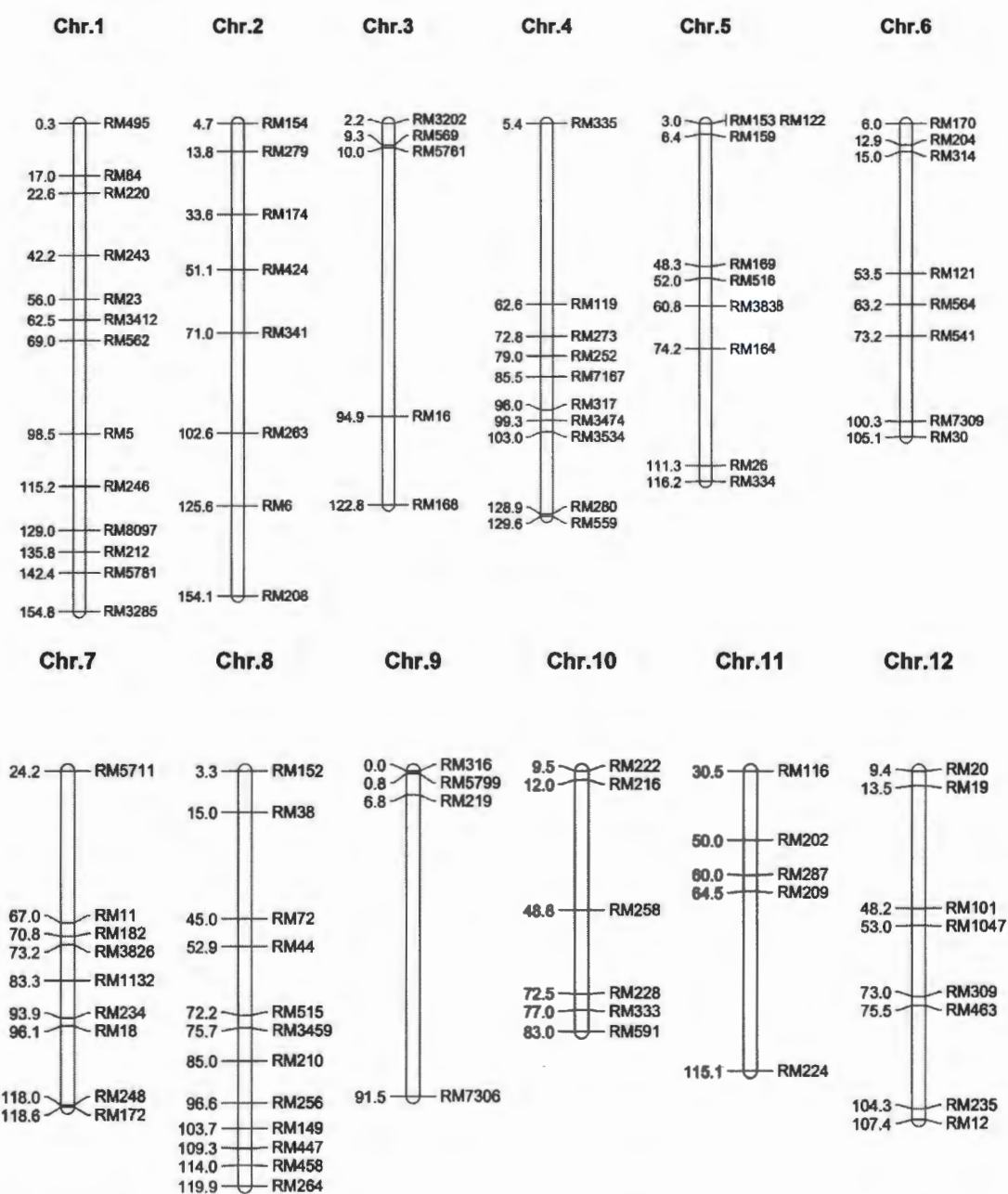
(UN) หมายถึง ไม่ทราบกลุ่มที่ชัดเจน (Unknown)



ภาพที่ 3.3 การกระจายตัวของลักษณะต้านทานโรคไหม้ในประชากร RILs จำนวน 97 สายพันธุ์ เมื่อถูกเชื้อราสาเหตุโรคไหม้เข้าทำลาย (ก) TH196031, (ข) TH196036 (ค) TRG1 และ (ง) TRG2 ตามลำดับ



ภาพที่ 3.4 การกระจายตัวของลักษณะต้านทานโรคไหม้ในประชากร RILs จำนวน 97 สายพันธุ์ เมื่อถูกเชื้อสาเหตุโรคไหม้เข้าทำลาย (ก) THL219, (ข) THL557 (ค) THL690 (ง) THL810, (จ) THL1081, (ฉ) THL84 และ (ช) THL717 ตามลำดับ



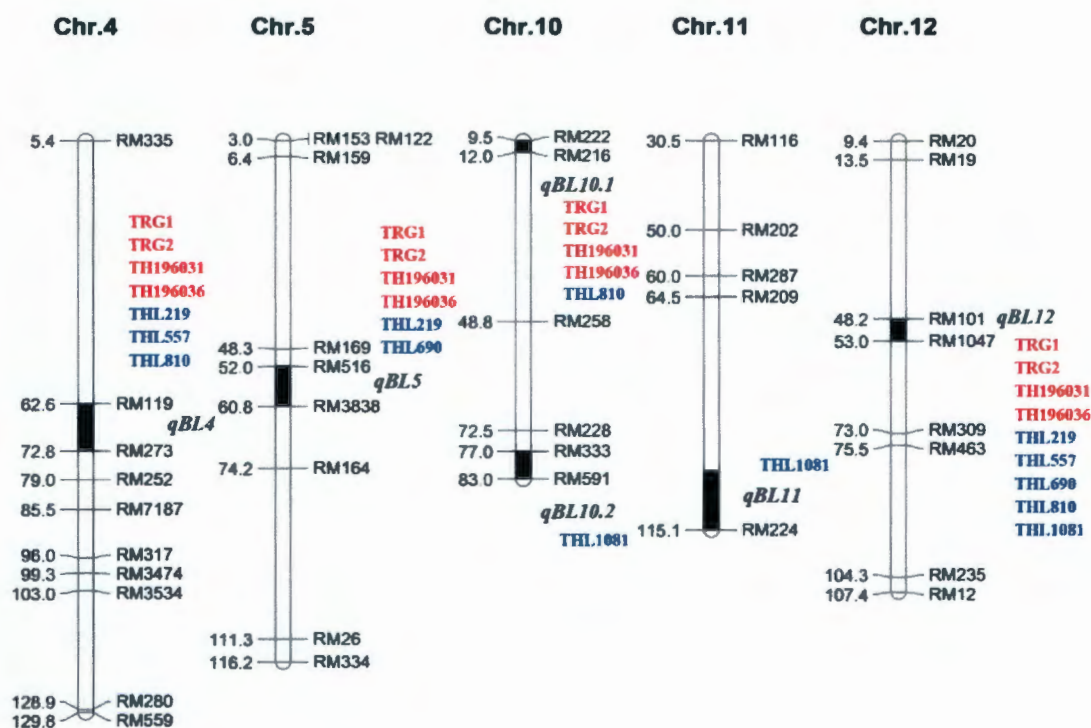
ภาพที่ 3.5 แผนที่พันธุกรรมของข้าวจำนวน 12 โครโมโซม ซึ่งได้จากประชากร RILs จำนวน 97 สายพันธุ์ จากคู่ผสมระหว่าง IR57514/ขาวดอกมะลิ 105 ประกอบด้วยเครื่องหมาย SSR จำนวน 97 เครื่องหมาย

3.4.3 การวิเคราะห์ QTLs (QTLs analysis)

จากการวางตำแหน่ง QTLs ด้านทานโรคไหม้ในข้าวพันธุ์ IR57514 โดยใช้โปรแกรม nQTL (Tinker and Martha, 1995) ซึ่งวิเคราะห์โดยใช้ข้อมูลสำคัญๆ จำนวน 3 ส่วน ประกอบด้วย ข้อมูลฟีโนไทป์ของลักษณะด้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ของประชากร RILs จำนวน 97 สายพันธุ์ ข้อมูลจีโนไทป์ของเครื่องหมาย SSR จำนวน 97 เครื่องหมาย ในประชากร RIL จำนวน 97 สายพันธุ์ และแผนที่พันธุกรรมของประชากร RILs พบว่ามี QTLs ควบคุมลักษณะด้านทานโรคไหม้จำนวน 6 QTLs มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซม 4 5 10 11 และ 12 ตามลำดับ เนื่องจากเป็นตำแหน่งที่มีการพบใหม่จึงเรียกว่า *qBL4*, *qBL5*, *qBL10.1*, *qBL10.2*, *qBL11* และ *qBL12* ตามลำดับ โดย QTLs ทั้งหมดนี้อยู่ใกล้ชิดกับเครื่องหมาย SSR ที่ขนานหัวขนานท้าย (flanking markers) กับ QTLs ดังกล่าว ได้แก่ RM119-RM273, RM516-RM3838, RM222-RM216, RM333-RM591, RM209-RM224 และ RM101-RM1047 ตามลำดับ (ภาพที่ 3.6) ซึ่ง QTLs ควบคุมลักษณะด้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514 นี้สามารถอธิบายลักษณะความต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ ณ ระยะต้นกล้าต่อเชื้อจำนวน 9 ไอโซเลท ประกอบด้วย TH196031 TH196036 TRG1 TRG2 THL219 THL557 THL690 THL810 และ THL1081 เท่ากับ 44.97% 68.23% 49.65% 59.89% 37.98% 30.13% 22.91% 33.26% และ 18.39% ตามลำดับ ส่วนลักษณะความต้านทานโรคไหม้ต่อไอโซเลท THL717 และ THL84 พบว่า QTLs ควบคุมลักษณะด้านทานโรคไหม้ทั้งสองไอโซเลทดังกล่าวจำนวน 4 ตำแหน่ง บนโครโมโซม 2 6 7 และ 8 มาจากข้าวพันธุ์ KDML105 อยู่ระหว่างเครื่องหมาย RM341-RM263, RM564-RM541, RM182-RM3826 และ RM210-RM256 ทั้งสี่ตำแหน่งสามารถอธิบายลักษณะความต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ทั้งสองไอโซเลทเท่ากับ 12.76% และ 9.72% ตามลำดับ (ตารางที่ 3.5)

ผลการวิเคราะห์ตำแหน่ง QTLs ควบคุมลักษณะด้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514 พบว่า *qBL12* เป็นตำแหน่งหลักที่ควบคุมลักษณะดังกล่าวอยู่บนโครโมโซม 12 ขนานหัวท้ายโดยเครื่องหมาย RM101-RM1047 มีระยะห่างระหว่างเครื่องหมายทั้งสองบนโครโมโซม เท่ากับ 4.8 cM และสามารถอธิบายลักษณะด้านทานโรคไหม้ต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้จำนวน 9 ไอโซเลท เท่ากับ 37.75% 63.29% 44.63% 53.07% 33.74% 30.07% 24.24% 30.63% และ 4.85% ตามลำดับ (ตารางที่ 3.5) นอกจากข้าวสายพันธุ์ IR57514 มีพันธุกรรมด้านทานโรคไหม้ที่เป็นยีนหลักอยู่บนโครโมโซม 12 แล้วนั้นยังพบว่าข้าวสายพันธุ์ดังกล่าวนี้มีตำแหน่งของพันธุกรรมด้านทานโรคไหม้ที่มีความต้านทานรองลงมา (minor QTLs) จำนวน 5 QTLs ดังนี้

qBL4 ตำแหน่งบนโครโมโซม 4 ขนานหัวท้าย QTLs ด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ RM119-RM273 มีระยะห่างระหว่างเครื่องหมายทั้งสองเท่ากับ 10.2 cM สามารถอธิบายลักษณะความต้านทานโรคไหม้ต่อเชื้อจำนวน 7 ไอโซเลท ได้แก่ TH196031 TH196036 TRG1 TRG2 THL219 THL557 และ THL810 เท่ากับ 12.49% 12.46% 11.42% 11.72% 8.76% 5.59% และ 11.06% ตามลำดับ *qBL5* อยู่บนโครโมโซม 5 ขนานหัวท้ายด้วยเครื่องหมาย RM516-RM3838 มีระยะห่างระหว่างเครื่องหมายทั้งสองเท่ากับ 8.8 cM อธิบายลักษณะความต้านทานโรคไหม้ เท่ากับ 15.29% 13.65% 5.41% 10.68% 7.55% และ 4.27% ต่อเชื้อจำนวน 6 ไอโซเลท TH196031 TH196036 TRG1 TRG2 THL219 และ THL690 ตามลำดับ (ตารางที่ 3.5 และ ภาพที่ 3.6)



ภาพที่ 3.6 แผนที่พันธุกรรมของข้าวแสดงตำแหน่ง QTLs ด้านทานโรคไหม้ จำนวน 6 QTLs (*qBL4* *qBL5* *qBL10.1* *qBL10.2* *qBL11* และ *qBL12*) บนโครโมโซม 4 5 10 11 และ 12 ตามลำดับ ซึ่งได้จากประชากร RILs จากคู่ผสม IR57514/ข้าวดอกมะลิ 105 จำนวน 97 สายพันธุ์

qBL10.1 อยู่ระหว่างเครื่องหมาย RM222-RM216 บนโครโมโซม 10 มีระยะห่างระหว่างเครื่องหมายทั้งสองเท่ากับ 2.5 cM อธิบายลักษณะความต้านทานโรคไหม้เท่ากับ 6.20% 10.51% 12.92% 16.08% และ 6.08% ต่อเชื้อจำนวน 5 ไอโซเลท TH196031 TH196036 TRG1 TRG2 และ THL810 ตามลำดับ *qBL10.2* บนโครโมโซม 10 ระหว่างเครื่องหมาย RM333-RM591 มีระยะห่างระหว่างเครื่องหมายทั้งสองเท่ากับ 6 cM อธิบายลักษณะความต้านทานโรคไหม้ต่อเชื้อไอโซเลท THL1081 เท่ากับ 4.73% และสุดท้าย *qBL11* อยู่ระหว่างเครื่องหมาย RM209-RM224 บนโครโมโซม 11 มีระยะห่างระหว่างเครื่องหมายทั้งสองเท่ากับ 50.6 cM อธิบายลักษณะความต้านทานโรคไหม้เท่ากับ 13.15% ต่อเชื้อไอโซเลท THL1081 (ตารางที่ 3.5 และ ภาพที่ 3.6)

ตารางที่ 3.5 จำนวน QTLs ตำแหน่งบนโครโมโซม เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใกล้ชิด ปริมาณ และทิศทางผลกระทบของ QTLs ที่มีผลต่อการแสดงออกของลักษณะต้านทานโรคไหม้ที่สืบค้นโดยใช้วิธี simple Interval mapping (SIM)

Isolates	QTLs	Chr.	Markers interval	Peak LOD value	Additive effect	Percent variance explained ^{1/} (R ²) (%)	Total R ² (%)
TH196031	qBL4	4	RM119-RM273	10.3	IR57514	12.49	44.97
	qBL5	5	RM516-RM3838	4.8	IR57514	15.29	
	qBL10.1	10	RM222-RM216	8.8	IR57514	6.20	
	qBL12	12	RM101-RM1047	54.4	IR57514	37.75	
TH196036	qBL4	4	RM119-RM273	9.3	IR57514	12.46	68.23
	qBL5	5	RM516-RM3838	6.9	IR57514	13.65	
	qBL10.1	10	RM222-RM216	10.5	IR57514	10.51	
	qBL12	12	RM101-RM1047	114.6	IR57514	63.29	
TRG1	qBL4	4	RM119-RM273	3.8	IR57514	11.42	49.65
	qBL5	5	RM516-RM3838	4.9	IR57514	5.41	
	qBL10.1	10	RM222-RM216	8.4	IR57514	12.92	
	qBL12	12	RM101-RM1047	68.4	IR57514	44.63	
TRG2	qBL4	4	RM119-RM273	5.5	IR57514	11.72	59.89
	qBL5	5	RM516-RM3838	8.2	IR57514	10.68	
	qBL10.1	10	RM222-RM216	13.4	IR57514	16.08	
	qBL12	12	RM101-RM1047	87.3	IR57514	53.07	
THL219	qBL4	4	RM119-RM273	9.3	IR57514	8.76	37.98
	qBL5	5	RM516-RM3838	10.6	IR57514	7.55	
	qBL12	12	RM101-RM1047	150.3	IR57514	33.74	
THL557	qBL4	4	RM119-RM273	4.2	IR57514	5.59	30.13
	qBL12	12	RM101-RM1047	64.8	IR57514	30.07	
THL690	qBL5	5	RM516-RM3838	6.9	IR57514	4.27	22.91
	qBL12	12	RM101-RM1047	70.2	IR57514	24.24	
THL810	qBL4	4	RM119-RM273	10.2	IR57514	11.06	33.26
	qBL10.1	10	RM222-RM216	10	IR57514	6.08	
	qBL12	12	RM101-RM1047	62.4	IR57514	30.63	
THL1081	qBL10.2	10	RM333-RM591	7.7	IR57514	4.73	18.39
	qBL11	11	RM209-RM224	24.5	IR57514	13.15	
	qBL12	12	RM101-RM1047	8	IR57514	4.85	
THL717	-	2	RM341-RM263	6.5	KDML105	5.62	12.76
	-	6	RM564-RM541	4	KDML105	5.77	
	-	7	RM182-RM3826	4.7	KDML105	5.69	
THL84	-	7	RM182-RM3826	6.4	KDML105	10.87	9.72
	-	8	RM210-RM256	11.5	KDML105	8.25	

Note: ^{1/} The amount of phenotypic variance explained by each

ผลจากการทดลองครั้งนี้ทำให้ทราบตำแหน่งของ QTLs หลักที่ทำหน้าที่ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514 มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซม 12 โดยสามารถอธิบายลักษณะความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคไหม้จำนวน 9 ไอโซเลท (ตารางที่ 3.5) ระดับความต้านทานโรคไหม้ในประชากร RILs จำนวน 97 สายพันธุ์ พบว่า ต้นข้าว RILs ที่มีตำแหน่ง *qBL12* เพียงตำแหน่งเดียวสามารถต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ได้ทั้ง 11 ไอโซเลท เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ RILs ที่มีเพียงแค่ *qBL4* หรือ *qBL5* หรือ *qBL10.1* หรือ *qBL11* ตำแหน่งเดียวเช่นกัน แต่ต้น RILs ที่มีตำแหน่ง QTLs ต้านทานโรคไหม้ 2 ตำแหน่งเป็น (*qBL4* + *qBL12*) หรือ (*qBL5* + *qBL12*) หรือ (*qBL10.1* + *qBL12*) ตามลำดับ พบว่า สายพันธุ์ดังกล่าวมีความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคไหม้ทั้ง 11 ไอโซเลท เช่นเดียวกันกับต้น RILs ที่มีเพียงแค่ *qBL12* เพียงตำแหน่งเดียว ผลจากการประเมินความต้านทานโรคไหม้ยังพบอีกว่า ต้นข้าวประชากร RILs สายพันธุ์ที่มีตำแหน่งของ QTLs ต้านทานโรคไหม้จากข้าวสายพันธุ์ IR57514 ทั้งที่มีตำแหน่งพันธุกรรมควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ที่มี QTLs จำนวน 3 หรือ 4 QTL/ตำแหน่ง (poly QTLs) บนโครโมโซม ตัวอย่างเช่น RILs ที่มีตำแหน่ง *qBL5* + *qBL10.1* + *qBL11* หรือ *qBL4* + *qBL5* + *qBL12* หรือ *qBL4* + *qBL10.1* + *qBL10.2* + *qBL12* เป็นต้น ถ้าหากสายพันธุ์นั้นๆ มีตำแหน่งของ *qBL12* อยู่ด้วยจะสามารถเพิ่มระดับความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ได้ทุกไอโซเลทที่ทำการทดสอบในครั้งนี้ และหากข้าวสายพันธุ์ใดไม่มีพันธุกรรมต้านทานโรคไหม้ *qBL12* จะส่งผลทำให้ข้าวสายพันธุ์นั้นๆ มีความอ่อนแอต่อเชื้อสาเหตุโรคไหม้ (ตารางที่ 3.6)

ตารางที่ 3.6 แสดงระดับความต้านทานของประชากร RILs (R57514/KDML105) ต่อเชื้อสาเหตุโรคไหม้จำนวน 11 ไอโซเลต

No.	Lines and Varieties	Resistance gene/QTls	Blast isolate ^{1/}											
			TH196031	TH196036	TRG1	TRG2	THL 219	THL 557	THL 690	THL 810	THL 1081	THL 717	THL 84	THL 16
1	PSL99094-257-8-5R	qBL4	R	MR	MR	R	S	-	S	S	S	MR	R	
2	PSL99094-126-2-5R	qBL5	R	MR	MR	MR	S	R	MR	R	R	MR	R	
3	PSL99094-238-12-5R	qBL10.1, qBL10.2	R	S	S	S	S	S	S	MR	-	R	-	
4	PSL99093-48-5-5R	qBL11	R	MR	R	MR	S	MR	MR	R	R	MR	R	
5	PSL99093-134-6-5R	qBL12	R	R	R	R	R	R	R	R	MR	MR	R	
6	PSL99094-88-1-5R	qBL4, qBL10.2	MR	MR	MR	S	S	MS	S	S	R	R	R	
7	PSL99094-38-1-5R	qBL4, qBL11	R	R	MR	MR	-	MR	MR	R	-	-	R	
8	PSL99094-167-8-5R	qBL10.1, qBL11	S	MR	MR	MR	S	MR	-	S	R	MR	R	
9	PSL99094-63-5-5R	qBL5, qBL12	R	R	R	R	R	R	R	R	R	MR	R	
10	PSL99094-186-4-5R	qBL10.1, qBL12	R	R	R	R	R	R	-	R	R	R	R	
11	PSL99093-33-6-5R	qBL5, qBL10.1, qBL11	R	MR	MR	MR	-	R	MR	MR	MR	R	R	
12	PSL99094-53-2-5R	qBL10.1, qBL11, qBL12	R	R	R	R	R	R	R	R	R	MR	R	
13	PSL99094-80-5-5R	qBL4, qBL5, qBL12	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	
14	PSL99094-239-7-5R	qBL4, qBL10.1, qBL10.2, qBL12	R	R	R	R	R	R	R	R	-	R	R	
15	PSL99093-133-4-5R	5QTls (4 5 10 and 12)	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	
16	PSL99094-305-6-5R	Non-qBL12	S	S	MR	MR	S	S	S	S	R	MR	R	
17	IR57514	Parent	R	R	R	R	R	R	R	R	MR	MR	R	
18	KDML105	Parent	S	S	MR	MR	S	MR	S	S	MR	R	R	
19	RD6	Check	S	S	S	S	MR	-	S	S	S	R	-	

หมายเหตุ: ^{1/} (R) หมายถึง ข้ามีควมต้านทานต่อโรคไหม้ได้ดี (MR) หมายถึง ข้าต้านทานต่อโรคไหม้ระดับปานกลาง และ (S) หมายถึง ข้าอ่อนแอต่อโรคไหม้

3.5 อภิปรายผลการทดลอง

การค้นห QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514 โดยใช้เชื้อราสาเหตุโรคไหม้จำนวน 11 ไอโซเลท การสร้างแผนที่พันธุกรรมจะอาศัยหลักการกระจายตัวของยีนและเครื่องหมายดีเอ็นเอ บนโครโมโซม ผ่านกระบวนการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนทางพันธุกรรม ดังนั้น การหาระยะทางบนจีโนมจึงอาศัยความถี่ของการเกิดรีคอมบิเนชันในการแบ่งเซลล์แบบไมโอซิส ส่วนการวิเคราะห์ตำแหน่งของ QTLs ควบคุมลักษณะที่สนใจบนโครโมโซมข้าวจะอาศัยประชากรที่มีการกระจายตัวของลักษณะฟีโนไทป์ หรือลักษณะต้านทานโรคไหม้ ซึ่งจะมีข้อมูลที่สำคัญๆ จำนวน 3 ส่วน คือ ข้อมูลลักษณะฟีโนไทป์ (ลักษณะต้านทานโรคไหม้) ข้อมูลจีโนไทป์ (SSR markers) และแผนที่พันธุกรรมจากประชากร RILs จำนวน 97 สายพันธุ์ จากผลการวิเคราะห์ทำให้ทราบข้อมูลทางพันธุศาสตร์ที่สำคัญ ดังนี้ 1) จำนวนและตำแหน่งของ QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้บนโครโมโซม 2) การแสดงออกของ QTLs ต่อลักษณะต้านทานโรคไหม้ (phenotypic variance of blast resistance) 3) รูปแบบการแสดงออกของแต่ละ QTLs (dominant และ additive ของอัลลีลต้านทานโรคไหม้) และ 4) ทราบแหล่งที่มาของอัลลีลที่ต้านทานว่ามาจากสายพันธุ์พ่อหรือแม่ (Collard and Mackill, 2008; สุธีพร เกตุงาม, 2557) แต่เมื่อได้ตำแหน่งของ QTLs บนโครโมโซมแล้วจำเป็นต้องมีการประเมินความต้านทานโรคไหม้ (validation of blast resistance) เพื่อยืนยันประสิทธิภาพของการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอที่อยู่ใกล้ชิดกับ QTLs

3.5.1 ประชากรที่ใช้ในการค้นหา QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้

ประชากรที่นำมาใช้ในการสร้างแผนที่พันธุกรรม และวิเคราะห์ตำแหน่ง QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ก็มีความสำคัญมากเนื่องจากต้องเป็นประชากรที่มีการกระจายตัวสูง และมีขนาดที่ใหญ่พอที่จะสามารถตรวจหาตำแหน่งของ QTLs ควบคุมลักษณะดังกล่าวในข้าวสายพันธุ์ IR57514 ได้ ประชากร recombinant inbred lines (RILs) จัดเป็นประชากรถาวร (perment population) เนื่องจากแต่ละต้นมีลักษณะเป็นโฮโมไซกัสเกือบทุกตำแหน่งบนโครโมโซม มีรูปแบบเป็น 1:1 (AA : aa) ดังนั้น ประชากรดังกล่าวสามารถนำมาขยายพันธุ์ และเพิ่มจำนวนได้โดยไม่ทำให้พันธุกรรมเปลี่ยนแปลงไป สามารถทำการทดสอบซ้ำได้ทั้งที่เป็นลักษณะฟีโนไทป์ จีโนไทป์ และ QTLs mapping ตัวอย่างเช่น สามารถนำมาทดสอบเพื่อยืนยันความต้านทานโรคไหม้ได้หลายครั้ง หลายสถานที่ และหลายปี เป็นต้น ซึ่งแตกต่างจากประชากร F_2 ที่เป็นประชากรชั่วคราวไม่สามารถทำการประเมินลักษณะต้านทานโรคไหม้ได้หลายครั้ง หลายสถานที่ เนื่องจากข้อจำกัดเรื่องของจำนวนเมล็ด อาจไม่เพียงพอ ประกอบกับพันธุกรรมส่วนใหญ่ยังเป็นเฮเทอโรไซกัส ในงานวิจัยนี้ใช้ข้าวประชากร RILs ที่มีการคัดเลือกแบบ single seed descent เป็นการเพิ่มโอกาสในการเกิดรีคอมบิเนชัน (สุธีพร เกตุงาม, 2557) และข้อดีอีกประการหนึ่งของการใช้ประชากรถาวร คือ สามารถใช้ข้อมูลจีโนไทป์ และแผนที่พันธุกรรม ข้อมูลเดิมกับการวิเคราะห์ เพื่อทำการค้นหา QTLs นอกเหนือจากลักษณะต้านทานโรคไหม้ได้ เช่น ทนต่อสภาวะความเครียดทั้งที่มีชีวิต (โรคและแมลงต่างๆ) และไม่มีชีวิต (ทนแล้ง ทนร้อน และทนหนาว) เป็นต้น เพียงแค่สายพันธุ์ใดสายพันธุ์หนึ่งระหว่างพ่อแม่ มีลักษณะที่สำคัญๆ เหล่านี้

3.5.2 ตำแหน่งของ QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514

การศึกษาค้นคว้าตำแหน่งของ QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ในข้าวพันธุ์ IR57514 จำนวน 6 QTLs มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่ 4 5 10 11 และ 12 ตามลำดับ โดยที่ตำแหน่งของ *qBL12* เป็น QTLs หลักที่ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ ปฏิกริยาของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในประชากร RILs ที่ต้น RILs ที่มีและไม่มี QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ (ตารางที่ 3.5) จะเห็นได้ว่า ต้น RILs ที่มีเพียง *qBL12* ก็สามารถต้านทานโรคไหม้ได้ทั้ง 11 ไอโซเลต เหมือนต้น RILs ที่มี QTLs หลายตำแหน่ง แต่ถ้าหากต้น RILs ไม่มี *qBL12* ระดับความต้านทานโรคไหม้จะลดลง เช่นเดียวกับการศึกษาของ ศิริภา ก่ออินทร์ศักดิ์ และคณะ (2555) ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของยีนต้านทานโรคไหม้ *qBL1* และ *qBL11* บนโครโมโซม 1 และ 11 จากข้าวเจ้าหอมนิล ต่อการเกิดโรคใบไหม้และโรคไหม้คอรวง โดยทำการศึกษาในประชากรข้าวเหนียว กข6 ที่มีการรวมยีนต้านทานโรคไหม้ทั้งสอง QTLs (*qBL1* และ *qBL11*) ทำการทดสอบความต้านทานโรคไหม้ในสายพันธุ์ข้าวที่มีรูปแบบการรวมยีน (gene combination) 4 รูปแบบ ประกอบด้วย 1) สายพันธุ์ที่มีเฉพาะ *qBL1* 2) สายพันธุ์ที่มีเฉพาะ *qBL11* 3) สายพันธุ์ที่มีทั้ง *qBL1* และ *qBL11* และ 4) สายพันธุ์ที่ไม่มี *qBL* เลย ทดสอบร่วมกับข้าวพันธุ์ กข6 และ พันธุ์เจ้าหอมนิล ใช้เชื้อสาเหตุโรคไหม้จำนวน 4 ไอโซเลต พบว่า สายพันธุ์ข้าวใดไม่มียีนต้านทานโรคไหม้เลย จะอ่อนแอต่อโรคใบไหม้และโรคไหม้คอรวงเช่นเดียวกับข้าวพันธุ์ กข6 ในขณะที่สายพันธุ์ใดมี *qBL1* จะแสดงความต้านทานต่อโรคใบไหม้ในระดับปานกลาง และโรคไหม้คอรวงอยู่ในระดับต้านทานถึงปานกลาง ส่วนข้าวสายพันธุ์ใดมี *qBL11* ข้าวจะแสดงลักษณะต้านทานโรคไหม้เช่นเดียวกับพันธุ์เจ้าหอมนิล ซึ่งแสดงให้เห็นว่า *qBL11* ถือเป็นพันธุกรรมหลักที่สามารถต้านทานการเกิดโรคไหม้ ซึ่งสอดคล้องกับ Wongsaprom et al. (2010) ที่ศึกษายีนต้านทานโรคไหม้จำนวน 2 ตำแหน่งนี้เช่นกัน แต่ถ้ารวมทั้งสอง QTLs (*qBL1* และ *qBL11*) เข้าในพันธุ์เดียวกันข้าวสายพันธุ์นั้นจะแสดงลักษณะความต้านทานโรคไหม้ได้ดีกว่าข้าวที่มีเพียง QTLs เดียว เนื่องจากพันธุกรรมทั้งสองอาจมีการส่งเสริมกันและกันต่อลักษณะต้านทานโรคไหม้

อย่างไรก็ตามการที่สายพันธุ์ที่มีตำแหน่งยีนต้านทานมากกว่า 1 ตำแหน่ง น่าจะดีกว่าสายพันธุ์ที่มีเพียง QTLs หลักเพียงตำแหน่งเดียว เนื่องจากเชื้อราสาเหตุโรคไหม้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง บวกกับการเข้าทำให้ต้นข้าวนั้น ต้องมีปัจจัยหลายปัจจัยที่เอื้ออำนวยต่อการเข้าทำลาย ได้แก่ เชื้อมีพันธุกรรมที่เข้าทำลายสายพันธุ์ต้านทานได้ (virulence gene of blast) ต้นข้าวมีพันธุกรรมอ่อนแอ และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ รวมถึงเวลาที่เชื้อสัมผัสต้นข้าว เนื่องจากยีนต้านทานโรคมีความจำเพาะเจาะจงต่อเชื้อสาเหตุโรค หรือเชื้อมีการพัฒนาเพื่อเข้าทำลายให้ได้ โดยที่ต้นข้าวยังคงมียีนต้านทานอยู่ ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับหลักการความต้านทานแบบยีนต่อยีนที่เกิดระหว่างพืชและโรคพืช (Flor, 1971)

qBL12 เป็นพันธุกรรมหลักของลักษณะต้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514 อยู่บนโครโมโซม 12 ระหว่างเครื่องหมายดีเอ็นเอ RM101-RM1047 ซึ่งจากการรายงานตำแหน่งยีนต้านทานพบว่า โครโมโซม 12 มีจำนวนยีนต้านทานโรคไหม้มากถึง 18 ยีน (Wang et al., 2014) โดยบริเวณดังกล่าวมียีนต้านทานโรคไหม้บางยีนได้รับการโคลนเรียบร้อยแล้ว ได้แก่ *Pita* (Bryan et al., 2000) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าตำแหน่ง *qBL12* ของข้าวสายพันธุ์ IR57514 อาจเป็น 1 ใน 18 ยีนดังกล่าว เนื่องจากข้าวสายพันธุ์ IR57514 มีพันธุกรรมที่หลากหลายที่ได้รับการผสมจาก IRRI เช่น

ชาวดอกมะลิ 105, น้ำสะกอย 19, IR8, IR24, TKM6, TETEP, IR44, IR46, IR54, FR13A และ PTB18 เป็นต้น ซึ่งเชื้อพันธุกรรมเหล่านี้มีลักษณะทางการเกษตรที่อื่นๆ ได้แก่ ผลผลิตสูง ต้านทานโรคและแมลง ทนแล้ง และทนน้ำท่วมฉับพลัน เป็นต้น (Kate-ngam et al., 2011 ; Ouk et al., 2006; Romyen et al., 1998; Jerakongman et al., 1995)

3.5.3 การใช้ประโยชน์จากการค้นพบตำแหน่งของ QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514 ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้

เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ขนานหัวท้ายของ *qBL12* ได้แก่ RM101 และ RM1047 ซึ่งเป็นยีนหลักของลักษณะต้านทานโรคไหม้ในข้าวพันธุ์ IR57514 มีระยะห่างระหว่างเครื่องหมายทั้งสองบนโครโมโซมเท่ากับ 4.8 cM สอดคล้องกับการรายงานของ Collard and Mackill (2008) รายงานไว้ว่าระยะห่างระหว่างเครื่องหมายดีเอ็นเอกับลักษณะที่ต้องการคัดเลือกไม่ควรห่างกันเกิน 5 cM ทั้งนี้เพื่อลดการเกิดการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนของโครโมโซม ทำให้ความแม่นยำของการคัดเลือกมากขึ้นหรือกล่าวได้อีกว่า หากเครื่องหมายดีเอ็นเอมีระยะห่างจากลักษณะเป้าหมายที่ทำการคัดเลือกมากเกินไปจะทำให้ความแม่นยำของการคัดเลือกลดน้อยลงตามไปด้วย ดังนั้น เครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความใกล้ชิดกับ *qBL12* สามารถนำไปใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือกในงานด้านการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้ได้ต่อไปในอนาคต อย่างไรก็ตาม ตำแหน่งของ QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ทั้งหมดตำแหน่งและเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความใกล้ชิดยังคงเป็นข้อมูลเบื้องต้นที่ทราบเพียงแหล่งพันธุกรรมต้านทานโรคไหม้แหล่งใหม่เท่านั้น ดังนั้น ควรมีการประเมินความต้านทานโรคไหม้ (validation of blast resistance) โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอเหล่านี้ช่วยในการคัดเลือกลักษณะต้านทานโรคไหม้ โดยใช้พื้นฐานพันธุกรรมของสายพันธุ์ข้าวที่แตกต่างกัน หรือต่างประชากร เป็นต้น เพื่อเป็นการยืนยันว่าเครื่องหมายดีเอ็นเอดังกล่าวสามารถใช้เป็นเครื่องมือช่วยในการคัดเลือกลักษณะต้านทานโรคไหม้ได้หรือไม่

ปัจจุบันการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้ในประเทศไทยนิยมใช้พันธุกรรมต้านทานบนโครโมโซม 1 และ 11 (*qBL1* และ *qBL11*) ที่มีแหล่งพันธุกรรมต้านทานจากข้าวเจ้าหอมนิล (Noenplab et al., 2006) และ *qBL2* และ *qBL12* บนโครโมโซม 2 และ 12 โดยพันธุกรรมต้านทานโรคไหม้มาจากข้าวพันธุ์ IR64 และ Azucena (ติดต่อส่วนตัว: ดร. ธีรยุทธ ตูจินดา) ตัวอย่างเช่น ข้าวเจ้าหอมวารินต้านทานโรคไหม้บนโครโมโซม 1 และ 11 (Kate-ngam et al., 2014) กข6 ต้านทานโรคไหม้บนโครโมโซม 1, 2, 11 และ 12 ตามลำดับ (ศิริภา ก่ออินทร์ศักดิ์ และคณะ, 2555; Wongsaprom et al., 2010; Sreewongchai et al., 2010; Pinta et al., 2013) จากการติดตามส่งเสริมการปลูกข้าวเหนียวพันธุ์ กข6 สายพันธุ์ปรับปรุง (ต้นเตี้ย) ในพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งข้าวพันธุ์ดังกล่าวนี้มีพันธุกรรมต้านทาน *qBL11* จากข้าวเจ้าหอมนิลพบว่า ข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุง กข6 ต้านทานโรคไหม้ *qBL11* (กข6-ต้นเตี้ย) มีความเสียหายจากการเข้าทำลายของโรคไหม้ในเขตพื้นที่ดังกล่าว แต่เชื้อสาเหตุโรคไหม้ไม่สามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์ IR57514 ได้ (ติดต่อส่วนตัว: ดร. ธีรยุทธ ตูจินดา โครงการวิจัยและพัฒนาข้าวนาข้าวไร่โดยใช้เทคโนโลยีชีวภาพ) ดังนั้น การค้นพบตำแหน่ง QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ในข้าว IR57514 ซึ่งมียีนหลักคือ *qBL12* จึงเป็นแหล่งพันธุกรรมต้านทานโรคไหม้อีกแหล่งหนึ่งในการพัฒนาพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้ในอนาคตให้มีความต้านทานแบบกว้าง (broad spectrum resistance)

ต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม โดยวิธีการรวมยีน (gene pyramiding) เข้าสู่ข้าวสายพันธุ์ที่มีพันธุกรรมต้านทาน *qBl1* และ *qBl11* หรือข้าวพันธุ์อื่นๆ ที่มีลักษณะที่ติดอยู่แล้ว เพื่อเพิ่มขีดความสามารถในการต้านทานโรคไหม้ให้ข้าวพันธุ์นั้นๆ ซึ่งเป็นการเตรียมความพร้อมรับมือ แก้ไขปัญหาการระบาดของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม

บทที่ 4

การพัฒนาพันธุ์กรรมข้าวเหนียวหอมที่มียืน *Bph3* ด้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จากฐานพันธุ์กรรมข้าวสายพันธุ์ IR57514

4.1 บทนำ

ข้าวเหนียว (glutinous rice) เป็นข้าวที่ปลูกกันมากในเขตทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือของประเทศไทย ทั้งนี้เนื่องจากวิถีชีวิตและวัฒนธรรมการบริโภคที่มีการสืบทอดกันมาตั้งแต่บรรพบุรุษ ประชากรส่วนใหญ่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือบริโภคข้าวเหนียวเป็นอาหารหลัก ดังนั้นจึงมีการปลูกข้าวเหนียวกันอย่างแพร่หลาย เกษตรกรแทบจะทุกครัวเรือนจะปลูกข้าวเหนียวเพื่อบริโภค แต่จะปลูกข้าวเจ้าโดยเฉพาะข้าวขาวดอกมะลิ 105 เพื่อส่งให้กับโรงสีหรือพ่อค้าคนกลาง ข้าวเหนียวจึงผูกพันกับเกษตรกรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือมาอย่างยาวนาน ปัจจุบันมีการนำข้าวเหนียวไปใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมอาหารขนมขบเคี้ยว ผลิตภัณฑ์พื้นเมืองและการผลิตแป้งข้าวมากมายทำให้อุตสาหกรรมต่างๆ มีความต้องการข้าวเหนียวในปริมาณที่มากขึ้น

ข้าวเหนียวเป็นข้าวที่มีเมล็ดข้าวสารสีขาวขุ่นเมื่อนึ่งแล้วจะได้ข้าวสุกที่จับตัวติดกัน เหนียวแน่น และมีลักษณะใส ประกอบด้วยแป้งชนิดอะไมโลเพ็คติน เป็นส่วนใหญ่ประมาณ 95-100 เปอร์เซ็นต์ มีแป้งอะไมโลส อยู่เพียงเล็กน้อยประมาณ 0-5 เปอร์เซ็นต์ หรือไม่มีเลย (อรอนงค์ นัยวิกุล, 2550) การบริโภคข้าวเหนียวส่วนใหญ่ของประเทศไทยอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ นอกจากนี้หลายประเทศในเขตพื้นที่ปลูกข้าวลุ่มแม่น้ำโขงก็นิยมปลูกข้าวเหนียวเช่นกัน โดยเฉพาะประเทศลาว ซึ่งมีพื้นที่ปลูกข้าวเหนียวกว่า 85 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ปลูกข้าวทั้งหมดและบริโภคข้าวเหนียวเป็นอาหารหลักของคนภายในประเทศ (Esterik et al., 2008) ส่วนในประเทศไทยเวียดนาม ปลูกข้าวเหนียวประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของผลผลิตข้าวทั้งหมด

ข้าวเหนียวเกิดจากการกลายพันธุ์ของข้าวเจ้าตรงตำแหน่งยืน *Waxy* ที่ควบคุมปริมาณอะไมโลส ซึ่งมีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่ 6 มีหน้าที่สังเคราะห์เอนไซม์ granule bound starch synthase (GBSS) โดยมียืนที่เกี่ยวข้องกับปริมาณอะไมโลสสูงและต่ำ จำนวน 2 รูปแบบ ประกอบด้วย อัลลีล Wx^a ควบคุมปริมาณอะไมโลสสูง และอัลลีล Wx^b ควบคุมปริมาณอะไมโลสต่ำ ซึ่งยืนทั้งสองรูปแบบนี้ต่อมาได้นำมาใช้แยกข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสต่ำและสูงออกจากกัน จากนั้นได้มีการค้นพบการเปลี่ยนแปลงจากข้าวเจ้าเป็นข้าวเหนียว โดยการเพิ่มขึ้นของเบสจำนวน 23 เบส ตรงบริเวณ exon2 ของ *Waxy* gene มีผลทำให้ข้าวเจ้าเปลี่ยนเป็นข้าวเหนียว ซึ่งมีผลทำให้เกิดตำแหน่งหยุดการแปลรหัสก่อนกำหนด (premature translation stop codon) ที่ 78 bp downstream นำไปสู่การพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ตรงตำแหน่งยืนซึ่งมีความจำเพาะเจาะจง (gene specific marker) เพื่อใช้ในการจำแนกข้าวเหนียวและข้าวเจ้า มีชื่อว่า *Wx-Glu-23* สำหรับใช้ในการปรับปรุงพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก (Wanchana et al., 2003a)

ข้าวเหนียวพันธุ์ กข6 เป็นพันธุ์ที่ได้รับรองจากกรมการข้าวในปี 2520 ปรับปรุงพันธุ์จากข้าวเจ้าขาวดอกมะลิ 105 โดยรังสีแกมมาที่ 20 กิโลเรด ณ สำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติแห่งประเทศไทยทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของยีน *Waxy* บนโครโมโซม 6 เปลี่ยนจากข้าวเจ้าเป็นข้าวเหนียว ซึ่งต่อมาเป็นพันธุ์ข้าวเหนียวที่นิยมปลูก และ เป็นที่นิยมในการบริโภคในประเทศโดยเฉพาะภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ อย่างไรก็ตามข้าวเหนียวพันธุ์ดังกล่าวยังคงมีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของโรคและแมลง โดยเฉพาะเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ซึ่งถือเป็นแมลงศัตรูข้าวที่มีความสำคัญมากต่อผลผลิตข้าว เนื่องจากเพลี้ยชนิดนี้สามารถเคลื่อนย้ายและสามารถเลือกพืชอาศัยได้ โดยเฉพาะเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิดปีกยาว สามารถเคลื่อนย้ายและอพยพไปในระยะทางไกลและไกลโดยอาศัยกระแสลมช่วย จึงทำให้การระบาดเป็นบริเวณกว้างอย่างรวดเร็ว ดังนั้น การพัฒนาพันธุ์ข้าวเหนียวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจึงถือเป็นงานวิจัยที่มีความสำคัญไม่แพ้การพัฒนาพันธุ์ข้าวเจ้าให้มีความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเหนียวให้ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามารถใช้พันธุ์กรรมต้านทานจากข้าวเจ้าในการถ่ายทอดยีนไปยังข้าวเหนียวได้โดยการผสมพันธุ์ตามธรรมชาติ

แหล่งพันธุ์กรรมของยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ใช้ในประเทศไทยในปัจจุบัน ได้แก่ ยีนต้านทาน *Bph3* บนโครโมโซม 6 ซึ่งพบในพันธุ์ข้าว Rathu Heenati ข้าวพื้นเมืองของประเทศศรีลังกา และสายพันธุ์ PTB33 ข้าวพื้นเมืองประเทศอินเดีย (Jairin et al., 2007) และพันธุ์กรรมจากข้าวพื้นเมืองของอินเดียอีกสายพันธุ์คือ Abhaya มีพันธุ์กรรมต้านทาน ได้แก่ *Qbph6* และ *Qbph12* บนโครโมโซม 6 และ 12 ตามลำดับ ซึ่งพันธุ์ข้าวทั้งสองที่มียีน *Bph3* มีความต้านทานต่อประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ใช้ทดสอบที่สถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) และยังสามารถต้านทานต่อประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประเทศไทย อินเดีย ฟิลิปปินส์ เวียดนาม จีน บังคลาเทศ และ ลาว (Jairin et al., 2007) ยีนต้านทาน *Bph3* มีกลไกความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ประกอบด้วย ความชอบของแมลงในการใช้พืชอาศัย (anitxenosis) การรอดชีวิตของแมลงบนพืชอาศัย (antibiosis) และความทนทานของพืชต่อการดูดกินของแมลง (tolerance) (วิศรุต สุขเขตต์ และคณะ, 2553) จากกลไกความต้านทานดังกล่าวทำให้ยีนต้านทาน *Bph3* เป็นแหล่งพันธุ์กรรมที่สำคัญอย่างยิ่งในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

ปัจจุบันสายพันธุ์ข้าวเจ้าที่มีการปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Bph3* โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกมีสองสายพันธุ์ ได้แก่ ชัยนาท 1 (CNT1) และ สายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML105) โดยสายพันธุ์ชัยนาท 1 เป็นข้าวเจ้าสายพันธุ์ปรับปรุงลูกผสมกลับชั่วรุ่นที่ BC₄F₅ จากคู่ผสมระหว่าง CNT1 และ KDML105 ที่มียีน *Bph3* ทำให้ได้ข้าวพันธุ์ชัยนาท1 ที่สามารถต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล มีลักษณะไม่ไวต่อช่วงแสง และมีปริมาณอะไมโลสสูง (Saisamai, 2013) ส่วนพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวเจ้านาน้ำฝนไวต่อช่วงแสง ทำการปรับปรุงลูกผสมกลับชั่วรุ่นที่ BC₃F₅ จากคู่ผสมระหว่าง Rathu Heenati และ KDML105 (Jairin et al., 2009) ทั้งสองสายพันธุ์นี้ได้รับพันธุ์กรรมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมาจากข้าวพันธุ์พื้นเมืองพันธุ์ Rathu Heenati ซึ่งมียีนต้านทาน *Bph3* มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซม 6 (Jairin et al., 2007) โดยมีการรายงานว่ามีพันธุ์กรรมต้านทานแบบกว้างที่สามารถต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มีการระบาดในประเทศไทยได้หลายประชากร

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยใช้แหล่งพันธุกรรมจากข้าวพื้นเมือง มักประสบปัญหา linkage drag ซึ่งมักมีลักษณะที่ไม่พึงประสงค์ติดมาด้วย ในกรณีของข้าวพันธุ์ Rathu Heenati พบว่า ยีนต้านทาน *Bph3* มีตำแหน่งอยู่ใกล้ชิดกับอัลลีล Wx^D ของ *Waxy* gene ที่ควบคุมลักษณะปริมาณอะไมโลสสูงบนโครโมโซม 6 ทั้งสองยีนมีระยะห่างระหว่างกันประมาณ 380 kb ดังนั้น ยีนสองยีนจึงมีลักษณะเป็น linked genes การที่ยีนต้านทาน *Bph3* และ Wx^D allele อยู่ใกล้ชิดกันมากทำให้เกิดปัญหา linkage drag ของ Wx^D allele ในการถ่ายทอดยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Bph3* เข้าสู่ข้าวสายพันธุ์ปรับปรุง ทำให้ข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากยีน *Bph3* มักมีปริมาณอะไมโลสสูง ดังนั้น หากต้องการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มียีน *Bph3* ให้เป็นข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสต่ำที่ถูกควบคุมโดยอัลลีล Wx^b จะต้องทำการแยก linkage drag ระหว่างยีนทั้งสอง ซึ่งการปรับปรุงพันธุ์โดยวิธีมาตรฐานนั้นทำได้ค่อนข้างยาก ปัจจุบันมีการนำเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอมาช่วยคัดเลือกโดยแยกยีนดังกล่าวที่อยู่ใกล้ชิดกันเป็นผลสำเร็จ ตัวอย่างเช่น Jairin et al. (2009) รายงานการแยก linkage drag ระหว่าง *Bph3* และอัลลีล Wx^D โดยอัลลีล Wx^D ในการพัฒนาพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ให้ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่อยู่ใกล้ชิดกับยีนทั้งสองมาคัดเลือกลดต้นข้าวจนได้ข้าวขาวดอกมะลิ 105 สายพันธุ์ปรับปรุงที่สามารถต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลอย่างกว้างขวางและยังคงลักษณะการหุงต้มและรับประทานเหมือนข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (อัลลีล Wx^b) การใช้แหล่งพันธุกรรมจากข้าวป่าหรือข้าวพันธุ์พื้นเมืองโดยส่วนใหญ่มักประสบปัญหา linkage drag โดยยีนเป้าหมายที่ควบคุมลักษณะที่ต้องการมักเชื่อมโยงกับยีนอื่นๆ ที่ควบคุมลักษณะที่ไม่พึงประสงค์ การแยก linkage drag โดยการปรับปรุงพันธุ์พืชแบบมาตรฐานจะทำได้ยาก เนื่องจากต้องใช้ประชากรลูกผสมที่มีจำนวนมาก เพื่อค้นหาต้นข้าวที่มียีนที่ต้องการทั้งสองตำแหน่งบนโครโมโซมเป็นการเพิ่มโอกาสในการได้ต้นข้าวที่เกิดรีคอมบิเนชันระหว่างยีนทั้งสองตำแหน่งบนโครโมโซมเนื่องจากยีนทั้งสองอยู่ใกล้ชิดกันมากโอกาสที่จะเกิดรีคอมบิเนชันจึงมีโอกาสน้อยตามไปด้วย ดังนั้น จึงต้องใช้จำนวนต้นข้าวที่เป็นประชากรที่มีขนาดใหญ่ แต่ปัจจุบันการแยก linkage drag กระทำได้ง่ายและมีความแม่นยำมากขึ้น โดยการนำเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอมาช่วยในการคัดเลือก ซึ่งกระทำโดยการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความใกล้ชิดกับยีนทั้งสองบนโครโมโซมมาช่วยคัดเลือกลดต้นข้าวที่มีอัลลีลที่ต้องการ

ปัจจุบันการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวเหนียวให้ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพื่อลดความเสียหายจากการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลยังมีไม่มากนัก เมื่อเทียบกับการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวเจ้าให้มีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เนื่องจากข้าวเหนียวเป็นข้าวที่มีการบริโภคเฉพาะถิ่นหรือบางพื้นที่และมีพื้นที่ปลูกส่วนใหญ่ในเขตที่มีการบริโภคข้าวชนิดนี้ ได้แก่ ภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศ โดยพื้นที่ส่วนใหญ่เป็นเขตปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนซึ่งมีการปลูกข้าวเพียงหนึ่งรอบต่อปี ทำให้ในอดีตปัญหาการระบาดของเพลี้ยชนิดนี้ไม่มีความรุนแรงมากนัก แต่เมื่อเวลาเปลี่ยนไปการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ ส่งผลให้อุณหภูมิของโลกสูงขึ้น ส่งผลให้เกิดฤดูกาลเปลี่ยนแปลง การกระจายตัวของน้ำฝนไม่สม่ำเสมอ เกิดปัญหาน้ำท่วม ฝนแล้ง และมีการระบาดของโรค และแมลงเพิ่มขึ้น จากปรากฏการณ์ดังกล่าวส่งผลให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลนั้นมีการระบาดมากขึ้นในพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนและนับวันยังมีความรุนแรงมากยิ่งขึ้น ปัจจุบันมีการ

รายงานแหล่งพันธุ์กรรมข้าวเหนียวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลคือ กข6 (RD6-*Bph3*) ที่มีการถ่ายทอดยีนต้านทาน *Bph3* บนโครโมโซม 6 จากข้าวพื้นเมืองของประเทศอินเดียสายพันธุ์ PTB33 (Jairin et al., 2007) แต่ได้มีการทดสอบความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเบื้องต้น ณ หน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว พบว่า ข้าวสายพันธุ์ดังกล่าวแสดงลักษณะค่อนข้างอ่อนแอเมื่อถูกประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล อุบลราชธานี น่าน และ กำแพงเพชร เข้าทำลาย ดังนั้นกรณีจะทำการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเหนียวให้ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลนั้น จึงมีความจำเป็นต้องหาแหล่งพันธุ์กรรมต้านทานใหม่หรือสร้างเชื้อพันธุ์กรรมข้าวเหนียวสายพันธุ์ใหม่ขึ้น เพื่อเตรียมความพร้อมรับมือกับปัญหาการระบาดของแมลงชนิดนี้ในเขตปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนที่ราบลุ่มแม่น้ำโขง

4.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อพัฒนาสายพันธุ์ข้าวเหนียวหอมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มียีน *Bph3* จากฐานพันธุ์กรรมข้าวสายพันธุ์ IR57514 เพื่อใช้ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเหนียว

4.3 วิธีการดำเนินการวิจัย

4.3.1 สายพันธุ์ข้าวที่ใช้ในงานวิจัย (Plant materials)

ข้าวสายพันธุ์พ่อ: ข้าวเจ้าสายพันธุ์ปรับปรุง R4-4-2-134-18-57 เป็นสายพันธุ์ข้าวที่มีการปรับปรุงพันธุ์ให้มีความสามารถในการต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยได้รับการผนวกรวมยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) จากสายพันธุ์ UBN03078-101-342 เป็นข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงที่รับการถ่ายยีน *Bph3* จากข้าวพันธุ์ Rathu Heenati ข้าวสายพันธุ์พ่อที่ใช้พัฒนาจากคู่ผสมระหว่างข้าวพันธุ์ ชัยนาท 1 (CNT1) และ UBN03078-101-342 ทำการปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีผสมกลับ (BC_4F_5) และใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก มีแหล่งพันธุ์กรรมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากข้าวพันธุ์ Rathu Heenati ข้าวพื้นเมืองของประเทศศรีลังกา ซึ่งมียีนควบคุมลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) อยู่บนโครโมโซม 6 (ได้รับความอนุเคราะห์จากหน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์จากยีนข้าว)

ข้าวสายพันธุ์แม่: ข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุง RGD11259-1-MAS-9-MAS-25 (RGD11259-1-9-25) ลูกผสมกลับชั่วที่ BC_1F_2 ใช้เป็นแหล่งพันธุ์กรรมให้ลักษณะข้าวเหนียวที่ถูกควบคุมโดยยีน *wx* บนโครโมโซม 6 และลักษณะความหอมที่ถูกควบคุมโดยยีน *badh2* บนโครโมโซม 8 พัฒนามาจากการผสมระหว่างข้าวสายพันธุ์ Jasmine IR57514 (Kate-ngam et al., 2011) และสายพันธุ์พ่อ กข6 (RD6-Blast) ที่มีการผนวกรวมยีนต้านทานโรคไหม้ *qBl1* และ *qBl11* บนโครโมโซม 1 และ 11 ตามลำดับ (Khanthog et al., 2012)

4.3.2 การพัฒนาประชากรข้าวลูกผสมชั่วที่ $F_1 - F_4$ (Population development)

การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวเหนียวหอมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในการศึกษาครั้งนี้ใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบสืบประวัติ (pedigree method) และการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก (markers assisted selection; MAS) ร่วมกับการคัดเลือกลักษณะฟีโนไทป์ (phenotype selection) ได้แก่ การประเมินลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ซึ่งมีรายละเอียดของขั้นตอนการพัฒนาประชากร ดังนี้

4.3.2.1 การพัฒนาประชากรลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1)

สร้างเมล็ด F_1 โดยการผสมพันธุ์ข้าวระหว่างข้าวสายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 กับ ข้าวสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 ณ หน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน เมื่อได้เมล็ดลูกผสมรุ่นที่ F_1 จากนั้นทำการเพาะกล้าเมื่อต้นข้าวอายุได้ 30 วัน ทำการย้ายต้นกล้าลงปลูกในแปลง โดยมีระยะปลูกระหว่าง ต้น/แถว เท่ากับ 25x25 เซนติเมตร กำจัดวัชพืชและการใส่ปุ๋ย จนต้นข้าวให้ผลผลิต ทำการคัดเลือกลักษณะเป้าหมายในประชากร F_1 ที่มีอัลลีลของยีนเป้าหมายเป็นเฮเทอโรไซกัส โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใกล้ชิดกับยีนเป้าหมาย จำนวน 3 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) ข้าวเหนียว (*wx*) และความหอม (*badh2*) จากนั้นปล่อยให้ประชากรข้าวลูกผสม F_1 ที่ผ่านการคัดเลือกผสมตัวเองเพื่อให้ได้เมล็ดประชากร F_2 (ภาพที่ 4.1)

4.3.2.2 การพัฒนาประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 (F_2)

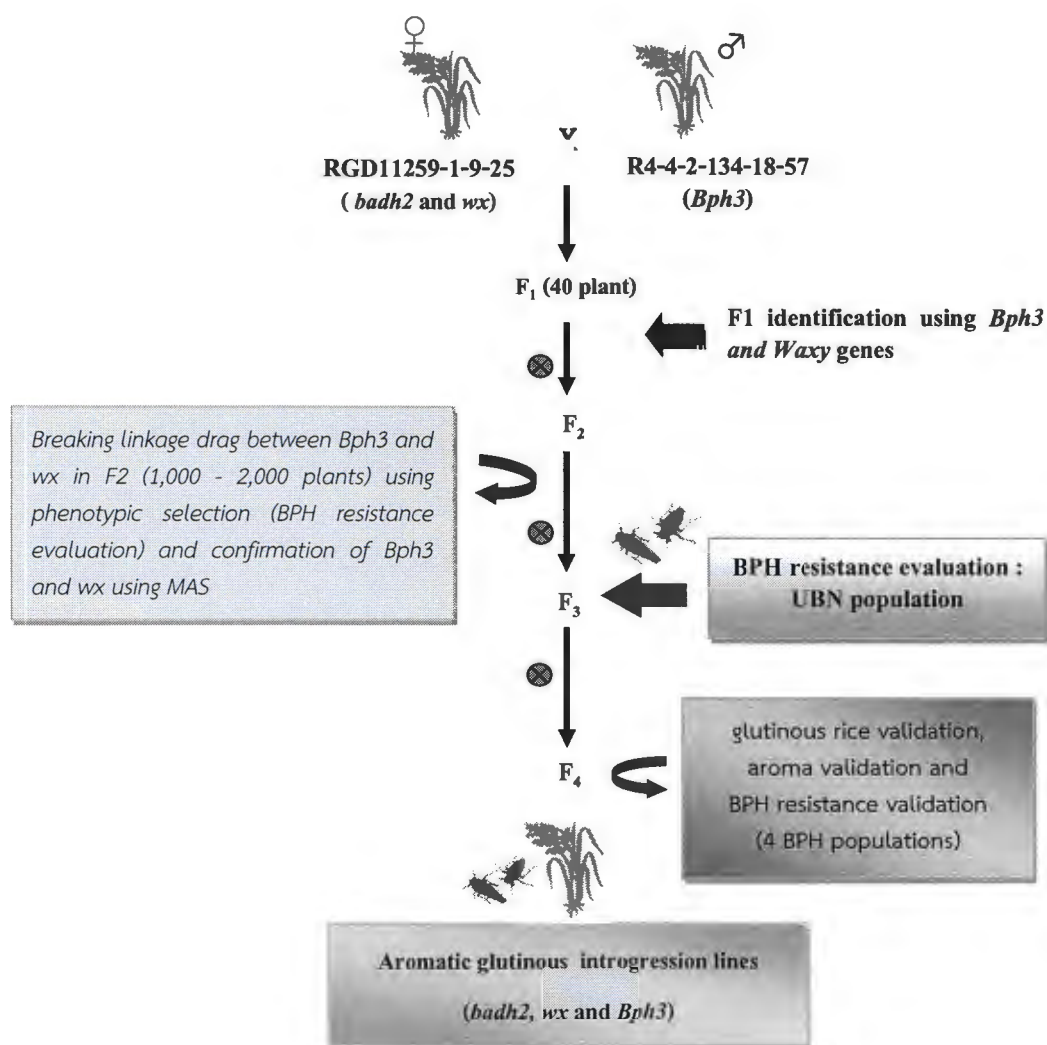
สร้างประชากร F_2 จำนวนประมาณ 1,000-2,000 ต้น จากการผสมตัวเองของต้นข้าว F_1 จำนวน 1 ต้น ที่มีอัลลีลของยีนเป้าหมายเป็นเฮเทอโรไซกัส จากนั้นทำการคัดเลือกด้วยลักษณะฟีโนไทป์ ได้แก่ ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*BPH resistance selection*) ในระยะต้นกล้าที่อายุข้าว 7 วัน โดยใช้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี คัดเลือกต้นข้าวที่รอดชีวิต โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอตรงตำแหน่งยีน *wx* และ *Bph3* เพื่อค้นหาต้นข้าว F_2 ที่มีอัลลีลของยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) เป็นแบบโฮโมไซกัส (*Bph3*^{R4/R4}) และลักษณะข้าวเหนียว (*wx*) ที่มีอัลลีลของยีน *wx* เป็นแบบโฮโมไซกัสหรือเฮเทอโรไซกัส (*wx*^{RGD/RGD} or *wx*^{RGD/R4}) ตามลำดับ จากนั้นปล่อยให้ต้นข้าวที่มียีนเป้าหมายผสมตัวเองเพื่อให้ได้เมล็ดประชากร F_3 (ภาพที่ 4.1)

4.3.2.3 การพัฒนาประชากรลูกผสมชั่วที่ 3 (F_3)

สร้างประชากร F_3 จากประชากร F_2 ที่ผ่านการคัดเลือกทั้งลักษณะฟีโนไทป์โดยการประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และลักษณะจีโนไทป์โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใกล้ชิดกับลักษณะเป้าหมายสองลักษณะ (*Bph3* และ *wx*) จากนั้นปลูกประชากร F_3 เพื่อทำการประเมินเพื่อยืนยันความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะต้นกล้าที่อายุข้าว 7 วัน โดยใช้แมลงประชากร อุบลราชธานี หลังจากนั้นย้ายต้นข้าว F_3 ที่รอดชีวิตปลูกในแปลงให้มีระยะปลูกระหว่าง ต้น/แถว เท่ากับ 25x25 เซนติเมตร เพื่อให้ได้เมล็ดของประชากร F_4 ขณะเดียวกันก็มีการคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอคัดเลือกลักษณะเป้าหมายทั้งสามลักษณะ

4.3.2.4 การพัฒนาประชากรลูกผสมชั่วที่ 4 (F_4)

นำเมล็ดประชากร F_4 ที่ผ่านการคัดเลือกลักษณะเป้าหมายประกอบด้วย ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) ลักษณะข้าวเหนียว (*wx*) และลักษณะความหอม (*badh2*) จากนั้นนำมาประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยใช้ประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 4 ประชากร ได้แก่ อุบลราชธานี น่าน พิษณุโลก และ กำแพงเพชร และการประเมินลักษณะข้าวเหนียว และลักษณะความหอม เพื่อยืนยันประสิทธิภาพของการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกทั้งสามลักษณะ (ภาพที่ 4.1)



ภาพที่ 4.1 แผนการดำเนินงานการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวเหนียวหอมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก

4.3.3 การคัดเลือกประชากรข้าวลูกผสมชั่วที่ F_1 - F_4

การคัดเลือกประชากรข้าวลูกผสมเพื่อพัฒนาสายพันธุ์ข้าวเหนียวหอมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ทำการคัดเลือกโดยใช้ 2 วิธีมาคัดเลือกร่วมกัน ได้แก่ การคัดเลือกโดยใช้ลักษณะฟีโนไทป์ ณ ที่นี้คือ ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และการคัดเลือกจีโนไทป์โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก ซึ่งทำการคัดเลือกในประชากร F_1 - F_4 โดยมีรายละเอียดของการคัดเลือกระหว่างนี้

4.3.3.1 การคัดเลือกลักษณะฟีโนไทป์: การประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

การคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประชากร F_2 - F_4 โดยประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในการทดลองนี้มีจำนวน 4 ประชากร เก็บรวบรวมจากแปลงปลูกข้าวในเขตพื้นที่ที่มีการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในจังหวัด น่าน พิจิตร โขง อุดรราชธานี และกำแพงเพชร ในปี 2546, 2546, 2546 และ 2554 ตามลำดับ โดยนำมาเลี้ยงบนพันธุ์ข้าวอ่อนแอมาตรฐาน Taichung Native 1 (TN1) ที่ห้องทดลอง ณ หน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ (อุณหภูมิประมาณ 26-28 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์) จากนั้นเมื่อต้องการใช้ประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลใดๆ ในการทดสอบจะนำมาขยายเพื่อเพิ่มจำนวนประชากรแมลงในห้องเรือน โดยเลี้ยงบนข้าวพันธุ์ TN1 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวที่อ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในทรงปลูกขนาด 1x1x1 เมตร ทำการเลี้ยงประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจนมีจำนวนประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มากเพียงพอต่อการประเมินความต้านทานของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประชากร F_2 F_3 และ F_4 ดำเนินการประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะต้นกล้าที่อายุข้าว 7 วัน และระยะแตกกอที่อายุข้าว 25 วัน หลังเพาะเมล็ด (7 and 25 day after sowing; DAS) ซึ่งมีขั้นตอนการดำเนินงาน ดังนี้

1) การประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวอายุ 7 วัน

ใช้วิธี Standard seedbox screening test (SSBS) เป็นเทคนิคการประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะต้นกล้าอายุข้าวประมาณ 7 วัน ในสภาพโรงเรือน โดยวิธีการดำเนินการทดลองและการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่ใช้ทดสอบได้อธิบายไว้โดย Heinrich et al. (1985) ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้ เมื่อต้นข้าวอายุครบ 7 วัน ซึ่งจะมีการแตกใบอ่อนประมาณ 2-3 ใบ ทำการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลไปในพันธุ์ข้าวที่ทำการทดสอบ โดยใช้แมลงวัยสามถึงวัยสี่ (3-4 instar nymphs) จำนวน 10-15 ตัวต่อต้น หลังจากนั้นประมาณ 7 วัน หลังปล่อยแมลง เมื่อสายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 และพันธุ์อ่อนแอมาตรฐาน TN1 ตาย (คะแนน 9) ทำการบันทึกคะแนนความเสียหายที่เกิดจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายต้นข้าวทุก ๆ วัน จนกว่าคะแนนที่ได้ไม่มีการเปลี่ยนแปลง โดยใช้เกณฑ์ของ Standard Evaluation System for Rice (IRRI, 1996) โดยมีเกณฑ์การให้คะแนนของระดับความรุนแรงที่ 5 ระดับ (1, 3, 5, 7, และ 9) โดยคะแนนจะมีความสัมพันธ์กับปฏิกิริยาการตอบสนองของต้นข้าวต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (ตารางที่ 4.1) การทดลองที่ใช้ต้นข้าวอายุ 7 วัน จะใช้ต้นข้าวทดสอบจำนวน 10-20 ต้น/ซ้ำ (30-60 ต้น/ประชากรแมลง)

ตารางที่ 4.1 เกณฑ์การให้คะแนนของระดับความรุนแรงจากความเสียหายของการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าว โดยวิธี SSBS ดัดแปลงจาก Standard Evaluation System

ระดับความรุนแรง	ปฏิกิริยาตอบสนองต่อการเข้าทำลาย	ระดับความต้านทาน ^{1/}
1	ต้นข้าวเกิดความเสียหายน้อยมาก	HR
3	ต้นข้าวมีอาการใบเหลืองเป็นส่วนใหญ่และต้นข้าวแห้งตายประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ของต้นข้าวทั้งหมด	R
5	ต้นข้าวส่วนใหญ่ต้นเตี้ยแคระ และแห้งตาย 50 เปอร์เซ็นต์ของต้นข้าวทั้งหมด	MR
7	ต้นข้าวส่วนใหญ่ต้นเตี้ยแคระ และแห้งตาย 75 เปอร์เซ็นต์ของต้นข้าวทั้งหมด	MS
9	ต้นข้าวแห้งตายทั้งหมด	S

หมายเหตุ: ^{1/}HR (Highly resistance) หมายถึง ข้าวมีความต้านทาน BPH ได้ดีมาก, R (Resistance) หมายถึงข้าวมีความต้านทาน BPH ได้ดี, MR (Moderately resistance) หมายถึง ข้าวมีความต้านทาน BPH ระดับปานกลาง, MS (Moderately susceptibility) หมายถึง ข้าวค่อนข้างมีความอ่อนแอต่อ BPH และ S (Susceptibility) หมายถึง ข้าวอ่อนแอต่อ BPH

2) การประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวอายุ 25 วัน

ใช้วิธี Modified mass tiller screening test (MMTS) เป็นเทคนิคการประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ปรับปรุงโดย Jairin et al. (2007) เป็นการรวมเทคนิคการประเมินวิธี modified seedbox screening technique (Velusamy et al. 1986) และวิธี tiller seedbox screening technique (Wang et al. 2001) โดยได้มีการปรับปรุงเทคนิคและวิธีการทดสอบความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแบบ MMTS เพื่อให้สอดคล้องและให้เกิดประสิทธิภาพสูงที่สุดกับงานวิจัยในครั้งนี้ โดยทำการทดสอบกับต้นข้าวที่มีอายุ 25 วัน ในสภาพโรงเรือน ดำเนินการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลวัยสามถึงวัยสี่ (3-4 instar nymphs) จำนวน 30-40 ตัวต่อต้น ซึ่งต้นข้าวที่ใช้ทดสอบจะไม่ให้มีการแตกกอ กล่าวคือ ต้นข้าวที่ใช้ทดสอบหนึ่งเมล็ดต่อหนึ่งต้น (1 seed/1 tiller) ทำการอนุบาลต้นข้าวทดสอบจนอายุครบกำหนดในการทดสอบ โดยมีการใส่ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) ที่ 7 วัน ก่อนปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพื่อให้ต้นข้าวเจริญเติบโตสมบูรณ์ และมีลักษณะอวบน้ำซึ่งเหมาะแก่การเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เก็บข้อมูลหลังจากที่สายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 และพันธุ์อ่อนแอมาตรฐาน TN1 ตาย (คะแนน 9) ทำการบันทึกคะแนนความเสียหายที่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายต้นข้าววันเว้นวัน จนกว่าคะแนนที่ได้ไม่มีการเปลี่ยนแปลง โดยใช้ Standard Evaluation System for Rice (IRRI, 1996) เก็บข้อมูลเป็นคะแนนที่ 5 ระดับ (1, 3, 5, 7, และ 9) โดยคะแนนจะมีความสัมพันธ์กับปฏิกิริยาการตอบสนองของต้นข้าวต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (ตารางที่ 4.2) การทดลองที่ใช้ต้นข้าวอายุ 25 วัน จะใช้ต้นข้าวทดสอบ จำนวน 10-20 ต้น/ซ้ำ (30-60 ต้น/ประชากรแมลง)

ตารางที่ 4.2 เกณฑ์การให้คะแนนของระดับความรุนแรงจากความเสียหายของการการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าว โดยวิธี MMTS ดัดแปลงจาก Standard Evaluation System

ระดับความรุนแรง	ปฏิกิริยาตอบสนองต่อการเข้าทำลาย	ระดับความต้านทาน ^{1/}
1	ต้นข้าวไม่เกิดความเสียหายหรือใบล่างของต้นข้าวมีสีเหลืองเล็กน้อย	HR
3	ต้นข้าวมีใบล่างส่วนใหญ่เป็นสีเหลือง หรือ มีลักษณะเหี่ยวแห้ง	R
5	ต้นข้าวมีใบบนสีเหลืองชัดเจน และมีต้นเตี้ยแคระ หรือ เหี่ยวแห้ง	MR
7	ต้นข้าวครึ่งหนึ่งมีลักษณะเหี่ยวแห้ง หรือ เกิดอาการ hopperburn	MS
9	ต้นข้าวแห้งตายทั้งหมด	S

หมายเหตุ: ^{1/}HR (Highly resistance) หมายถึง ข้าวมีความต้านทาน BPH ได้ดีมาก, R (Resistance) หมายถึง ข้าวมีความต้านทาน BPH ได้ดี, MR (Moderately resistance) หมายถึง ข้าวมีความต้านทาน BPH ระดับปานกลาง, MS (Moderately susceptibility) หมายถึง ข้าวค่อนข้างมีความอ่อนแอต่อ BPH และ S (Susceptibility) หมายถึง ข้าวไม่มีความต้านทาน BPH

4.3.3.2 การคัดเลือกลักษณะจีโนไทป์: การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก การคัดเลือกประชากรข้าวลูกผสมชั่วที่ F₁-F₄ โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกประกอบด้วยขั้นตอนการดำเนินงานดังนี้

1) การสกัดดีเอ็นเอ

นำตัวอย่างใบสดข้าวอายุประมาณ 3 สัปดาห์ จากประชากร F₁-F₃ ที่ได้มาสกัดดีเอ็นเอโดยใช้วิธี DNA Trap Kit (DNA technology laboratory) ตรวจสอบปริมาณโดยใช้วิธี agarose gel electrophoresis ใน agarose ที่มีความเข้มข้น 1% ในสารละลาย 0.5% TBE buffer ใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้าที่ 80 วัตต์ นาน ประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วย้อมเจลด้วย ethidium bromide ตรวจดูแถบดีเอ็นเอ ภายใต้แสงอัลตราไวโอเล็ต เพื่อประมาณความเข้มข้นและคุณภาพของดีเอ็นเออย่างคร่าวๆ เปรียบเทียบกับแถบดีเอ็นเอมาตรฐาน โดยมีวิธีดำเนินงาน ดังต่อไปนี้

1.1) นำตัวอย่างใบข้าวมาตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ ลงในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร บดด้วยไนโตรเจนเหลว จนเนื้อเยื่อใบข้าวแตกละเอียดเป็นผง

1.2) เติม extraction buffer ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร ในหลอดผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex และบ่ม (incubate) ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

1.3) นำหลอดตัวอย่างออกจากตู้บ่ม วางบนน้ำแข็งนาน 5 นาที แล้วเติม neutralizing buffer ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex จากนั้นวางบนน้ำแข็ง

อีกครั้งนาน 5 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

1.4) ใช้ micropipette ตีงส่วนใสด้านบนบน ใส่ลงในหลอดทดลองใหม่ขนาด 1.5 มิลลิลิตร แล้วเติม trapping buffer ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยการกลับหลอดไปมาเบาๆ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที หลังจากนั้นเทส่วนใสทิ้ง

1.5) เติม washing buffer I ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 1 นาทีแล้วเทส่วนใสทิ้ง

1.6) เติม washing buffer II ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ vortex และนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที แล้วเทส่วนใสทิ้ง

1.7) ตากตะกอนให้แห้งโดยบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 – 60 นาที หรือจนกว่าของเหลวจะระเหยออกจากตะกอนจนหมด

1.8) เติม elution buffer ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที

1.9) ตีงส่วนใสด้านบนที่เป็นสารละลายดีเอ็นเอลงในหลอดทดลองขนาด 0.2 ไมโครลิตร เพื่อนำไปตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอต่อไป

1.10) การตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอ

โดยใช้เทคนิค agarose gel electrophoresis มีรายละเอียด ดังนี้
ละลายผงอะกาโรส (agarose) ในสารละลาย 0.5X TBE buffer ให้มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ (1% agarose gel) ต่อ 0.5X TBE buffer ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้น เตรียมตัวอย่างสารละลายดีเอ็นเอผสมกับ loading dye ในอัตราส่วน 1:2 แล้วหยอดตัวอย่างลงในแต่ละช่อง (well) ปริมาณ 10 ไมโครลิตร จากนั้นปล่อยกระแสไฟฟ้าของเครื่อง electrophoresis ที่ใช้ความต่างศักย์ไฟฟ้า 80 วัตต์ นาน 60 นาที จากนั้นนำเจลไปย้อมด้วยสารละลาย ethidium bromide ความเข้มข้น 5 ไมโครกรัม/ไมโครลิตร และตรวจสอบแถบดีเอ็นเอด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ตจากเครื่อง UV transilluminator ประเมินปริมาณความเข้มข้น และคุณภาพของดีเอ็นเอ เปรียบเทียบกับแถบดีเอ็นเอมาตรฐานจากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีดีเอ็นเอ (DNA technology laboratory)

2) การตรวจสอบเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์พ่อแม่ (Parental polymorphism)

การคัดกรองเครื่องหมายดีเอ็นเอที่พัฒนามาจากยีน (gene specific markers) หรือมีตำแหน่งอยู่ใกล้ชิดกับยีนหรือ QTLs (QTLs linked markers) ที่ควบคุมลักษณะเป้าหมายบนโครโมโซม โดยยีนหรือ QTLs ที่ควบคุมลักษณะเป้าหมายที่ต้องการคัดเลือกมีจำนวน 3 ลักษณะ ได้แก่ ยีนควบคุมลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีตำแหน่งบนโครโมโซม 6 ใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ จำนวน 4 เครื่องหมาย ลักษณะข้าวเหนียว มีตำแหน่งบนโครโมโซม 6

ใช้เครื่องหมาย Wx-Glu-23 และ ลักษณะความหอมมีตำแหน่งบนโครโมโซม 8 ใช้เครื่องหมาย Aromarker ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3) โดยทำการตรวจสอบเครื่องหมายดีเอ็นเอที่พัฒนาจากตำแหน่ง ยีนหรืออยู่ใกล้ชิดกับยีนที่ควบคุมลักษณะเป้าหมายดังกล่าวนำเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ได้มาทดสอบใน สายพันธุ์พ่อแม่ โดยเทคนิคการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่จำลองตัวเอง (PCR) ว่าเครื่องหมายดีเอ็นเอที่คัดเลือกมานั้นสามารถแยกความแตกต่างระหว่างข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ ปรับปรุง RGD11259-1-9-25 (สายพันธุ์แม่) และ ข้าวสายพันธุ์ R4-4-2-134-18-57 (สายพันธุ์พ่อ) ที่มีลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพื่อนำไปใช้เป็นเครื่องมือในการคัดเลือกประชากรข้าว ลูกผสมที่มีลักษณะเป้าหมายในชั่วรุ่นต่อไป

2.1) เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ช่วยในการคัดเลือก

นำเครื่องหมายดีเอ็นเอที่พัฒนาจากยีน (gene specific markers) หรือ ใกล้ชิดกับยีน (QTLs/gene linked markers) ที่ควบคุมลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ลักษณะข้าวเหนียว และความหอม ที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์พ่อและแม่ได้ (ตารางที่ 4.3) มาช่วยในการคัดเลือกอัลลีลเป้าหมายของยีน/QTLs ที่ควบคุมลักษณะเป้าหมายของ สายพันธุ์พ่อแม่ในประชากรแต่ละรุ่น การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่จำลองตัวเอง (polymerase chain reaction, PCR) ของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่ใช้ในการคัดเลือกลักษณะ เป้าหมาย มีองค์ประกอบของฟิสิกส์ ดังนี้

2.1.1) ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*)

เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ในการคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ย กระโดดสีน้ำตาลประกอบด้วย RM586 RM588 RM589 และ SSR24 เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ PCR reaction ปริมาณ 10 µl ประกอบด้วย DNA template 20 ng, 1X PCR buffer, 2.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTPs, 0.2 µM primers F, 0.2 µM primers R, 0.5 U *Taq* DNA polymerase และ เติมน้ำ deionized water จนได้ปริมาตรสุดท้าย 10 ไมโครลิตร จากนั้นเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ PCR reaction มีรายละเอียด ดังนี้ Pre-denaturation 95 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที 1 รอบ ตาม ด้วยอุณหภูมิ denature 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที, อุณหภูมิ annealing 55 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และอุณหภูมิ extension 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที จำนวน 35 รอบ และ อุณหภูมิ long extension 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที แล้วนำ PCR products มาแยกขนาด ดีเอ็นเอใน 4.5 % polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) ย้อมสีด้วย silver nitrate

2.1.2) ลักษณะข้าวเหนียว (wx)

เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ในการคัดเลือกลักษณะข้าวเหนียว ได้แก่ Wx-Glu23เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ PCR reaction ปริมาตร 10 µl ประกอบด้วย DNA template 20 ng, 1X KAPA2G buffer B, 1X KAPA Enhancer 1, 0.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTPs, 1 µM primers F, 1 µM primers R, 0.4 U KAPA2G™ Robust HotStart DNA polymerase และ เติมน้ำ deionized water จนได้ปริมาตรสุดท้าย 10 µl เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ PCR reaction ดังนี้ อุณหภูมิ Pre-denaturation 95 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที 1 รอบ ตามด้วย อุณหภูมิ denature 95 องศาเซลเซียส นาน 10 วินาที อุณหภูมิ annealing 61 องศาเซลเซียส นาน 10 วินาที และอุณหภูมิ extension 72 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที จำนวน 40 รอบ และ

long extension ที่ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที นำ PCR products มาแยกขนาดดีเอ็นเอใน 4.5 % polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) ย้อมสีด้วย silver nitrate

2.1.3) ลักษณะความหอม (*badh2*)

เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้คัดเลือกลักษณะความหอม ได้แก่ Aromarker เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ PCR reaction ปริมาณ 10 μ l ประกอบด้วย DNA template 20 ng, 1X PCR buffer, 1.5 mM $MgCl_2$, 0.2 mM dNTPs, 0.2 μ M primers F, 0.2 μ M primers R, 0.5 U *Taq* DNA polymerase และ เติม deionized water จนได้ปริมาตรสุดท้าย 10 ไมโครลิตร จากนั้นเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ PCR reaction มีรายละเอียด ดังนี้ Pre-denaturation 95 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที 1 รอบ ตามด้วยอุณหภูมิ denature 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที, อุณหภูมิ annealing 55 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และอุณหภูมิ extension 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที จำนวน 35 รอบ และ อุณหภูมิ long extension 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที แล้วนำ PCR products มาแยกขนาดดีเอ็นเอใน 4.5 % polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) ย้อมสีด้วย silver nitrate

ตารางที่ 4.3 เครื่องหมายดีเอ็นเอ ตำแหน่งบนโครโมโซม สายพันธุ์ให้อัตถิลเป้าหมาย และลำดับเบสของเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ในการคัดเลือกลักษณะ ความหอม ลักษณะข้าวเหนียว และลักษณะด้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในประชากร F₁ - F₃

ลักษณะ	เครื่องหมายดีเอ็นเอ	โครโมโซม	สายพันธุ์ให้	ลำดับเบส (5'>3')	แหล่งที่มา
ความหอม (<i>badh2</i>)	Aromarker	8	RGD11259-1-9-25 (RGD)	F: TGCTCCTTTGTATCACACC R: TTTCCACCAAGTTCCAGTGA	Rice gene discovery unit
ข้าวเหนียว (<i>wx</i>)	Wx-Glu-23	6	RGD11259-1-9-25 (RGD)	F: TGCAGAGATCTTCCACAGCA R: GCTGGTCGTCACGCTGAG	Wanchana et al., 2003a
ด้านทานเพลี้ย กระโดดสีน้ำตาล (<i>Bph3</i>)	RM586	6	R4-4-2-134-18-57 (R4)	F: ACCTCGGTTATTAGGTACCC R: GAGATACGCCAACGAGATACC	www.gramene.org
	RM588	6	R4-4-2-134-18-57 (R4)	F: GTTGCTCTGCCTCACTCTTG R: AACGAGCCAACGAAGCAG	www.gramene.org
	RM589	6	R4-4-2-134-18-57 (R4)	F: ATCATGGTCGGTGGCTTAAC R: CAGGTTCCAACGACACTG	Jairin et al., 2009
	SSR24	6	R4-4-2-134-18-57 (R4)	F: ATCGATCTCGATCGTGCTAT R: TCAGGCCTGTTTGAAGAGT	Rice gene discovery unit

4.3.4 การแยก linkage drag ระหว่างยีน *Waxy* และยีน *Bph3* ในประชากรชั่วรุ่นที่ F_2

การแยก linkage drag ระหว่างยีน *Waxy* และยีน *Bph3* ในประชากร F_2 เพื่อให้ได้ข้าวเหนียวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เป็นการแยก linkage drag ระหว่างอัลลีล Wx^o และ *Bph3* ที่อยู่ใกล้ชิดกันบนโครโมโซม 6 ดำเนินงานโดยใช้การคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกตรงตำแหน่งยีน *wx* และ *Bph3* มีรายละเอียดของการดำเนินงาน ดังนี้

3.3.4.1 การคัดเลือกประชากรชั่วรุ่นที่ 2 (F_2) โดยใช้ลักษณะฟีโนไทป์

การประเมินความสามารถในการต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะต้นกล้าที่อายุข้าว 7 วัน ของประชากรข้าว F_2 จำนวนประมาณ 1,000-2,000 ต้น เมล็ดข้าวที่ใช้ในการประเมินมาจากต้น F_1 จำนวน 1 ต้น จากคู่ผสมระหว่าง RGD11259-1-9-25 และ R4-4-2-134-18-57 โดยต้นข้าวประชากร F_1 ดังกล่าวมีอัลลีลของยีนเป้าหมายทั้ง 3 ลักษณะ (*Bph3*, *wx* และ *badh2*) เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส ใช้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี โดยการประเมินในครั้งนี้ จะเป็นการประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแบบรายต้น (BPH evaluation for single plant) ซึ่งจะเก็บข้อมูลความเสียหายจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F_2 ทุกต้น (ตารางที่ 4.2) วางแผนการทดลองแบบ Augmented design จำนวน 12 ซ้ำ ซึ่งเป็นการวางแผนการทดลองในกรณีที่มีต้นหรือพันธุ์กรรมหรือสายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบเป็นแบบรายต้นทำให้ไม่สามารถกำหนดจำนวนซ้ำในพันธุ์กรรมแต่ละต้นนั้นๆ ได้ แต่จะทำการตรวจสอบจากข้าวสายพันธุ์ที่เป็นตัวเปรียบเทียบกับสายพันธุ์อื่นๆ แทน โดยมีข้าวสายพันธุ์ตรวจสอบจำนวน 5 สายพันธุ์ ประกอบด้วย RGD11259-1-9-25 (สายพันธุ์แม่), R4-4-2-134-18-57 (สายพันธุ์พ่อ), IR57514, Rathu Heenati (พันธุ์ตรวจสอบต้านทาน) และ TN1 (พันธุ์ตรวจสอบอ่อนแอ)

3.3.4.2 การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกประชากรชั่วรุ่นที่ 2 (F_2)

การคัดเลือกจีโนไทป์โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกลักษณะเป้าหมาย ได้แก่ ลักษณะข้าวเหนียว (*wx*) และลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) ของต้นข้าวประชากร F_2 ที่รอดชีวิตจากการประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่อยู่ใกล้ชิดกับยีนที่ควบคุมลักษณะทั้งสอง ได้แก่ ยีน *Waxy* คัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ *Wx-Glu23* และยีน *Bph3* คัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ RM589 RM586 SSR24 และ RM588 (ตารางที่ 4.3) เพื่อทำการแยก linkage drag ระหว่างอัลลีล Wx^o และ *Bph3* บนโครโมโซม 6 ทั้งนี้เพื่อให้ได้ต้นข้าวสายพันธุ์ปรับปรุง F_2 ที่มีอัลลีลของยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็นแบบโฮโมไซกัส (*Bph3*^{RGD/R4}) และลักษณะข้าวเหนียวที่มีอัลลีลของยีนควบคุมเป็นแบบโฮโมไซกัส หรือ เฮเทอโรไซกัส (*wx*^{RGD/RGD}) หรือ (*wx*^{RGD/R4}) ตามลำดับ

4.3.5 การประเมินเพื่อยืนยันความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประชากรข้าวชั่วรุ่นที่ F_3

การคัดเลือกต้นข้าวประชากร F_3 ที่ได้จากการผสมตัวเองของประชากร F_2 ที่มีชีวิตรอดหรือมีความสามารถต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และได้มีการจีโนไทป์โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีตำแหน่งอยู่ใกล้ชิดกับยีนควบคุมลักษณะข้าวเหนียวและลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ทำการคัดเลือกโดยใช้ลักษณะฟีโนไทป์ (ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล) จากนั้นใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก โดยมีรายละเอียดของการดำเนินงานดังนี้

3.3.5.1 การคัดเลือกประชากรชั่วรุ่นที่ 3 (F_3) โดยใช้ลักษณะฟีโนไทป์

ประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยใช้ข้าวอายุ 7 ของข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงประชากร F_3 ที่มีอัลลีลของยีน *Bph3* เป็นแบบโฮโมไซกัส และมีอัลลีลของยีน *wx* เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส ($Bph3^{R4/R4}$, $wx^{RGD/R4}$) โดยใช้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี การประเมินเพื่อยืนยันความต้านทานในประชากรข้าวรุ่นนี้ ได้เพิ่มสายพันธุ์เปรียบเทียบที่พัฒนาจากฐานพันธุกรรมเดียวกัน ประกอบด้วย สายพันธุ์ปรับปรุงที่มีอัลลีลของยีน *Bph3* เป็นแบบโฮโมไซกัส และอัลลีลของยีน *wx* เป็นแบบโฮโมไซกัสของลักษณะข้าวเจ้า ($Bph3^{R4/R4}$, $wx^{R4/R4}$) และ สายพันธุ์ปรับปรุงที่ไม่มียีน *Bph3* ($Bph3^{RGD/RGD}$) ส่วนสายพันธุ์เปรียบเทียบอีก 5 สายพันธุ์ ประกอบด้วย RGD11259-1-9-25 (สายพันธุ์แม่), R4-4-2-134-18-57 (สายพันธุ์พ่อ), IR57514, Rathu Heenati (พันธุ์ตรวจสอบต้านทาน) และ TN1 (พันธุ์ตรวจสอบอ่อนแอ)

3.3.5.2 การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกประชากรชั่วรุ่นที่ 3 (F_3)

คัดเลือกต้นข้าวประชากร F_3 ที่ผ่านเกณฑ์การคัดเลือกและรอดชีวิต โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีตำแหน่งใกล้เคียงกับยีนควบคุมลักษณะข้าวเหนียว (*wx*) และลักษณะความหอม (*badh2*) ได้แก่ ลักษณะข้าวเหนียวโดยเครื่องหมาย *Wx-Glu-23* และลักษณะความหอมโดยเครื่องหมาย Aromarker เพื่อค้นหาข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงที่มีอัลลีลของยีนลักษณะข้าวเหนียวเป็นแบบโฮโมไซกัส ($wx^{RGD/RGD}$) และอัลลีลของยีนความหอมเป็นแบบโฮโมไซกัสและเฮเทอโรไซกัส ($badh2^{RGD/RGD}$, $badh2^{RGD/R4}$) ตามลำดับ

4.3.6 การประเมินประสิทธิภาพของการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกในประชากรข้าวชั่วรุ่นที่ F_4

การประเมินฟีโนไทป์ในประชากร F_4 เพื่อยืนยันประสิทธิภาพของการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก 3 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) ลักษณะข้าวเหนียว (*wx*) และลักษณะความหอม (*badh2*) โดยมีรายละเอียดดังนี้

4.3.6.1 ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (BPH resistance character)

การประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประชากรข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงชั่วรุ่นที่ F_4 ได้จากการคัดเลือกในประชากร F_3 ที่ผ่านการคัดเลือกทั้งลักษณะฟีโนไทป์และลักษณะจีโนไทป์มาแล้ว จากนั้นนำข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงรุ่นนี้มาประเมินเพื่อยืนยันความสามารถในการต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ณ ระยะต้นกล้าที่อายุข้าว 7 วัน และ ระยะแตกกอที่อายุข้าว 25 วัน โดยใช้ประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 4 ประชากร ประกอบด้วย อุบลราชธานี พิษณุโลก น่าน และ กำแพงเพชร วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ

4.3.6.2 ลักษณะข้าวเหนียวและขนาดของเมล็ด (glutinous rice character and grain size)

ประเมินประสิทธิภาพการใช้เครื่องหมาย *Wx-Glu23* ในการคัดเลือกลักษณะข้าวเหนียวในสายพันธุ์ปรับปรุงประชากร F_4 ที่ผ่านการคัดเลือกว่ามีอัลลีลของยีนควบคุมลักษณะข้าวเหนียวเป็นแบบโฮโมไซกัส ($wx^{RGD/RGD}$) จากประชากร F_3 มีวิธีการดำเนินงาน ดังนี้ เริ่มต้นจากการเก็บเกี่ยวข้าวประชากร F_4 ที่มีระยะสุกแก่เต็มที่ (maturity) นำเมล็ดที่ได้มาตากให้แห้ง เก็บไว้ที่

อุณหภูมิห้องประมาณ 1 เดือน ก่อนนำมาทดสอบ หรือ นำเมล็ดข้าวมาอบให้แห้งในตูบที่ควบคุมอุณหภูมิ ใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน ก่อนนำมาทดสอบ การทดสอบพิจารณาจากลักษณะทางกายภาพของเมล็ดข้าวกล้อง ในการประเมินจะทำการสุ่มเมล็ดข้าวจำนวน 40 เมล็ดต่อสายพันธุ์ จากนั้นทำการแกะเปลือกเพื่อให้ได้เมล็ดข้าวกล้อง แล้วทำการบันทึกข้อมูลการกระจายตัวของลักษณะเมล็ดข้าวเจ้าและข้าวเหนียว ตามลำดับ จากนั้นทำการถ่ายภาพเพื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 (ลักษณะข้าวเหนียว) และสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 (ลักษณะข้าวเจ้า) การวัดขนาดเมล็ดข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงเปรียบเทียบกับข้าวสายพันธุ์พ่อแม่ โดยทำการวัดลักษณะความยาวและความกว้างของเมล็ดข้าวเปลือก และลักษณะความยาวและความกว้างของเมล็ดข้าวกล้อง โดยใช้โปรแกรม Smart Grain Software (Tanabata et al., 2012) ค่าที่วัดได้มีหน่วยเป็นมิลลิเมตร (mm) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำจะใช้จำนวนเมล็ดทั้งที่เป็นข้าวเปลือกและข้าวกล้องจำนวน 10 เมล็ด/ซ้ำ

4.3.6.3 ลักษณะความหอม (fragrance character)

เริ่มจากนำเมล็ดข้าวกล้องของประชากร F_4 ที่ผ่านการคัดเลือกจำนวน 5 เมล็ด มาผ่าครึ่งเมล็ด แล้วใส่ลงในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมน้ำกลั่นบริสุทธิ์ จำนวน 200 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที หลังจากนั้นให้ผู้ทดสอบดมกลิ่น และให้คะแนนความหอมที่ 0 ถึง 2 คะแนน โดยคะแนน 0 หมายถึง ข้าวไม่มีกลิ่นหอม 1 หมายถึง ข้าวมีกลิ่นหอมปานกลาง และ 2 หมายถึง ข้าวมีกลิ่นหอมมาก (Wanchana et al., 2005) โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 6 ซ้ำ

4.3.7 การจัดทำ Graphical genotypes บริเวณตำแหน่งของยีน *Bph3* และ *wx* บนโครโมโซม 6 (Graphical genotyping of the *Bph3* and *wx* locus on chromosome 6)

ทำการศึกษโดยใช้ข้าวประชากร F_3 ที่มีอัลลีลของยีนควบคุมลักษณะด้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็นแบบโฮโมไซกัส ($Bph3^{R4/R4}$) และอัลลีลของยีนควบคุมลักษณะข้าวเหนียวเป็นแบบโฮโมไซกัส หรือ เฮเทอโรไซกัส ($wx^{RGD/RGD}$, $wx^{RGD/R4}$) มีรายละเอียดการดำเนินงานดังนี้

4.3.7.1 การคัดเลือกประชากรชั่วรุ่นที่ 3 (F_3) โดยใช้ลักษณะฟีโนไทป์

การประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ณ ระยะแตกกอที่อายุข้าว 25 วัน ในประชากร F_3 ที่มีอัลลีลของยีน *Bph3* เป็นแบบโฮโมไซกัส ($Bph3^{R4/R4}$) และอัลลีลของยีน *wx* เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส ($wx^{RGD/R4}$) จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13117-36, RGD13117-115 และ RGD13117-330 โดยใช้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี วางแผนการทดลองแบบ Augmented design จำนวน 11 ซ้ำ ปลูกรุ่นทดสอบทั้งสามสายพันธุ์ โดยใช้ต้นข้าวทั้งหมดจำนวน 60 ต้น/สายพันธุ์ (60 plants/lines) และพันธุ์ตรวจสอบจำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD11259-1-9-25 (สายพันธุ์แม่), R4-4-2-134-18-57 (สายพันธุ์พ่อ), Rathu Heenati (พันธุ์ตรวจสอบด้านทาน) และ TN1 (พันธุ์ตรวจสอบอ่อนแอ) ใช้ต้นข้าวทดสอบจำนวน 32 ต้น/สายพันธุ์ และอีกสองสายพันธุ์ที่ใช้เป็นพันธุ์ตรวจสอบ ได้แก่ IR57514 และ CNT1 ใช้ต้นข้าวทดสอบจำนวน 21 ต้น/สายพันธุ์ ตามลำดับ (ภาพที่ 4.2)

4.3.7.2 การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกประชากรข้าวรุ่นที่ 3 (F_3)

จากการประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประชากร F_3 โดยใช้ข้าวอายุ 25 วัน จากนั้นนำต้นข้าวที่มีชีวิตรอดจากการถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายมาทำการคัดเลือกลักษณะข้าวเหนียว โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก ได้แก่ เครื่องหมาย $Wx-Glu23$ เพื่อค้นหาข้าวเหนียวที่มีอัลลีลของยีนควบคุมลักษณะข้าวเหนียวเป็นแบบโฮโมไซกัส และ เฮเทอโรไซกัส ($wx^{RGD/RGD}$, $wx^{RGD/RA}$) ตามลำดับ (ภาพที่ 4.2)

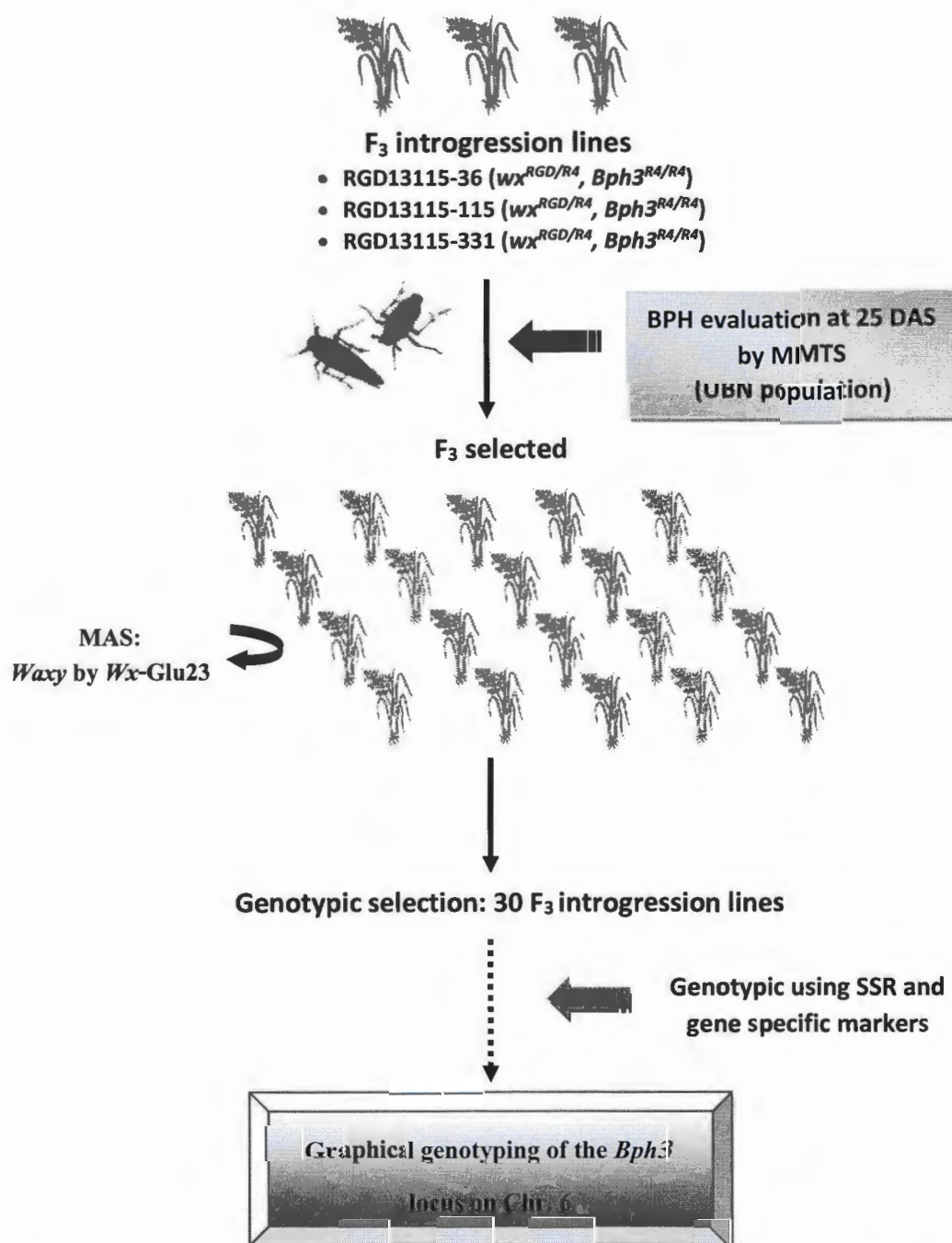
4.3.7.3 การจัดทำ Graphical genotypes บริเวณตำแหน่งของยีน $Bph3$ และ wx

เพื่อศึกษาการเกิดรีคอมบินันชันระหว่างยีน $Bph3$ และ wx ให้มีความละเอียดมากยิ่งขึ้น บริเวณตำแหน่งของยีน $Bph3$ ระหว่างเครื่องหมาย RM589-RM588 และตำแหน่งของยีน wx ที่ควบคุมลักษณะข้าวเจ้าและข้าวเหนียว ($Wx-Glu23$) โดยทำการเพิ่มเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด SSR จำนวน 10 เครื่องหมาย และเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความเฉพาะเจาะจง (gene-specific marker) จำนวน 1 เครื่องหมาย (ตารางที่ 4.4) ที่ครอบคลุมบริเวณยีน $Bph3$ และ wx โดยเครื่องหมายดีเอ็นเอเหล่านี้ได้มาจากฐานข้อมูลสาธารณะ Gramene (www.gramene.org) และหน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว รวมทั้งหมดจำนวน 11 เครื่องหมาย จากนั้นนำมาทดสอบความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์พ่อแม่ โดยเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์พ่อแม่ได้จะนำไปใช้จีโนไทป์ประชากร F_3 ที่ผ่านการคัดเลือกด้วยฟีนไทป์ (ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล) และลักษณะจีโนไทป์ (ลักษณะข้าวเหนียว) (หัวข้อที่ 4.3.7.1 และ 4.3.7.2) คัดเลือกประชากร F_3 ที่มีอัลลีลของยีน wx เป็นแบบโฮโมไซกัสและเฮเทอโรไซกัส ($wx^{RGD/RGD}$, $wx^{RGD/RA}$) ตามลำดับ แล้วแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มๆ ละ 10 สายพันธุ์ ตามระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประกอบด้วย R (Resistance) = กลุ่มข้าวมีความต้านทานต่อ BPH ได้ดี, MR (Moderately resistance) = กลุ่มข้าวมีความต้านทานต่อ BPH ปานกลาง และ S (Susceptibility) = กลุ่มข้าวที่อ่อนแอต่อ BPH

ตารางที่ 4.4 เครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด simple sequence repeat (SSR) และ gene-specific markers สำหรับใช้ในการทำ graphical genotypes

เครื่องหมายดีเอ็นเอ	ชนิด ^{1/}	ลำดับเบส (5'>3)'		แหล่งที่มา
		Forward Primer	Reverse Primer	
RM19291	SSR	CACCTGCACGTGCTCTGTACG	GTGTTTCAGTTCACCTTGCATCG	GRAMENE
RM19296	SSR	CTAGCTTGACGCCAAGGACACC	GCACAGACGCACACTGATCTCC	GRAMENE
RM8072	SSR	GATCACTCAGGTCATCATCCATTC	AATCAGAGAGGCTAAAGACAATAAT	GRAMENE
RM8074	SSR	GCTGCTCTAGCAATTTGGTTGG	TTCATCATCCACAGTCCAAGTCC	GRAMENE
SSR23	SSR	TGGAAAGTGAGTGGTAGGTTAGTA	CCTGGCAGATTTGAGATTCTA	RGDU
SSR25	SSR	CCCCTAGTAAAGCGGATTCA	TGACTAGTGCGACCGTCTTC	RGDU
RM19328	SSR	CTGCTGCTGCTGGTTTCTGTCC	CAGCTTGCCATTGCACTTCG	GRAMENE
Waxy	GSM	GTAATGTGTGCGGAGG	GGAAAAACGAGCAATGAAA	RGDU
RM587	SSR	TTCCCATCTGCACTACCATAATCC	GAGCAGAGATGTGCTTTGCTACC	GRAMENE
RM204	SSR	CTAGCTAGCCATGCTCTCGTACC	CTGTGACTGACTTGGTCATAGGG	GRAMENE
RM225	SSR	TATGTGGTTGGCTTGCCTAGTGG	TGCCCATATGGTCTGGATGTGC	GRAMENE

หมายเหตุ: ^{1/} SSR หมายถึง simple sequence repeat markers และ GSM หมายถึง gene-specific marker



ภาพที่ 4.2 แผนการดำเนินงานการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวเหนียวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ประชากร F₃ และ การทำ Graphical genotypes โดยใช้ข้าวอายุ 25 วัน

4.4 ผลการทดลอง

การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวเหนียวหอมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยใช้แหล่งพันธุกรรมต้านทานเพลี้ยชนิดนี้จากพันธุ์ข้าวพื้นเมืองจากประเทศศรีลังกา คือ Rathu Heenati มียีนต้านทาน *Bph3* อยู่บนโครโมโซม 6 มีรายละเอียดของผลการดำเนินงานดังนี้

4.4.1 การตรวจสอบเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์พ่อแม่

จากการตรวจสอบเครื่องหมายดีเอ็นเอที่เชื่อมโยงหรือใกล้ชิดกับลักษณะเป้าหมายจำนวน 3 ลักษณะ แสดงผลการตรวจสอบความสามารถในการแยกความแตกต่างระหว่างข้าวสายพันธุ์พ่อแม่ (RGD11259-1-9-25 และ R4-4-2-134-18-57) ของเครื่องหมายดีเอ็นเอที่เชื่อมโยงกับลักษณะเป้าหมายทั้ง 3 ลักษณะ ดังนี้

4.4.1.1 ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

จากการตรวจสอบพบว่า เครื่องหมาย SSR จำนวน 4 เครื่องหมาย ที่มีตำแหน่งอยู่ใกล้ชิดกับยีนที่ควบคุมลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) บนโครโมโซม 6 สามารถแยกความแตกต่างระหว่างข้าวสายพันธุ์พ่อแม่ได้ทุกเครื่องหมาย โดยเครื่องหมาย RM586 แสดงขนาดของดีเอ็นเอหรืออัลลีลของสายพันธุ์แม่ที่อ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ~ 300 bp และสายพันธุ์พ่อที่ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ~ 290 bp ต่อมาเมื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเครื่องหมาย RM588 สายพันธุ์แม่ซึ่งมีความอ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จะมีขนาดของอัลลีล ~ 165 bp ส่วนสายพันธุ์พ่อที่มีความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จะมีขนาดของอัลลีล ~ 160 bp ในขณะที่เครื่องหมาย RM589 แสดงขนาดอัลลีลของสายพันธุ์แม่ (อ่อนแอต่อ BPH) ~ 190 bp และสายพันธุ์พ่อ (ต้านทานต่อ BPH) ~ 207 bp และเครื่องหมายสุดท้าย SSR24 จากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ พบว่า สายพันธุ์แม่ที่มีความอ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จะมีขนาดของอัลลีล ~ 194 bp และสายพันธุ์พ่อที่ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จะมีขนาดของอัลลีล ~ 202 bp (ตารางที่ 4.5)

4.4.1.2 ลักษณะข้าวเหนียว

เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ในการคัดเลือกลักษณะข้าวเหนียวและข้าวเจ้า เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด gene-specific marker ที่ใกล้ชิดกับยีนที่ควบคุมลักษณะข้าวเหนียว (*wx*) บนโครโมโซม 6 ได้แก่ Wx-Glu-23 แสดงขนาดอัลลีลของสายพันธุ์แม่ที่มีลักษณะเมล็ดเป็นข้าวเหนียว ~ 196 bp และสายพันธุ์พ่อที่มีลักษณะเมล็ดเป็นข้าวเจ้า ~ 173 bp (ตารางที่ 4.5)

4.4.1.3 ลักษณะความหอม

เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ในการคัดเลือกลักษณะความหอม (*badh2*) บนโครโมโซม 8 เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอชนิด gene-specific marker ที่พัฒนาตรงตำแหน่งยีนที่ควบคุมลักษณะความหอมของข้าว ได้แก่ Aromarker ให้ความแตกต่างระหว่างข้าวทั้งสองสายพันธุ์โดยสายพันธุ์แม่นั้นเมล็ดมีกลิ่นหอม มีขนาดของอัลลีลที่ได้มาจากการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเครื่องหมาย Aromarker จะได้ขนาด ~ 392 bp ส่วนสายพันธุ์พ่อก็ดังกล่าวไม่มีกลิ่นหอม เมื่อตรวจสอบด้วยเครื่องหมาย Aromarker พบว่า จะได้ขนาดของอัลลีล ~ 400 bp (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.5 เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ในการคัดเลือกลักษณะเป้าหมาย ตำแหน่งของยีน ประเภทของเครื่องหมายดีเอ็นเอ สายพันธุ์ให้อليلเป้าหมาย และ ขนาดของอัลลิลเป้าหมายที่ใช้ในการคัดเลือก

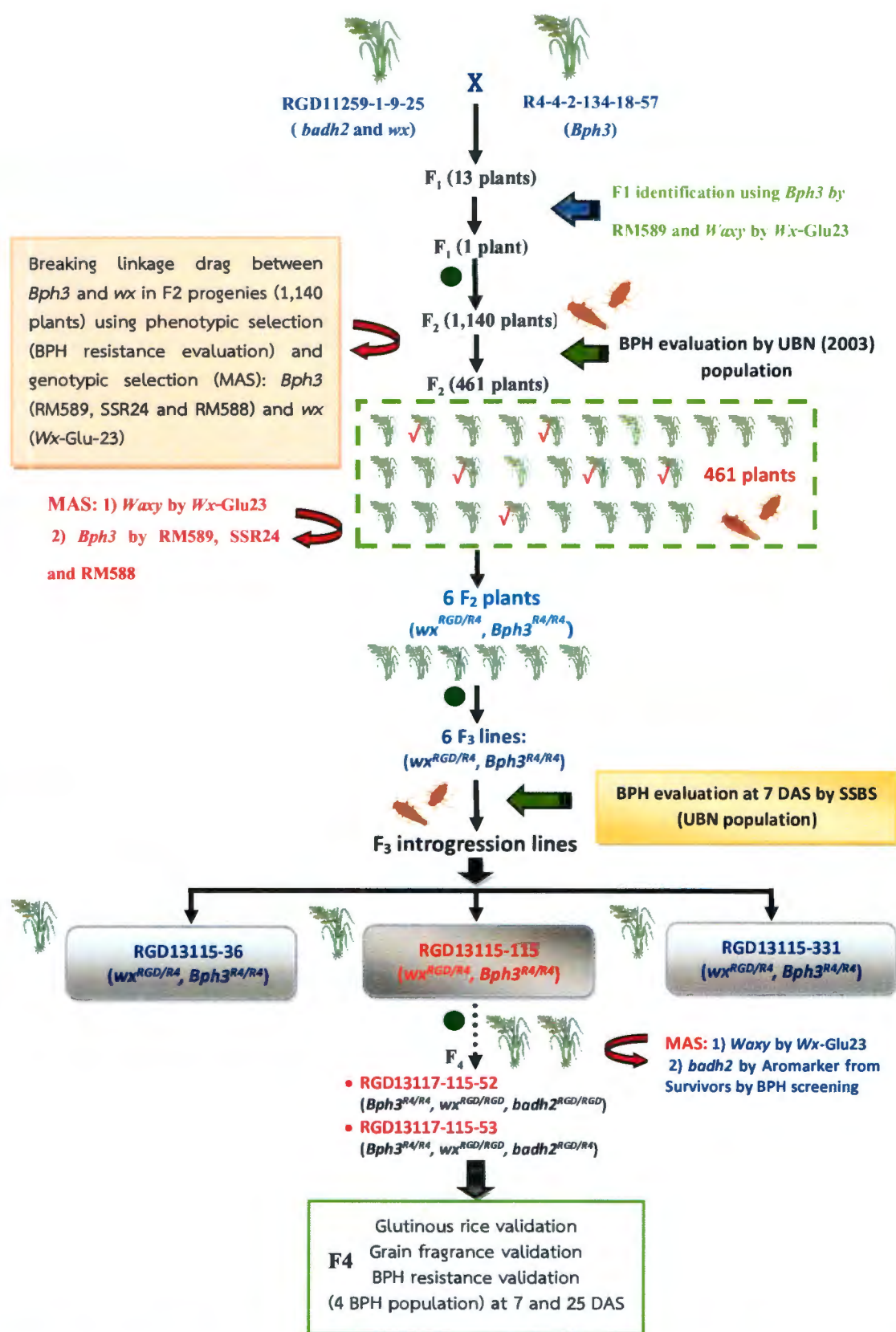
Traits (genes)	Markers	Chr.	Type of markers	Parental polymorphism ^{1/} screening	Marker alleles		Reference
					Favorable allele (bp)	Unfavorable allele (bp)	
BPH resistance (<i>Bph3</i>)	RM586	6	Marker linked to QTLs (SSR)	/	~ 290	~ 300	www.gramene.org
	RM588	6	Marker linked to QTLs (SSR)	/	~ 160	~ 165	www.gramene.org
	RM589	6	Marker linked to QTLs (SSR)	/	~ 194	~ 190	Jairin et al., 2009
	SSR24	6	Marker linked to QTLs (SSR)	/	~202	~ 207	Rice gene discovery unit
Glutinous rice (wx)	Wx-Glu-23	6	Gene specific	/	~ 196	~ 173	Wanchana et al., 2003a
Aroma (<i>badh2</i>)	Aromarker	8	Gene specific	/	~ 392	~ 400	Rice gene discovery unit

หมายเหตุ: ^{1/} / แสดงความแตกต่างระหว่าง RGD11259-1-9-25 (สายพันธุ์แม่) และ R4-4-2-134-57 (สายพันธุ์พ่อ)

4.4.2 การพัฒนาประชากรข้าวลูกผสมชั่วที่ $F_1 - F_4$

การพัฒนาประชากรข้าวลูกผสม F_1 เริ่มจากการผสมพันธุ์ข้าวระหว่างข้าวเหนียวหอม สายพันธุ์ปรับปรุง RGD11259-134-18-57 และข้าวเจ้าสายพันธุ์ปรับปรุง R4-4-2-134-18-57 สร้างประชากรข้าวลูกผสม F_1 ได้ จำนวน 47 ต้น เมื่อได้ประชากร F_1 แล้วทำการคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่เชื่อมโยงกับลักษณะเป้าหมายจำนวน 3 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) ลักษณะข้าวเหนียว (*wx*) และลักษณะความหอม (*badh2*) ได้ประชากร F_1 ที่มีอัลลีลของยีนเป้าหมายทั้ง 3 ลักษณะ เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส จำนวน 13 ต้น (ภาพที่ 4.3) จากนั้นปล่อยให้ประชากร F_1 ผสมตัวเองเพื่อสร้างประชากรชั่วรุ่นที่ 2 (F_2) ที่มีจำนวนเมล็ดต่อกอมากพอเพื่อไปคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (ภาพที่ 4.3 และ รายละเอียดแสดงในหัวข้อ 4.4.3.1) หลังจากทำการคัดเลือกประชากร F_2 โดยใช้ลักษณะฟีโนไทป์แล้ว จากนั้นทำการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกลักษณะเป้าหมายจำนวน 2 ลักษณะ คือ ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยใช้เครื่องหมาย RM589, SSR24 และ RM588 และลักษณะข้าวเหนียวโดยใช้เครื่องหมาย *Wx-Glu23* (รายละเอียดแสดงในหัวข้อ 4.4.3.2)

สำหรับการพัฒนาประชากรลูกผสม F_3 ได้จากการผสมตัวเองของประชากร F_2 ที่ผ่านการคัดเลือกทั้งการคัดเลือกโดยใช้ฟีโนไทป์และการคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ ได้ประชากร F_3 ที่มีอัลลีลของยีนเป้าหมายจำนวน 6 สายพันธุ์ แล้วทำการคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ทำให้ได้สายพันธุ์ปรับปรุงจำนวน 3 สายพันธุ์ ที่ผ่านเกณฑ์การคัดเลือก และมีต้นข้าวที่รอดชีวิตจำนวน 2 ต้น และมีอัลลีลของยีนเป้าหมายทั้งสามลักษณะ (ภาพที่ 4.3 และรายละเอียดแสดงในหัวข้อ 4.4.4) ปล่อยให้ผสมตัวเองเพื่อสร้างประชากรชั่วรุ่นที่ 4 (F_4) เพื่อทำการประเมินประสิทธิภาพของการคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในลักษณะเป้าหมายจำนวน 3 ลักษณะ ได้แก่ การประเมินลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล การประเมินลักษณะข้าวเหนียว และการประเมินลักษณะความหอม (ภาพที่ 4.3 และ รายละเอียดแสดงในหัวข้อ 4.4.5)



ภาพที่ 4.3 ผลการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวเหนียวหอมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก

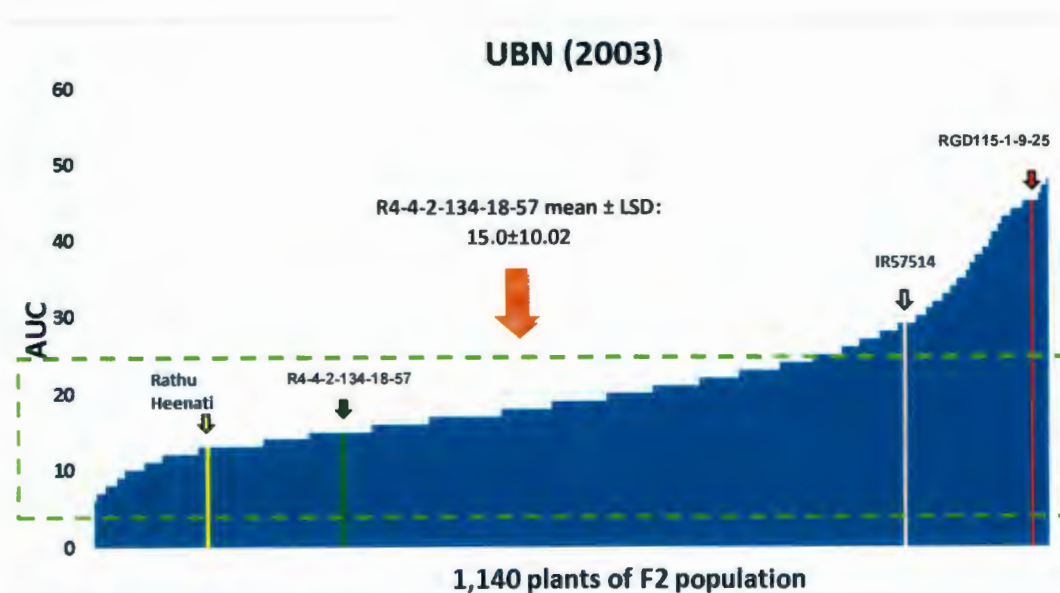
4.4.3 การแยก linkage drag ระหว่างยีน *Waxy* และยีน *Bph3* ในประชากรชั่วรุ่นที่ F_2

จากการแยก linkage drag ระหว่างอัลลีล Wx^a และ *Bph3* เพื่อให้ได้ข้าวเหนียวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประชากร F_2 จำนวน 1,140 ต้น ซึ่งถือเป็นประชากรที่มีการกระจายตัวทางพันธุกรรมสูง และใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและลักษณะข้าวเหนียว มีรายละเอียดของผลการดำเนินงาน ดังนี้

4.4.3.1 การคัดเลือกประชากรชั่วรุ่นที่ 2 (F_2) โดยใช้ลักษณะฟีโนไทป์

จากการคัดเลือกประชากร F_2 โดยใช้ลักษณะฟีโนไทป์ (ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล) จำนวน 1,140 ต้น ทำการเก็บข้อมูลระดับความเสียหายตั้งแต่วันที่ 8 ถึง วันที่ 13 หลังปล่อยแมลง (8 DAI to 13 DAI; day after infestation) จากนั้นทำการวิเคราะห์ความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F_2 และ สายพันธุ์ตรวจสอบทั้ง 5 สายพันธุ์ โดยจะแสดงข้อมูลเป็นพื้นที่ใต้กราฟ (Area under curve; AUC) โดยข้าวสายพันธุ์ใดๆ มีค่า AUC ที่ต่ำ แสดงว่าข้าวสายพันธุ์นั้นๆ ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และ ข้าวสายพันธุ์ใดๆ มีค่า AUC ที่สูง แสดงว่าข้าวสายพันธุ์นั้นๆ อ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ผลการประเมินระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประชากร F_2 ทั้ง 1,140 ต้น พบว่า ระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F_2 มีการกระจายตัวตั้งแต่ระดับต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ไปจนถึง ระดับอ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (ภาพที่ 4.4) โดยระดับความเสียหายของประชากร F_2 เมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี เข้าทำลาย แสดงพื้นที่ใต้กราฟตั้งแต่ 6-48 ตารางมิลลิเมตร (mm^2) โดยสายพันธุ์แม่ (RGD11259-1-9-25) มีค่า AUC = 45 ตารางมิลลิเมตร และสายพันธุ์พ่อ (R4-4-2-134-18-57) มีค่า AUC = 15 ตารางมิลลิเมตร ส่วนสายพันธุ์ตรวจสอบทั้งที่เป็นสายพันธุ์ต้านทาน (Rathu Heenati) มีค่า AUC = 13 ตารางมิลลิเมตร สายพันธุ์อ่อนแอ (TN1) มีค่า AUC = 44 ตารางมิลลิเมตร และสายพันธุ์ IR57514 มีค่า AUC = 29 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.4)

จากภาพที่ 4.4 แสดงการกระจายตัวระดับความเสียหายอันเกิดจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากรข้าว F_2 ซึ่งมีตั้งแต่ระดับต้านทานไปจนถึงระดับอ่อนแอสำหรับเกณฑ์การคัดเลือกหรือความเสียหายอันเกิดจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลซึ่งจะแสดงผลเป็นพื้นที่ใต้กราฟ ในการคัดเลือกครั้งนี้จะทำการคัดเลือกต้นข้าวที่รอดชีวิตในประชากร F_2 จากต้นข้าวทั้งหมด จำนวน 1,140 ต้น โดยเปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 ซึ่งมีค่า AUC = 15.0 ± 10.02 (4.98 ถึง 25.02 ตารางมิลลิเมตร) ดังนั้น ต้นข้าวประชากร F_2 ต้นใดที่มีระดับความเสียหายของพื้นที่ใต้กราฟตั้งแต่ 4.98 ถึง 25.02 ตารางมิลลิเมตร แสดงว่าต้นข้าวต้นนั้นๆ มีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี โดยเมื่อเปรียบเทียบกับทางสถิติ (5% LSD) กับสายพันธุ์พ่อถือว่ามีความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อได้ต้นข้าวที่ผ่านการคัดเลือกแล้ว (ภาพที่ 4.5) จากนั้นทำการย้ายต้นข้าวที่รอดชีวิตทั้งหมดลงปลูกในแปลงนาไว้สำหรับทำการตรวจสอบในระดับดีเอ็นเอ เพื่อค้นหาต้นข้าวที่เป็นข้าวเหนียว (wx) ที่มียีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกในขั้นตอนต่อไป



ภาพที่ 4.4 ระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประชากร F₂ เมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี เข้าทำลาย



ภาพที่ 4.5 ความเสียหายของต้นข้าวประชากร F₂ จำนวน 1,140 ต้น โดยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี เข้าทำลาย

4.4.3.2 การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกประชากรชั่วรุ่นที่ 2 (F_2)

การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกลักษณะต้นข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงประชากร F_2 ที่รอดชีวิตหรือผ่านเกณฑ์ของการคัดเลือก จำนวน 461 ต้น จากต้นข้าวทดสอบทั้งหมด 1,140 ต้น หลังจากทำการย้ายต้นข้าวทั้งหมดลงแปลงนา จากนั้นทำการคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใกล้ชิดกับยีน *Bph3* และ *wx* โดยเริ่มต้นด้วยการคัดเลือกลักษณะข้าวเหนียว เพื่อค้นหาต้นข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงที่มีอัลลีลของยีนควบคุมลักษณะข้าวเหนียวเป็นแบบโฮโมไซกัสและเฮเทอโรไซกัส หลังจากทำการจีโนไทป์ต้นข้าวที่รอดชีวิตทั้ง 461 ต้น พบว่า มีจำนวนต้นข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงที่มีอัลลีลของยีน *wx* เป็นแบบโฮโมไซกัสของข้าวเหนียว ($wx^{RGD/RGD}$) จำนวน 89 ต้น ต้นข้าวที่มีอัลลีลของยีน *wx* เป็นแบบโฮโมไซกัส ($wx^{R4/R4}$) จำนวน 166 ต้น และต้นข้าวที่มีอัลลีลของยีน *wx* เป็นแบบเฮเทอโรไซกัสของข้าวเจ้า ($wx^{R4/R4}$) จำนวน 206 ต้น จากนั้นทำการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใกล้ชิดกับ *Bph3* เพื่อทำการคัดเลือกลักษณะต้นข้าวที่มียีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ($Bph3^{R4/R4}$)

การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกลักษณะเป้าหมายทั้ง 2 พบว่าสามารถแบ่งกลุ่ม haplotypes ตามลักษณะจีโนไทป์ที่เกิดขึ้นหรือตามอัลลีลของยีนเป้าหมายที่ได้รับจากสายพันธุ์แม่ (RGD11259-1-9-25) และสายพันธุ์พ่อ (R4-4-2-134-18-57) ได้จำนวน 5 กลุ่ม ดังนี้ (ตารางที่ 4.6)

กลุ่ม H1: กลุ่มข้าวที่มีจีโนไทป์ ประกอบด้วย ลักษณะข้าวเหนียวที่มีอัลลีลของยีน *wx* เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส ($wx^{RGD/R4}$) และลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มีอัลลีล *Bph3* เป็นแบบโฮโมไซกัส ($Bph3^{R4/R4}$) ทุกตำแหน่งเครื่องหมายดีเอ็นเอ จำนวน 6 ต้น

กลุ่ม H2: กลุ่มข้าวที่มีจีโนไทป์ ประกอบด้วย ลักษณะข้าวเหนียวที่มีอัลลีลของยีน *wx* เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส ($wx^{RGD/R4}$) และลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มีอัลลีล *Bph3* เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส ($Bph3^{RGD/R4}$) ทุกตำแหน่งเครื่องหมายดีเอ็นเอ จำนวน 176 ต้น

กลุ่ม H3: กลุ่มข้าวที่มีจีโนไทป์ ประกอบด้วยลักษณะข้าวเหนียวที่มีอัลลีลของยีน *wx* เป็นแบบโฮโมไซกัส ($wx^{RGD/RGD}$) และลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ไม่มียีน *Bph3* ($Bph3^{RGD/RGD}$) ทุกตำแหน่งเครื่องหมายดีเอ็นเอ จำนวน 74 ต้น

กลุ่ม H4: กลุ่มข้าวที่มีจีโนไทป์ ประกอบด้วย ลักษณะข้าวเจ้าที่มีอัลลีลของยีน *wx* เป็นแบบโฮโมไซกัส ($wx^{R4/R4}$) และลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มีอัลลีล *Bph3* เป็นแบบโฮโมไซกัส ($Bph3^{R4/R4}$) ทุกตำแหน่งเครื่องหมายดีเอ็นเอ จำนวน 152 ต้น

กลุ่ม H5: กลุ่มข้าวที่มีจีโนไทป์ ประกอบด้วย ลักษณะข้าวเหนียวและข้าวเจ้าที่มีอัลลีลเป็นทั้งแบบโฮโมไซกัสและเฮเทอโรไซกัสของข้าวทั้งสองชนิด ($wx^{RGD/RGD}$ or $wx^{RGD/R4}$ or $wx^{R4/R4}$) และลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มียีน *Bph3* มีการเกิดรีคอมบิเนชันของตำแหน่งเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้คัดเลือกทั้ง 3 ตำแหน่ง ได้แก่ RM589, SSR24 และ RM588 จำนวน 53 ต้น

ตารางที่ 4.6 การจำแนกกลุ่ม Haplotype (H) และจีโนไทป์ ในประชากร F₂ จำนวน 461 สายพันธุ์ ตามองค์ประกอบของยีนเป้าหมายที่มีอัลลีลของสายพันธุ์ให้ยีนเป้าหมายที่ควบคุมลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และลักษณะข้าวเหนียว จากการคัดเลือกด้วยเครื่องหมาย RM589, SSR24, RM588 และ Wx-Glu23

Haplotypes	Genotype of F ₂ population	Number of plant
H1	$wx^{RGD/R4}$ and $Bph3^{R4/R4}$	6
H2	$wx^{RGD/R4}$ and $Bph3^{RGD/R4}$	176
H3	$wx^{RGD/RGD}$ and $Bph3^{RGD/RGD}$	74
H4	$wx^{R4/R4}$ and $Bph3^{R4/R4}$	152
H5	other recombination of $Bph3$ and wx	53
	Total	461

จากการคัดเลือกโดยลักษณะจีโนไทป์ของกลุ่ม H5 พบว่า มีการเกิดรีคอมบิเนชันภายในบริเวณยีน $Bph3$ ระหว่างตำแหน่งเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ในการคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้ง 3 ตำแหน่ง ได้แก่ RM589, SSR24 และ RM588 ซึ่งมีทั้งที่เป็นลักษณะข้าวเหนียวที่มีอัลลีลเป็นแบบโฮโมไซกัส ($wx^{RGD/RGD}$) ลักษณะข้าวเจ้าที่มีอัลลีลเป็นแบบโฮโมไซกัส ($wx^{R4/R4}$) และลักษณะทั้งข้าวเจ้าข้าวเหนียวที่มีอัลลีลเป็นแบบเฮเทอโรไซกัส ($wx^{RGD/R4}$) ตามลำดับ จำนวนทั้งหมด 53 ต้น ประกอบด้วย 1) สายพันธุ์ปรับปรุงต้นที่เป็นข้าวเหนียวที่มีอัลลีลเป็นแบบโฮโมไซกัส ($wx^{RGD/RGD}$) ที่มีการเกิดรีคอมบิเนชันบริเวณตำแหน่งยีน $Bph3$ จากการคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอทั้งสามตำแหน่งจำนวน 15 ต้น 2) สายพันธุ์ปรับปรุงต้นที่มีตำแหน่งยีนเป็นข้าวเจ้าที่มีอัลลีลเป็นแบบโฮโมไซกัส ($wx^{R4/R4}$) ที่มีการเกิดรีคอมบิเนชันบริเวณตำแหน่งยีน $Bph3$ จากการคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอทั้งสามตำแหน่งจำนวน 14 ต้น และ 3) สายพันธุ์ปรับปรุงต้นที่มีอัลลีลของยีน wx เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส ($wx^{RGD/R4}$) ที่มีการเกิดรีคอมบิเนชันบริเวณตำแหน่งยีน $Bph3$ จากการคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอทั้งสามตำแหน่งจำนวน 24 ต้น จากการเกิดรีคอมบิเนชันบริเวณตำแหน่งของยีน $Bph3$ ทั้งสามตำแหน่งของเครื่องหมายดีเอ็นเอ มีรูปแบบเกิดรีคอมบิเนชันได้ทุกตำแหน่งของเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้คัดเลือก ประกอบด้วย 1) เกิดรีคอมบิเนชันจำนวน 1 ตำแหน่ง 2) เกิดรีคอมบิเนชันจำนวน 2 ตำแหน่ง และ 3) เกิดรีคอมบิเนชัน จำนวน 3 ตำแหน่ง

4.4.4 การประเมินเพื่อยืนยันความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประชากรข้าวช่วงรุ่นที่ F₃

คัดเลือกต้นข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงประชากร F₂ ที่มีพันธุกรรมของยีนเป้าหมายทั้งสองตำแหน่ง ประกอบด้วย ตำแหน่งยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลคัดเลือกอัลลีลของยีน $Bph3$ เป็นแบบโฮโมไซกัส ($Bph3^{R4/R4}$) และตำแหน่งของยีนควบคุมลักษณะข้าวเหนียวคัดเลือกอัลลีลของยีน wx เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส ($wx^{RGD/R4}$) จำนวน 6 ต้น (ตารางที่ 4.6) เพื่อใช้ในการคัดเลือกในประชากร F₃ ซึ่งจะได้ผลการทดลองในแต่ละขั้นตอน ดังต่อไปนี้

4.4.4.1 การคัดเลือกประชากรช่วงรุ่นที่ 3 (F₃) โดยใช้ลักษณะฟีโนไทป์

การประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะต้นกล้าที่อายุข้าว 7 วัน ของข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงประชากร F₃ ที่มีอัลลีลของยีน $Bph3$ เป็นแบบโฮโมไซกัส ($Bph3^{R4/R4}$)

และมีอัลลีลของยีน *wx* เป็นแบบโฮโมไรโซกัส ($wx^{RGD/R4}$) จำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13117-27, RGD13117-36, RGD13117-115, RGD13117-331, RGD13117-360 และ RGD13117-364 พบว่า แสดงค่า AUC ของระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี ตั้งแต่วันที่ 6 DAI ถึง 12 DAI หลังการปล่อยแมลงเข้าทำลายต้นข้าว เท่ากับ 36.00, 23.67, 30.00, 22.33, 38.67 และ 37.67 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ เมื่อทำการเปรียบเทียบทางสถิติที่ (5% LSD) กับ สายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 เพื่อทำการคัดเลือกข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุงทั้งหกสายพันธุ์ พบว่า มีเพียง 3 สายพันธุ์ เท่านั้นที่ผ่านเกณฑ์การคัดเลือกในขั้นตอนนี้ ได้แก่ RGD13117-36, RGD13117-115 และ RGD13117-331 ซึ่งสายพันธุ์ดังกล่าวจะมีค่า AUC ของระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มีค่าต่ำ ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยมีค่า AUC เท่ากับ 23.67, 30.00 และ 22.33 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ สายพันธุ์ปรับปรุงทั้งสามนี้มีระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) กับสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 เนื่องจากอยู่ในช่วงค่า AUC ที่ 23.67 ± 11.58 ตารางมิลลิเมตร (ภาพที่ 4.6 ภาพที่ 4.7 และ ตารางที่ 4.7) จากนั้นนำสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกจำนวน 3 สายพันธุ์ ดังกล่าวไปประเมินลักษณะเป้าหมายทั้งสามลักษณะในขั้นตอนต่อไป

ส่วนสายพันธุ์เปรียบเทียบที่พัฒนาจากฐานพันธุ์กรรมเดียวกัน ประกอบด้วย สายพันธุ์ที่มีอัลลีลของยีน *Bph3* เป็นแบบโฮโมไรโซกัส และอัลลีลของยีน *wx* เป็นแบบโฮโมไรโซกัสของข้าวเจ้า ($Bph3^{R4/R4}$, $wx^{R4/R4}$) จำนวน 79 สายพันธุ์ และ สายพันธุ์ที่ไม่มียีน *Bph3* และเป็นข้าวเหนียวที่มีอัลลีลของยีน *wx* เป็นแบบโฮโมไรโซกัส ($Bph3^{RGD/RGD}$, $wx^{RGD/RGD}$) จำนวน 5 สายพันธุ์ พบว่า ข้าวประชากร F_3 เหล่านี้ แสดงค่า AUC ของระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลอยู่ระหว่าง 13.33 – 42.33 ตารางมิลลิเมตร โดยข้าวสายพันธุ์แม่ (RGD11259-1-9-25) และ สายพันธุ์พ่อ (R4-4-2-134-18-57) แสดงระดับความต้านทาน AUC = 48.67 และ 23.67 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ และพันธุ์ตรวจสอบต้านทาน (Rathu Heenati) และอ่อนแอ (TN1) แสดงค่า AUC เท่ากับ 6.00 และ 50.67 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ (ภาพที่ 4.6 และ ตารางที่ 4.8)

สายพันธุ์ที่มีอัลลีลของยีน *Bph3* เป็นแบบโฮโมไรโซกัส และอัลลีลของยีน *wx* เป็นแบบโฮโมไรโซกัสของข้าวเจ้า ($Bph3^{R4/R4}$, $wx^{R4/R4}$) จำนวน 79 สายพันธุ์ หลังจากถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลาย พบว่า สายพันธุ์ข้าวที่ทำการทดสอบทั้งหมดค่อนข้างต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากรนี้ โดยมีเพียง 9 สายพันธุ์ ที่ไม่ผ่านการคัดเลือกเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวสายพันธุ์ R4-4-2-134-18-57 ที่แสดงค่า AUC = 23.67 ± 11.58 ตารางมิลลิเมตร ได้แก่ RGD13117-100 เท่ากับ 39.33, RGD13117-195 เท่ากับ 35.33, RGD13117-264 เท่ากับ 39.33, RGD13117-300 เท่ากับ 37.00, RGD13117-386 เท่ากับ 42.33, RGD13117-404 เท่ากับ 35.33, RGD13117-422 เท่ากับ 37.67, RGD13117-428 เท่ากับ 37.00 และ RGD13117-451 เท่ากับ 37.67 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ โดยข้าวทั้ง 9 สายพันธุ์ นี้ มีระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ต่ำกว่าสายพันธุ์พ่ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วนสายพันธุ์ที่เหลือของข้าวในกลุ่มนี้จำนวน 70 สายพันธุ์ สามารถต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากรนี้ และยังคงมีระดับความต้านทานไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) กับข้าวสายพันธุ์พ่อ (ภาพที่ 4.6 และ ตารางที่ 4.8)

ตารางที่ 4.7 การคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F_3 จำนวน 6 สายพันธุ์ ที่มีอัลลีลของยีน *Bph3* เป็นแบบโฮโมไซกัส และอัลลีลของยีน *wx* เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส ($Bph3^{R4/R4}$, $wx^{RGD/R4}$) โดยใช้ต้นข้าวอายุ 7 วัน เปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อแม่

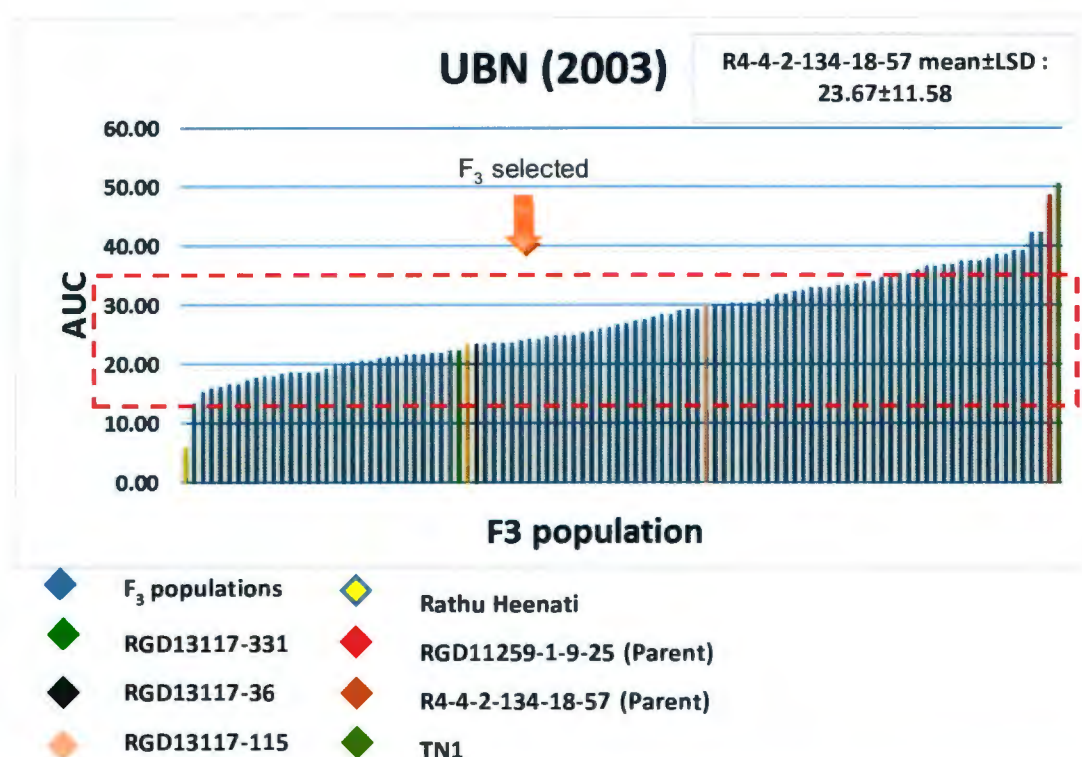
Entry	Selected F_3 Introgression lines	BPH resistance evaluation		Genotypic selection ^{3/}			
		AUC ^{1/}	Phenotypic selection ^{2/}	Wx-Glu-23	RM589	SSR24	RM588
Parent	RGD11259-1-9-25	48.67	X	RGD	RGD	RGD	RGD
Parent	R4-4-2-134-18-57	23.67	/	R4	R4	R4	R4
1	RGD13117-27	36.00	X	H	R4	R4	R4
2	RGD13117-36	23.67	/	H	R4	R4	R4
3	RGD13117-115	30.00	/	H	R4	R4	R4
4	RGD13117-331	22.33	/	H	R4	R4	R4
5	RGD13117-360	38.67	X	H	R4	R4	R4
6	RGD13117-364	37.67	X	H	R4	R4	R4
5%LSD		11.58					
mean		27.53					
CV(%)		26.10					

หมายเหตุ: ^{1/} AUC หมายถึง ข้อมูลเป็นพื้นที่ใต้กราฟ (Area under curve; AUC) แสดงระดับความเสียหายเมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายตั้งแต่วันแรกที่บันทึกข้อมูลจนถึงวันสุดท้ายของการบันทึกข้อมูล

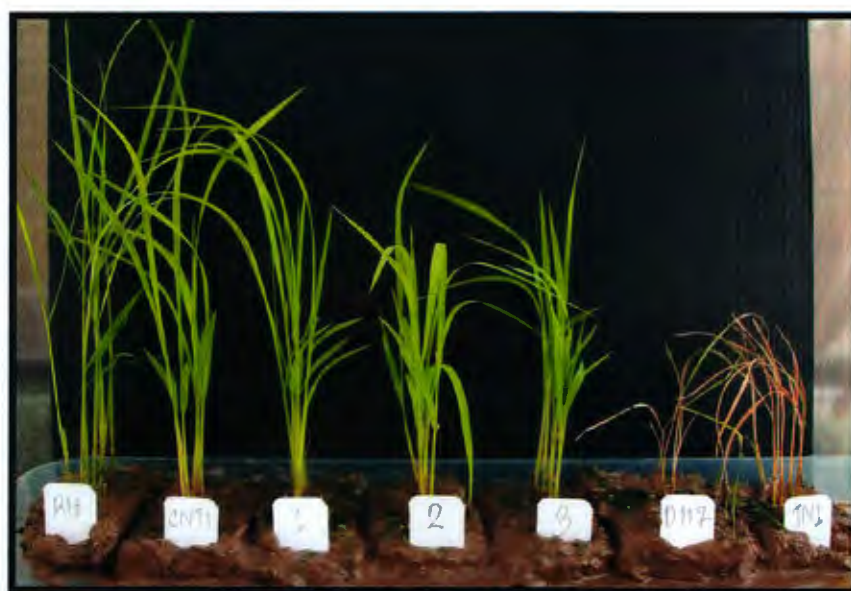
^{2/} / หมายถึง สายพันธุ์ข้าวที่ผ่านการคัดเลือกโดยใช้ลักษณะฟีโนไทป์
X หมายถึง สายพันธุ์ข้าวที่ไม่ผ่านการคัดเลือกโดยใช้ลักษณะฟีโนไทป์

^{3/}(H) หมายถึง Heterozygous ระหว่างอัลลีลของสายพันธุ์พ่อแม่ (RGD11259-1-9-25 กับ R4-4-2-134-18-57), (RGD) หมายถึง RGD11259-1-9-25 allele (สายพันธุ์แม่) และ (R4) หมายถึง R4-4-2-134-18-57 allele (สายพันธุ์พ่อ)

สายพันธุ์ที่ไม่มียีน *Bph3* และมีอัลลีลของยีน *wx* เป็นแบบโฮโมไซกัสของข้าวเหนียว ($Bph3^{RGD/RGD}$, $wx^{RGD/RGD}$) จำนวน 5 สายพันธุ์ พบว่า ทั้ง 5 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13117-120, RGD13117-144, RGD13117-175, RGD13117-287 และ RGD13117-330 แสดงค่า AUC เท่ากับ 38.00, 34.00, 21.67, 36.67 และ 30.67 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ แต่เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 (AUC = 23.67±11.58) พบว่า มีสายพันธุ์ปรับปรุงที่ผ่านการคัดเลือกจำนวน 3 สายพันธุ์ คือ RGD13117-144, RGD13117-175 และ RGD13117-330 ซึ่งข้าวทั้งสามสายพันธุ์นี้ มีค่า AUC ของระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลไม่แตกต่างกับข้าวสายพันธุ์พ่ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (ภาพที่ 4.6 และ ตารางที่ 4.8)



ภาพที่ 4.6 พื้นที่ใต้กราฟ (AUC) ระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F₃ ที่ถูกทำลายโดยแมลงประชากร อุบลราชธานี



ภาพที่ 4.7 ระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุง ประชากร F₃ ที่ผ่านการคัดเลือก จำนวน 3 สายพันธุ์ โดยแมลงประชากร อุบลราชธานี (RH) หมายถึง Rathu Heenati, (CNT1) หมายถึง R4-4-2-134-18-57 (สายพันธุ์พ่อ), (1) หมายถึง RGD13117-36, (2) หมายถึง RGD13117-115, (3) หมายถึง RGD13117-331 และ (D117) หมายถึง RGD11259-1-9-25 (สายพันธุ์แม่) และ (TN1) หมายถึง Taichung Native 1

ตารางที่ 4.8 การคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F₃ โดยใช้ต้นข้าวอายุ 7 วัน เปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อแม่ และ สายพันธุ์เปรียบเทียบต้านทานและอ่อนแอ

Entry	Selected F ₃ Introgression lines	Phenotype	Genotype on Chr.6 ^{2/}			
		AUC ^{1/}	Wx-Glu-23	RM589	SSR24	RM588
Parent	RGD11259-1-9-25	48.67	RGD	RGD	RGD	RGD
Parent	R4-4-2-134-18-57	23.67	R4	R4	R4	R4
Chcek	IR57514	36.67	IR	IR	IR	IR
Chcek	Rathu Heenati	6.00	RH	RH	RH	RH
Chcek	RD6	38.67	RD6	RD6	RD6	RD6
Chcek	TN1	50.67	-	-	-	-
1	RGD13117-11	24.67	R4	R4	R4	R4
2	RGD13117-27	36.00	H	RGD	RGD	RGD
3	RGD13117-35	23.33	R4	R4	R4	R4
4	RGD13117-36	23.67	H	R4	R4	R4
5	RGD13117-115	30.00	H	R4	R4	R4
6	RGD13117-331	22.33	H	R4	R4	R4
7	RGD13117-341	30.00	R4	R4	R4	R4
8	RGD13117-354	22.33	R4	R4	R4	R4
9	RGD13117-360	38.67	H	R4	R4	R4
10	RGD13117-364	37.67	H	R4	R4	R4
11	RGD13117-367	21.33	R4	R4	R4	R4
12	RGD13117-120	38.00	RGD	RGD	RGD	RGD
13	RGD13117-175	21.67	RGD	RGD	RGD	RGD
14	RGD13117-330	30.67	RGD	RGD	RGD	RGD
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮	⋮
90	RGD13117-460	13.33	R4	R4	R4	R4
5% LSD		11.58				
mean		27.53				
CV(%)		26.10				

หมายเหตุ: ^{1/} AUC หมายถึง ข้อมูลเป็นพื้นที่ใต้กราฟ (Area under curve; AUC) แสดงระดับความเสียหายเมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายตั้งแต่วันที่บันทึกข้อมูลจนถึงวันสุดท้ายของการบันทึกข้อมูล

^{2/} / หมายถึง สายพันธุ์ข้าวที่ผ่านการคัดเลือกโดยใช้ลักษณะฟีโนไทป์

X หมายถึง สายพันธุ์ข้าวที่ไม่ผ่านการคัดเลือกโดยใช้ลักษณะฟีโนไทป์

^{3/}(H) หมายถึง Heterozygous ระหว่างอัลลีลของสายพันธุ์พ่อแม่ (RGD11259-1-9-25 กับ R4-4-2-134-18-57), (RGD) หมายถึง RGD11259-1-9-25 allele (สายพันธุ์แม่) และ (R4) หมายถึง R4-4-2-134-18-57 allele (สายพันธุ์พ่อ)

4.4.4.2 การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกประชากรข้าวรุ่นที่ 3 (F_3)

จากการย้ายต้นข้าวทดสอบลงปลูกในแปลงจำนวน 3 สายพันธุ์ ที่ผ่านการคัดเลือก (หัวข้อที่ 4.4.4.1) หลังการประเมินเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพื่อคัดเลือกลักษณะข้าวเหนียว และลักษณะความหอม โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ และเพื่อสร้างประชากร F_4 พบว่า มีต้นข้าวที่สามารถรอดชีวิตและมีอัลลีลของยีนควบคุมลักษณะเป้าหมายทั้ง 3 ลักษณะ ประกอบด้วย ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ลักษณะข้าวเหนียว และลักษณะความหอม จำนวน 2 ต้น ได้แก่ RGD13117-115-52 มีอัลลีลของยีนควบคุมลักษณะเป้าหมายทั้งสามลักษณะเป็นแบบโฮโมไซกัส ($Bph3^{R4/R4}$, $wx^{RGD/RGD}$, $badh2^{RGD/RGD}$) และ RGD13117-115-53 มีอัลลีลของยีน $Bph3$ และ wx เป็นแบบโฮโมไซกัส และอัลลีลของยีน $badh2$ เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส ($Bph3^{R4/R4}$, $wx^{RGD/RGD}$, $badh2^{RGD/R4}$) (ภาพที่ 4.3)

4.4.5 การประเมินประสิทธิภาพของการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกในประชากรข้าวรุ่นที่ F_4

ทำการประเมินประสิทธิภาพของการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกลักษณะเป้าหมายทั้ง 3 ลักษณะ ในข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงจำนวน 2 สายพันธุ์ มีรายละเอียดของผลการดำเนินงานดังนี้

4.4.5.1 ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

การประเมินระดับความต้านทานของสายพันธุ์ข้าวเหนียวหอมพันธุ์ปรับปรุงที่มีอัลลีลของยีน $Bph3$ และ wx เป็นแบบโฮโมไซกัส ($Bph3^{R4/R4}$, $wx^{RGD/RGD}$) จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13117-115-52(G) และ RGD13117-115-53(G) ณ ระยะต้นกล้าที่อายุข้าว 7 วัน และระยะแตกกอที่อายุข้าว 25 วัน โดยใช้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 4 ประชากร ได้แก่ อูบลราชธานี พิษณุโลก กำแพงเพชร และ น่าน เนื่องจากการประเมินความต้านทานในประชากรข้าวรุ่นนี้มีสายพันธุ์เปรียบเทียบกับที่พัฒนามาจากฐานพันธุกรรมเดียวกันหรือมาจากประชากรเดียวกันทั้งที่เป็นข้าวเหนียว และข้าวเจ้า ดังนั้น จึงใช้ตัวย่อข้าวเหนียว และข้าวเจ้า เป็น “ G ” และ “ NG ” ต่อจากรหัสของข้าวสายพันธุ์ปรับปรุง ส่วนสายพันธุ์ปรับปรุงที่ไม่มียีน $Bph3$ ($Bph3^{RGD/RGD}$) จะใช้ (Non- $Bph3$) ต่อจากรหัสของข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงเช่นเดียวกัน และยังใช้พันธุ์เปรียบเทียบกับจำนวน 6 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD11259-1-9-25 (สายพันธุ์แม่), R4-4-2-134-18-57 (สายพันธุ์พ่อ), IR57514, CNT1, Rathu Heenati (สายพันธุ์ตรวจสอบต้านทาน) และ TN1 (สายพันธุ์ตรวจสอบอ่อนแอ) สำหรับการให้คะแนนความเสียหายที่เกิดจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายจะแสดงข้อมูลเป็นพื้นที่ใต้กราฟ (AUC) ของระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ซึ่งเป็นความเสียหายสะสมตั้งแต่วันแรกที่เก็บข้อมูลจนถึงวันสุดท้ายโดย AUC มีค่าต่ำ แสดงว่า ข้าวสายพันธุ์นั้นๆ ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และ ข้าวสายพันธุ์ใดๆ มีค่า AUC ที่สูง แสดงว่า ข้าวสายพันธุ์นั้นๆ อ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ซึ่งผลการทดลองที่ได้มีดังต่อไปนี้

1) การประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่อายุข้าว 7 วัน

จากการประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสี่ประชากรแมลงที่นำมาทดสอบในระยะต้นกล้าโดยใช้ต้นข้าวทดสอบที่มีอายุ 7 วัน หลังจากเพาะเมล็ด มีรายละเอียดของระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแต่ละประชากรแมลง ดังนี้

1.1) เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาลประชากร อุบลราชธานี

หลังจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายต้นข้าวทดสอบเป็นเวลา 13 วันหลัง โดยเริ่มเก็บข้อมูลความเสียหายทุก ๆ วัน ตั้งแต่วันที่ 8-13 วันหลังปล่อยแมลง (8-13 DAI) รวมจำนวนวันที่เก็บข้อมูลทั้งหมด เป็นระยะเวลา 6 วัน ซึ่งทำให้สายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 และสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 แสดงค่า AUC เท่ากับ 44.5 และ 5.5 ตารางมิลลิเมตร สายพันธุ์เปรียบเทียบทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ IR57514, CNT1, Rathu Heenati และ TN1 แสดงค่า AUC เท่ากับ 34.0, 15.5, 5.0 และ 44.5 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ ผลจากการทดลอง พบว่าข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุงจำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13117-115-52(G) และ RGD13117-115-53(G) มีเพียง 1 สายพันธุ์ เท่านั้นที่มีระดับความต้านทานไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) กับสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 ($AUC = 5.5 \pm 10.9$) และพันธุ์ตรวจสอบต้านทาน Rathu Heenati ($AUC = 5.0 \pm 10.9$) นั่นคือ RGD13117-115-52(G) แสดงค่า AUC เท่ากับ 12.0 ตารางมิลลิเมตร ส่วนสายพันธุ์ RGD13117-115-53(G) แสดงค่า AUC เท่ากับ 18.0 ตารางมิลลิเมตร ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบทางสถิติที่ (5% LSD) กับสายพันธุ์ต้านทานทั้งสอง พบว่า มีระดับความต้านทานที่ต่ำกว่าข้าวทั้งสองสายพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ยังคงมีความต้านทานสูงกว่าข้าวสายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 (ภาพที่ 4.8 และ ตารางที่ 4.9)

1.2) เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาลประชากร พิษณุโลก

หลังจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายต้นข้าวทดสอบเป็นเวลา 16 วันหลัง เริ่มเก็บข้อมูลความเสียหายทุก ๆ วัน เป็นระยะเวลาทั้งหมด 5 วัน หลังทำการปล่อยแมลง ตั้งแต่วันที่ 12-16 วัน (12-16 DAI) พบว่า สายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 และสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 แสดงค่า AUC เท่ากับ 32.0 และ 12.0 ตารางมิลลิเมตร ส่วนสายพันธุ์เปรียบเทียบจำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ IR57514, CNT1, Rathu Heenati และ TN1 แสดงค่า AUC เท่ากับ 28.0, 12.0, 4.0 และ 36.0 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ ผลจากการทดลอง พบว่า ข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุงจำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13117-115-52(G) และ RGD13117-115-53(G) แสดงค่า AUC เท่ากับ 12.0 และ 13.5 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งมีระดับความต้านทานไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) กับสายพันธุ์ R4-4-2-134-18-57 ($AUC = 12.0 \pm 5.3$) (ภาพที่ 4.8 และ ตารางที่ 4.9)

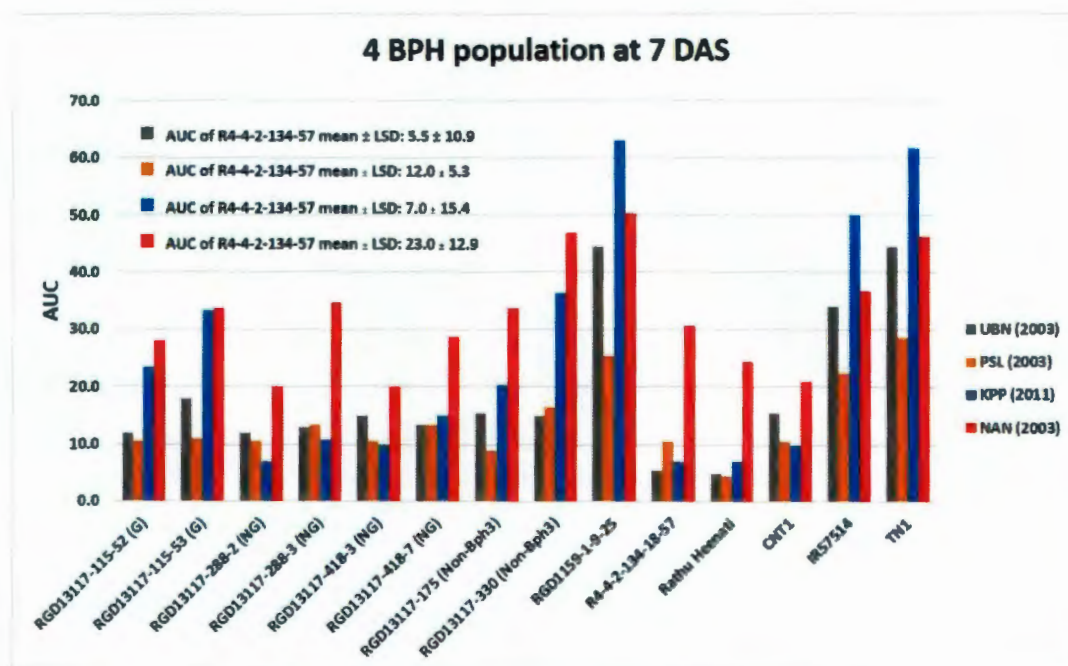
1.3) เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตาลประชากร กำแพงเพชร

หลังจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายต้นข้าวทดสอบเป็นเวลา 15 วันหลัง เริ่มเก็บข้อมูลความเสียหายทุก ๆ วัน เป็นระยะเวลาทั้งหมด 8 วัน หลังทำการปล่อยแมลง ตั้งแต่วันที่ 8-15 วัน (8-15 DAI) พบว่า สายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 และสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 แสดงค่า AUC เท่ากับ 63.0 และ 7.0 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่สายพันธุ์เปรียบเทียบ IR57514, CNT1, Rathu Heenati และ TN1 แสดงค่า AUC เท่ากับ 50.0, 10.0, 7.0 และ 61.7 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ ผลจากการทดลอง พบว่า ข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุงจำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13117-115-52(G) และ RGD13117-115-53(G)) แสดงค่า AUC เท่ากับ 23.3 และ 33.3 ตารางมิลลิเมตร เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติที่ (5% LSD) กับสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 ($AUC = 7.0 \pm 15.4$) และพันธุ์ตรวจสอบต้านทาน Rathu Heenati

(AUC = 7.0 ± 15.4) พบว่า สายพันธุ์ปรับปรุงทั้ง 2 สายพันธุ์ มีระดับความต้านทานที่ต่ำกว่า สายพันธุ์พ่อและพันธุ์ตรวจสอบต้านทานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับ สายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 พบว่า ข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุงทั้ง 2 สายพันธุ์ มีระดับความต้านทานที่สูงกว่าสายพันธุ์แม่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ภาพที่ 4.8 และ ตารางที่ 4.9)

1.4) เพี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร น่าน

หลังจากเพี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายต้นข้าวทดสอบเป็นเวลา 14 วันหลัง เริ่มเก็บข้อมูลความเสียหายทุกๆ วัน ตั้งแต่วันที่ 9-14 วัน หลังปล่อยแมลง (9-14 DAI) รวมจำนวนวันที่เก็บข้อมูลทั้งหมดเป็นระยะเวลา 6 วัน พบว่า สายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 และ สายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 แสดงค่า AUC เท่ากับ 41.3 และ 23.0 ตารางมิลลิเมตร ในขณะที่ สายพันธุ์เปรียบเทียบกับ IR57514, CNT1, Rathu Heenati และ TN1 แสดงค่า AUC เท่ากับ 28.7, 17.7, 15.0 และ 37.3 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ ผลจากการทดลอง พบว่า ข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุง จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13117-115-52(G) และ RGD13117-115-53(G) แสดงค่า AUC เท่ากับ 21.0 และ 26.0 ตารางมิลลิเมตร ซึ่งมีระดับความต้านทานที่ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) กับสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 (AUC = 23.0 ± 12.9) และพันธุ์ตรวจสอบต้านทาน Rathu Heenati (AUC = 17.7 ± 12.9) (ภาพที่ 4.8 และ ตารางที่ 4.9)



ภาพที่ 4.8 ระดับความต้านทานเพี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F_4 ที่อายุข้าว 7 วันหลัง เพาะเมล็ด เมื่อถูกเพี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 4 ประชากร เข้าทำลาย

จากภาพที่ 4.8 แสดงให้เห็นว่า ข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงจำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ RGD13117-115-52 ($Bph3^{R4/R4}$, $wx^{RGD/RGD}$, $badh2^{RGD/RGD}$) และ RGD13117-115-53 ($Bph3^{R4/R4}$, $wx^{RGD/RGD}$, $badh2^{RGD/R4}$) เมื่อประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะต้นกล้าที่อายุข้าว 7 วัน โดยใช้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 4 ประชากร พบว่า RGD13117-115-52(G) มีระดับความต้านทานไม่แตกต่างกับข้าวสายพันธุ์พ่อแม่เมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี พิษณุโลก และ น่าน เข้าทำลาย แต่เมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร กำแพงเพชร เข้าทำลายข้าวเหนียวสายพันธุ์ดังกล่าวจะมีระดับความต้านทานที่แตกต่างจากสายพันธุ์พ่อแม่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วนสายพันธุ์ RGD13117-115-53(G) พบว่า เมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร พิษณุโลก และ น่าน เข้าทำลาย จะแสดงระดับความต้านทานไม่แตกต่างกับข้าวสายพันธุ์พ่อแม่ แต่ถ้าหากถูกประชากร อุบลราชธานี และ กำแพงเพชร เข้าทำลายจะมีระดับความต้านทานที่แตกต่างจากสายพันธุ์พ่อแม่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) อย่างไรก็ตาม ข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุงทั้งสองสายพันธุ์ยังคงมีระดับความต้านทานที่สูงกว่าข้าวสายพันธุ์ RGD11259-1-9-25 ซึ่งเป็นสายพันธุ์แม่ เมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้ง 4 ประชากร เข้าทำลาย ดังนั้น ผลการประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยใช้ต้นข้าวทดสอบที่มีอายุ 7 วัน สามารถสรุปได้ว่า ข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงประชากร F_4 ทั้ง 2 สายพันธุ์ มีระดับความต้านทานที่สูงกว่าสายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 แต่ข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงทั้งสองสายพันธุ์ดังกล่าว ยังคงมีระดับความต้านทานที่ต่ำกว่าสายพันธุ์พ่อแม่ R4-4-2-134-18-57 เมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลบางประชากรเข้าทำลาย (ภาพที่ 4.10 และ ตารางที่ 4.9)

2) การประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่อายุข้าว 25 วัน

จากการประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสี่ประชากรแมลงที่นำมาทดสอบในระยะแตกกอโดยใช้ต้นข้าวทดสอบมีอายุ 25 วัน หลังจากเพาะเมล็ด มีรายละเอียดของระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแต่ละประชากรแมลง ดังนี้

2.1) เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี

หลังจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายต้นข้าวทดสอบเป็นเวลา 16 วันหลัง เริ่มเก็บข้อมูลความเสียหายวันเว้นวันเป็นระยะเวลาทั้งหมด 5 วัน หลังทำการปล่อยแมลงตั้งแต่วันที่ 8-16 วัน (8-16 DAI) พบว่า สายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 และสายพันธุ์พ่อแม่ R4-4-2-134-18-57 แสดงค่า AUC เท่ากับ 72.0 และ 8.0 ตารางมิลลิเมตร ในขณะที่สายพันธุ์เปรียบเทียบกับ IR57514, CNT1, Rathu Heenati และ TN1 แสดงค่า AUC เท่ากับ 72.0, 13.3, 8.0 และ 72.0 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ ผลจากการทดลอง พบว่า ข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุงจำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13117-115-52(G) และ RGD13117-115-53(G) มีระดับความต้านทานที่ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) กับสายพันธุ์พ่อแม่ R4-4-2-134-18-57 ($AUC = 8.0 \pm 4.3$) และพันธุ์ตรวจสอบต้านทาน Rathu Heenati ($AUC = 8.0 \pm 4.3$) โดยแสดงค่า AUC เท่ากันทั้งสองสายพันธุ์คือ AUC เท่ากับ 8.0 ตารางมิลลิเมตร (ภาพที่ 4.9 และ ตารางที่ 4.9)

2.2) เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร พืชญโลก

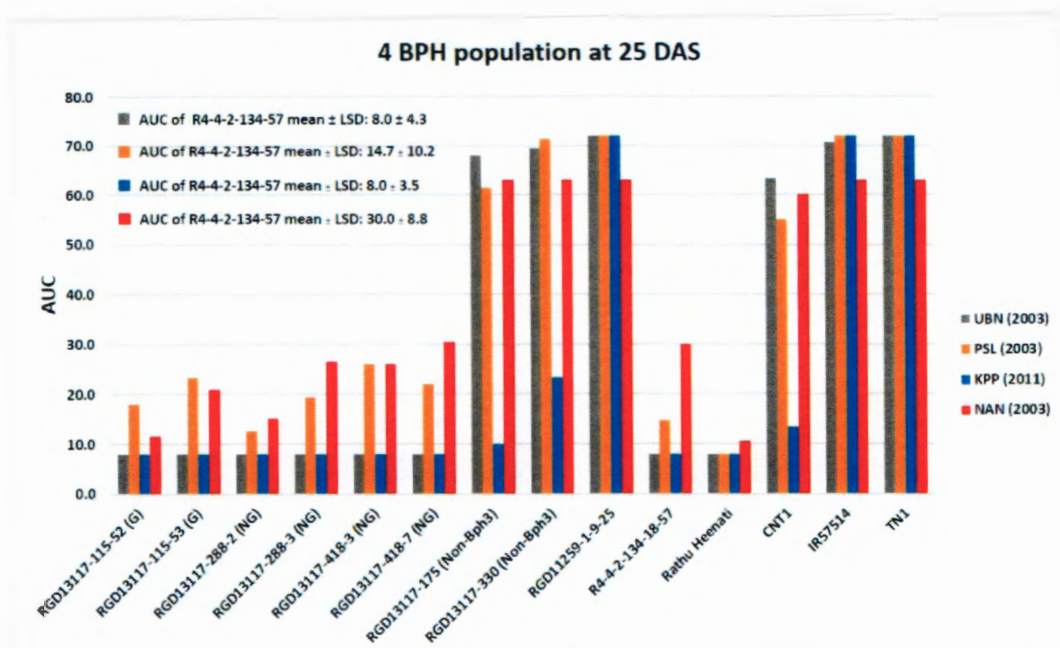
หลังจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายต้นข้าวทดสอบเป็นเวลา 16 วันหลัง เริ่มเก็บข้อมูลความเสียหายวันเว้นวันเป็นระยะเวลาทั้งหมด 5 วัน หลังทำการปล่อยแมลง ตั้งแต่วันที่ 8-16 วัน (8-16 DAI) พบว่า สายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 และสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 แสดงค่า AUC เท่ากับ 72.0 และ 14.7 ตารางมิลลิเมตร ส่วนสายพันธุ์ เปรียบเทียบจำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ IR57514, CNT1, Rathu Heenati และ TN1 แสดงค่า AUC เท่ากับ 72.0, 55.0, 8.0 และ 72.0 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ ผลจากการทดลอง พบว่า ข้าวเหนียว สายพันธุ์ปรับปรุง จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13117-115-52(G) และ RGD13117-115-53(G) แสดงค่า AUC เท่ากับ 18.0 และ 23.3 ตารางมิลลิเมตร ซึ่งมีระดับความต้านทานที่ไม่แตกต่างทาง สถิติ ($P>0.05$) กับข้าวสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 ($AUC = 14.7 \pm 10.2$) (ภาพที่ 4.9 และ ตารางที่ 4.9)

2.3) เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร กำแพงเพชร

หลังจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายต้นข้าวทดสอบเป็นเวลา 16 วันหลัง เริ่มเก็บข้อมูลความเสียหายวันเว้นวันเป็นระยะเวลาทั้งหมด 5 วัน หลังทำการปล่อยแมลง ตั้งแต่วันที่ 8-16 วัน (8-16 DAI) พบว่า สายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 และสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 แสดงค่า AUC เท่ากับ 72.0 และ 8.0 ตารางมิลลิเมตร ขณะที่สายพันธุ์ เปรียบเทียบ IR57514, CNT1, Rathu Heenati และ TN1 แสดงค่า AUC เท่ากับ 72.0, 13.3, 8.0 และ 72.0 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ ผลจากการทดลอง พบว่า ข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุง จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13117-115-52(G) และ RGD13117-115-53(G) มีระดับความต้านทานไม่ แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) กับสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 ($AUC = 8.0 \pm 3.5$) และพันธุ์ ตรวจสอบต้านทาน Rathu Heenati ($AUC = 8.0 \pm 3.5$) โดยสายพันธุ์ทั้งสองแสดงค่า AUC เท่ากับ 8.0 ตารางมิลลิเมตร (ภาพที่ 4.9 และ ตารางที่ 4.11)

2.4) เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร น่าน

หลังจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายต้นข้าวทดสอบเป็นเวลา 15 วันหลัง เริ่มเก็บข้อมูลความเสียหายวันเว้นวันเป็นระยะเวลาทั้งหมด 4 วัน หลังทำการปล่อยแมลง ตั้งแต่วันที่ 8-15 วัน (8-15 DAI) พบว่า สายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 และสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 แสดงค่า AUC เท่ากับ 63.0 และ 30.0 ตารางมิลลิเมตร ในขณะที่ข้าวสายพันธุ์ เปรียบเทียบ IR57514, CNT1, Rathu Heenati และ TN1 แสดงค่า AUC เท่ากับ 63.0, 60.0, 10.5 และ 63.0 ตารางมิลลิเมตร ตามลำดับ ผลจากการทดลอง พบว่า ข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุง จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13117-115-52(G) และ RGD13117-115-53(G) แสดงค่า AUC เท่ากับ 11.5 และ 21.0 ตารางมิลลิเมตร โดยสายพันธุ์ RGD13117-115-52(G) มีระดับความต้านทานสูงกว่า ข้าวสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 ($AUC = 30.0 \pm 8.8$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วน สายพันธุ์ RGD13117-115-53(G) มีระดับความต้านทานที่ไม่แตกต่างกับสายพันธุ์พ่อ (ภาพที่ 4.9 และ ตารางที่ 4.9)



ภาพที่ 4.9 ระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F_4 ที่อายุข้าว 25 วันหลังเพาะเมล็ด เมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 4 ประชากร เข้าทำลาย

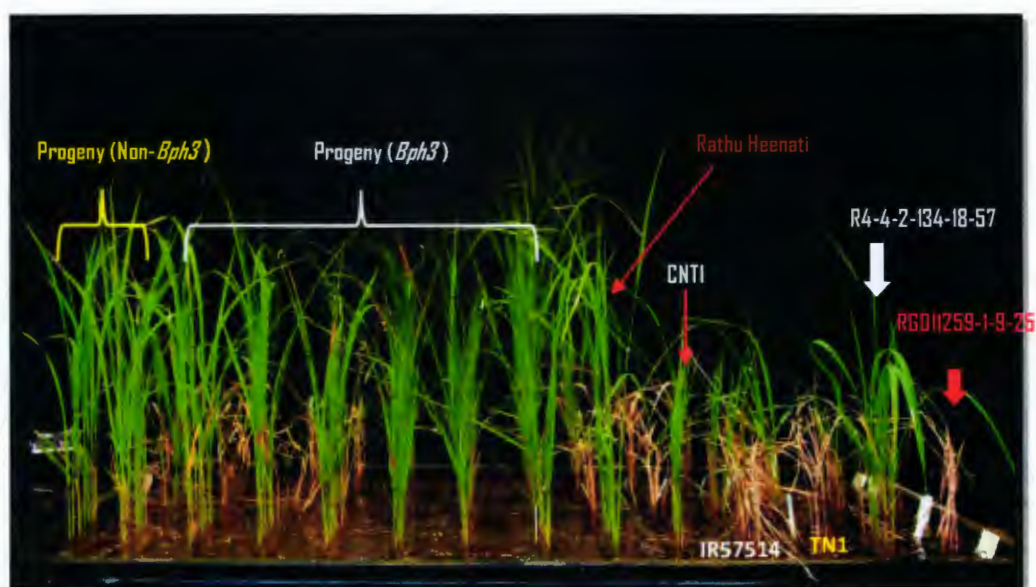
จากภาพที่ 4.9 แสดงให้เห็นว่า ข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงจำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ RGD13117-115-52 ($Bph3^{R4/R4}$, $wx^{RGD/RGD}$, $badh2^{RGD/RGD}$) และ RGD13117-115-53 ($Bph3^{R4/R4}$, $wx^{RGD/RGD}$, $badh2^{RGD/R4}$) เมื่อประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะแตกกอที่อายุข้าว 25 วัน โดยใช้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 4 ประชากร พบว่า ข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงทั้ง 2 สายพันธุ์ สามารถต้านทานการเข้าทำลายของประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ทุกประชากรแมลงที่ใช้ในการประเมินลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลครั้งนี้ ผลจากการประเมินประสิทธิภาพของการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอใช้ในการคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงประชากร F_4 ที่อายุข้าว 25 วัน สามารถสรุปได้ว่า ข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงที่มียืนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้ง 2 สายพันธุ์ มีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้ง 4 ประชากรที่ใช้ทดสอบ (ภาพที่ 4.11 และ ตารางที่ 4.9)

ตารางที่ 4.9 ระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F₄ โดยใช้ต้นข้าวอายุ 7 และ 25 วัน และใช้ประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 4 ประชากร ประกอบด้วย อุบลราชธานี พืชโลก กำแพงเพชร และ น่าน

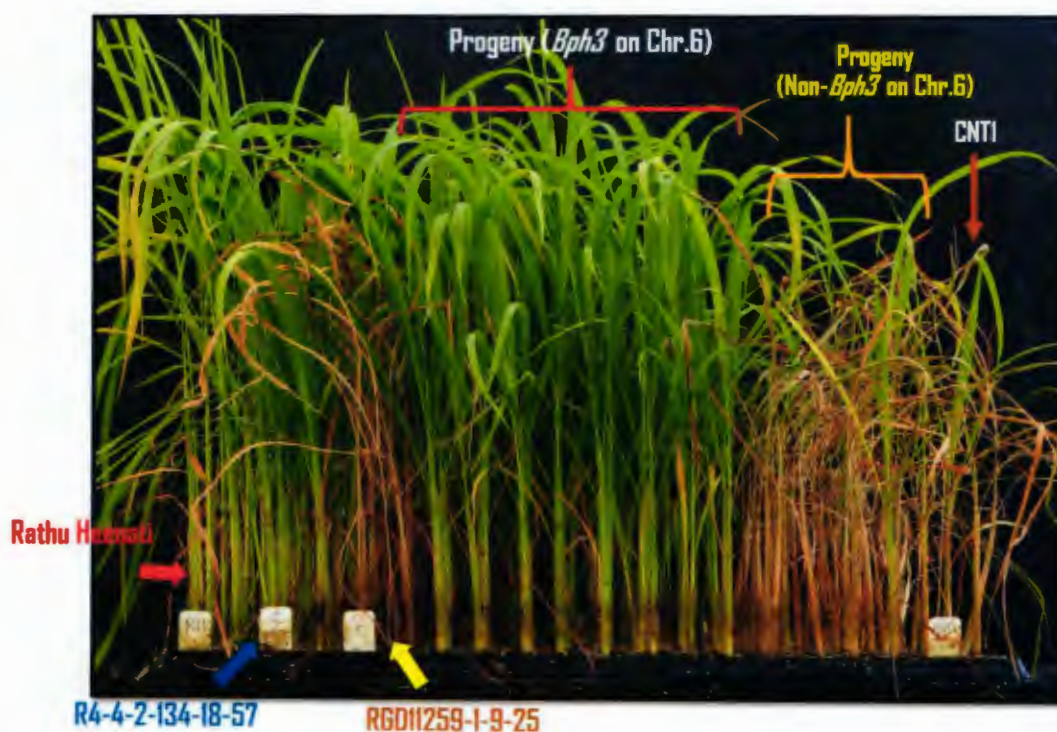
Entry	Selected F ₄ Introgression lines	Grain character	Genotype on Chr. 6	Phenotype for AUC ^{1/}									
				UBN (2003)		PSL (2003)		KPP (2011)		NAN (2003)		7DAS	25DAS
				7DAS	25DAS	7DAS	25DAS	7DAS	25DAS	7DAS	25DAS		
1	RGD13117-115-52	Glutinous rice	<i>Bph3^{RGD/R4}</i> and <i>wx^{RGD/RGD}</i>	12.0	8.0	12.0	18.0	23.3	8.0	21.0	11.5		
2	RGD13117-115-53	Glutinous rice	<i>Bph3^{RGD/R4}</i> and <i>wx^{RGD/RGD}</i>	18.0	8.0	13.5	23.3	33.3	8.0	26.0	21.0		
3	RGD13117-288-2	Non-Glutinous rice	<i>Bph3^{RGD/R4}</i> and <i>wx^{R4/R4}</i>	12.0	8.0	12.0	12.7	7.0	8.0	15.0	15.0		
4	RGD13117-288-3	Non-Glutinous rice	<i>Bph3^{RGD/R4}</i> and <i>wx^{R4/R4}</i>	13.0	8.0	16.0	19.3	10.7	8.0	26.3	26.5		
5	RGD13117-418-3	Non-Glutinous rice	<i>Bph3^{RGD/R4}</i> and <i>wx^{R4/R4}</i>	15.0	8.0	12.0	26.0	10.0	8.0	15.0	26.0		
6	RGD13117-418-7	Non-Glutinous rice	<i>Bph3^{RGD/R4}</i> and <i>wx^{R4/R4}</i>	13.5	8.0	17.5	22.0	15.0	8.0	21.7	30.5		
7	RGD13117-175	Glutinous rice	<i>Bph3^{RGD/RGD}</i> and <i>wx^{RGD/RGD}</i>	15.5	68.8	10.5	61.3	20.3	10.0	26.7	63.0		
8	RGD13117-330	Glutinous rice	<i>Bph3^{RGD/RGD}</i> and <i>wx^{RGD/RGD}</i>	15.0	69.8	21.0	71.3	36.3	23.3	38.0	63.0		
Parent	RGD11259-1-9-25	Glutinous rice	<i>Bph3^{RGD/RGD}</i> and <i>wx^{RGD/RGD}</i>	44.5	72.0	32.0	72.0	63.0	72.0	41.3	63.0		
Parent	R4-4-2-134-18-57	Non-Glutinous rice	<i>Bph3^{RGD/R4}</i> and <i>wx^{R4/R4}</i>	5.5	8.0	12.0	14.7	7.0	8.0	23.0	30.0		
Check	Rathu Heenati	Non-Glutinous rice	-	5.0	8.0	4.0	8.0	7.0	8.0	17.7	10.5		
Check	CNT1	Non-Glutinous rice	-	15.5	13.3	12.0	55.0	10.0	13.3	15.0	60.0		
Check	IR57514	Non-Glutinous rice	-	34.0	72.0	28.0	72.0	50.0	72.0	28.7	63.0		
Check	TN1	Non-Glutinous rice	-	44.5	72.0	36.0	72.0	61.7	72.0	37.3	63.0		
P-value ^{2/}				**	**	**	**	**	**	*	**		
5%LSD				10.9	4.3	5.3	10.2	15.4	3.5	12.9	8.8		
mean				18.8	34.2	17.5	39.1	25.3	23.3	24.7	39.0		
CV(%)				27.0	7.5	14.2	15.5	36.3	9.1	31.4	10.5		

หมายเหตุ: 1/ AUC หมายถึง ข้อมูลเป็นพื้นที่ใต้กราฟ (Area under curve; AUC) แสดงระดับความเสียหายเมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลาย ตั้งแต่วันแรกที่บันทึกข้อมูล จนถึง วันสุดท้ายของการบันทึกข้อมูล

2/ ** หมายถึง แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์; * หมายถึง แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



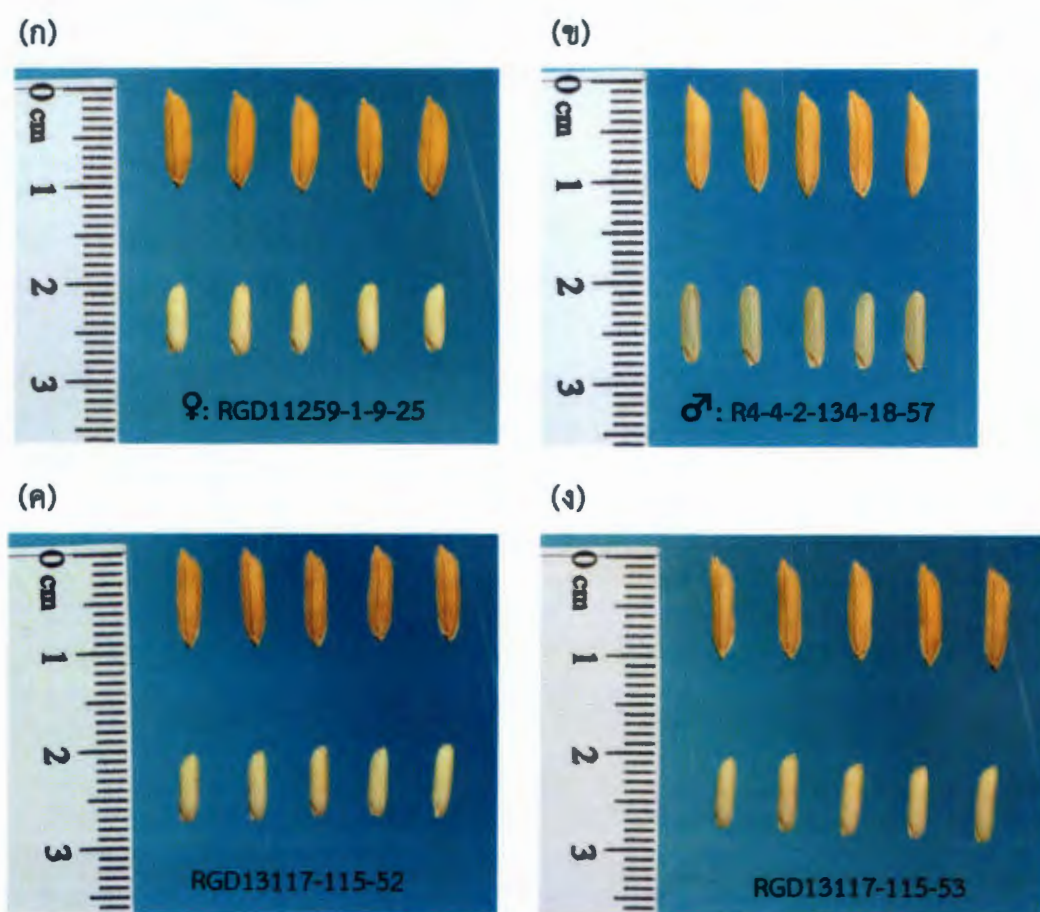
ภาพที่ 4.10 ระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F₄ ที่ข้าวอายุ 7 วัน (7 DAS) เปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ (RGD11259-1-9-25), สายพันธุ์พ่อ (R4-4-2-134-18-57), พันธุ์ตรวจสอบต้านทานต่อ BPH (Rathu Heenati) และพันธุ์ตรวจสอบอ่อนแอต่อ BPH (TN1)



ภาพที่ 4.11 ระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F₄ ที่ข้าวอายุ 25 วัน (25 DAS) เปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ (RGD11259-1-9-25), สายพันธุ์พ่อ (R4-4-2-134-18-57), และ พันธุ์ตรวจสอบต้านทานต่อ BPH (Rathu Heenati)

4.4.5.2 ลักษณะข้าวเหนียวและขนาดของเมล็ด

การประเมินประสิทธิภาพของการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ Wx-Glu23 ในการคัดเลือกลักษณะข้าวเหนียวของสายพันธุ์ปรับปรุงประชากร F₄ จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13117-115-52 และ RGD13117-115-53 ที่มีอัลลีลของยีนควบคุมลักษณะข้าวเหนียวเป็นแบบโฮโมไซกัส ($wx^{RGD/RGD}$) จากการพิจารณาฟีโนไทป์โดยลักษณะทางกายภาพของเมล็ดข้าวกล้องของข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุงทั้งสองสายพันธุ์ดังกล่าว จำนวน 40 เมล็ด/สายพันธุ์ เปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 ซึ่งเป็นข้าวเหนียว และสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 ซึ่งเป็นข้าวเจ้า พบว่า ข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงทั้งสองสายพันธุ์มีจำนวนเมล็ดข้าวกล้อง/ข้าวเปลือกที่เป็นลักษณะข้าวเหนียว เท่ากับ 40 เมล็ด/40 เมล็ด ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อแม่ พบว่า ข้าวทั้งสองสายพันธุ์เป็นข้าวเหนียวสายพันธุ์แท้เหมือนกับสายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 (ภาพที่ 4.12)



ภาพที่ 4.12 ลักษณะข้าวเปลือก และข้าวกล้อง ของข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุงประชากร F₄ จำนวน 2 สายพันธุ์ และสายพันธุ์พ่อแม่

การวัดขนาดเมล็ดข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงด้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร F₄ จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13117-115-52 และ RGD13117-115-53 ซึ่งข้าวทั้งสองสายพันธุ์ผ่านการคัดเลือกทั้งลักษณะฟีนไทป์ (ลักษณะด้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และ ลักษณะข้าวเหนียว) และการคัดเลือกลักษณะจีโนไทป์ ผลจากการวัดขนาดความยาวและความกว้างของเมล็ดข้าวเปลือกและเมล็ดข้าวกล้อง เปรียบเทียบกับข้าวสายพันธุ์พ่อแม่ พบว่า ข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงทั้งสองสายพันธุ์มีขนาดความยาวและความกว้างของเมล็ดข้าวเปลือก (PL และ PB) และขนาดความยาวและความกว้างของเมล็ดข้าวกล้อง (BL และ BB) ที่แตกต่างจากข้าวสายพันธุ์พ่อแม่ เนื่องจากมีขนาดความยาวและความกว้างที่สั้นกว่าทั้งลักษณะเมล็ดข้าวเปลือกและเมล็ดข้าวกล้อง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และยังพบอีกว่า ข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงทั้งสองสายพันธุ์เองก็มีขนาดความยาวของเมล็ดข้าวเปลือกที่แตกต่างกัน โดยสายพันธุ์ RGD13117-115-53 มีขนาดความยาวของเมล็ดข้าวเปลือกที่ยาวกว่าสายพันธุ์ RGD13117-115-52 ส่วนขนาดความกว้างของเมล็ดข้าวเปลือกไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ในขณะที่ขนาดความยาวและความกว้างของเมล็ดข้าวกล้อง พบว่า ข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงทั้งสองสายพันธุ์ มีขนาดความยาวของเมล็ดข้าวกล้องที่ไม่แตกต่างกัน แต่มีความแตกต่างกันที่ขนาดความกว้างของเมล็ดข้าวกล้องโดยสายพันธุ์ RGD13117-115-52 มีขนาดความกว้างของเมล็ดข้าวกล้องที่ยาวกว่าสายพันธุ์ RGD13117-115-53 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวเหนียว กข6 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวเหนียวที่นิยมปลูกกันมาก ซึ่งมีขนาดความยาวและความกว้างของเมล็ดข้าวเปลือก เท่ากับ 9.9 ± 0.16 และ 2.7 ± 0.10 ส่วนขนาดความยาวและความกว้างของเมล็ดข้าวกล้อง เท่ากับ 7.2 ± 0.17 และ 2.2 ± 0.07 ตามลำดับ (กรมการข้าว, 2556) พบว่า ข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงประชากร F₄ ทั้งสองสายพันธุ์มีขนาดความยาวและความกว้างของเมล็ดข้าวเปลือกที่แตกต่างจากข้าวพันธุ์ กข6 ส่วนขนาดของเมล็ดข้าวกล้อง พบว่า สายพันธุ์ปรับปรุงทั้งสองมีความยาวของเมล็ดข้าวกล้องที่ยาวกว่าข้าวพันธุ์ กข6 แต่มีความกว้างของเมล็ดข้าวกล้องที่สั้นกว่า ตามลำดับ จากการแบ่งชั้นขนาดความยาวของเมล็ดข้าวตามมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2555 สามารถสรุปได้ว่า ข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงจำนวน 2 สายพันธุ์ จัดอยู่ในกลุ่มข้าวเมล็ดยาวชั้น 1 (long grain class 1) เนื่องจากข้าวเต็มเมล็ดมีขนาดความยาวเกิน 7 มิลลิเมตร และลักษณะสุดท้ายคือ ลักษณะสีเมล็ดข้าวเปลือก (Hull color) พบว่า ข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงทั้งสองสายพันธุ์ มีลักษณะสีของข้าวเปลือกเป็นสีฟาง (straw colored) เหมือนกับข้าวสายพันธุ์พ่อแม่ (ตารางที่ 4.10)

ตารางที่ 4.10 ลักษณะความยาว-ความกว้างของเมล็ดข้าวเปลือกและเมล็ดข้าวกล้อง สีของเมล็ดข้าวเปลือก และ อัตราส่วนระหว่างความยาว-ความกว้างของเมล็ดข้าวทั้งสองแบบ

Entry	Selected F ₄ Introgression lines	HC ^{1/}	Paddy rice ^{2/}		Brown rice ^{3/}		PL/PB ^{4/}	BL/BB ^{5/}
			PL	PB	BL	BB		
1	RGD13117-115-52	ST	9.68 ^c	2.44 ^b	7.53 ^b	2.08 ^b	4.0	3.6
2	RGD13117-115-53	ST	10.25 ^b	2.44 ^b	7.51 ^b	1.99 ^c	3.9	3.8
Parent	RGD11259-1-9-25	ST	10.75 ^a	2.62 ^a	7.93 ^a	2.19 ^a	4.1	3.6
Parent	R4-4-2-134-18-57	ST	10.74 ^a	2.62 ^a	7.93 ^a	2.19 ^a	4.1	3.6
P-value ^{6/}			*	*	*	*	-	-
5%LSD			0.16	0.10	0.17	0.07	-	-
mean			10.36	2.53	7.73	2.11	-	-
CV(%)			0.80	2.10	1.10	1.70	-	-

หมายเหตุ: ^{1/} HC = Hull color (ST= straw colored)

^{2/} PL = Paddy rice kernel length (mm); PB = Paddy rice kernel breadth (mm)

^{3/} BL = Brown rice kernel length (mm); BB = Brown rice kernel breadth (mm)

^{4/} PL/PB = Paddy rice kernel length/Paddy rice kernel breadth

^{5/} BL/BB = Brown rice kernel length/Brown rice kernel breadth

^{6/} * = แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์; ค่าเฉลี่ยที่กำกับตัวเลขด้วยตัวอักษรต่างกันในกลุ่มเดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยวิธี LSD

4.4.5.3 ลักษณะความหอม

การประเมินประสิทธิภาพการใช้เครื่องหมาย Aromarker ในการคัดเลือกลักษณะความหอมซึ่งถูกควบคุมโดยยีน *badh2* บนโครโมโซม 8 ในประชากรข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงชั่วรุ่นที่ F₄ จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13117-115-52 มีอัลลีลของยีนควบคุมลักษณะความหอมเป็นแบบโฮโมไซกัส (*badh2*^{RGD/RGD}) และ RGD13117-115-53 มีอัลลีลของยีนควบคุมลักษณะความหอมเป็นแบบเฮเทอโรไซกัส (*badh2*^{RGD/R4}) เปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 (*badh2*^{RGD/RGD}) ซึ่งเมล็ดมีกลิ่นหอม สายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 (*badh2*^{R4/R4}) ซึ่งเมล็ดไม่มีกลิ่นหอม และสายพันธุ์ตรวจสอบที่เมล็ดมีกลิ่นหอม ได้แก่ Jasmine IR57514, KDML105 และ RD6 สุดท้ายคือสายพันธุ์ตรวจสอบที่เมล็ดไม่มีกลิ่นหอม ได้แก่ IR57514 ตามลำดับ ผลจากการประเมินลักษณะความหอม โดยให้ผู้ทดสอบดมกลิ่น (Sensory testing) พบว่า สายพันธุ์ RGD13117-115-52 ได้คะแนนจากผู้ทดสอบกลิ่นในระดับ 2 ซึ่งหมายความว่า ข้าวมีกลิ่นหอมมาก และสายพันธุ์ RGD13117-115-53 ได้คะแนนจากผู้ทดสอบกลิ่นในระดับ 1 หมายความว่า ข้าวมีกลิ่นหอมปานกลาง (ตารางที่ 4.11)

ตารางที่ 4.11 ลักษณะจีโนไทป์ และ ฟีนไทป์ ของลักษณะความหอมในข้าวเหนียวหอม สายพันธุ์ปรับปรุง F₄ จำนวน 2 สายพันธุ์ ข้าวสายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 และสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 และสายพันธุ์ตรวจสอบจำนวน 4 สายพันธุ์

Entry	Selected F ₄ Introgression lines	Fragrance character	
		DNA marker	Phenotype
		Aromarker ^{1/}	Sensory test ^{2/}
1.	RGD13117-115-52	<i>badh2</i> ^{RGD/RGD}	2
2.	RGD13117-115-53	<i>badh2</i> ^{RGD/R4}	1
Parent	RGD11259-1-9-25	<i>badh2</i> ^{RGD/RGD}	1
Parent	R4-4-2-134-18-57	<i>badh2</i> ^{R4/R4}	0
Check	IR57514	-	0
Check	Jasmine IR57514	-	2
Check	KDML105	-	1
Check	RD6	-	1
5%LSD			0.6
mean			1.0
CV(%)			55.3

หมายเหตุ: ^{1/} (*Badh2/Badh2*) หมายถึง ข้าวไม่หอมสายพันธุ์แท้, (*Badh2/badh2*) หมายถึง ข้าวหอมสายพันธุ์ทาง และ (*badh2/badh2*) หมายถึง ข้าวหอมสายพันธุ์แท้

^{2/} ตัวเลขตั้งแต่ 0 ถึง 2 หมายถึง (0) หมายถึง ข้าวไม่มีกลิ่นหอม (1) หมายถึง ข้าวมีกลิ่นหอมปานกลาง และ (2) หมายถึง ข้าวมีกลิ่นหอมมาก

4.4.6 การจัดทำ Graphical genotypes บริเวณตำแหน่งของยีน *Bph3* และ *wx* บนโครโมโซม 6

ทำการศึกษาโดยใช้ข้าวประชากร F₃ ที่มีอัลลีลของยีนควบคุมลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็นแบบโฮโมไซกัส (*Bph3*^{R4/R4}) และอัลลีลของยีนควบคุมลักษณะข้าวเหนียวเป็นแบบโฮโมไซกัส หรือ เฮเทอโรไซกัส (*wx*^{RGD/RGD}, *wx*^{RGD/R4}) ซึ่งมีรายละเอียดของผลการดำเนินงานดังนี้

4.4.6.1 การคัดเลือกประชากรข้าวรุ่นที่ 3 (F₃) โดยใช้ลักษณะฟีนไทป์

หลังจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายต้นข้าวทดสอบเป็นเวลา 16 วัน โดยเริ่มเก็บข้อมูลความเสียหายครั้งแรกในวันที่ 8 (8DAI) จนถึงวันที่ 16 (16 DAI) หลังจากปล่อยแมลง (8–16 Day after infestation) พบว่า ความเสียหายที่เกิดจากเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในวันที่ 16 DAI ทำให้ข้าวสายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 และสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 แสดงคะแนนความเสียหายและระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เท่ากับ 9 หมายถึง ข้าวมีความอ่อนแอต่อ BPH (S) และ 2 หมายถึง ข้าวมีความต้านทานต่อ BPH ได้ดีมาก (HR) ในขณะที่สายพันธุ์ตรวจสอบทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ IR57514, CNT1, Rathu Heenati และ TN1 แสดงระดับความต้านทานอยู่ที่ระดับอ่อนแอ (S), อ่อนแอปานกลาง (MS), ต้านทานดีมาก (HR) และ อ่อนแอ (S)

ตามลำดับ (ตารางที่ 4.12) การประเมินลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงประชากร F_3 ที่มีอัลลีลของยีน *Bph3* เป็นแบบโฮโมไซกัส และอัลลีลของยีน *wx* เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส ($Bph3^{R4/R4}$, $wx^{RGD/R4}$) จำนวน 3 สายพันธุ์ พบว่า สายพันธุ์ RGD13117-115 แสดงระดับความต้านทานอยู่ระดับต้านทาน BPH ได้ดี (R), สายพันธุ์ RGD13117-331 แสดงระดับความต้านทานอยู่ระดับต้านทาน BPH ได้ดี (R) เช่นกัน ส่วนสายพันธุ์ RGD13117-36 แสดงระดับความต้านทานปานกลาง (MR) (ภาพที่ 4.13 และ ตารางที่ 4.12)

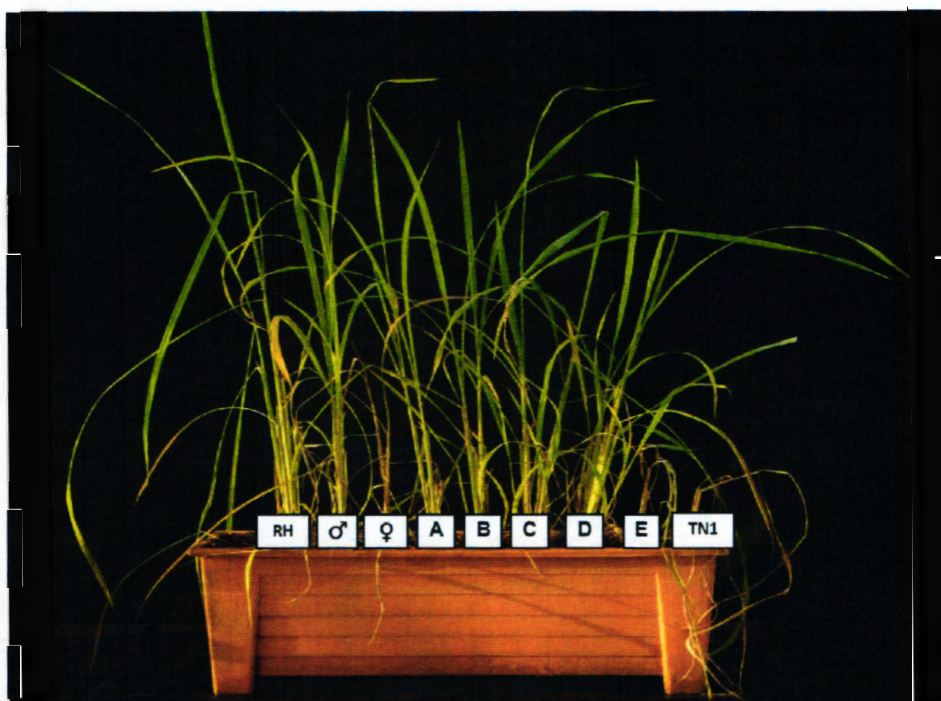
จากการทดลองข้างต้นเป็นผลของระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้งครอบครัว (family) ของข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุงทั้ง 3 สายพันธุ์ ซึ่งถือเป็นความสามารถโดยรวมของต้นข้าวทดสอบทั้ง 60 ต้น ในแต่ละสายพันธุ์ สำหรับการคัดเลือกในขั้นตอนนี้ จะไม่เพียงแค่วัดเลือกโดยพิจารณาความต้านทานทั้งครอบครัวเท่านั้น แต่จะทำการคัดเลือกเป็นแบบรายต้น (single plant selection) ซึ่งจะเก็บข้อมูลความเสียหายของแต่ละต้นเพื่อให้ได้มาซึ่งสายพันธุ์ข้าวเหนียวที่มีความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่แท้จริง ซึ่งผลจากการทดสอบมีดังนี้

สายพันธุ์ RGD13117-36 มีระดับความต้านทานทั้งครอบครัว เท่ากับ ระดับต้านทานปานกลาง (MR) จากต้นข้าวทดสอบ จำนวน 60 ต้น พบว่า มีการกระจายตัวของระดับความต้านทานตั้งแต่ ต้านทานได้ดี (R) ถึง อ่อนแอ (S) ได้แก่ ต้านทานได้ดี (R) = 13 ต้น ต้านทานปานกลาง (MR) = 18 ต้น อ่อนแอปานกลาง (MS) = 5 ต้น และ อ่อนแอ (S) = 24 ต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.12)

สายพันธุ์ RGD13117-115 มีระดับความต้านทานทั้งครอบครัว เท่ากับ ระดับต้านทานได้ดี (R) จากต้นข้าวทดสอบ จำนวน 60 ต้น พบว่า มีการกระจายตัวของระดับความต้านทานตั้งแต่ ต้านทานได้ดีมาก (HR) ถึง อ่อนแอ (S) ได้แก่ ต้านทานได้ดีมาก (HR) = 26 ต้น ต้านทานได้ดี (R) = 23 ต้น ต้านทานปานกลาง (MR) = 3 ต้น อ่อนแอปานกลาง (MS) = 1 ต้น และ อ่อนแอ (S) = 7 ต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.12)

สายพันธุ์ RGD13117-331 มีระดับความต้านทานทั้งครอบครัว เท่ากับ ระดับต้านทานได้ดี (R) จากต้นข้าวทดสอบ จำนวน 60 ต้น พบว่า มีการกระจายตัวของระดับความต้านทานตั้งแต่ ต้านทานได้ดีมาก (HR) ถึง อ่อนแอ (S) ได้แก่ ต้านทานได้ดีมาก (HR) = 19 ต้น ต้านทานได้ดี (R) = 32 ต้น ต้านทานปานกลาง (MR) = 7 ต้น อ่อนแอปานกลาง (MS) = 0 ต้น และ อ่อนแอ (S) = 2 ต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.12)

ส่วนสายพันธุ์เปรียบเทียบกับไม่มียีน *Bph3* ($Bph3^{RGD/RGD}$) คือ RGD13117-175 มีระดับความต้านทานทั้งครอบครัว เท่ากับ ระดับอ่อนแอปานกลาง (MS) จากต้นข้าวทดสอบ จำนวน 60 ต้น พบว่า มีการกระจายตัวของระดับความต้านทานตั้งแต่ ต้านทานได้ดี (R) ถึง อ่อนแอ (S) ได้แก่ ต้านทานได้ดี (R) = 6 ต้น ต้านทานปานกลาง (MR) = 8 ต้น อ่อนแอปานกลาง (MS) = 5 ต้น และ อ่อนแอ (S) = 41 ต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.12)



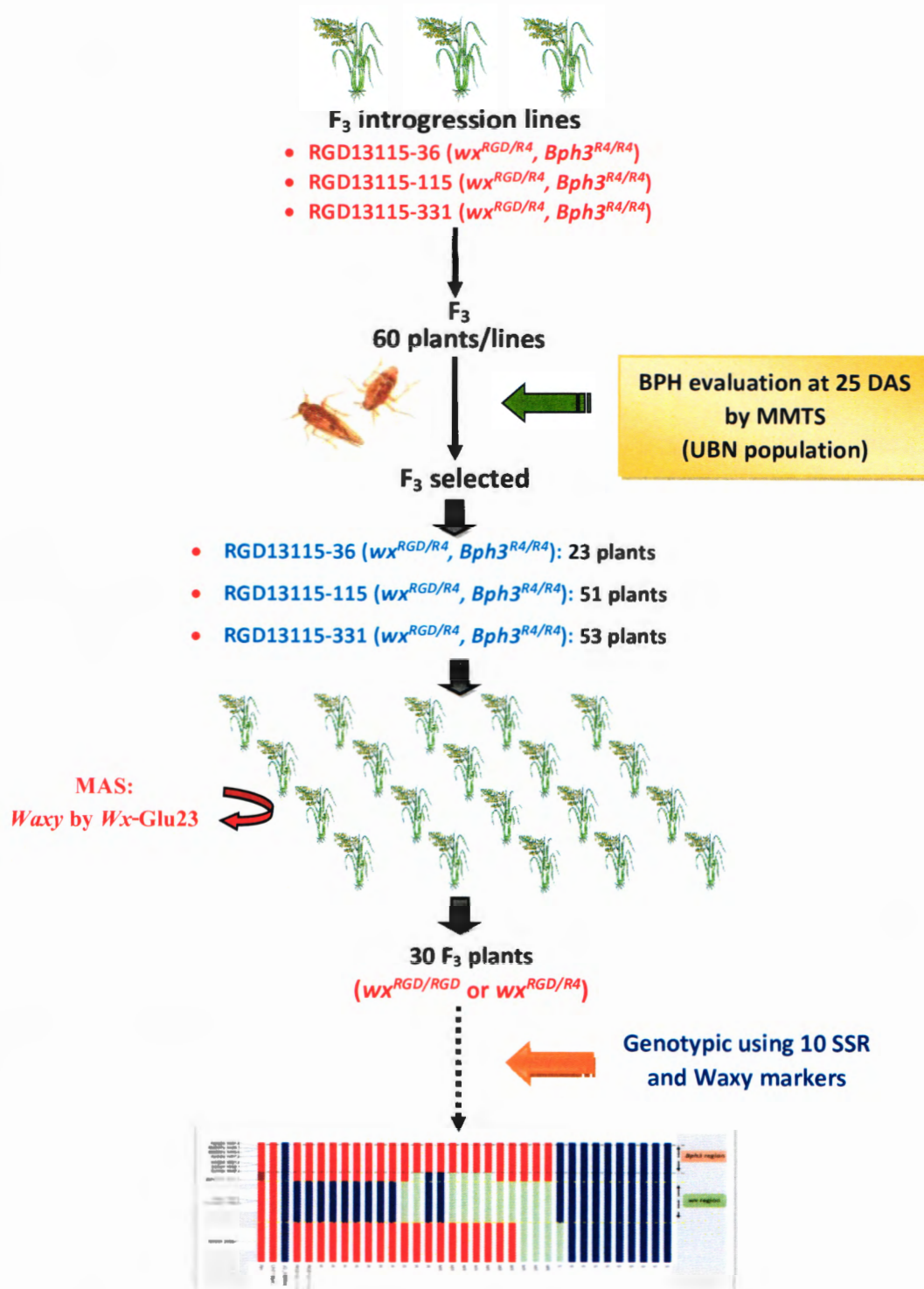
ภาพที่ 4.13 ระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุง F_3 ที่ข้าวอายุ 25 วัน หลังจากแมลงประชากร อุบลราชธานี เข้าทำลาย โดยที่ (A) (B) (C) (D) คือ ต้นข้าวที่มียีน *Bph3* (*Bph3^{R4/R4}*) และ (E) คือ ต้นข้าวที่ไม่มียีน *Bph3* (*Bph3^{RGD/RGD}*)

จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่า สายพันธุ์ข้าวใดที่มีพันธุกรรมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Bph3* บนโครโมโซม 6 เมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี เข้าทำลายเป็นระยะเวลา 16 วัน (16 DAI) สายพันธุ์นั้นๆ จะยังคงมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ที่ไม่มียีน *Bph3* เช่น RGD13117-175, RGD11259-1-9-25 (สายพันธุ์แม่), IR57514, CNT1 และ TN1 โดยข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่มีอัลลีลของยีน *Bph3* เป็นแบบโฮโมไซกัส (*Bph3^{R4/R4}*) เมื่อพิจารณาการกระจายตัวของระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลภายในครอบครัวทั้งหมด 60 ต้น พบว่า ต้นข้าวทั้ง 60 ต้น จะแสดงการกระจายตัวของระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตั้งแต่ระดับต้านทานได้ดีมาก (HR) จนถึง อ่อนแอ (S) ซึ่งในแต่ละระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจะมีจำนวนต้นข้าวที่แตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ ซึ่งมีจำนวนต้นข้าวที่รอดชีวิตดังนี้ สายพันธุ์ RGD13117-36 จากต้นข้าวทั้งหมด 60 ต้น สามารถรอดชีวิตได้จำนวน 23 ต้น, RGD13117-115 จากต้นข้าวทั้งหมด 60 ต้น สามารถรอดชีวิตได้จำนวน 51 ต้น, RGD13117-331 จากต้นข้าวทั้งหมด 60 ต้น สามารถรอดชีวิตได้จำนวน 53 ต้น และสายพันธุ์ที่ไม่มียีน *Bph3* ได้แก่ RGD13117-175 จากต้นข้าวทั้งหมด 60 ต้น สามารถรอดชีวิตได้จำนวน 11 ต้น ตามลำดับ (ภาพที่ 4.14) จากนั้นนำต้นข้าวที่รอดชีวิตเหล่านี้ย้ายลงแปลงนา เพื่อดำเนินการคัดเลือกในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 4.12 การคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F₃ โดยใช้ต้นข้าว อายุ 25 วัน เปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อแม่ และ สายพันธุ์เปรียบเทียบต้านทานและอ่อนแอ

No.	Introgression lines/Cultivar	F ₃ genotype	No. of progenies for scale (16 DAI) ^{1/}			
			Numble of plants	Resistance level	Total	Mean
1	RGD13117-36	<i>Bph3</i> on Chr.6	60	HR	0	6.9 (MR)
				R	13	
				MR	18	
				MS	5	
				S	24	
2	RGD13117-115	<i>Bph3</i> on Chr.6	60	HR	26	3.8 (R)
				R	23	
				MR	3	
				MS	1	
				S	7	
3	RGD13117-331	<i>Bph3</i> on Chr.6	60	HR	19	3.0 (R)
				R	32	
				MR	7	
				MS	0	
				S	2	
4	RGD13117-175	No- <i>Bph3</i> on Chr.6	60	HR	0	8.3 (MS)
				R	6	
				MR	8	
				MS	5	
				S	41	
Parent	RGD11259-1-9-25	No- <i>Bph3</i> on Chr.6	32	S	32	9 (S)
Parent	R4-4-2-134-18-57	<i>Bph3</i> on Chr.6	32	HR	32	2 (HR)
Cheek	Rathu Heenati	<i>Bph3</i> on Chr.6	32	HR	32	2 (HR)
Cheek	CNT1	No- <i>Bph3</i> on Chr.6	21	MS	21	8(MS)
Cheek	IR57514	No- <i>Bph3</i> on Chr.6	21	S	21	9 (S)
Cheek	TN1	No- <i>Bph3</i> on Chr.6	32	S	32	9 (S)
5%LSD			1.20			
mean			5.46			
CV(%)			10.21			

หมายเหตุ: ^{1/} (HR) หมายถึง ข้าวมีความต้านทาน BPH ได้ดีมาก (R) หมายถึง ข้าวมีความต้านทาน BPH ได้ดี (MR) หมายถึง ข้าวมีความต้านทาน BPH ระดับปานกลาง (MS) หมายถึง ข้าวค่อนข้างมีความอ่อนแอต่อ BPH และ (S) หมายถึง ข้าวไม่มีความต้านทาน BPH



ภาพที่ 4.14 ผลการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวเหนียวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร F₃ โดยใช้ข้าวอายุ 25 วัน และการทำ Graphical genotypes บริเวณตำแหน่งยีน *Bph3* และ *wx* บนโครโมโซม 6

ตารางที่ 4.13 การคัดเลือกลักษณะข้าวเหนียวในประชากร F_3 โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ Wx-Glu23

Entry	F_3 Introgression lines	<i>Bph3</i> allele	Total	Numbel of plant ^{1/}	Genotypic selection ^{2/}		
					(wx ^{R4/R4})	(wx ^{RGD/R4})	(wx ^{RGD/RGD})
1	RGD13117-36	<i>Bph3</i> ^{R4/R4}	60	23	4	14	5
2	RGD13117-115	<i>Bph3</i> ^{R4/R4}	60	51	11	30	10
3	RGD13117-331	<i>Bph3</i> ^{R4/R4}	60	53	26	23	7
4	RGD13117-175	<i>Bph3</i> ^{RGD/RGD}	60	11	-	-	11
P1	RGD11259-1-9-25	<i>Bph3</i> ^{RGD/RGD}	32	0	X	X	/
P2	R4-4-2-134-18-57	<i>Bph3</i> ^{R4/R4}	32	32	/	X	X

หมายเหตุ: ^{1/} Numbel of plant หมายถึง จำนวนต้นข้าวที่รอดชีวิตจากการถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี เข้าทำลาย

^{2/} (wx^{RGD/RGD}) หมายถึง ลักษณะอัลลีลของข้าวเจ้าสายพันธุ์แท้ (non-glutinous homozygous allele); (wx^{RGD/R4}) หมายถึง ลักษณะอัลลีลของข้าวเหนียวสายพันธุ์ทาง (glutinous heterozygous allele) และ (wx^{R4/R4}) หมายถึง ลักษณะอัลลีลของข้าวเหนียวสายพันธุ์แท้ (glutinous homozygous allele)

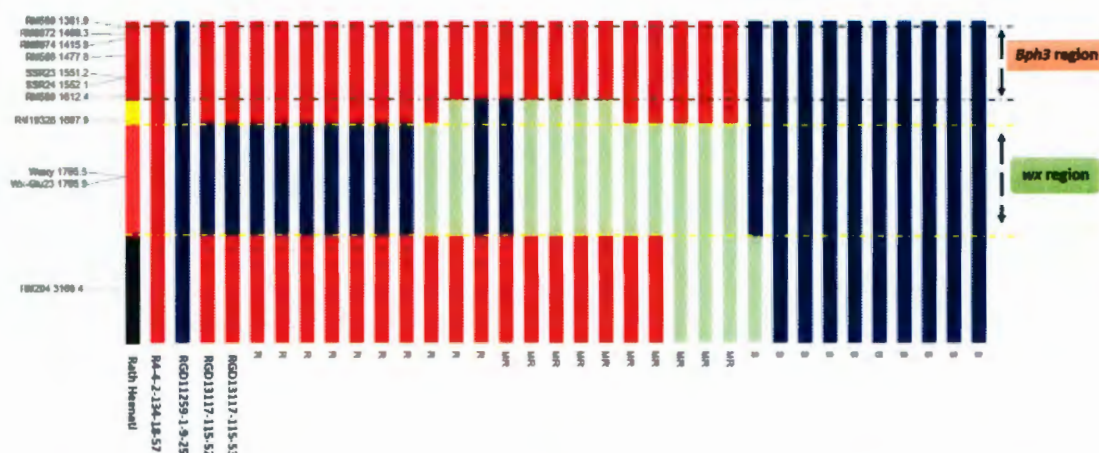
4.4.6.2 การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกระหว่างรุ่นที่ 3 (F_3)

จากการประเมินลักษณะด้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F_3 ที่มีอัลลีลของยีน *Bph3* เป็นแบบโฮโมไซกัส และอัลลีลของยีน wx เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส (*Bph3*^{R4/R4}, wx^{RGD/R4}) จำนวน 3 สายพันธุ์ ประกอบด้วย RGD13117-36, RGD13117-115 และ RGD13117-330 และ สายพันธุ์ที่ไม่มียีน *Bph3* และมีอัลลีลของยีน wx เป็นแบบโฮโมไซกัส (*Bph3*^{RGD/RGD}, wx^{RGD/RGD}) จำนวน 1 สายพันธุ์ คือ RGD13117-175 ผลจากการคัดเลือกลักษณะฟีนอไทป์ (หัวข้อที่ 4.4.6.1) มีต้นข้าวที่มีชีวิตรอดจำนวน 23, 51, 53 และ 11 ต้น ตามลำดับ (ตารางที่ 4.13 และ ภาพที่ 4.14) จากนั้นทำการคัดเลือกลักษณะข้าวเหนียวโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก ได้แก่ Wx-Glu23 marker เพื่อค้นหาข้าวเหนียวที่มีรูปแบบของอัลลีลทั้งโฮโมไซกัสและเฮเทอโรไซกัส (wx^{RGD/RGD}, wx^{RGD/R4}) พบว่า สายพันธุ์ RGD13117-36 มีจีโนไทป์เป้าหมายเป็นแบบโฮโมไซกัส และโฮเทอโรไซกัส จำนวน 5 และ 14 ต้น สายพันธุ์ RGD13117-115 มีจีโนไทป์เป้าหมายเป็นแบบโฮโมไซกัส และโฮเทอโรไซกัส จำนวน 30 และ 10 ต้น และ สายพันธุ์ RGD13117-331 มีจีโนไทป์เป้าหมายเป็นแบบโฮโมไซกัส และโฮเทอโรไซกัส จำนวน 23 และ 7 ต้น ตามลำดับ ส่วนสายพันธุ์ RGD13117-175 ซึ่งมียีน wx เป็นข้าวเหนียวสายพันธุ์แท้ ต้นข้าวที่รอดชีวิตทั้ง 11 ต้น จึงมีจีโนไทป์เป็นลักษณะข้าวเหนียวทุกต้น (ตารางที่ 4.13) จากนั้นนำประชากร F_3 เหล่านี้ ที่ผ่านการคัดเลือกลักษณะข้าวเหนียวทั้งที่มีรูปแบบอัลลีลของยีน wx เป็นแบบโฮโมไซกัสและเฮเทอโรไซกัส (wx^{RGD/RGD}, wx^{RGD/R4}) เพื่อนำไปจัดทำ Graphical genotypes บริเวณตำแหน่งของยีน *Bph3* และ wx บนโครโมโซม 6 ต่อไป (ภาพที่ 4.14)

4.4.6.3 การจัดทำ Graphical genotypes บริเวณตำแหน่งของยีน *Bph3* และ *wx*

จากการเพิ่มเครื่องหมายดีเอ็นเอจำนวน 11 เครื่องหมาย เพื่อจัดทำ graphical genotypes บริเวณตำแหน่งยีนควบคุมลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) และยีนควบคุมลักษณะข้าวเหนียว (*wx*) บนโครโมโซม 6 พบว่า เครื่องหมายดีเอ็นเอสามารถแยกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 และสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 ได้จำนวน 6 เครื่องหมาย ประกอบด้วย เครื่องหมาย SSR จำนวน 5 เครื่องหมาย ได้แก่ RM8072, RM8074, SSR23, RM19328 และ RM204 และเครื่องหมายที่มีความเฉพาะเจาะจง (gene-specific marker) จำนวน 1 เครื่องหมาย ได้แก่ *Waxy* จากนั้นนำเครื่องหมายทั้ง 6 เครื่องหมายดังกล่าว รวมถึงเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ในการคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ใช้ในงานวิจัยครั้งนี้ จำนวน 4 เครื่องหมาย ได้แก่ RM589, RM586, SSR24 และ RM588 มาทำการจีโนไทป์ประชากร F_3 ที่ผ่านการคัดเลือกพีโนไทป์ และผ่านการคัดเลือกลักษณะจีโนไทป์ที่มีอัลลีลของยีนควบคุมลักษณะข้าวเหนียวเป็นแบบโฮโมไซกัสและเฮเทอโรไซกัส ($wx^{RGD/RGD}$, $wx^{RGD/R4}$) (หัวข้อที่ 4.4.6.1 และ 4.4.6.2)

การจัดทำ graphical genotype แบบรายต้นหรือสายพันธุ์ (individual) ของประชากร F_3 จำนวน 30 สายพันธุ์ จำนวน 3 กลุ่ม ประกอบด้วย กลุ่ม R (Resistance) = กลุ่มข้าวมีความต้านทาน BPH ได้ดี, MR (Moderately resistance) = กลุ่มข้าวมีความต้านทาน BPH ปานกลาง และ S (Susceptibility) = กลุ่มข้าวที่อ่อนแอ BPH และข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุง จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13117-115-52 และ RGD13117-115-53 พบว่า ระหว่างตำแหน่ง RM589 ถึง RM588 ประกอบด้วย เครื่องหมาย RM589, RM8072, RM8074, RM586, SSR23, SSR24 และ RM588 ซึ่งเป็นตำแหน่งของยีน *Bph3* ไม่เกิดรีคอมบิเนชันระหว่างตำแหน่งของเครื่องหมายดีเอ็นเอบริเวณดังกล่าวเลยแม้แต่สายพันธุ์เดียว แต่กับพบว่า มีการเกิดรีคอมบิเนชันระหว่างตำแหน่งเครื่องหมาย RM19328 และ *Wx-Glu23* ซึ่งเป็นตำแหน่งที่อยู่ถัดลงมาจากเครื่องหมาย RM588 จากการเกิดรีคอมบิเนชันตรงตำแหน่ง RM19328 ทำให้ทราบว่าข้าวสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 ไม่ได้รับพันธุกรรมบริเวณดังกล่าวมาจากข้าวพันธุ์ Rathu Heenati ซึ่งสามารถสรุปได้ว่า ตำแหน่งของยีน *Bph3* อยู่บริเวณช่วงเครื่องหมาย RM589 ถึง RM588 โดยข้าวกลุ่ม (R) และ (MR) เป็นข้าวกลุ่มต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจะมีชิ้นส่วนพันธุกรรมที่ได้รับมาจากข้าวสายพันธุ์พ่อบริเวณตั้งแต่ตำแหน่งเครื่องหมาย RM589 ถึง RM588 ขณะที่กลุ่ม (S) จะไม่ได้รับพันธุกรรมตรงตำแหน่งดังกล่าว ส่วนตำแหน่งเครื่องหมาย RM19328 พบว่า กลุ่ม (R) และ (MR) มีบางสายพันธุ์ที่มีพันธุกรรมเหมือนข้าวสายพันธุ์แม่ (RM19328^{RGD/RGD}) และบางสายพันธุ์มีพันธุกรรมเป็นแบบเฮเทอโรไซกัส (RM19328^{RGD/R4}) ดังนั้น แสดงว่าชิ้นส่วนพันธุกรรมของสายพันธุ์พ่อตั้งแต่ตำแหน่ง RM19328 ลงไปจนถึง RM204 ไม่ว่าจะได้ชิ้นส่วนพันธุกรรมจากข้าวสายพันธุ์ใด จะไม่มีผลต่อความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ส่วนข้าวกลุ่ม (S) ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีความอ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จะไม่มีชิ้นส่วนพันธุกรรมของข้าวสายพันธุ์พ่อเลยตั้งแต่บริเวณตำแหน่ง RM589 จนถึง RM204 (ดังภาพที่ 4.15) ส่วนข้าวหอมเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุง RGD13117-115-52 และ RGD13117-115-53 มีพันธุกรรมตรงตำแหน่งยีน *Bph3* เหมือนสายพันธุ์พ่อตั้งแต่บริเวณตำแหน่ง RM589 ถึง RM588 โดยบริเวณช่วงระหว่างเครื่องหมายดีเอ็นเอทั้งสองข้างไม่พบการเกิดรีคอมบิเนชันเช่นกัน (ภาพที่ 4.15)



ภาพที่ 4.15 แสดง graphical genotype บริเวณตำแหน่งยีน *Bph3* และ *wx* บนโครโมโซม 6 ของข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุง (Aromatic glutinous introgression lines; AG-ILs) จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13117-115-52 และ RGD13117-115-52 ตามลำดับ และประชากร F_3 จำนวน 3 กลุ่ม ได้แก่ “R” (resistance), “MR” (moderately resistance) และ “S” (susceptibility) ตามลำดับ; (สีแดง) หมายถึง พันธุกรรมของสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57, (สีน้ำเงิน) หมายถึง พันธุกรรมของสายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25, (สีฟ้า) หมายถึง พันธุกรรมที่เป็นแบบเฮเทอโรไซกัสที่เหมือนทั้งสายพันธุ์พ่อและแม่, (สีเหลือง) หมายถึง พันธุกรรมของพันธุ์ Rathu Heenati ที่แตกต่างจากสายพันธุ์พ่อ และ (สีดำ) หมายถึง ตำแหน่งที่ไม่ได้รับการจีโนไทป์

4.5 อภิปรายผลการทดลอง

การปรับปรุงพันธุ์พืชในยุคปัจจุบันเป็นการนำองค์ความรู้ทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพเข้ามาช่วยในงานด้านปรับปรุงพันธุ์อย่างกว้างขวางแต่ยังใช้หลักการของการปรับปรุงพันธุ์แบบมาตรฐานเป็นแกนสำคัญในการพัฒนาสายพันธุ์ใหม่ (conventional breeding) โดยจะใช้ประโยชน์ของเครื่องหมายดีเอ็นเอมาเป็นเครื่องมือช่วยในการคัดเลือก เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการปรับปรุงพันธุ์ให้มีความแม่นยำ และลดระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ให้สั้นลง เช่น คัดเลือกได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของพืช มีความแม่นยำในการคัดเลือก ลดระยะเวลา และค่าใช้จ่ายในโครงการปรับปรุงพันธุ์ เป็นต้น อย่างไรก็ตาม การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้ MAS ยังคงมีปัจจัยสำคัญที่ต้องพิจารณา นั่นก็คือเครื่องหมายดีเอ็นเอที่นำมาใช้ในการคัดเลือกลักษณะเป้าหมายต้องมีการทดสอบในฐานพันธุกรรมอื่นหรือคู่ผสมอื่น (markers validation) โดยระยะห่างระหว่างเครื่องหมายดีเอ็นเอกับยีนเป้าหมายซึ่งควรมีระยะไม่เกิน 5 เซ็นติเมอร์แกน (cM) และเครื่องหมายดีเอ็นเอจะต้องแยกความแตกต่างระหว่างพันธุ์พ่อแม่ได้ชัดเจน (Collard and Mackill, 2008) การคัดเลือกจึงจะมีความแม่นยำและน่าเชื่อถือ โดยเฉพาะลักษณะคุณภาพที่ถูกควบคุมด้วยยีนหลัก (major gene) จำนวนไม่มาก อาจจะเพียงยีนเดียวหรือสองถึงสามยีน เช่น ลักษณะความหอมควบคุมโดยยีน *badh2* บนโครโมโซม 8 ลักษณะข้าวเหนียวและข้าวเจ้าควบคุมโดยยีน *Waxy* บนโครโมโซม 6 และลักษณะทนน้ำท่วมฉับพลันที่ควบคุมโดยยีน *Sub1* บนโครโมโซม 9 เป็นต้น แต่ถ้าหากเป็นลักษณะทางปริมาณที่ถูกควบคุมด้วยยีนจำนวนหลายคู่ (poly genes) ตัวอย่างเช่นลักษณะต้านทานโรคและแมลง ได้แก่ ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในการคัดเลือก QTLs อาจจะไม่มีความคลาดเคลื่อน ดังนั้น จึงมีการใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์ทั้งสองวิธี (conventional breeding และ MAS) ร่วมกันเพื่อให้ได้มาซึ่งสายพันธุ์ใหม่ดังที่ดังวัตถุประสงค์ไว้ ซึ่งจะเรียกการปรับปรุงพันธุ์แบบนี้ว่า “การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกร่วมกับการคัดเลือกด้วยลักษณะฟีโนไทป์ (combined marker-assisted selection)” คือ การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใกล้ชิดกับลักษณะเป้าหมายช่วยในการติดตามยีนที่ควบคุมลักษณะเป้าหมายนั้นๆ และใช้ลักษณะฟีโนไทป์ที่ปรากฏของลักษณะเป้าหมายนั้นๆ คัดเลือกร่วมด้วย การใช้วิธีการคัดเลือกร่วมทั้งสองวิธีดังกล่าวจะมีความก้าวหน้าในการคัดเลือก (genetic gain) มากกว่าการคัดเลือกโดยอาศัยลักษณะฟีโนไทป์หรือการคัดเลือกโดย MAS วิธีใดวิธีหนึ่งเพียงวิธีเดียว (Collard and Mackill, 2008; สุริพร เกตุงาม, 2557)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสายพันธุ์ข้าวเหนียวหอมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มียีน *Bph3* โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก ซึ่งเป็นการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกลักษณะเป้าหมาย 3 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) ลักษณะข้าวเหนียว (*wx*) และลักษณะความหอม (*badh2*) ตามลำดับ ร่วมกับการคัดเลือกลักษณะฟีโนไทป์ในที่นี้คือ การประเมินลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล การคัดเลือกลักษณะเป้าหมายประกอบด้วย 1) ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) ใช้เครื่องหมาย SSR ที่ขนานหัวท้ายกับยีน *Bph3* ซึ่งได้มีการวางตำแหน่งบนโครโมโซม 6 ระหว่างเครื่องหมาย RM589-RM588 (Jairin et al., 2007) และ เพื่อให้มีความแม่นยำมากขึ้นจึงเพิ่มเครื่องหมายดีเอ็นเอระหว่างสองเครื่องหมายที่ขนานหัวท้ายดังกล่าวจำนวน 2 เครื่องหมาย ได้แก่ RM586 และ SSR24 (หน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว)

2) ลักษณะข้าวเหนียว (*wx*) ใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อยีน (gene specific marker) คือ *Wx-Glu23* โดยเครื่องหมายดังกล่าวพัฒนาจากยีน *Waxy* บนโครโมโซม 6 บริเวณ exon 2 ที่พบว่าการเพิ่มเข้ามาของนิวคลีโอไทป์จำนวน 23 bp (23 insertion in exon2 on chromosome 6) ในบริเวณตำแหน่งยีน *Waxy* บนโครโมโซม 6 (Wanchana et al., 2003a)

3) ลักษณะความหอม (*badh2*) บนโครโมโซม 8 เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ในการคัดเลือก คือ Aromarker ซึ่งเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อสูง ซึ่งได้ทำการพัฒนาจากการยีน *badh2* บนโครโมโซม 8 ที่มีการขาดหายไปของนิวคลีโอไทป์จำนวน 8 bp (8 bp deletion in exon7 on chromosome 8) ในบริเวณ exon7 ของยีนความหอม *badh2* บนโครโมโซม 8 (Wanchana et al., 2005)

4.5.1 การตรวจสอบเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์พ่อแม่ เพื่อใช้สำหรับการคัดเลือกลักษณะเป้าหมายในประชากรข้าวลูกผสม

เนื่องจากข้าวสายพันธุ์แม่พ่อ มีลักษณะเป้าหมายที่แตกต่างกันซึ่งมีลักษณะที่ศึกษา ได้แก่ ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) ลักษณะข้าวเหนียว (*wx*) และลักษณะความหอม (*badh2*) มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซม 6, 6 และ 8 ตามลำดับ โดยเฉพาะลักษณะข้าวเหนียว และลักษณะความหอม ทั้งสองลักษณะนี้ถูกควบคุมโดยยีนหลัก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องแยกความแตกต่างของข้าวทั้งสองสายพันธุ์ให้ชัดเจน จากการตรวจสอบเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ในการคัดเลือกลักษณะข้าวเหนียว และลักษณะความหอม ได้แก่ *Wx-Glu23* และ Aromarker พบว่า ทั้งสองเครื่องหมายสามารถแยกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ RGD11259-1-9-25 และ R4-4-2-143-18-57 ได้ ซึ่งให้ขนาดของดีเอ็นเอที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน (ตารางที่ 4.5) ซึ่งมีการรายงานการใช้ประโยชน์จากเครื่องหมายดีเอ็นเอทั้งสองในการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่เป็นข้าวเหนียว และมีกลิ่นหอมอย่างแพร่หลาย (Katengam et al., 2011; Jantaboon et al., 2011; Khanthong et al., 2012; กมลวรรณ เรียบร้อย, 2554) ซึ่งการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีกลิ่นหอมคล้ายข้าวดอกมะลิ 105 โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ (Aromarker) ที่ประสบความสำเร็จ ได้แก่ ข้าวหอมวาริน หรือ Jasmine IR57514 (Katengam et al., 2011) และข้าวพม่าพันธุ์ Manawthukha (Yi et al., 2009) เป็นต้น

ส่วนลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) บนโครโมโซม 6 ตำแหน่งที่คัดเลือก ปัจจุบันยังไม่ทราบหน้าที่ของยีนและตำแหน่งที่ชัดเจนรู้เพียงแค่บริเวณที่มียีน เรียกได้ว่า QTLs จึงจำเป็นต้องใช้เครื่องหมายที่ขอบห้วท้ายของ QTLs ด้านทานลักษณะดังกล่าว โดยเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ในการคัดเลือกมีทั้งหมด 4 เครื่องหมาย ได้แก่ RM589 RM586 SSR24 และ RM588 พบว่า เครื่องหมายดีเอ็นเอทั้ง 4 เครื่องหมายดังกล่าว สามารถแยกความแตกต่างระหว่างข้าวสายพันธุ์พ่อแม่ได้ ซึ่งให้ขนาดของดีเอ็นเอที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน (ตารางที่ 4.5) จากการรายงานพบว่า เครื่องหมาย RM589 ที่ใกล้ชิดกับยีน *Bph3* ได้มีการนำไปใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ให้ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประเทศไทย (Jairin et al., 2009; Toojida et al., 2005) ส่วนอีก 3 เครื่องหมาย ก็ยังคงใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มียีน *Bph3* บนโครโมโซม 6 ของหน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว

เนื่องจากลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ควบคุมโดยยีน *Bph3* นั้น เป็นเพียงตำแหน่ง QTLs ถ้าหากใช้เพียงเครื่องหมาย RM589 เพียงตำแหน่งเดียวอาจทำให้ความแม่นยำในการคัดเลือกลดลง เพราะอาจเกิด recombination ระหว่างเครื่องหมาย RM589 และยีน *Bph3* บนโครโมโซม 6 ได้ ดังนั้น เพื่อให้เกิดความแม่นยำในการคัดเลือกลักษณะต้านทานดังกล่าวควรใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีตำแหน่งขนาดหัวท้ายยีน *Bph3* เพื่อลดโอกาสการเกิด recombination บริเวณดังกล่าว เพื่อให้การคัดเลือกมีประสิทธิภาพสูงสุด (Collard and Mackill, 2008; สุริพร เกตุงาม, 2557) แต่ถ้าหากเพิ่มเครื่องหมายดีเอ็นเอช่วงระหว่าง RM589-RM588 ได้แก่ RM589 RM586 SSR24 และ RM588 จะทำให้การคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ถูกควบคุมด้วยยีน *Bph3* บนโครโมโซม 6 มีประสิทธิภาพและมีความแม่นยำสูงสุด แต่ทั้งนี้ต้องมีค่าใช้จ่ายที่สูงขึ้น ดังนั้น ต้องพิจารณาความพร้อมของหน่วยงานนั้นๆ ด้วย หรืออาจใช้ลักษณะฟีโนไทป์เข้ามาใช้ในการคัดเลือกในลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการคัดเลือก เช่น การประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประชากรที่มีการกระจายตัวสูงช่วงรุ่นที่ 2 เพื่อทำการคัดเลือกต้นข้าวที่ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เป็นต้น

4.5.2 การแยก linkage drag ระหว่างยีน *Wx^a* และยีน *Bph3* บนโครโมโซม 6

ยีน *Bph3* มีตำแหน่งอยู่ใกล้ชิดหรือติดกับอัลลีล *Wx^a* ของยีน *Waxy* บนโครโมโซม 6 ดังนั้น ส่วนใหญ่หากปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลด้วยยีน *Bph3* จะได้ข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสสูง แต่ถ้าหากจะปรับปรุงพันธุ์ข้าวเหนียวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มียีน *Bph3* จำเป็นต้องแยก linkage drag ระหว่างยีนดังกล่าว เพื่อค้นหาต้นข้าวที่เกิดการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนพันธุกรรมของสายพันธุ์พ่อแม่ในการแบ่งตัวของเซลล์ระยะไมโอซิสให้ได้มา ซึ่งต้นข้าวที่มียีนเป้าหมายจากสายพันธุ์พ่อแม่อย่างละหนึ่งยีนบนโครโมโซมใดโครโมโซมหนึ่งของจีโนมพืชนั้นๆ ดังนั้น ประชากรที่ใช้ในการแยกยีนสองยีนที่มีตำแหน่งใกล้ชิดกันบนโครโมโซม จำเป็นต้องมีการกระจายตัวทางพันธุกรรมที่สูงหรือประชากรที่มีการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนโครโมโซมของพ่อแม่มากที่สุด เช่น ช่วงรุ่นที่ 2 (F_2) และ ลูกผสมกลับ BC รุ่นที่ F_2 เป็นต้น ขนาดของประชากรที่ใช้จะต้องมีขนาดใหญ่เพียงพอกับโอกาสที่จะเกิดรีคอมบิเนชันระหว่างยีนทั้งสอง ซึ่งขนาดของประชากรที่ใช้นั้นจะขึ้นอยู่กับความเหมาะสมต่างๆ งบประมาณในการดำเนินงาน และระยะห่างระหว่างยีนทั้งสองบนโครโมโซม จากเหตุผลที่กล่าวมานี้ถือเป็นการเพิ่มโอกาสในการพบต้นข้าวที่มียีนเป้าหมาย สำหรับงานวิจัยนี้ ได้ทำการแยก linkage drag ระหว่างอัลลีล *Wx^a* และ *Bph3* เพื่อให้ได้ข้าวเหนียวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3* และ *wx*) โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) และลักษณะข้าวเหนียว (*wx*) ร่วมกับการคัดเลือกลักษณะฟีโนไทป์ ณ ที่นี้คือ การประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพื่อให้การคัดเลือกต้นข้าวที่มียีนเป้าหมายมีความแม่นยำสูงสุด (Collard and Mackill, 2008; สุริพร เกตุงาม, 2557) และได้มาซึ่งต้นข้าวที่มีพันธุกรรมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) จากสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 และมีพันธุกรรมข้าวเหนียว (*wx*) จากสายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25

การแยก linkage drag เป็นการแยกอัลลีลระหว่าง *Wx^a* และ *Bph3* ของสายพันธุ์พ่อที่เกิดจากการแลกเปลี่ยนชิ้นส่วนของโครโมโซมตรงบริเวณดังกล่าวจากสายพันธุ์พ่อแม่ โดยใช้ประชากร F_2 ที่มีขนาดประชากรที่ใหญ่ เป็นการเพิ่มโอกาสในการพบต้นข้าวที่มียีน *Bph3*^{R4/R4} และ *wx*^{RGD/RGD}

หรือ $wx^{RGD/R4}$ นอกจากใช้ประชากร F_2 แล้วยังคงใช้ประชากรข้าวที่มีขนาดใหญ่ถึง 1,140 ต้น โดยต้นข้าวทุกๆ ต้น ได้มาจากการผสมตัวเองของต้นข้าวรุ่น F_1 จำนวน 1 ต้น เพื่อให้เพิ่มโอกาสในการเกิด recombination สำหรับแยก linkage drag ระหว่างยีน Wx^a และ $Bph3$ เนื่องจากยีนทั้งสองมีตำแหน่งอยู่ใกล้กันมาก ซึ่งทั้งสองยีนมีระยะห่างกันประมาณ 380 kb ซึ่งถือเป็นระยะทางของยีนสองยีนที่มีความใกล้ชิดกันมาก (Jairin et al., 2009) ประกอบกับ ระยะทางทางพันธุกรรมบนจีโนม ซึ่งมีหน่วยเป็น หน่วยแผนที่ หรือ เซ็นติมอร์แกน (cM) โดยที่ 1 cM มีระยะทางประมาณ 300 kb ดังนั้น โอกาสที่ยีนเป้าหมายทั้ง 2 ยีน (Wx^a และ $Bph3$) จะเกิด recombination มีโอกาสเพียงแค่ 1.02 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งในทางสถิติถือว่ามีโอกาสที่จะได้ต้นข้าวที่มีตำแหน่งยีน $Bph3$ เป็นแบบโฮโมไซกัส ($Bph3^{R4/R4}$) และมีตำแหน่งยีน wx เป็นข้าวเหนียวที่มีรูปแบบอัลลีลเป็นโฮโมไซกัสและเฮเทอโรไซกัส ($wx^{RGD/RGD}$ และ $wx^{RGD/R4}$) น้อยมาก ในขณะที่เดียวกันประชากร F_2 ที่ใช้ต้องมีขนาดที่ใหญ่มากพอ เพื่อเพิ่มโอกาสในการค้นพบต้นข้าวที่มียีนเป้าหมายที่ต้องการ ผลจากการทดสอบปฏิกิริยาความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F_2 จำนวน 1,140 ต้น จากนั้นทำการจีโนไทป์ต้นข้าวที่มีชีวิตรอดโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใกล้ชิดกับยีนเป้าหมายทั้งสอง พบว่า ต้นข้าวที่เกิด recombination ระหว่างยีน $Bph3$ และ Wx^a ที่มียีน $Bph3$ เป็นแบบโฮโมไซกัส ($Bph3^{R4/R4}$) และมียีน wx เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส ($wx^{RGD/R4}$) จำนวน 6 ต้น จากประชากร F_2 ที่มีชีวิตรอดจำนวน 461 ต้น ของต้นข้าวที่ทดสอบทั้งหมด 1,140 ต้น ทำให้พบว่าโอกาสในการได้ต้นข้าวที่มีการเกิด recombination ระหว่างยีนทั้งสองดังกล่าวเกิดได้มากกว่า Jairin et al. (2009) ที่ได้ทำการแยก linkage drag ระหว่าง $Bph3$ และอัลลีล Wx^a เพื่อให้ได้ข้าวที่มียีน $Bph3$ และอัลลีล Wx^b โดยใช้ประชากรข้าว BC₃F₂ ระหว่างคู่ผสม Rathu Heenati และ KDML105 จำนวน 2,343 ต้น ใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกยีนทั้งสองบนโครโมโซม 6 สามารถคัดเลือกต้นข้าวที่มียีนเป้าหมายตามที่ต้องการเพียงแค่ 1 ต้น จากต้นข้าวที่มีชีวิตรอดจำนวน 200 ต้น ในประชากรทั้งหมด 2,343 ต้น

สาเหตุในการค้นพบต้นข้าวจากการ linkage drag ระหว่างยีน $waxy$ และ $Bph3$ บนโครโมโซม 6 ที่แตกต่างจากการศึกษาของ Jairin et al. (2009) อาจเป็นเพราะในการประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลครั้งนี้ได้ใช้ต้นข้าวประชากร F_2 ที่ได้จากการผสมตัวเองของต้น F_1 เพียงต้นเดียว จึงทำให้โอกาสในการเกิด recombination ตรงตำแหน่งยีนทั้งสองมีโอกาสมากกว่า และอีกประการหนึ่งคือ จำนวนต้นรอดชีวิตจากการทดสอบปฏิกิริยาความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีจำนวนที่แตกต่างกัน ในการดำเนินงานจะคัดเลือกลักษณะฟีโนไทป์ (ประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล) ก่อนการคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ กล่าวคือ ทำการทดสอบระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยใช้ประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายต้นข้าว จากนั้นคัดเลือกเฉพาะต้นที่รอดชีวิตแล้วนำต้นเหล่านี้มาคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Jairin et al. (2009) สาเหตุที่มีการใช้การคัดเลือกโดยลักษณะฟีโนไทป์ก่อน เพื่อลดค่าใช้จ่ายในการทำจีโนไทป์โดยเครื่องหมายดีเอ็นเอ เพราะประชากรข้าว F_2 มีขนาดใหญ่ และอีกประการหนึ่งคือ ต้นข้าวที่ใช้ทดสอบเป็นข้าวที่เกิดจากการผสมระหว่างสายพันธุ์ที่ต้านทานและสายพันธุ์ที่อ่อนแอ ดังนั้น รุ่นลูกที่ได้จะมีการกระจายตัวตั้งแต่ต้นที่ต้านทานไปจนถึงต้นที่อ่อนแอ เมื่อทำการทดสอบระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยปล่อยแมลงเข้าทำลายจึงทำให้เหลือเฉพาะต้นที่รอดชีวิต ซึ่งเป็นการคัดกรองต้น F_2 ที่มีระดับความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ย

กระโดดสีน้ำตาลในเบื้องต้น จากนั้นนำต้น F_2 เหล่านั้นมาตรวจสอบโดย MAS ซึ่งต้นข้าวที่ชีวิตรอดนี้ คงต้องมีพันธุกรรมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากสายพันธุ์พ่อแม่ที่มีความต้านทาน การคัดเลือก โดยใช้ลักษณะฟีโนไทป์ก่อนการคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอจึงมีประสิทธิภาพมากเมื่อใช้ร่วมกับการคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ ผลจากการทดลองดังกล่าวชี้ให้เห็นถึงประสิทธิภาพของการนำเครื่องหมายดีเอ็นเอมาช่วยในการคัดเลือกในกรณีที่เกิด linkage drag ซึ่งวิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม อาจต้องใช้ระยะเวลาและปริมาณของประชากรข้าวค่อนข้างมากหรือประชากรที่ทดสอบขนาดใหญ่ เพื่อจะจัดยีนที่ไม่ต้องการออกจากยีนที่ควบคุมลักษณะเป้าหมายที่เราสนใจ โอกาสที่จะได้สายพันธุ์ที่ต้องการก็น้อยลง ตัวอย่างเช่น ในการใช้ประโยชน์จากยีนต้านทาน *Bph3* สายพันธุ์ข้าวที่คาดว่าจะได้รับยีนต้านทาน *Bph3* ส่วนมากจะเป็นพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสค่อนข้างสูง เนื่องจากยีนที่ควบคุมลักษณะทั้งสองมีตำแหน่งที่ใกล้ชิดกันมาก เช่น IR72, IR56, IR13540-56-3-2-1 และ พิษณุโลก 2 เป็นต้น (จิรพงศ์ ไกรจันทร์ และคณะ, 2552) ดังนั้น การคัดเลือกโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ จึงเพิ่มความแม่นยำและเพิ่มโอกาสที่จะได้สายพันธุ์ที่ต้องการ อีกทั้งยังลดระยะเวลาจากสามารถคัดเลือกลักษณะที่เกี่ยวข้องทางการเกษตรอื่น ๆ ในระยะกล้าได้

ในการแยก linkage drag โดยการนำเอาเครื่องหมายดีเอ็นเอเข้ามาช่วยในการคัดเลือนอกจากในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ประสบความสำเร็จแล้ว ยังมีในอีกหลายลักษณะที่ประสบความสำเร็จเช่นเดียวกัน เช่น การปรับปรุงพันธุ์ข้าว Koshihikari ให้เป็นข้าวต้นเตี้ยโดยการถ่ายยีน *sd1* บนโครโมโซม 1 จากข้าวสายพันธุ์ Jukkoku ซึ่งเป็นยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์ gibberellin (GA) ทำให้ข้าวต้นเตี้ย ทำการปรับปรุงโดยการผสมกลับจนถึง BC₈F₂ โดยบริเวณที่ถ่ายยีน *sd1* ที่ทำการคัดเลือกจะเพิ่มเครื่องหมายดีเอ็นเอเข้าไปช่วยคัดเลือกจำนวน 51 เครื่องหมาย เพื่อจัดยีนที่ไม่ต้องการในบริเวณดังกล่าวออก ทำให้ได้สายพันธุ์ปรับปรุงที่มีพันธุกรรมเหมือนสายพันธุ์ Koshihikari ประมาณ 99.8 เปอร์เซ็นต์ (Tomita, 2009) นอกจากนี้ยังมีการรายงานการแยก linkage drag ในลักษณะอื่น ๆ ของข้าว ได้แก่ การคัดเลือกยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งในการปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีผสมกลับหลาย ๆ ครั้ง เพื่อทำการถ่ายยีน *Xa4 + xa5 + Xa2* จากข้าว indica สายพันธุ์ IRBB57 เข้าสู่ข้าว Japonica สายพันธุ์ Mangeumbyeo (Suh et al., 2013) และการรวมยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง (*Xa21* และ *xa13*) และยีนควบคุมลักษณะต้นเตี้ย (*sd1*) จากข้าวสายพันธุ์ PR106-P2 เข้าสู่ข้าว Basmati (Type 3) เป็นต้น (Rajpurohit et al., 2011)

4.5.3 การประเมินประสิทธิภาพของการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกในประชากร F_3 และ F_4 ตามลำดับ

จากการทดสอบปฏิบัติการความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะกล้าที่ข้าวอายุ 7 วัน เพื่อยืนยันประสิทธิภาพของการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกในประชากร F_2 จำนวน 6 สายพันธุ์ ที่มีอัลลีลยีน *Bph3* เป็นแบบโฮโมไซกัส และอัลลีลของยีน *wx* เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส (*Bph3*^{R4/R4}, *wx*^{RGD/R4}) สามารถคัดเลือกต้นข้าวประชากร F_3 ได้จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13115-36, RGD13115-115 และ RGD13115-330 จากทั้งหมดจำนวน 6 สายพันธุ์ จากผลการทดลองนี้ บ่งชี้ว่ายีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากข้าวพันธุ์ Rathu Heenati อาจมีตำแหน่งยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมากกว่าหนึ่งตำแหน่งนอกเหนือจากยีน *Bph3* บนโครโมโซม 6 ที่งานวิจัยนี้ได้ทำการคัดเลือก จากเหตุผลดังกล่าวจึงทำให้ข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุงประชากร F_3

ที่มียืนต้านทาน *Bph3* เป็นแบบโฮโมไซกัส ($Bph3^{R4/R4}$) ทั้ง 6 สายพันธุ์ ไม่สามารถผ่านการคัดเลือกได้ ทุกสายพันธุ์เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 และอีกสาเหตุหนึ่งที่ต้นข้าวประชากร F_3 ที่มีอัลลีลของยืนเป้าหมายทั้งสองลักษณะ จำนวน 6 สายพันธุ์ ไม่สามารถผ่านการคัดเลือกได้ทุกสายพันธุ์ คือ ยืนต้านทาน *Bph3* ยังไม่แสดงออกในต้นข้าวอายุ 7 วัน หรือแสดงออกไม่เต็มที่เมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลาย เพราะจากการใช้ต้นข้าวประชากร F_3 จำนวน 3 สายพันธุ์ข้างต้น (RGD13115-36, RGD13115-115 และ RGD13115-330) ที่ผ่านการคัดเลือกมาประเมินระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลซ้ำแบบรายต้นที่อายุข้าว 7 วัน โดยการทดลองใช้ต้นข้าวทดสอบทั้งหมด จำนวน 120 ต้น/สายพันธุ์ พบว่า ต้นข้าวทดสอบที่อายุ 7 วัน เมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายต้นข้าวทุกต้นตายหมด ซึ่งจากการทดลองนี้อาจเป็นประเด็นหนึ่งที่อายุข้าวทดสอบมีผลต่อระดับความต้านทานของยืน *Bph3* บนโครโมโซม 6 ดังนั้น จึงต้องมีการศึกษาและหาเหตุผลมายืนยันต่อไปในอนาคต

จากการประเมินระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแบบกว้างในประชากร F_4 ของข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13115-115-52 และ RGD13115-115-53 ที่มีอัลลีลของยืนเป้าหมายทั้งสามลักษณะ โดยใช้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 4 ประชากร ใช้ต้นข้าวทดสอบจำนวน 2 อายุ ได้แก่ 7 และ 25 วัน จากผลการประเมินปฏิกิริยาความต้านทานในครั้งนี้ ชี้ให้เห็นถึงประเด็นสำคัญสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโดยใช้พันธุ์กรรมต้านทานยืน *Bph3* บนโครโมโซม 6 ดังที่จะกล่าวไปในหัวข้อต่อไป

4.5.4 ผลของอายุข้าวต่อลักษณะการแสดงออกของระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงที่มียืน *Bph3*

ผลของอายุข้าวต่อการแสดงออกของระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของยืน *Bph3* บนโครโมโซม 6 ในสายพันธุ์ปรับปรุงที่อัลลีลของยืน *Bph3* เป็นแบบโฮโมไซกัส ($Bph3^{R4/R4}$) จำนวน 6 สายพันธุ์ ของประชากร F_4 ประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะต้นกล้าที่อายุข้าว 7 วัน และ ระยะแตกกอที่อายุข้าว 25 วัน โดยใช้ประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 4 ประชากร พบว่า การประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่อายุข้าว 7 วัน มีความแปรปรวนของระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสูงทั้ง 4 ประชากรแมลง ขณะที่เมื่อใช้ข้าวทดสอบที่มีอายุ 25 วัน ระดับความต้านทานของข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงที่มียืน $Bph3^{R4/R4}$ ค่อนข้างคงที่ หรือมีความแปรปรวนของระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลต่ำ อย่างไรก็ตาม ณ อายุข้าว 7 วัน พบว่า ข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงที่ไม่มียืน $Bph3^{RGD/RGD}$ และพันธุ์ตรวจสอบ CNT1 (ไม่มียืน *Bph3*) สามารถผ่านเกณฑ์การคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล แต่ถ้าใช้ต้นข้าวทดสอบที่อายุข้าว 25 วัน สายพันธุ์ข้าวที่ไม่มียืน *Bph3* เหล่านั้นจะไม่สามารถผ่านเกณฑ์การคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ ซึ่งแสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่าการใช้ต้นข้าวทดสอบในระยะแตกกอที่อายุข้าว 25 วัน สามารถแยกระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลระหว่างกลุ่มข้าวสายพันธุ์ที่มียืน *Bph3* และไม่มียืน *Bph3* บนโครโมโซม 6 ออกจากกันอย่างชัดเจน

จากการหาความสัมพันธ์ของระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ทำการทดสอบโดยใช้อายุข้าวที่แตกต่างกัน สรุปได้ว่า หากทำการคัดเลือกข้าวที่มียืน *Bph3* โดยใช้ข้าวอายุ 7 วัน อาจทำให้การคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีความคลาดเคลื่อนหรือผิดพลาดได้

และทำให้ลดโอกาสที่จะได้ต้นข้าวที่มีลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากยีน *Bph3* ที่แท้จริง แสดงให้เห็นว่า ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ถูกควบคุมโดยยีน *Bph3* บนโครโมโซม 6 น่าจะเป็นยีนที่มีการแสดงออกแบบ Growth stage dependent resistance อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมอย่างละเอียด เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ชัดเจนต่อไป ดังนั้น ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ได้รับพันธุ์กรรม *Bph3* บนโครโมโซม 6 จากข้าวสายพันธุ์ Rathu Heenati ควรคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ณ ระยะแตกกอ ที่อายุข้าว 25 วัน ผลการทดลองในงานวิจัยนี้มีความสอดคล้องกับการทดลองโดยใช้ข้าว 2 อายุ ที่มีการรายงานในปี 2007 และ 2009 โดย Jain et al. ซึ่งได้ทำการศึกษาระดับความต้านทานของข้าวสายพันธุ์ Rathu Heenati เพื่อจะใช้ในการค้นหา QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสายพันธุ์ดังกล่าวโดยทำการศึกษโดยใช้ข้าวจำนวน 2 อายุ หรือ 2 ระยะการเจริญเติบโต ได้แก่ ระยะกล้าที่ข้าวอายุ 7 วัน หลังเพาะเมล็ด และ ระยะแตกกอที่ข้าวอายุ 20 - 25 วัน พบว่า ระดับความต้านทานของสายพันธุ์ Rathu Heenati มีระดับความต้านทานที่คงที่ในข้าวอายุ 20 วัน หลังปลูกลงแปลง 7, 15 และ 23 วัน ตามลำดับ ส่วนข้าวอายุ 7 วัน พบมีความแปรปรวนของระดับความต้านทานเมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายเป็นเวลาหลายวัน ลักษณะการแสดงออกของระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของยีน *Bph3* บนโครโมโซม 6

จากการตั้งสมมุติฐานเกี่ยวกับการแสดงออกของยีน *Bph3* บนโครโมโซม 6 ที่ยืนดังกล่าว น่าจะมีการแสดงออกของยีนแบบ Growth stage dependent resistance ซึ่งจะมีการแสดงออกในช่วงการเจริญเติบโตของข้าวระยะใดระยะหนึ่ง รูปแบบการแสดงออกของยีนดังกล่าวมีความคล้ายคลึงกับการแสดงออกของยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง *Xa21* บนโครโมโซม 11 ที่มีการรายงานว่า ยีน *Xa21* จะมีความอ่อนแอต่อเชื้อสาเหตุโรคในระยะต้นกล้า (juvenile two-leaf stages) โดยจะมีระดับความต้านทานเต็มที่หรือมีการแสดงออกของระดับความต้านทานเต็มที่ 100 เปอร์เซ็นต์ ในระยะที่ข้าวมีการเจริญเติบโตเต็มที่หรือระยะข้าวออกดอก (adult leaf 9/10 stage) (Century et al., 1999) และต่อมา Win et al. (2012) ได้ศึกษาการแสดงออกของยีน *Xa21* ในระยะกล้า โดยถ่ายยีน *Xa21* จากข้าวสายพันธุ์ IR1188 เข้าสู่ข้าวสายพันธุ์ KDML105 ด้วยวิธีผสมกลับ และพบว่ายีนต้านทานดังกล่าวไม่มีการแสดงออกในระยะต้นกล้าเช่นกัน

4.5.5 ปฏิกริยาสัมพันธ์ของระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลระหว่างข้าวเหนียวและข้าวเจ้าเมื่อมียีน *Bph3* บนโครโมโซม 6

จากการประเมินระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประชากร F_3 จำนวน 3 สายพันธุ์ (RGD13115-36 RGD13115-115 และ RGD13115-330) ที่มีอัลลีลของยีน *Bph3* เป็นแบบโฮโมไซกัส และมีอัลลีลของยีน *wx* เป็นแบบเฮเทอโรไซกัส ($Bph3^{R4/R4}$, $wx^{RGD/R4}$) โดยแกะเมล็ดข้าวกล้อง และคัดเลือกเอาเฉพาะเมล็ดที่เป็นข้าวเหนียว จำนวน 120 เมล็ด/สายพันธุ์ เพื่อนำมาประเมินความต้านทานกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทำให้เป็นประเด็นหนึ่งในการศึกษาหรือเกิดสมมุติฐานว่า ข้าวเหนียวที่มียีน $Bph3^{R4/R4}$ มีระดับความต้านทานต่ำกว่ากับข้าวเจ้าที่มียีน $Bph3^{R4/R4}$ เนื่องจากการทดลองนี้ ต้นข้าวทดสอบประชากร F_3 ที่ทุก ๆ ต้นเป็นข้าวเหนียวที่อัลลีลเป็นแบบโฮโมไซกัส และมีอัลลีลของยีน *Bph3* เป็นแบบโฮโมไซกัส ($wx^{RGD/RGD}$, $Bph3^{R4/R4}$) เมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลาย พบว่า ต้นข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุงที่ถูกทำลายจะตายหมด ซึ่งผลจาก

การประเมินระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 4 ประชากรแมลง ในประชากรข้าว F₄ ชี้ให้เห็นว่า ข้าวเหนียวสายปรับปรุงที่มียืน *Bph3* และข้าวเจ้าสายพันธุ์ปรับปรุงที่มียืน *Bph3* มีระดับความต้านทานที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ $P>0.05$ (ตารางที่ 4.9) เมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้ง 4 ประชากร เข้าทำลาย ดังนั้น แสดงว่า ยีนควบคุมลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) และยีนควบคุมลักษณะข้าวเหนียว (*wx*) บนโครโมโซม 6 ไม่มีปฏิสัมพันธ์กัน และไม่มีอิทธิพลของการแสดงออกของยีนแบบข่มข้ามคู่ (epistasis) ซึ่งก็สอดคล้องกับ Jairin et al. (2007) ที่มีการรายงานการถ่ายยีนต้านทาน *Bph3* บนโครโมโซม 6 จากข้าวสายพันธุ์ PTB33 เข้าสู่ข้าวเหนียว กข6 ทำให้สายพันธุ์ข้าวเหนียว กข6 มีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประเทศไทย

4.5.6 ปฏิกริยาสัมพันธ์ระหว่างยีน *Bph3* กับประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

จากการประเมินระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแบบกว้างโดยใช้ข้าวอายุ 25 วัน และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 4 ประชากร พบว่า ลักษณะต้านทานของยีน *Bph3* มีความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้ง 4 ประชากร แต่เมื่อทำการทดสอบความต้านทานกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร กำแพงเพชร พบว่า ไม่สามารถแยกความแตกต่างของระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในกลุ่มข้าวที่มียืน *Bph3* และไม่มียืน บนโครโมโซม 6 ได้ โดยข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงที่มียืน *Bph3* ทั้งที่เป็นข้าวเจ้าและข้าวเหนียว จำนวน 6 สายพันธุ์ และ สายพันธุ์ไม่มียืน *Bph3* ที่เป็นข้าวเหนียว จำนวน 1 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13117-175(Non-*Bph3*) และสายพันธุ์ตรวจสอบที่ไม่มียืน *Bph3* ได้แก่ CNT1 สายพันธุ์ทั้งหมดมีระดับความต้านทานไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อประเมินตามวิธี Standard Evaluation System for IRRI แต่เมื่อสังเกตอัตราการเจริญเติบโตของต้นข้าวพบว่า สายพันธุ์ที่มียืน *Bph3* จะมีการเจริญเติบโตทั้งด้านความสูงและขนาดของใบที่เป็นปกติ แต่สายพันธุ์ที่ไม่มียืน *Bph3* การเจริญเติบโตของต้นข้าวจะมีลักษณะต้นเตี้ยและมีขนาดของใบเล็กกว่าปกติ อาจจะเป็นผลจากอิทธิพลของกลไกความต้านทานของยีน *Bph3* โดย วิศรุต สุขเกตุด และคณะ (2553) รายงานว่า ยีนต้านทาน *Bph3* มีกลไกความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ทั้ง 3 กลไก คือ ความชอบของแมลงในการใช้พืชอาศัย (anixenosis) การรอดชีวิตของแมลงบนพืชอาศัย (antibiosis) และความทนทานของพืชต่อการดูดกินของแมลง (tolerance) จากกลไกทั้งสามจึงทำให้ข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงที่มียืนต้านทาน *Bph3* มีการเจริญเติบโตปกติ ดังนั้น จึงทำการศึกษาเพิ่มเติมเพื่อทำการแยกความแตกต่างของข้าวทั้งสองกลุ่ม โดยการใช้น้ำหนักสด และ น้ำหนักแห้ง เป็นเกณฑ์ช่วยในการคัดเลือกข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่า สายพันธุ์ปรับปรุงที่มียืน *Bph3* มีน้ำหนักสด และ น้ำหนักแห้ง ที่ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) กับสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 ส่วนสายพันธุ์ปรับปรุงที่ไม่มียืน *Bph3* จะมีน้ำหนักสด และ น้ำหนักแห้งที่ต่ำกว่าสายพันธุ์พ่อและต่ำกว่าสายพันธุ์ปรับปรุงทั้งที่มียืน *Bph3* ดังนั้น การคัดเลือกข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร กำแพงเพชร ควรใช้น้ำหนักแห้ง มาเป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลหรือเพิ่มความละเอียดคะแนนความเสียหายของต้นข้าวที่เกิดจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลให้มีความละเอียดมากยิ่งขึ้น เพื่อให้สามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มข้าวที่มียืนและไม่มียืน *Bph3* บนโครโมโซม 6 (ติดต่อส่วนตัว: ดร. จีรพงศ์ ไกรรินทร์)

จากผลการทดลองพบว่า ข้าวสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 น่าจะมีพันธุกรรมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตำแหน่งอื่นบนจีโนมนอกเหนือจากยีนต้านทาน *Bph3* บนโครโมโซม 6 ซึ่งได้

รับมาจากสายพันธุ์ Rathu Heenati ส่งผลให้ลูกที่ไม่มียีน *Bph3* จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13117-175(Non-*Bph3*) และ RGD13117-330(Non-*Bph3*) มีความต้านทานเมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร กำแพงเพชร เข้าทำลาย ต่อมาพบว่าข้าวสายพันธุ์ CNT1 ก็มีความสามารถในการต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้บางประชากรเช่นกัน (ติดต่อบุคคล ดร. ธีรยุทธ ตูจินดา) จากการประเมินความต้านทานโดยใช้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 4 ประชากร จากผลจากทดลอง (ตารางที่ 4.9) จะเห็นได้ว่า เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแต่ละประชากรมีระดับความรุนแรงของการเข้าทำลายที่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะแมลงที่นำมาทดสอบต่างไปโอโอไพบ่กัน จึงทำให้ความสามารถในการเข้าทำลายสายพันธุ์ข้าวต่างๆ แตกต่างกัน ส่งผลให้ระดับความเสียหายในข้าวพันธุ์ต่างๆ มีระดับความเสียหายที่แตกต่างกันไปด้วย ซึ่งแมลงประชากรหนึ่งอาจสามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์ที่มียีนต้านทานหนึ่งได้ แต่ไม่สามารถเข้าทำลายข้าวอีกพันธุ์ที่มียีนต้านทานอีกยีนหนึ่ง ซึ่งยีนต้านทานมาจากแหล่งพันธุกรรมที่แตกต่างกัน คล้ายกับการศึกษาของ Kobayashi et al. (2014) ได้อธิบายว่ายีนต้านทาน *Bph1* มีความเฉพาะจงกับโอโอไพบ่ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เข้าทำลาย ซึ่งแสดงให้เห็นว่ายีนต้านทานที่เป็นยีนเด่น *Bph1* มีแหล่งพันธุกรรมจากข้าวสายพันธุ์ Mudgo บนโครโมโซม 12 มีความสัมพันธ์กับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแบบ gene-for-gene concept ดังนั้น จึงทำให้ยีนดังกล่าวนี้มีความอ่อนแอเมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มีโอโอไพบ่ที่แตกต่างกัน หรือ โอโอไพบ่ที่รุนแรง (virulence gene of BPH) ที่เข้าทำลาย ซึ่งหลักการนี้ยังคล้ายกับหลักการความต้านทานแบบยีนต่อยีนที่เกิดระหว่างพืชและโรคพืช (Flor, 1971) จากความหลากหลายทางพันธุกรรมของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทำให้กลุ่มนักวิจัยได้ทำการค้นหาตำแหน่งยีนที่เกี่ยวข้องกับโอโอไพบ่ในเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ทำให้ได้ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับตำแหน่งของยีนที่มีผลต่อการเข้าทำลายต้นข้าวได้ เพื่อนำไปสู่การศึกษาและการค้นหายีนควบคุมโอโอไพบ่ในเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (Jairin et al., 2013)

4.5.7 Genetic background มีผลต่อระดับความต้านทานของยีน *Bph3*

ผลจากการปรับปรุงสายพันธุ์ข้าวเหนียวหอมที่มียีน *Bph3* ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากฐานพันธุกรรมข้าวสายพันธุ์ IR57514 ทำให้พบว่าเมื่อนำยีน *Bph3* บนโครโมโซม 6 มาถ่ายทอดเข้าสู่ข้าวเหนียวหอมที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ให้มีลักษณะคุณภาพการหุงต้ม และรับประทานคล้ายข้าวพันธุ์ กข6 โดยการใช้ประโยชน์จากพันธุกรรมลักษณะทางการเกษตรที่ดีอื่น ๆ ของข้าวสายพันธุ์ IR57514 (Katengam et al., 2011; Khandong et al., 2012) ทำให้ข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงที่มีพื้นฐานพันธุกรรมของข้าว IR57514 มีความสามารถในการต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแบบกว้างเช่นกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าพื้นฐานพันธุกรรม (genetic background) ที่มีความแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์เมื่อมีการถ่ายยีน *Bph3* เข้าไปในสายพันธุ์นั้นๆ ก็จะทำให้สายพันธุ์ที่ได้รับยีนต้านทาน *Bph3* มีความสามารถในการต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้เช่นเดียวกัน จากการทดลองเพื่อศึกษาพื้นฐานพันธุกรรมของข้าวมีผลต่อระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของยีน *Bph3* หรือไม่ โดยได้นำข้าวที่มีฐานพันธุกรรมที่มีความแตกต่างกันจำนวน 2 ประชากร ทั้งสองประชากรนี้ได้รับการถ่ายยีนต้านทาน *Bph3* และทำการผสมกลับไปยังสายพันธุ์รับเพื่อให้มีฐานพันธุกรรมเหมือนกับสายพันธุ์เดิมมากที่สุด ได้แก่ KDML105 x Rathu Heenati และ CNT1 x KD-*Bph3* ตามลำดับ ผลจากการปล่อยให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี เข้าทำลายซึ่งเป็นประชากรแมลงเดียวกันที่ใช้ในงานวิจัยนี้พบว่า สายพันธุ์ที่มียีน *Bph3* ทั้งสองประชากรข้าวมีระดับความต้านทานไม่มีความ

แตกต่างทางสถิติกับสายพันธุ์ Rathu Heenati อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังนั้น จึงเป็นการยืนยันว่ายีน *Bph3* บนโครโมโซม 6 สามารถแสดงลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในฐานพันธุกรรมที่แตกต่างกัน ซึ่งการใช้ประโยชน์จากยีนต้านทาน *Bph3* ยีนจะแสดงออกหรือมีการทำงานเต็มที่ ส่งผลให้มีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลไม่ว่าจะอยู่ในฐานพันธุกรรมใดๆก็ตาม

4.5.8 ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์ Rathu Heenati

จากการทำแผนที่พันธุกรรมเพื่อค้นหาตำแหน่งของยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากข้าวพื้นเมืองของประเทศศรีลังกา สายพันธุ์ Rathu Heenati ซึ่งมีการรายงานว่ามีตำแหน่งยีนต้านทาน *Bph3* อยู่บนโครโมโซม 6 และมีการใช้ประโยชน์ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ของประเทศไทย (Jairin et al., 2007) ได้มีนักวิจัยหลายกลุ่มที่ทำการศึกษากัน เพื่อทำการระบุตำแหน่งของยีนต้านทานดังกล่าวว่ามีตำแหน่งใดบนโครโมโซมข้าวทั้ง 12 โครโมโซม จากการศึกษาและรายงานผล พบว่าตำแหน่งของยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากข้าวพันธุ์ Rathu Heenati พบบนตำแหน่งของโครโมโซม 3 4 6 และ 10 ตามลำดับ (Sun et al., 2005; Jairin et al., 2007 และ Kumari et al., 2010) จากการศึกษาของนักวิจัยกลุ่มต่างๆ จะรายงานว่ายีนพันธุ์ Rathu Heenati มียีนควบคุมลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลหลายยีน ได้แก่ *Bph3* บนโครโมโซม 6 (Jairin et al., 2007) *Bph17* บนโครโมโซม 4 (Sun et al., 2005) terpene synthase (*STPS*) บนโครโมโซม 4 (Kamolsukyong et al., 2013) ซึ่งปัจจุบันได้มีการโคลนยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เป็นยีนต้านทานหลักจากข้าวสายพันธุ์ Rathu Heenati ซึ่งมีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซม 4 เรียกว่า *Bph3* ประกอบด้วยยีนจำนวน 3 ยีน ได้แก่ *OsLecRK1*, *OsLecRK2* และ *OsLecRK3* ตามลำดับ ซึ่งเกี่ยวข้องกับการทำหน้าที่ของ lectin receptor kinases ที่มีหน้าที่ควบคุมการแสดงออกของลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแบบกว้าง และความต้านทานที่คงทนเมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลาย (Liu et al., 2014; Hogenhout and Zipfel, 2015) ถือเป็นข้อมูลที่มีความสำคัญอย่างมากในการพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะต่อยีนต้านทานดังกล่าวเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลต่อไป ดังนั้น การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยใช้แหล่งพันธุกรรมจากข้าวพันธุ์ Rathu Heenati ควรต้องพิจารณาดำเนินงานให้เหมาะสมกับพื้นที่ปลูกข้าวนั้นๆ หรือคัดเลือกยีนต้านทานทุกตำแหน่งที่มีการรายงานบนโครโมโซมทั่วทั้งจีโนม เพื่อรวบรวมตำแหน่งยีน/QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลให้ได้มากที่สุด ทำให้ข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงมีความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแบบกว้างต่อประชากรหรือไบโอไทป์ของแมลงที่มีการระบาด

จากการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวเหนียวหอมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็นการใช้ประโยชน์จากพันธุกรรมของข้าวสายพันธุ์ Rathu Heenati ตำแหน่งยีน *Bph3* บนโครโมโซม 6 ซึ่งปัจจุบันยังไม่รู้ตำแหน่งที่แน่นอน และกลไกการทำหน้าที่ของยีนดังกล่าว ดังนั้น การจัดทำ graphical genotype บริเวณตำแหน่งของยีน *Bph3* และ *wx* บนโครโมโซม 6 เพื่อพิจารณาการเกิด recombination บริเวณตำแหน่งยีนเป้าหมายบนโครโมโซม 6 ระหว่างยีน *Bph3* และ *wx* ให้มีความละเอียดมากยิ่งขึ้น โดยตรงบริเวณที่พบว่าเป็นตำแหน่งของยีน *Bph3* ระหว่าง RM589 ถึง RM588 ได้เพิ่มเครื่องหมายดีเอ็นเอมากขึ้นจำนวน 5 เครื่องหมาย ได้แก่ RM8072, RM8074, RM586,

SSR23, SSR24 และบริเวณระหว่าง RM588 ถึง Wx-Glu23 ได้เพิ่มเข้ามา 1 เครื่องหมาย ได้แก่ RM19328 จากการทดลอง พบว่า กลุ่มสายพันธุ์ที่มีความต้านทานระดับ (R) และต้านทานปานกลาง (MR) จะได้ชิ้นส่วนพันธกรรมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 ตั้งแต่บริเวณเครื่องหมาย RM589 จนถึง RM588 ซึ่งเป็นพันธกรรมมาจากข้าวพันธุ์ Rathu Heenati ส่วนตำแหน่ง RM19328 พบว่า สายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 มีพันธกรรมที่แตกต่างกับข้าวพันธุ์ Rathu Heenati และยังพบอีกว่า ตำแหน่ง RM19328 ดังกล่าวนี มีบางสายพันธุ์ในกลุ่มต้านทานระดับ (R) และต้านทานระดับปานกลาง (MR) มีชิ้นส่วนพันธกรรมของข้าวสายพันธุ์แม่ RGD11259-1-9-25 ที่เป็นทั้งแบบโฮโมไซกัส และเฮเทอโรไซกัส เช่นเดียวกันกับข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงประชากร F₄ ทั้งสองสายพันธุ์ ที่ก็ได้มาชิ้นพันธกรรมขนาดใหญ่เช่นกัน

จากการทำ graphical genotype ในประชากรข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุงต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มียีน *Bph3* บนโครโมโซม 6 แสดงว่ายีน *Bph3* มีตำแหน่งอยู่ระหว่างเครื่องหมาย RM589 ถึง RM588 และอัลลีลของยีน *wx* ที่ควบคุมลักษณะข้าวเจ้าและข้าวเหนียวไม่มีผลต่อระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงทั้งที่เป็น ข้าวเจ้า และข้าวเหนียว ส่วนสาเหตุที่ไม่เกิด recombination บริเวณตำแหน่งช่วงของเครื่องหมาย RM589 ถึง RM588 อาจเป็นผลเนื่องมาจาก 1) ประชากรที่นำมาทำ graphical genotype ในครั้งนี้เป็นประชากรข้าวที่ผ่านการคัดเลือกลักษณะฟีโนไทป์ (ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล) ที่อายุข้าว 25 วัน จึงทำให้ต้นข้าวที่มีรอดชีวิตมีพันธกรรมของสายพันธุ์พ่อบริเวณดังกล่าว 2) ประชากรที่นำมาใช้มีขนาดเล็กไปเนื่องจากระยะห่างระหว่าง RM589 ถึง RM588 มีระยะห่างประมาณ 1.4 cM (Jairin et al. 2007) เท่านั้น ประชากรขนาดเล็กจึงทำให้โอกาสพบการเกิด recombination ลดลง และ 3) เครื่องหมายดีเอ็นเอระหว่างสองตำแหน่งมีน้อยเกินไปจึงทำให้ไม่พบการเกิด recombination ตรงบริเวณดังกล่าว

4.5.9 การใช้ประโยชน์จากข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเหนียว

ปัจจุบันมีแหล่งพันธกรรมข้าวเหนียวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพียงสายแหล่งเดียว คือ กข6 (RD6-*Bph3*) ที่มีการถ่ายทอดยีนต้านทาน *Bph3* บนโครโมโซม 6 จากข้าวพื้นเมืองของประเทศอินเดียสายพันธุ์ PTB33 (Jairin et al., 2007) แต่ ณ ปัจจุบันได้มีการทดสอบความต้านทานเบื้องต้นก่อนนำมาใช้เป็นแหล่งพันธกรรมให้ยีนต้านทานแล้ว พบว่า ข้าวเหนียวสายพันธุ์ปรับปรุงดังกล่าวค่อนข้างมีความอ่อนแอ และไม่สามารถต้านทานแบบกว้างในประชากรแมลงที่ใช้ทดสอบจำนวน 3 ประชากร ได้แก่ อุบลราชธานี น่าน และ กำแพงเพชร ดังนั้น ข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงที่มียีน *Bph3* ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จึงน่าจะเป็นแหล่งพันธกรรมข้าวเหนียวในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเหนียวให้มีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของแมลงชนิดนี้ได้ในอนาคต ประกอบกับข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงนี้ ได้รับการพัฒนาพันธุ์โดยใช้ฐานพันธกรรมจากข้าว IR57514 ซึ่งเป็นข้าวที่มีพันธกรรมที่ดีสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมในเขตพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนบริเวณลุ่มแม่น้ำโขง จึงน่าจะเป็นประโยชน์อย่างมากในอนาคต เป็นการเตรียมความพร้อมรับมือกับปัญหาการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในเขตปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนที่ราบลุ่มแม่น้ำโขงนี้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 การค้นหา QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514

การค้นหา QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514 ศึกษาในประชากร recombinant inbred lines (RILs) จากการผสมระหว่างข้าวสายพันธุ์ IR57514 (ต้านทาน) และ ข้าวดอกมะลิ 105 (อ่อนแอ) จำนวน 97 สายพันธุ์ ประเมินความต้านทานด้วยเชื้อสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 11 ไอโซเลท ได้แก่ TH196031 TH196036 TRG1 TRG2 THL219 THL557 THL690 THL810 THL1081 THL717 และ THL84 ตามลำดับ พบ QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ จำนวน 6 QTLs มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซม 4 5 10 11 และ 12 (*qBL4*, *qBL5*, *qBL10.1*, *qBL10.2*, *qBL11* และ *qBL12*) สามารถอธิบายลักษณะต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคไหม้ในระยะต้นกล้าจำนวน 9 ไอโซเลท ได้แก่ TH196031 TH196036 TRG1 TRG2 THL219 THL557 THL690 THL810 และ THL1081 เท่ากับ 44.97% 68.23% 49.65% 59.89% 37.98% 30.13% 22.91% 33.26% และ 18.39% ตามลำดับ โดย *qBL12* เป็น QTLs หลักแสดงลักษณะต้านทานโรคไหม้ต่อเชื้อสาเหตุโรคไหม้ทั้ง 9 ไอโซเลทได้สูงสุด คิดเป็น 37.75% 63.29% 44.63% 53.07% 33.74% 30.07% 24.24% 30.63% และ 4.85% ตามลำดับ ผลจากการศึกษาครั้งนี้สามารถนำเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ขนานหัวท้าย *qBL12* ไปใช้ประโยชน์เป็นเครื่องมือช่วยคัดเลือกในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้ได้ อย่างไรก็ตามควรมีการประเมินประสิทธิภาพของเครื่องหมายดีเอ็นเอดังกล่าวก่อน (markers validation) ได้แก่ การประเมินในต่างประชากรข้าวหรือต่างฐานพันธุกรรม เป็นต้น จากนั้นจึงจะสามารถนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานโรคไหม้โดยการรวม QTLs หลักที่พบนี้เข้ากับยีน หรือ QTLs หลักอื่นๆ ที่มีอยู่ในปัจจุบันเพื่อพัฒนาพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะต้านทานโรคไหม้แบบกว้าง ซึ่งสามารถต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ได้อย่างยั่งยืน

5.2 การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวเหนียวหอมที่มียีน *Bph3* ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากฐานพันธุกรรมข้าวสายพันธุ์ IR57514

ปรับปรุงพันธุ์โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกร่วมกับการคัดเลือกด้วยลักษณะฟีโนไทป์ (combined marker-assisted selection) โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ RM589 SSR24 RM588 คัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) บนโครโมโซม 6 เครื่องหมาย *Wx-Glu23* คัดเลือกลักษณะข้าวเหนียว (*wx*) บนโครโมโซม 6 และเครื่องหมาย Aromarker คัดเลือกลักษณะความหอม (*badh2*) บนโครโมโซม 8 โดยใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบสืบประวัติพบว่า สามารถสร้างประชากร F_4 ที่มีลักษณะเป้าหมาย 3 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ลักษณะข้าวเหนียว และลักษณะความหอม จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ RGD13117-115-52 (*Bph3*^{R4/R4}, *wx*^{RGD/RGD}, *badh2*^{RGD/RGD}) และ RGD13117-115-53 (*Bph3*^{R4/R4}, *wx*^{RGD/RGD}, *badh2*^{RGD/R4}) จากการประเมินประสิทธิภาพของการใช้เครื่องหมายของการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ

ช่วยในการคัดเลือกลักษณะเป้าหมายจำนวน 3 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ลักษณะข้าวเหนียว และลักษณะความหอม ของข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์พันธุ์ปรับปรุงทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่า ข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ สามารถต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 4 ประชากร ได้แก่ อุบลราชธานี พิษณุโลก กำแพงเพชร และ น่าน เมื่อทดสอบในระยะแตกกอที่อายุข้าว 25 วันหลังเพาะเมล็ด โดยข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงทั้ง 2 สายพันธุ์ มีระดับความต้านทานที่ไม่แตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$) กับสายพันธุ์พ่อ R4-4-2-134-18-57 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงที่พัฒนาขึ้นมีความต้านทานต่อประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้งสี่ที่นำมาทดสอบ จากนั้นนำข้าวเหนียวหอมสายพันธุ์ปรับปรุงทั้งสองสายพันธุ์มาประเมินลักษณะข้าวเหนียวและลักษณะความหอม โดยพิจารณาจากลักษณะทางกายภาพของเมล็ดข้าวกล้องและการดมกลิ่น พบว่า ข้าวทั้งสองสายพันธุ์มีลักษณะเป็นข้าวเหนียว และสายพันธุ์ RGD13117-115-52 มีกลิ่นหอมมาก (คะแนน 2) และ RGD13117-115-53 มีกลิ่นหอมปานกลาง (คะแนน 1) ตามลำดับ

เอกสารอ้างอิง

เอกสารอ้างอิง

- กมลวรรณ เรียบร้อย. การปรับปรุงสายพันธุ์ข้าวทนแล้ง IR57514 ให้มีคุณภาพการหุงต้มคล้ายข้าวหอมมะลิโดยการใช้เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก. วิทยานิพนธ์ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต: มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2554.
- กมลวรรณ เรียบร้อย และคณะ. “ยีนความหอมและลักษณะพื้นฐานทางอนุพันธุศาสตร์ของข้าวหอม”, *Thai Journal of Genetics*. 6(2): 93-114, 2013.
- กรมส่งเสริมการเกษตร. (2555). “รายงานสถานการณ์การระบาดของศัตรูข้าววันที่ 4 เมษายน 2555”, ศูนย์ประสานงานการจัดการศัตรูพืช.
http://www.agriqua.doae.go.th/report_outbreak_of_pest/rice_pests/55/2555_04_04_Report@RBPH.pdf. 29 กันยายน, 2555.
- กรมส่งเสริมการเกษตร. รายงานสถานการณ์ศัตรูข้าว. รายงานต่อกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2558.
- กรมการข้าว. 2556. “องค์ความรู้เรื่องข้าวพันธุ์ กข6”, องค์ความรู้เรื่องข้าว.
<http://www.brrd.in.th/rkb/varieties/index.php-file=content.php&id=11.htm>. 6 กุมภาพันธ์, 2556.
- กรมการข้าว. (2557). “5 จังหวัดภาคอีสานอ่วมหนัก เหล็กกระโดดสีน้ำตาลระบาด”, **มันคง ตรงไปตรงมา แนวหน้า**. <http://www.naewna.com/local/120676>. 8 มกราคม, 2559.
- จิรพงศ์ ไกรรินทร์. “ความต้านทานของพันธุ์ข้าวต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล”. *วารสารแก่นเกษตร*. 27(3): 105-111, 2542.
- _____. “สถานภาพปัจจุบันของการพัฒนาพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลในประเทศไทย”, ใน *การประชุมวิชาการข้าวเนื่องในโอกาสวันข้าวและชาวนาแห่งชาติ*. น. 61-83. กรุงเทพฯ: โรงแรมอมารี ดอนเมือง, 2553.
- จิรพงศ์ ไกรรินทร์ และคณะ. “การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและมีคุณภาพเมล็ดเหมือนข้าวดอกมะลิ 105 โดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย”, ใน *การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว*. น.187-207. ชลบุรี: โรงแรมชินริช จอมเทียน รีสอร์ท พัทยา, 2552.
- _____. “การค้นหาดำแหน่งยีนที่เกี่ยวข้องกับชีวชนิดในเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล”, ใน *การประชุมวิชาการกลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคตะวันออกเฉียงเหนือ*. อุตรธานี: โรงแรม นาข้าวบุรี รีสอร์ท, 2556.
- เจตน์ ศุภฤกษ์ และคณะ. “การพัฒนาความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในพันธุ์ข้าวชัยนาท 1 โดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย”. ใน *สัมมนาวิชาการกลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคเหนือตอนบนและภาคเหนือตอนล่าง*. น. 248-259.แพร่: โรงแรมนครแพร่ทาวเวอร์, 2554.
- ชนาการต์ วงษ์พรหม และคณะ. “การค้นหายีนและการปรับปรุงพันธุ์ข้าว กข6 ให้มีความต้านทานโรคไหม้โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก”, ใน *การประชุมวิชาการข้าวแห่งชาติ ครั้งที่ 2 มิติใหม่วิจัยข้าวไทย พร้อมรับมือการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศและการเปิดตลาดเสรีอาเซียน*. น. 290-293. กรุงเทพฯ: โรงแรม Swissotel Le Concorde, 2555.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- ชัชวาล จันทราสุริยารัตน์ และสุรพร เกตุงาม. “โรคไหม้และสถานการณ์ของงานวิจัยด้านยีนต้านทานโรคไหม้ในข้าว”, วารสารแก่นเกษตร. 37: 69-78; 2552.
- ชัยรัตน์ จันทรหนู, สมศักดิ์ ทองดีแท้ และนลินี เจียงวรรณะ. “การจัดการระบบนิเวศน์เพื่อลดการระบาดของแมลงศัตรูข้าว”, ใน การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาวเนื่องในโอกาสวันข้าวและชาวนาแห่งชาติ. น. 236-248. กรุงเทพฯ: โรงแรมอมารี ดอนเมือง, 2553.
- ทรงยศ พิสิษฐ์กุล และเกียรติสยาม แก้วดอกกรัก. “ศึกษาการเพิ่มความต้านทานของพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Nilaparvata lugens* Stal. โดยการใช้ปูนขาว”, ใน การสัมมนาวิชาการเกษตรแห่งชาติ. น. 324-331. ขอนแก่น: คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2547 (ก).
- _____. “ศึกษาพฤติกรรมของมวนตัวห้ำดูดไซ้ *Cyrtorhinus lividipennis* Reuter ในการทำลายไซ้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Nilaparvata lugens* Stal. และไซ้เพลี้ยจักจั่นสีเขียว *Nephotettix spp*”, ใน การสัมมนาวิชาการเกษตรแห่งชาติ. น. 340-347. ขอนแก่น: คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2547 (ข).
- ธีรยุทธ ตูจินดา. “การปรับปรุงพันธุ์พืชโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมายดีเอ็นเอ”, ใน สัมมนาวิชาการพันธุศาสตร์ ครั้งที่ 13 พันธุศาสตร์กับการพัฒนาที่ยั่งยืน (Genetics and Sustainable Development). น. 25-27. พิษณุโลก: มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2546.
- นลินี เจียงวรรณะ และคณะ. “การบริหารระบบนิเวศน์ในนาข้าวเพื่อลดความสูญเสียจากการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลอย่างยั่งยืน”, ใน สัมมนาวิชาการกลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคเหนือตอนบนและภาคเหนือตอนล่าง. 260-283.แพร่: โรงแรมนครแพร่ทาวเวอร์, 2554.
- ปรีชา วังศิลาบัตร. “ผลของการใช้พันธุ์ข้าว สุพรรณบุรี 1 และชัยนาท 1 ร่วมกับการใช้สารฆ่าแมลงชนิดเม็ดที่มีผลต่อปริมาณเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและผลผลิตข้าว”, ฐานข้อมูลวิจัยข้าว. 41-50, 2545.
- ปิยะดา ตันตสวัสดิ์. การปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ต้านทานศัตรูพืช. นครราชสีมา: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช, 2554.
- พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ และคณะ. “ความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้กับการพัฒนาข้าวต้านทานโรคไหม้”, ใน ประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาวเนื่องในโอกาสวันข้าวและชาวนาไทยแห่งชาติ. น. 249-266. กรุงเทพฯ: โรงแรมอมารี ดอนเมือง, 2554.
- พุดิพงศ์ เฟื่องฤกษ์ และคณะ. “ความหลากหลายทางชีวชนิดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย”, วารสารเกษตร. 27(1): 27-37, 2554.
- พັນนี ชัยวัฒน์ และประวิทย์ จันทรอุทัย. บทบาทของแมงมุมเขียวยาวและแมงมุมโลโคซ่าในการควบคุมประชากรของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพนาข้าวขึ้นน้ำ. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร, 2541.
- พุทธิธนา นันทะวรการ และจตุพร เทียรมา. เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเรื้องร้าย เมื่อโลกร้อนขึ้น เกษตรยั่งยืน ความหวังสร้างโลกเย็น. กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการสร้างเสริมสุขภาพ, 2553

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- ภมร ปัตตาวะตัง, เจตน์ คชฤกษ์ และสุรเดช ปาละวิสุทธิ. “การศึกษาชีวชนิดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากแหล่งระบาดภาคเหนือตอนล่าง เพื่อการคัดเลือกพันธุ์ข้าวต้านทาน”, ใน การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว. น. 269. แพร์: โรงแรมนครแพรวทาวเวอร์, 2554.
- วิศรุต สุขเขตต์ และคณะ. “กลไกความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Nilaparvata lugen* (Stål) ของยีน *Bph3*, *Qbph6* และ *Qbph12* ในฐานพันธุ์กรรมของข้าวขาวดอกมะลิ 105”, ใน การประชุมวิชาการข้าวแห่งชาติครั้งปฐมฤกษ์ “ขับเคลื่อนงานวิจัยข้าวไทยสู่นวัตกรรม”. กรุงเทพฯ: อาคารสารนิเทศ 50 ปีมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2553.
- ไวพจน์ กันจู และคณะ. “การตรวจสอบความหอมในเชื้อพันธุ์กรรมข้าวไร้ไทยโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่จำเพาะต่อยีน *Os2AP* และการวิเคราะห์คุณภาพหุงต้มและความหนาแน่นของธาตุเหล็กในเมล็ด”, *Thai Journal of Genetics*. 6(1): 11-24; 2013.
- ศูนย์ภูมิอากาศ สำนักพัฒนาอุตุนิยมวิทยา กรมอุตุนิยมวิทยา. (2555). “สภาพอากาศกับฤดูปลูกข้าวไทย”, 3-Month Climate News.
[http://www.tmd.go.th/programs%5Cuploads%5Cweatherclimate%5C3%20Month%20Climate%20News%20\(Vol.2.no3\).pdf](http://www.tmd.go.th/programs%5Cuploads%5Cweatherclimate%5C3%20Month%20Climate%20News%20(Vol.2.no3).pdf). 29 กันยายน, 2555.
- ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว (Rice science center and Rice gene discovery). (2559).
“อนาคตข้าวขาวดอกมะลิในภาวะโลกร้อน”. <http://dna.kps.ku.ac.th/index.php/article-rice-rsc-rgdu/44-thai-jasmine-rice>. 22 เมษายน, 2559.
- ศิริภา ก่ออินทร์ศักดิ์, ศิริพร ก่ออินทร์ศักดิ์ และธีรยุทธ ตูจินดา. “ความสัมพันธ์ของยีนต้านทานโรคไหม้ต่อการเกิดโรคใบไหม้และโรคไหม้คอรวงในประชากรข้าวเหนียว กข6 ที่รวมยีนต้านทานโรคไหม้”, ใน การประชุมวิชาการข้าวแห่งชาติ ครั้งที่ 2 มิติใหม่วิจัยข้าวไทย พร้อมรับมือการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศและการเปิดตลาดเสรีอาเซียน. น. 347-350.
กรุงเทพฯ: โรงแรม Swissotel Le Concorde, 2555.
- สุจินต์ จันทรสอาด. (ม.ป.ป.). “เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลระบาดในนาข้าว”,
<http://www.ladda.com/jurnal/A-rice2.php>. 8 สิงหาคม, 2555.
- สุริพร เกตุงาม. “เครื่องหมายดีเอ็นเอในการปรับปรุงพันธุ์พืช”, *วารสารวิชาการ ม.อบ.* 5(2): 37-58, 2546.
- สุริพร เกตุงาม. การปรับปรุงพันธุ์พืชระดับโมเลกุล. อุบลราชธานี: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, 2557.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2556). “ข้อมูลเศรษฐกิจการเกษตรที่สำคัญการนำเข้า-ส่งออก”.
<http://www.oae.go.th/main.php?filename=index>. 15 มกราคม, 2555.
- อภิชาติ ลาวัณย์ประเสริฐ, สุวัฒน์ รวยอารีย์ และสาธิต ทยาพัชร. การปรับตัวของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugen* (Stål)) ในการทำลายข้าวเมื่อปลูกแบบต่อเนื่องในเขตภาคกลาง.
กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร, 2546.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- อรอนงค์ นัยวิกุล. ข้าว: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2550.
- อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ และพูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์. “ความหลากหลายของ pathotype ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าว ในปี 2550/51 และยืนต้นทานกว้างขวางที่เป็นประโยชน์ในภาคเหนือตอนล่าง”, ใน การประชุมข้าวและธัญพืชเมืองหนาว. น. 208-219.แพร่: โรงแรมนครแพร่ทาวเวอร์, 2554.
- Ahn, S.N., C.N. Bollich and S.D. Tanksley. “RFLP tagging of a gene for aroma in rice”, **Theoretical and Applied Genetics**. 84(7): 825-828, 1992.
- Alam, S.N., and Cohen, M.B. “Detection and analysis of QTLs for resistance to the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, in a doubled-haploid rice population”, **Theoretical and Applied Genetics**. 97(8): 1370–1379, 1998.
- Ali, M.P and T. R. Chowdhury. “Tagging and mapping of genes and QTLs of *Nilaparvata lugens* resistance in rice”, **Euphytica**. 195(1): 1–30, 2014.
- Arikiti, S. and et al. “Deficiency in the amino aldehyde dehydrogenase encoded by *GmAMADH2*, the homologue of rice *Os2AP*, enhances 2-acetyl-1-pyrroline biosynthesis in soybeans (*Glycine max* L.)”, **Plant Biotechnology Journal**. 9(1): 75–87, 2011.
- Amarawathi, Y. and et al. “Mapping of quantitative trait loci for basmati quality traits in rice (*Oryza sativa* L.) ”, **Molecular Breeding**. 21(1): 49-65, 2008.
- Ashikawa, I.N. and et al. “Two adjacent nucleotide-binding site-leucine-rich repeat class genes are required to confer Pikm-specific rice blast resistance”, **Genetics**. 180(4): 2267–2276, 2008.
- Ashkani, S. and et al. “Mapping of the quantitative trait locus (QTL) conferring partial resistance to rice leaf blast disease”, **Biotechnology Letters**. 35(5): 799–810, 2013.
- Babujee, L. and S.S. Gnanamanickam. “Molecular tools for characterization of rice blast pathogen (*Magnaporthe grisea*) population and molecular marker-assisted breeding for disease resistance”, **Current Science**. 78(3): 248-257, 2000.
- Ballini, E. and et al. “A genome-wide meta-analysis of rice blast resistance genes and quantitative trait loci provides new insights into partial and complete resistance”, **Molecular Plant-Microbe Interactions**. 21(7): 859-868, 2008.
- Bradbury, L.M.T. and et al. “The gene for fragrance in rice”, **Plant Biotechnology Journal**. 3(3): 363-370, 2005.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Bradbury, L.M.T. and et al. "Inactivation of an aminoaldehyde dehydrogenase is responsible for fragrance in rice", **Plant Molecular Biology**. 68(4): 439-449, 2008.
- Bryan, G.T. and et al. "A single amino acid difference distinguishes resistant and susceptible alleles of the rice blast resistance gene *Pi-ta*", **Plant Cell**. 12(11): 2033-2045, 2000.
- Buttery, R.G., L.C. Ling and B.O. Juliano. "2-acetyl-1-pyrroline an important aroma component of cooked rice", **Chemistry and Industry**. 12: 958-959, 1982.
- Buttery, R.G. and et al. "Cooked rice aroma and 2-acetyl-1-pyrroline", **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 31(4): 823-826, 1983.
- Cao, Z. and et al. "Analysis of QTLs for erucic acid and oil content in seeds on A8 chromosome and the linkage drag between the alleles for the two traits in *Brassica napus*", **Journal of Genetics and Genomics**. 37(4): 231-240, 2010.
- Century, K.S. and et al. "Developmental control of *Xa21*-mediated disease resistance in rice", **The Plant Journal**. 20(2): 231-236, 1999.
- Chen, D. and et al. "Population structure of *Pyricularia grisea* at two screening sites in the Philippines", **Phytopathology**. 85: 1011-1020, 1995.
- Chen, J. and et al. "A *Pid3* allele from rice cultivar Gumei2 confers resistance to *Magnaporthe oryzae*", **Journal of Genetics and Genomics**. 38: 209-216, 2011.
- Chen, S. and et al. "The *fgr* gene responsible for rice fragrance was restricted within 69 kb", **Plant Science**. 171(4): 505-514, 2006.
- Chen, S. and et al. "*Badh2*, encoding betaine aldehyde dehydrogenase, inhibits the biosynthesis of 2-acetyl-1-pyrroline, a major component in rice fragrance", **The Plant Cell**. 20(7): 1850-1861, 2008.
- Chen, S. and et al. "Resistance spectrum assay and fine mapping of the blast resistance gene from a rice experimental line, *IRBLta2-Re*", **Euphytica**. 195(2): 209-216, 2014.
- Chen, X. and et al. "A B-lectin receptor kinase gene conferring rice blast resistance". **The Plant Journal**. 46(5): 794-804, 2006.
- Cheng, X., L. Zhu and G. He. "Towards understanding of molecular interactions between rice and the brown planthopper", **Molecular Plant**. 6(3): 621-634, 2013.
- Claridge, M.F., and J. Hollander. "The biotypes of the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens*", **Entomologia Experimentalis et Applicata**. 27(1): 23-30, 1980.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Claridge, M.F., and Den Hollander, J. "The biotype concept and its application to insect pests of agriculture", **Crop protection**. 2(1): 85–95, 1983.
- Collard, B.C.Y. and Markill, D.J. "Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century", **Philosophical Transaction of the Royal Society B: Biological Sciences**. 363(1491): 557–572, 2008.
- Cooper, M. and et al. "Rainfed lowland rice breeding strategies for Northeast Thailand II. Comparison of intrastation and interstation selection", **Field Crops Research**. 64(1-2): 153-176, 1999.
- Das, A. and et al. "A novel blast resistance gene, *Pi54rh* cloned from wild species of rice, *Oryza rhizomatis* confers broad spectrum resistance to *Magnaporthe oryzae*", **Functional and Integrative Genomics**. 12(2): 215–228, 2012.
- Dale, G. B. and G. S. Kenneth. "Resurrecting the ghost of green revolutions past: The brown planthopper as a recurring threat to high-yielding rice production in tropical Asia", **Journal of Asia-Pacific Entomology**. 15(1): 122-140, 2012.
- Desneux, N., A. Decourtye and J.M. Delpuech. "The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods", **Annual Review of Entomology**. 52: 81-106, 2007.
- Diehl, S.R., and Bush, G.L. "An evolutionary and applied perspective of insect biotypes", **Annual Review of Entomology**. 29: 471–504, 1984.
- Du, B. and et al. "Identification and characterization of *Bph14*, a gene conferring resistance to brown planthopper in rice", **Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)**. 106(50): 22163-22168, 2009.
- Esterik, P.V. **Food culture in Southeast Asia**. London: Greenwood press Westport Connecticut, 2008.
- Ferrater, J.B. and et al. "Symbiont mediated adaptation by planthoppers and leafhoppers to resistant rice varieties", **Arthropod-Plant Interactions**. 7(6): 591-605, 2013.
- Flor, H.H. "Current status of gene-for-gene concept", **Advances in Genetics**. 9: 275–296, 1971.
- Fujita, D., A. Kohli, and F. G. Horgan. "Rice resistance to Planthoppers and Leafhoppers", **Critical Reviews in Plant Sciences**. 32(2): 162–191, 2013.
- Fukuoka, S. and K.O. Kuho. "QTL analysis and mapping of *pi21*, a recessive gene for field resistance to rice blast in Japanese upland rice", **Theoretical and Applied Genetics**. 103(2): 185–190, 2001.
- Fukuoka, S. and et al. "Loss of function of a proline-containing protein confers durable disease resistance in rice", **Science**. 21(325): 998–1001, 2009.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Ge, L.Q. and et al. "Mating pair combinations of insecticide-treated male and female *Nilaparvata lugens* (Stål) (Hemiptera: Delphacidae) planthoppers influence protein content in the male accessory glands (MAGs) and vitellin content in both fat bodies and ovaries of adult females", **Pesticide Biochemistry and Physiology**. 98(2): 279-288, 2010.
- Gurr, G.M., S.D. Wratten and M.A. Altieri. **Ecological Engineering for Pest Management**. Collingwood: CSIRO Publishing, 2004.
- Hayashi, K. and H. Yoshida. "Refunctionalization of the ancient rice blast disease resistance gene *Pit* by the recruitment of a retrotransposon as a promoter", **The Plant Journal**. 57(3): 413-425, 2009.
- Hayashi, N. and et al. "Durable panicle blast-resistance gene *Pb1* encodes an atypical CC-NBS-LRR protein and was generated by acquiring a promoter through local genome duplication", **The Plant Journal**. 64(3): 498-510, 2010.
- Heil, M. "Damaged-self recognition in plant herbivore defence", **Trends in Plant Science**. 14(7): 356-363, 2009.
- Hogenhout, S.A. and C. Zipfel. "Engineering insect-free cereals", **Nature biotechnology**. 33: 262-263, 2015.
- Hou, L. and et al. "Genetic analysis and preliminary mapping of two recessive resistance genes to brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stal in rice", **Rice Science**. 18(3): 238-242, 2011.
- Howles, P. and et al. "Autoactive alleles of the flax *L6* rust resistance gene induce non-race-specific rust resistance associated with the hypersensitive response", **Molecular Plant-Microbe Interactions**. 18(6): 570-582, 2005.
- Huang, D.R. and et al. "Analysis of Quantitative Trait Loci for Resistance to Brown Planthopper in Dongxiang Wild Rice (*Oryza rufipogon* Griff.)", **Acta Agronomica Sinica**. 38(2): 210-214, 2012.
- Huang, Z. and et al. "Identification and mapping of two brown planthopper resistance genes in rice", **Theoretical and Applied Genetics**. 102(6): 929-934, 2001.
- Hu, J. and et al. "Pyramiding and evaluation of three dominant brown planthopper resistance genes in the elite *indica* rice 9311 and its hybrids", **Pest Management Science**. 69(7): 802-808, 2013.
- ICAR. "Blast (*Pyricularia oryzae*)", **Expert System for Crop Paddy**.
http://agritech.tnau.ac.in/expert_system/paddy/cpdisblast.html. June 2, 2016.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Imam, J. and et al. "Molecular screening for identification of blast resistance genes in North East and Eastern Indian rice germplasm (*Oryza sativa* L.) with PCR based makers", **Euphytica**. 196(2): 199–211, 2014.
- International Rice Research Institute (IRRI). "Breeding for disease resistance in rice: Blast", **Rice Knowledge Bank**. Los Baños, Philippines: IRRI, n.d.
- _____. "Planthopper", **Rice Knowledge Bank**. Los Baños, Philippines: IRRI, n.d.
- _____. **Standard Evaluation System for Rice (SES)**. Los Baños, Philippines: IRRI, 1996.
- _____. **Advanced methods for insecticide resistance research and monitoring planned**. Los Baños, Philippines: IRRI, 2011.
- Itani, T. and et al. "Variation of 2-acetyl-1-pyrroline concentration in aromatic rice grains collected in the same region in Japan and factors affecting its concentration", **Plant Production Science**. 7(2): 178–183, 2004.
- Jairin, J. and et al. "Mapping of a broad-spectrum brown planthopper resistance gene, *Bph3*, on rice chromosome 6", **Molecular Breeding**. 19(1): 35-44, 2007.
- _____. "Development of rice introgression lines with brown planthopper resistance and KDML105 grain quality characteristics through marker-assisted selection", **Field Crops Research**. 110(3): 263-271, 2009.
- _____. "A simple sequence repeat and single nucleotide polymorphism based genetic linkage map of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*", **DNA Research**. 20(1): 17-30, 2013.
- Jantapoon, J. and et al. "Ideotype breeding for submergence tolerance and cooking quality by marker-assisted selection in rice", **Field Crops Research**. 123(3): 206-213, 2011.
- Jia, Y. "A User-friendly Method to Isolate and Single Spore the Fungi *Magnaporthe oryzae* and *Magnaporthe grisea* Obtained from Diseased Field Samples", **Plant Health Progress**. 2009.
- Jia, Y. and Liu, G. "Mapping quantitative trait loci for resistance to rice blast", **Phytopathology**. 101(2): 176-181, 2011.
- Jena, K.K. and Kim, S.M. "Current status of brown planthopper (BPH) resistance and genetics", **Rice**. 3(2): 161–171, 2010.
- Jerakongman, S. and et al. "Growth and grain yield of contrasting rice cultivars grown under different conditions of water availability", **Field Crops Research**. 44(2-3): 139-150, 1995.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Jongdee, B. and et al. "Improving drought tolerance in rainfed lowland rice",
An example from Thailand. *Agricultural Water Management*. 80: 225–240, 2006.
- Kate-ngam, S. and et al. "Conversion of wide adapted rice cultivar IR57514 into jasmine-like cooking quality through marker assisted backcrossing", In **proceeding of BIT 2nd World DNA and Genome Day 2011**. China: Reopen Bio-Gateway to Green Economy Era Dalian World Expo Center Dalian, 2011.
- _____. "Molecular breeding for the development of blast and brown planthopper resistance in Jasmine IR57514 rice line", In **The 4th International Rice Congress (IRC2014)**. Bangkok Thailand: The Bangkok International Trade and Exhibition Centre (BITEC), 2014.
- Kamolsukyonyong, W. and et al. "Single-feature polymorphism mapping of isogenic rice lines identifies the influence of terpene synthase on brown planthopper feeding preferences", *Rice*. 6(18): 1-9, 2013.
- Khanthong, S. and et al. "Breeding multi stress tolerance aromatic glutinous rice variety for rainfed lowland rice production in Mekong coping with climate change". In **10th International Symposium on Rice Functional Genomics**. Chiang Mai: Thailand, 2012.
- Khush, G.S. and Brar, D.S. "Genetics of resistance to insects in crop plants", **Advances in Agronomy**. 45: 223–274, 1991.
- Khush G.S. "What it will take to feed 5.0 billion rice consumers in 2030", **Plant Molecular Biology**. 59(1): 1–6, 2005.
- Kobayashi, T. and et al. "Genetic mapping of the rice resistancebreaking gene of the brown planthopper *Nilaparvata lugens*", **Proceedings of the Royal Society B**. 281(1787): 1-8, 2014.
- Koide, Y. and et al. "Resistance gene and selection DNA marker for blast disease in rice (*Oryza sativa* L.)", **Japan Agricultural Research Quarterly**. 43(4): 255-280, 2009.
- Kumari, S. and et al. "Screening of IR50xRathu Heenati F₇ RILs and identification of SSR markers linked to brown plant hopper (*Nilaparvata lugens* Stal.) resistance in rice (*Oryza sativa* L.)", **Molecular Biotechnology**. 46(1): 63-71, 2010.
- Lee, S.K. and et al. "Rice *Pi5*-mediated resistance to *Magnaporthe oryzae* requires the presence of two CC-NB-LRR genes", **Genetics**. 181(4): 1627–1638, 2009.
- Levy, M. and et al. "Genetic diversity of the rice blast fungus in a disease nursery in Colombia", **Phytopathology**. 83: 1427-1433, 1993.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Liang, Y.T. and et al. "Research and application status of rice genes resistance to brown planthopper", **Plant Genetic Resources**. 9: 119–124, 2008.
- Li, J.Y., J. Wang and R. S. Zeigler. "The 3,000 rice genomes project: new opportunities and challenges for future rice research", **GigaScience**. 3(7): 1-6, 2014
- Lin, F. and et al. "The blast resistance gene *Pi37* encodes a nucleotide binding site leucine-rich repeat protein and is a member of a resistance gene cluster on rice chromosome 1", **Genetics**. 177(3): 1871–1880, 2007.
- Liu, J. and et al. "Recent progress and understanding of the molecular mechanisms of the rice–*Magnaporthe oryzae* interaction", **Molecular plant pathology**. 11(3): 419-427, 2010.
- Liu, X.Q. and et al. "The in silico map-based cloning of *Pi36*, a rice CC–NBS–LRR gene which confers race specific resistance to the blast fungus", **Genetics**. 176(4): 2541–2549, 2007.
- Liu, Y. and et al. "A gene cluster encoding lectin receptor kinases confers broad-spectrum and durable insect resistance in rice", **Nature Biotechnolog**. 33(3): 1-7, 2014.
- _____. "The distribution and identification of brown planthopper resistance genes in rice", **Hereditas**. 146(2): 67–73, 2009.
- Liu, Z.W. and et al. "Effect of temperature on population growth of susceptible and resistant strains of *Nilaparvatalugens* to imidacloprid", **Ecological Entomology**. 43(1): 47–50, 2004.
- Lorieux, M. and et al. "Aroma in rice: genetic analysis of a quantitative trait", **Theoretical and Applied Genetics**. 93(7): 1145-1151, 1996.
- Mahatheeranont, S., S. Keawsa-ard and K. Dumri. "Quantification of the rice aroma compound, 2-acetyl-1-pyrroline, in uncooked Khao Dawk Mali 105 brown rice", **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 49(2): 773-779, 2001.
- Martin, B.G., A. J. Bogdanove, and G. Sessa. "Understanding the functions of plant disease resistance proteins", **Annual review of plant biology**. 54: 23-61, 2003.
- Miah, G. and et al. "Blast resistance in rice: a review of conventional breeding to molecular approaches", **Molecular Biology Reports**. 40(3): 2369–2388, 2013.
- Mikami, I. and et al. "Allelic diversification at the *wx* locus in landraces of Asian rice", **Theoretical and Applied Genetics**. 116(7): 979-989, 2008.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Mochida, O. and T. Okada. "Taxonomy and biology of *Nilaparvata lugens* (Hom., Delphacidae)", In **Brown Planthopper: Threat to Rice Poduction in Asia**. International Rice Research Institute (IRRI). p. 21-43. Los Baños: Philippines, 1979.
- Noenplab, A. and et al. "QTL mapping for leaf and neck blast resistance in khao dawk mali 105 and jao hom nin recombinant inbred lines", **Science Asia**. 32: 133-142, 2006.
- Okuyama, Y. and et al. "A multifaceted genomics approach allows the isolation of the rice *Pia* blast resistance gene consisting of two adjacent NBS-LRR protein genes", **The Plant Journal**. 66(3): 467-479, 2011.
- Ouk, M. and et al. "Use of drought response index for identification of drought tolerant genotypes in rainfed lowland rice", **Field Crops Research**. 99(1): 48-58, 2006.
- Painter, R.H. "The economic value and biologic significance of insect resistance in plants", **Journal of Economic Entomology**. 34(3): 358-367, 1941.
- Panda, and G.S. Khush. **Host Plant Resistance to Insect**, Wallingford: CAB International, 1995.
- Petrov, M. and et al. "Rice aroma analysis: discrimination between a scented and a nonscented rice", **Sciences des Aliments**. 16(4): 347-360, 1996.
- Pathak, M.D. and Z.R. Khan. **Insect pests of rice**. International Rice Research Institute (IRRI) and International Centre of Insect Physiology and Ecology (ICIPE), 1994.
- Qiu, Y. and et al. "Development and characterization of japonica rice lines carrying the brown planthopper-resistance genes *BPH12* and *BPH6*", **Theoretical and Applied Genetics**. 124(3): 485-494, 2012.
- Qu, S. and et al. "The broad spectrum blast resistance gene *Pi9* encodes a nucleotide-binding site-leucine-rich repeat protein and is a member of a multigene family in rice", **Genetics**. 172(3): 1901-1914, 2006.
- Rajpurohit, D. and et al. "Pyramiding of two bacterial blight resistance and a semi dwarfing gene in type 3 Basmati using marker-assisted selection", **Euphytica**. 178(1): 111-126, 2011.
- Rahman, M. and et al. "High-resolution mapping of two rice brown planthopper resistance genes, *Bph20(t)* and *Bph21(t)*, originating from *Oryza minuta*", **Theoretical and Applied Genetics**. 119(7): 1237-1246, 2009.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Richard, J.H. and B. Valent. "Breaking and entering: Host penetration by the fungal rice blast pathogen *Magnaporthe grisea*", **Annual Review of Microbiology**. 50(1): 491-512, 1996.
- Roumen, E. and et al. "Characterisation of the European pathogen population of *Magnaporthe grisea* by DNA finger printing and pathotype analysis", **Journal of Plant Pathology**. 103(4): 363-371, 1997.
- Romyen, P. and et al. "Lowland rice improvement in northern and northeast Thailand: 2 Cultivar differences," **Field Crops Research**. 59(2): 109-119, 1998.
- Sabouri, H. and et al. "Detection of QTLs controlling field blast resistance in rice (*Oryza sativa* L.)", **Plant Omics Journal**. 4(1): 1-5, 2011.
- Sakthivel, K. and et al. "Genetic and molecular basis of fragrance in rice", **Biotechnology Advances**. 27(4): 468-473, 2009.
- Salim, M., R.C. Saxena and M. Akbar. "Salinity stress and varietal resistance in rice: effects on whitebacked planthopper", **Crop Science Society of America**. 30(3): 654-659, 1990.
- Sarao, A.S. and J. S. Bentur. "Antixenosis and tolerance of rice genotypes against brown planthopper", **Rice Science**. 23(2): 96-103, 2016.
- Sato, H. and et al. "Mapping QTLs for field resistance to rice blast in the Japanese upland rice variety Norin12", **Breeding Science**. 56(4): 415-418, 2006.
- Saxena, R.C. and A.A. Birrion. "Biotype of the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stal)", **Korean Journal of Plant Protection**. 22(2): 52-66, 1983.
- Saisamai, K. **Genetic identification of monor quantitative trait loci (QTL) against multiple population of brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stal) using two advance backcross population in rice (*Oryza sativa* L.)**. Master's thesis: Kasetsart University, 2013.
- Shang, J.J. and et al. "Identification of a new rice blast resistance gene, *Pid3*, by genomewide comparison of paired nucleotide- binding site-leucine-rich repeat genes and their pseudogene alleles between the two sequenced rice genomes", **Genetics**. 182(4): 1303-1311, 2009.
- Sharma, S.B., C. Johansen and S.K. Midha. "Nomatode pests in rice-wheat-legume cropping systems", **Proceeding of a Regional Training Course**. p.105. India: IARI Pusa New Delhi, 1998.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Sharma, T.R. and et al. "High-resolution mapping, cloning and molecular characterization of the *Pi-kh* gene of rice which confers resistance to *Magnaporthe grisea*", **Molecular Genetics and Genomics**. 274(6): 569–578, 2005.
- Shi, W. and et al. "Discovery of a new fragrance allele and the development of functional markers for the breeding of fragrant rice varieties", **Molecular Breeding**. 22(2): 185-192, 2008.
- Soundararajan, R.P. and et al. "Mapping of quantitative trait loci associated with resistance to brown planthopper in rice by means of a doubled haploid population", **Crop Science**. 44(6): 2214–2220, 2004.
- Sreewongchai, T. **Identification of magnaporthe grisea avirulence genes specific to rice blast resistance genes**. Doctor's thesis: Kasetsart University, 2008.
- Sreewongchai, T. and et al. "Genetic mapping of *Magnaporthe grisea* avirulence gene corresponding to leaf and panicle blast resistant QTLs in Jao Hom Nin rice cultivar", **Phytopathology**. 157(6): 338-343, 2009.
- _____. "Development of elite indica rice lines with wide spectrum of resistance to Thai blast isolates by pyramiding multiple resistance QTLs", **Plant Breeding**. 129(2): 176-180, 2010.
- Su, C.C. and et al. "Detection and analysis QTL for resistance to brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål), in rice (*Oryza sativa* L) using backcross inbred lines", **Journal of Genetics**. 29(4): 332–338, 2002.
- Suh, J.P. and et al. "Development of elite breeding lines conferring *Bph18* gene-derived resistance to brown planthopper (BPH) by marker-assisted selection and genome-wide background analysis in japonica rice (*Oryza sativa* L.)", **Field Crops Research**. 120(2): 215-222, 2011.
- _____. "Development of breeding lines with three pyramided resistance genes that confer broad-spectrum bacterial blight resistance and their molecular analysis in rice", **Rice**. 6(5): 1-11, 2013.
- Sun, L. and et al. "Mapping of a major resistance gen to the brown planthopper in the rice cultivar Rathu Heenati", **Breeding Science**. 55: 3911-396, 2005.
- Takahashi, A. and et al. "Unique features of the rice blast resistance Pish locus revealed by large scale retrotransposon-tagging", **Journal of Plant Biology**. 10(175): 1-14, 2010.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Tang, J. and et al. "Semi-dominant mutations in the CC-NB-LRR-type R gene, NLS1, lead to constitutive activation of defense responses in rice", **The Plant Journal**. 66(6): 996–1007, 2011.
- Tamura, Y. and et al. "Map-based cloning and characterization of a brown planthopper resistance gene *BPH26* from *Oryza sativa* L. ssp. indica cultivar ADR52", **Scientific Reports**. 4: 1-8, 2014.
- Thanysiriwat, T., P. Pattwatang, and E.R. Angles. "New biotypes of brown planthopper In Thailand". **Proceedings of rice and temperate cereal crops annual conference**. p. 386-389. Chon Buri: Thailand, 2009.
- Tinker, N. A. and D.E. Martha. "MQTL: Software for simplified composite interval mapping of QTL in multiple environments", **Journal of Agricultural Genomics**. 1: 1-5, 1995
- Toojinda, T. and et al. "Molecular breeding for rainfed lowland rice in the Mekong region", **Plant Production Science**. 8(3): 330-333, 2005.
- Tomita, M. "Introgression of Green Revolution *sd1* gene into isogenic genome of rice super cultivar Koshihikari to create novel semidwarf cultivar 'Hikarishinseiki' (Koshihikari-sd1)", **Field Crops Research**. 114(2): 173-181, 2009.
- Vanavichit, A. and T. Yoshihashi. "Molecular aspects of fragrance and aroma in rice", **Advances in Botanical Research**. 56: 49-73, 2010.
- Vanavichit, A. and et al. "Positional cloning of *Os2AP*, the aromatic gene controlling the biosynthetic switch of 2-acetyl-1-pyrroline and gamma aminobutyric acid (GABA) in rice", In **The 5th International Rice Genetic Symposium**. p.44. Manila: Phillipines, 2005.
- Velusamy, R., Heinrichs, E.A. and Medrano, F.G. "Greenhouse techniques to identify field resistance to the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stal) (Homoptera: Delphacidea) in rice cultivars", **Crop Protection**. 5(5): 328–333, 1986.
- Wade, L.J. and et al. "Genotype by environment interactions across diverse rainfed lowland rice environments", **Field Crops Research**. 64(1-2): 35-50, 1999.
- Wanchana, S. and et al. "Duplicated coding sequence in the *waxy* allele of tropical glutinous rice (*Oryza sativa* L.)", **Plant Science**. 165: 1193-1199, 2003(a).
- _____. "Sequence variation in *BADH* is associated with the synthesis of 2 AP, a potent aroma determination in rice", In **Proceedings of Rice Biotechnology**. p. 157-160. Pattaya Chonburi: Thailand, 2003(b).

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Wanchana, S. and et al. "A rapid construction of a physical contig across a 4.5 cM region for rice grain aroma facilitates marker enrichment for positional cloning", **Science Asia**. 31: 299–306, 2005.
- Wang, B. and et al. "Mapping of two new brown planthopper resistance genes from wild rice", **Chinese Science Bulletin**. 46: 1092–1095, 2001.
- Wang, B. J. and et al. "High temperature modifies resistance performances of rice varieties to brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål)", **Rice Science**. 17(4): 334–338, 2010.
- Wang, L.P. and et al. "Insecticide-induced increase in the protein content of male accessory glands and its effect on the fecundity of females in the brown planthopper *Nilaparvata lugens* Stal (Hemiptera: Delphacidae)", **Crop Protection**. 29(11): 1280–1285, 2010.
- Wang, B. J. and et al. "High temperature modifies resistance performances of rice varieties to Brown Planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål)", **Rice Science**. 17(4): 334–338, 2010.
- Wang, X. and et al. "Current advances on genetic resistance to rice blast disease". **Agricultural and Biological Sciences**, Chapter 7: 195–217, 2014.
- Wang, Y. and et al. "Molecular mapping of the blast resistance genes *Pi2-1* and *Pi51(t)* in the durably resistant rice 'Tianjingyeshengdao'", **Phytopathology**. 102: 779–786, 2012.
- Wang, Y. and et al. "Map-based cloning and characterization of *BPH29*, a B3 domain-containing recessive gene conferring brown planthopper resistance in rice", **Journal of Experimental Botany**. 66(19): 6035–6045, 2015.
- Wang, Z.X. and et al. "The *Pib* gene for rice blast resistance belongs to the nucleotide binding and leucine-rich repeat class of plant disease resistance genes", **The Plant Journal**. 19(1): 55–64, 1999.
- Wen-qiang, L. and et al. "Avoidance of linkage drag between blast resistance gene and the QTL conditioning spikelet fertility based on genotype selection against heading date in rice", **Rice Science**. 16(1): 21–26, 2009.
- Wilson, R.A. and N.J. Talbot. "Under pressure: investigating the biology of plant infection by *Magnaporthe oryzae*.", **Nature reviews Microbiology**. 7(3): 185–195, 2009.
- Win, K.M. and et al. "Breeding the Thai jasmine rice variety KDML105 for non-age-related broad-spectrum resistance to bacterial blight disease based on combined marker-assisted and phenotypic selection", **Field Crops Research**. 137: 186–194, 2012.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Wongsaprom, C. and et al. "Two introgressed quantitative trait loci confer a broad-spectrum resistance to blast disease in the genetic background of the cultivar RD6 a Thai glutinous jasmine rice", **Field Crops Research**. 119(2-3): 245–251, 2010.
- Yajima, I. and et al. "Volatile flavor components of cooked rice kaorimai (scented rice, *O. sativa japonica*)". **Agricultural and Biological Chemistry**. 43: 2425–2429, 1979.
- Yang, H. and et al. "Molecular Mapping of Four Blast Resistance Genes using Recombinant Inbred Lines of 93-11 and Nipponbare", **Journal of Plant Biology**. 56(2): 91-97, 2013.
- Yang, L. and et al. "Genetic mapping of *bph20(t)* and *bph21(t)* loci conferring brown planthopper resistance to *Nilaparvata lugens* Stal. in rice (*Oryza sativa* L.)", **Euphytica**. 183(2): 161-171, 2012.
- Yi, M. and et al. "Marker assisted backcross breeding to improve cooking quality traits in Myanmar rice cultivar Manawthukha", **Field Crops Research**. 113(2): 178-186, 2009.
- Yoshihashi, T. "Quantitative analysis on 2-acetyl-1-pyrroline of an aromatic rice by stable isotope dilution method and model studies on its formation during cooking", **Journal of Food Science**. 67(2): 619-622, 2002.
- Yoshihashi, T., T.T.H. Nguyen and N. Kabaki. "Area dependency of 2-acetyl-1-pyrroline content in an aromatic rice variety, Khao Dawk Mali 105", **Japan Agricultural Research Quarterly**. 38(2): 105–109, 2004.
- Yu, Y.L. and et al. "The combined effects of temperature and insecticide on the fecundity of adult males and adult females of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* Stål (Hemiptera: Delphacidae)", **Crop Protection**. 34: 59-64, 2012.
- Yuan, B. and et al. "The *Pik-p* resistance to *Magnaporthe oryzae* in rice is mediated by a pair of closely linked CC–NBS–LRR genes", **Theoretical and Applied Genetics**. 122(5): 1017–2108, 2011
- Zhai, C. and et al. "The isolation and characterization of *Pik*, a rice blast resistance gene which emerged after rice domestication", **New Phytologist Trust**. 189(1): 321–334, 2011.
- Zhang, Q. and R. A. Wing. "The Wild Relative of Rice: Genomes and Genomics", **Genetics and Genomics of Rice**. 5: 9-25, 2013.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Zhou, B. and et al. "The eight amino-acid differences within three leucine-rich repeats between *Pi2* and *Piz-t* resistance proteins determine the resistance specificity to *Magnaporthe grisea*", *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 19(11): 1216–1228, 2006.

ภาคผนวก

ตารางที่ ผ.1 การคัดเลือกจีโนไทป์ของลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และลักษณะข้าวเหนียวของประชากร F₂ จำนวน 461 ต้น ที่รอดชีวิตจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี จำนวน 13 วันหลังปล่อยแมลง

No.	F ₂ introgression lines	13 DAI	Glutinous rice trait	BPH resistance trait		
			Wx-Glu23	RM589	SSR24	RM588
P1	RDD11259-1-9-25	9	RGD	RGD	RGD	RGD
P2	R4-4-2-134-18-57	3	R4	R4	R4	R4
Check	IR57514	7	-	-	-	-
Check	Rathu Heenati	3	RH	RH	RH	RH
Check	RD6	9	-	-	-	-
Check	KDML 105	9	-	-	-	-
1	WS14-M27-1	3	H	H	H	H
2	WS14-M27-2	3	H	RGD	H	RGD
3	WS14-M27-3	3	R4	R4	R4	R4
4	WS14-M27-4	3	RGD	RGD	RGD	RGD
5	WS14-M27-5	3	RGD	RGD	RGD	RGD
6	WS14-M27-6	3	H	H	H	H
7	WS14-M27-7	3	H	H	H	H
8	WS14-M27-8	3	H	H	H	H
9	WS14-M27-9	3	R4	R4	R4	R4
10	WS14-M27-10	3	H	H	H	H
11	WS14-M27-11	3	R4	R4	R4	R4
12	WS14-M27-12	3	R4	R4	R4	R4
13	WS14-M27-13	3	H	H	H	H
14	WS14-M27-14	3	R4	R4	R4	R4
15	WS14-M27-15	3	H	H	H	H
16	WS14-M27-16	3	RGD	RGD	H	RGD
17	WS14-M27-17	3	R4	R4	H	H
18	WS14-M27-18	3	H	H	H	H
19	WS14-M27-19	3	R4	R4	R4	R4
20	WS14-M27-20	3	R4	R4	R4	R4
21	WS14-M27-21	3	R4	R4	R4	R4
22	WS14-M27-22	3	H	H	H	H
23	WS14-M27-23	3	H	H	H	H
24	WS14-M27-24	3	R4	R4	R4	R4
25	WS14-M27-25	3	H	H	H	H
26	WS14-M27-26	3	H	H	H	H
27	WS14-M27-27	3	H	R4	R4	R4
28	WS14-M27-28	3	H	H	H	H
29	WS14-M27-29	3	RGD	RGD	H	RGD
30	WS14-M27-30	3	H	H	H	H
31	WS14-M27-31	3	RGD	RGD	H	RGD
32	WS14-M27-32	3	H	R4	H	H

ตารางที่ ผ.1 การคัดเลือกจีโนไทป์ของลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และลักษณะข้าวเหนียวของประชากร F₂ จำนวน 461 ต้น ที่รอดชีวิตจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี จำนวน 13 วันหลังปล่อยแมลง (ต่อ)

No.	F ₂ introgression lines	13 DA	Glutinous rice trait	BPH resistance trait		
			Wx-Glu23	RM589	SSR24	RM588
P1	RDD11259-1-9-25	9	RGD	RGD	RGD	RGD
P2	R4-4-2-134-18-57	3	R4	R4	R4	R4
Check	IR57514	7	-	-	-	-
Check	Rathu Heenati	3	RH	RH	RH	RH
Check	RD6	9	-	-	-	-
Check	KDML 105	9	-	-	-	-
33	WS14-M27-33	3	RGD	RGD	H	RGD
34	WS14-M27-34	3	R4	R4	R4	R4
35	WS14-M27-35	3	R4	R4	R4	R4
36	WS14-M27-36	3	H	R4	R4	R4
37	WS14-M27-37	3	H	H	H	H
38	WS14-M27-38	3	R4	R4	R4	R4
39	WS14-M27-39	3	R4	R4	R4	R4
40	WS14-M27-40	3	RGD	RGD	RGD	RGD
41	WS14-M27-41	3	R4	R4	R4	R4
42	WS14-M27-42	3	H	H	H	H
43	WS14-M27-43	3	RGD	RGD	RGD	RGD
44	WS14-M27-44	3	R4	R4	R4	R4
45	WS14-M27-45	3	R4	R4	R4	R4
46	WS14-M27-46	3	H	H	H	H
47	WS14-M27-47	3	R4	R4	R4	R4
48	WS14-M27-48	3	R4	R4	R4	R4
49	WS14-M27-49	3	R4	R4	R4	H
50	WS14-M27-50	3	H	H	H	H
51	WS14-M27-51	3	R4	R4	R4	H
52	WS14-M27-52	3	H	RGD	RGD	R4
53	WS14-M27-53	3	H	H	H	RGD
54	WS14-M27-54	3	H	R4	R4	H
55	WS14-M27-55	3	R4	R4	R4	R4
56	WS14-M27-56	3	H	H	H	R4
57	WS14-M27-57	3	R4	R4	R4	H
58	WS14-M27-58	3	H	H	H	RH
59	WS14-M27-59	3	RGD	RGD	RGD	H
60	WS14-M27-60	3	H	H	H	RGD
61	WS14-M27-61	3	RGD	H	H	H
62	WS14-M27-62	3	H	H	H	H
63	WS14-M27-63	3	H	H	H	H
64	WS14-M27-64	3	H	H	H	H

ตารางที่ ผ.1 การคัดเลือกจีโนไทป์ของลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และลักษณะข้าวเหนียวของประชากร F₂ จำนวน 461 ต้น ที่รอดชีวิตจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี จำนวน 13 วันหลังปล่อยแมลง (ต่อ)

No.	F ₂ introgression lines	13 DAI	Glutinous rice trait	BPH resistance trait		
			Wx-Glu23	RM589	SSR24	RM588
P1	RDD11259-1-9-25	9	RGD	RGD	RGD	RGD
P2	R4-4-2-134-18-57	3	R4	R4	R4	R4
Check	IR57514	7	-	-	-	-
Check	Rathu Heenati	3	RH	RH	RH	RH
Check	RD6	9	-	-	-	-
Check	KDML 105	9	-	-	-	-
65	WS14-M27-65	3	RGD	H	RGD	H
66	WS14-M27-66	3	R4	R4	R4	RGD
67	WS14-M27-67	3	RGD	RGD	RGD	R4
68	WS14-M27-68	3	RGD	RGD	RGD	RGD
69	WS14-M27-69	3	H	H	H	JGIR
70	WS14-M27-70	3	H	H	H	H
71	WS14-M27-71	3	R4	R4	R4	H
72	WS14-M27-72	3	R4	R4	R4	R4
73	WS14-M27-73	3	H	H	H	H
74	WS14-M27-74	3	RGD	RGD	RGD	RGD
75	WS14-M27-75	3	H	H	H	H
76	WS14-M27-76	3	H	H	H	H
77	WS14-M27-77	3	R4	R4	R4	R4
78	WS14-M27-78	3	RGD	RGD	RGD	RGD
79	WS14-M27-79	3	R4	R4	R4	R4
80	WS14-M27-80	3	H	H	H	H
81	WS14-M27-81	3	H	H	H	H
82	WS14-M27-82	3	H	H	H	H
83	WS14-M27-83	3	R4	R4	R4	R4
84	WS14-M27-84	3	RGD	RGD	RGD	RGD
85	WS14-M27-85	3	H	H	H	H
86	WS14-M27-86	3	R4	R4	R4	R4
87	WS14-M27-87	3	R4	R4	R4	R4
88	WS14-M27-88	3	R4	R4	R4	R4
89	WS14-M27-89	3	H	H	H	H
90	WS14-M27-90	3	R4	R4	R4	R4
91	WS14-M27-91	3	R4	R4	R4	R4
92	WS14-M27-92	3	H	H	H	H
93	WS14-M27-93	3	R4	R4	R4	R4
94	WS14-M27-94	3	H	H	H	H
95	WS14-M27-95	3	R4	R4	R4	-
96	WS14-M27-96	3	R4	R4	R4	-

ตารางที่ ผ.1 การคัดเลือกจีโนไทป์ของลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และลักษณะข้าวเหนียวของประชากร F_2 จำนวน 461 ต้น ที่รอดชีวิตจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี จำนวน 13 วันหลังปล่อยแมลง (ต่อ)

No.	F_2 introgression lines	13 DAI	Glutinous rice trait	BPH resistance trait		
			Wx-Glu23	RM589	SSR24	RM588
P1	RDD11259-1-9-25	9	RGD	RGD	RGD	RGD
P2	R4-4-2-134-18-57	3	R4	R4	R4	R4
Check	IR57514	7	-	-	-	-
Check	Rathu Heenati	3	RH	RH	RH	RH
Check	RD6	9	-	-	-	-
Check	KDML 105	9	-	-	-	-
97	WS14-M27-97	3	R4	R4	R4	R4
98	WS14-M27-98	3	H	H	H	H
99	WS14-M27-99	3	R4	R4	R4	R4
100	WS14-M27-100	3	R4	R4	R4	R4
101	WS14-M27-101	3	H	H	H	H
102	WS14-M27-102	3	R4	R4	R4	R4
103	WS14-M27-103	3	R4	R4	R4	R4
104	WS14-M27-104	3	H	H	H	H
105	WS14-M27-105	3	H	H	H	H
106	WS14-M27-106	3	H	RGD	H	H
107	WS14-M27-107	3	R4	R4	R4	R4
108	WS14-M27-108	3	R4	R4	R4	R4
109	WS14-M27-109	3	R4	R4	R4	R4
110	WS14-M27-110	3	H	H	H	H
111	WS14-M27-111	3	R4	R4	R4	R4
112	WS14-M27-112	3	H	H	H	H
113	WS14-M27-113	3	R4	R4	R4	R4
114	WS14-M27-114	3	H	H	H	H
115	WS14-M27-115	3	H	R4	R4	R4
116	WS14-M27-116	3	R4	R4	R4	R4
117	WS14-M27-117	3	R4	R4	R4	R4
118	WS14-M27-118	3	H	H	H	H
119	WS14-M27-119	3	R4	R4	R4	R4
120	WS14-M27-120	3	RGD	RGD	RGD	RGD
121	WS14-M27-121	3	R4	R4	R4	R4
122	WS14-M27-122	3	R4	R4	R4	R4
123	WS14-M27-123	3	H	H	H	H
124	WS14-M27-124	3	H	H	H	H
125	WS14-M27-125	3	RGD	RGD	RGD	RGD
126	WS14-M27-126	3	R4	R4	R4	R4
127	WS14-M27-127	3	R4	R4	R4	R4
128	WS14-M27-128	3	R4	R4	R4	R4

ตารางที่ ผ.1 การคัดเลือกจีโนไทป์ของลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และลักษณะข้าวเหนียวของประชากร F₂ จำนวน 461 ต้น ที่รอดชีวิตจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี จำนวน 13 วันหลังปล่อยแมลง (ต่อ)

No.	F ₂ introgression lines	13 DAI	Glutinous rice trait	BPH resistance trait		
			Wx-Glu23	RM589	SSR24	RM588
P1	RDD11259-1-9-25	9	RGD	RGD	RGD	RGD
P2	R4-4-2-134-18-57	3	R4	R4	R4	R4
Check	IR57514	7	-	-	-	-
Check	Rathu Heenati	3	RH	RH	RH	RH
Check	RD6	9	-	-	-	-
Check	KDML 105	9	-	-	-	-
129	WS14-M27-129	3	R4	R4	R4	R4
130	WS14-M27-130	3	R4	R4	R4	R4
131	WS14-M27-131	3	H	H	H	H
132	WS14-M27-132	3	H	H	H	H
133	WS14-M27-133	3	H	H	H	H
134	WS14-M27-134	3	RGD	RGD	RGD	RGD
135	WS14-M27-135	3	R4	R4	R4	R4
136	WS14-M27-136	3	H	H	H	H
137	WS14-M27-137	3	H	H	H	H
138	WS14-M27-138	3	H	H	H	H
139	WS14-M27-139	3	R4	R4	R4	R4
140	WS14-M27-140	3	H	H	H	H
141	WS14-M27-141	3	R4	R4	R4	R4
142	WS14-M27-142	3	RGD	RGD	RGD	RGD
143	WS14-M27-143	3	H	H	H	H
144	WS14-M27-144	3	H	RGD	RGD	RGD
145	WS14-M27-145	3	R4	R4	R4	R4
146	WS14-M27-146	3	R4	R4	R4	R4
147	WS14-M27-147	3	H	H	H	H
148	WS14-M27-148	3	RGD	RGD	RGD	RGD
149	WS14-M27-149	3	H	H	H	H
150	WS14-M27-150	3	R4	R4	R4	R4
151	WS14-M27-151	3	R4	R4	R4	R4
152	WS14-M27-152	3	RGD	RGD	RGD	RGD
153	WS14-M27-153	3	H	H	H	H
154	WS14-M27-154	3	H	H	H	H
155	WS14-M27-155	3	H	H	H	H
156	WS14-M27-156	5	H	H	H	H
157	WS14-M27-157	5	R4	R4	R4	R4
158	WS14-M27-158	5	H	H	H	H
159	WS14-M27-159	5	R4	R4	R4	R4
160	WS14-M27-160	5	R4	R4	R4	R4

ตารางที่ ผ.1 การคัดเลือกจีโนไทป์ของลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และลักษณะข้าวเหนียวของประชากร F₂ จำนวน 461 ต้น ที่รอดชีวิตจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี จำนวน 13 วันหลังปล่อยแมลง (ต่อ)

No.	F ₂ introgression lines	13DAI	Glutinous rice trait	BPH resistance trait		
			Wx-Glu23	RM589	SSR24	RM588
P1	RDD11259-1-9-25	9	RGD	RGD	RGD	RGD
P2	R4-4-2-134-18-57	3	R4	R4	R4	R4
Check	IR57514	7	-	-	-	-
Check	Rathu Heenati	3	RH	RH	RH	RH
Check	RD6	9	-	-	-	-
Check	KDML 105	9	-	-	-	-
161	WS14-M27-161	5	H	H	H	H
162	WS14-M27-162	5	H	H	H	H
163	WS14-M27-163	5	H	H	H	H
164	WS14-M27-164	5	R4	R4	R4	R4
165	WS14-M27-165	5	H	H	H	H
166	WS14-M27-166	5	R4	R4	R4	R4
167	WS14-M27-167	5	R4	R4	R4	R4
168	WS14-M27-168	5	H	H	H	H
169	WS14-M27-169	5	H	H	H	H
170	WS14-M27-170	5	R4	R4	R4	R4
171	WS14-M27-171	5	H	-	H	-
172	WS14-M27-172	5	H	H	H	R4
173	WS14-M27-173	5	H	H	H	H
174	WS14-M27-174	5	R4	R4	R4	R4
175	WS14-M27-175	5	RGD	RGD	RGD	RGD
176	WS14-M27-176	5	H	H	H	H
177	WS14-M27-177	5	RGD	RGD	RGD	RGD
178	WS14-M27-178	5	H	H	H	H
179	WS14-M27-179	5	H	H	H	H
180	WS14-M27-180	5	H	H	H	H
181	WS14-M27-181	5	H	-	H	-
182	WS14-M27-182	5	RGD	-	R4	-
183	WS14-M27-183	5	H	H	H	H
184	WS14-M27-184	5	H	H	H	H
185	WS14-M27-185	5	RGD	RGD	RGD	RGD
186	WS14-M27-186	5	R4	R4	R4	R4
187	WS14-M27-187	5	H	H	H	H
188	WS14-M27-188	5	R4	R4	R4	R4
189	WS14-M27-189	5	R4	H	H	H
190	WS14-M27-190	5	RGD	RGD	RGD	RGD
191	WS14-M27-191	5	H	H	H	H
192	WS14-M27-192	5	R4	R4	R4	R4

ตารางที่ ผ.1 การคัดเลือกจีโนไทป์ของลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และลักษณะข้าวเหนียวของประชากร F₂ จำนวน 461 ต้น ที่รอดชีวิตจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี จำนวน 13 วันหลังปล่อยแมลง (ต่อ)

No.	F ₂ introgression lines	13 DAI	Glutinous rice trait	BPH resistance trait		
			Wx-Glu23	RM589	SSR24	RM588
P1	RDD11259-1-9-25	9	RGD	RGD	RGD	RGD
P2	R4-4-2-134-18-57	3	R4	R4	R4	R4
Check	IR57514	7	-	-	-	-
Check	Rathu Heenati	3	RH	RH	RH	RH
Check	RD6	9	-	-	-	-
Check	KDML 105	9	-	-	-	-
193	WS14-M27-193	5	H	H	H	H
194	WS14-M27-194	5	RGD	RGD	RGD	RGD
195	WS14-M27-195	5	R4	R4	R4	R4
196	WS14-M27-196	5	H	H	H	H
197	WS14-M27-197	5	RGD	RGD	RGD	RGD
198	WS14-M27-198	5	RGD	RGD	RGD	RGD
199	WS14-M27-199	5	R4	R4	R4	R4
200	WS14-M27-200	5	R4	R4	R4	R4
201	WS14-M27-201	5	H	H	H	H
202	WS14-M27-202	5	R4	R4	R4	R4
203	WS14-M27-203	5	RGD	RGD	RGD	RGD
204	WS14-M27-204	5	H	H	H	H
205	WS14-M27-205	5	RGD	RGD	RGD	RGD
206	WS14-M27-206	5	H	H	H	H
207	WS14-M27-207	5	H	H	H	H
208	WS14-M27-208	5	H	H	RGD	H
209	WS14-M27-209	5	R4	R4	R4	R4
210	WS14-M27-210	5	H	H	H	H
211	WS14-M27-211	5	H	H	H	H
212	WS14-M27-212	5	RGD	RGD	RGD	RGD
213	WS14-M27-213	5	R4	R4	R4	R4
214	WS14-M27-214	5	H	H	H	H
215	WS14-M27-215	5	H	H	H	H
216	WS14-M27-216	5	H	H	H	H
217	WS14-M27-217	5	H	H	H	H
218	WS14-M27-218	5	R4	H	H	H
219	WS14-M27-219	5	R4	R4	R4	R4
220	WS14-M27-220	5	RGD	RGD	RGD	RGD
221	WS14-M27-221	5	H	H	H	H
222	WS14-M27-222	5	H	H	H	H
223	WS14-M27-223	5	H	H	H	H
224	WS14-M27-224	5	R4	R4	R4	R4

ตารางที่ ผ.1 การคัดเลือกจีโนไทป์ของลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และลักษณะข้าวเหนียวของประชากร F₂ จำนวน 461 ต้น ที่รอดชีวิตจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี จำนวน 13 วันหลังปล่อยแมลง (ต่อ)

No.	F ₂ introgression lines	13 DAI	Glutinous rice trait	BPH resistance trait		
			Wx-Glu23	RM589	SSR24	RM588
P1	RDD11259-1-9-25	9	RGD	RGD	RGD	RGD
P2	R4-4-2-134-18-57	3	R4	R4	R4	R4
Check	IR57514	7	-	-	-	-
Check	Rathu Heenati	3	RH	RH	RH	RH
Check	RD6	9	-	-	-	-
Check	KDML 105	9	-	-	-	-
225	WS14-M27-225	5	R4	R4	R4	R4
226	WS14-M27-226	5	R4	R4	R4	R4
227	WS14-M27-227	5	R4	R4	R4	R4
228	WS14-M27-228	5	H	H	H	H
229	WS14-M27-229	5	H	H	H	H
230	WS14-M27-230	5	H	H	H	H
231	WS14-M27-231	5	H	H	H	H
232	WS14-M27-232	5	R4	R4	R4	R4
233	WS14-M27-233	5	R4	R4	R4	R4
234	WS14-M27-234	5	R4	R4	R4	R4
235	WS14-M27-235	5	H	RGD	H	H
236	WS14-M27-236	5	R4	R4	R4	R4
237	WS14-M27-237	5	H	H	H	H
238	WS14-M27-238	5	H	H	H	H
239	WS14-M27-239	5	H	H	H	H
240	WS14-M27-240	5	H	H	H	H
241	WS14-M27-241	5	R4	R4	R4	R4
242	WS14-M27-242	5	H	H	H	H
243	WS14-M27-243	5	R4	R4	R4	R4
244	WS14-M27-244	5	H	H	H	H
245	WS14-M27-245	5	H	H	H	H
246	WS14-M27-246	5	H	H	H	H
247	WS14-M27-247	5	R4	R4	R4	R4
248	WS14-M27-248	5	H	H	H	H
249	WS14-M27-249	5	R4	R4	R4	R4
250	WS14-M27-250	5	H	H	H	H
251	WS14-M27-251	5	RGD	RGD	RGD	RGD
252	WS14-M27-252	5	RGD	RGD	RGD	RGD
253	WS14-M27-253	5	R4	R4	R4	R4
254	WS14-M27-254	5	R4	R4	R4	R4
255	WS14-M27-255	5	H	H	H	H
256	WS14-M27-256	5	R4	R4	R4	R4

ตารางที่ ผ.1 การคัดเลือกจีโนไทป์ของลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และลักษณะข้าวเหนียวของประชากร F₂ จำนวน 461 ต้น ที่รอดชีวิตจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี จำนวน 13 วันหลังปล่อยแมลง (ต่อ)

No.	F ₂ introgression lines	13 DAI	Glutinous rice trait	BPH resistance trait		
			Wx-Glu23	RM589	SSR24	RM588
P1	RDD11259-1-9-25	9	RGD	RGD	RGD	RGD
P2	R4-4-2-134-18-57	3	R4	R4	R4	R4
Check	IR57514	7	-	-	-	-
Check	Rathu Heenati	3	RH	RH	RH	RH
Check	RD6	9	-	-	-	-
Check	KDML 105	9	-	-	-	-
257	WS14-M27-257	5	R4	R4	R4	R4
258	WS14-M27-258	5	H	H	H	H
259	WS14-M27-259	5	H	H	H	H
260	WS14-M27-260	5	H	RGD	RGD	RGD
261	WS14-M27-261	5	R4	R4	R4	R4
262	WS14-M27-262	5	R4	R4	R4	R4
263	WS14-M27-263	5	R4	R4	R4	R4
264	WS14-M27-264	5	R4	R4	R4	R4
265	WS14-M27-265	5	R4	R4	R4	R4
266	WS14-M27-266	5	RGD	RGD	RGD	RGD
267	WS14-M27-267	5	H	H	H	H
268	WS14-M27-268	5	R4	R4	R4	R4
269	WS14-M27-269	5	H	H	H	H
270	WS14-M27-270	5	R4	R4	R4	R4
271	WS14-M27-271	5	R4	R4	R4	R4
272	WS14-M27-272	5	RGD	H	H	H
273	WS14-M27-273	5	RGD	RGD	RGD	RGD
274	WS14-M27-274	5	H	H	H	H
275	WS14-M27-275	5	RGD	RGD	RGD	RGD
276	WS14-M27-276	5	RGD	RGD	RGD	RGD
277	WS14-M27-277	5	H	H	H	H
278	WS14-M27-278	5	H	H	H	H
279	WS14-M27-279	5	R4	H	R4	R4
280	WS14-M27-280	5	R4	H	R4	R4
281	WS14-M27-281	5	RGD	RGD	RGD	RGD
282	WS14-M27-282	5	RGD	RGD	RGD	RGD
283	WS14-M27-283	5	RGD	RGD	RGD	RGD
284	WS14-M27-284	5	RGD	RGD	RGD	RGD
285	WS14-M27-285	5	H	H	H	H
286	WS14-M27-286	5	R4	R4	R4	R4
287	WS14-M27-287	5	H	RGD	RGD	RGD
288	WS14-M27-288	5	R4	R4	R4	R4

ตารางที่ ผ.1 การคัดเลือกจีโนไทป์ของลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และลักษณะข้าวเหนียวของประชากร F₂ จำนวน 461 ต้น ที่รอดชีวิตจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี จำนวน 13 วันหลังปล่อยแมลง (ต่อ)

No.	F ₂ introgression lines	13 DAI	Glutinous rice trait	BPH resistance trait		
			Wx-Glu23	RM589	SSR24	RM588
P1	RDD11259-1-9-25	9	RGD	RGD	RGD	RGD
P2	R4-4-2-134-18-57	3	R4	R4	R4	R4
Check	IR57514	7	-	-	-	-
Check	Rathu Heenati	3	RH	RH	RH	RH
Check	RD6	9	-	-	-	-
Check	KDML 105	9	-	-	-	-
289	WS14-M27-289	5	H	H	H	H
290	WS14-M27-290	5	RGD	RGD	RGD	RGD
291	WS14-M27-291	5	R4	R4	R4	R4
292	WS14-M27-292	5	RGD	RGD	RGD	RGD
293	WS14-M27-293	5	RGD	RGD	RGD	RGD
294	WS14-M27-294	5	H	H	H	H
295	WS14-M27-295	5	H	H	H	H
296	WS14-M27-296	5	H	H	H	H
297	WS14-M27-297	5	H	H	H	H
298	WS14-M27-298	5	R4	R4	R4	R4
299	WS14-M27-299	5	H	H	H	H
300	WS14-M27-300	5	R4	R4	R4	R4
301	WS14-M27-301	5	H	H	H	H
302	WS14-M27-302	5	H	H	H	H
303	WS14-M27-303	5	RGD	RGD	RGD	RGD
304	WS14-M27-304	5	R4	R4	R4	R4
305	WS14-M27-305	5	H	H	H	H
306	WS14-M27-306	5	RGD	RGD	RGD	RGD
307	WS14-M27-307	5	H	H	H	H
308	WS14-M27-308	5	RGD	RGD	RGD	RGD
309	WS14-M27-309	5	H	H	H	H
310	WS14-M27-310	5	R4	R4	R4	R4
311	WS14-M27-311	5	R4	R4	R4	R4
312	WS14-M27-312	5	RGD	RGD	RGD	RGD
313	WS14-M27-313	5	H	H	H	H
314	WS14-M27-314	5	H	H	H	H
315	WS14-M27-315	5	RGD	RGD	RGD	RGD
316	WS14-M27-316	5	RGD	RGD	RGD	RGD
317	WS14-M27-317	5	H	H	H	H
318	WS14-M27-318	5	H	H	H	H
319	WS14-M27-319	5	R4	R4	R4	R4
320	WS14-M27-320	5	RGD	RGD	RGD	RGD

ตารางที่ ผ.1 การคัดเลือกจีโนไทป์ของลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และลักษณะข้าวเหนียวของประชากร F₂ จำนวน 461 ต้น ที่รอดชีวิตจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี จำนวน 13 วันหลังปล่อยแมลง (ต่อ)

No.	F ₂ introgression lines	13 DAI	Glutinous rice trait	BPH resistance trait		
			Wx-Glu23	RM589	SSR24	RM588
P1	RDD11259-1-9-25	9	RGD	RGD	RGD	RGD
P2	R4-4-2-134-18-57	3	R4	R4	R4	R4
Check	IR57514	7	-	-	-	-
Check	Rathu Heenati	3	RH	RH	RH	RH
Check	RD6	9	-	-	-	-
Check	KDML 105	9	-	-	-	-
321	WS14-M27-321	5	R4	H	H	H
322	WS14-M27-322	5	R4	R4	R4	R4
323	WS14-M27-323	5	H	H	H	H
324	WS14-M27-324	5	H	H	H	H
325	WS14-M27-325	5	R4	R4	R4	R4
326	WS14-M27-326	5	RGD	RGD	RGD	RGD
327	WS14-M27-327	5	R4	R4	R4	R4
328	WS14-M27-328	5	H	H	H	H
329	WS14-M27-329	5	H	H	H	H
330	WS14-M27-330	5	RGD	RGD	RGD	RGD
331	WS14-M27-331	5	H	R4	R4	R4
332	WS14-M27-332	5	R4	R4	R4	R4
333	WS14-M27-333	5	RGD	H	H	H
334	WS14-M27-334	5	RGD	RGD	RGD	RGD
335	WS14-M27-335	5	H	H	H	H
336	WS14-M27-336	5	R4	R4	R4	R4
337	WS14-M27-337	5	RGD	RGD	RGD	RGD
338	WS14-M27-338	5	H	H	H	H
339	WS14-M27-339	5	RGD	RGD	RGD	RGD
340	WS14-M27-340	5	H	H	H	H
341	WS14-M27-341	5	R4	R4	R4	R4
342	WS14-M27-342	5	H	H	H	H
343	WS14-M27-343	5	H	H	H	H
344	WS14-M27-344	5	H	H	H	H
345	WS14-M27-345	5	H	H	H	H
346	WS14-M27-346	5	H	H	H	H
347	WS14-M27-347	5	H	H	H	H
348	WS14-M27-348	5	H	H	H	H
349	WS14-M27-349	5	RGD	RGD	RGD	RGD
350	WS14-M27-350	5	H	H	H	H
351	WS14-M27-351	5	H	H	H	H
352	WS14-M27-352	5	H	H	H	H

ตารางที่ ผ.1 การคัดเลือกจีโนไทป์ของลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และลักษณะข้าวเหนียวของประชากร F₂ จำนวน 461 ต้น ที่รอดชีวิตจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี จำนวน 13 วันหลังปล่อยแมลง (ต่อ)

No.	F ₂ introgression lines	13 DAI	Glutinous rice trait	BPH resistance trait		
			Wx-Glu23	RM589	SSR24	RM588
P1	RDD11259-1-9-25	9	RGD	RGD	RGD	RGD
P2	R4-4-2-134-18-57	3	R4	R4	R4	R4
Check	IR57514	7	-	-	-	-
Check	Rathu Heenati	3	RH	RH	RH	RH
Check	RD6	9	-	-	-	-
Check	KDML 105	9	-	-	-	-
353	WS14-M27-353	5	R4	R4	R4	R4
354	WS14-M27-354	5	R4	R4	R4	R4
355	WS14-M27-355	5	R4	R4	R4	R4
356	WS14-M27-356	5	H	H	H	H
357	WS14-M27-357	5	H	H	H	H
358	WS14-M27-358	5	H	RGD	RGD	RGD
359	WS14-M27-359	5	H	H	H	H
360	WS14-M27-360	5	H	R4	R4	R4
361	WS14-M27-361	5	RGD	RGD	-	-
362	WS14-M27-362	5	H	H	H	H
363	WS14-M27-363	5	H	H	H	H
364	WS14-M27-364	5	H	R4	R4	R4
365	WS14-M27-365	5	H	H	H	H
366	WS14-M27-366	5	H	H	H	H
367	WS14-M27-367	5	R4	R4	R4	R4
368	WS14-M27-368	5	R4	R4	R4	R4
369	WS14-M27-369	5	R4	R4	R4	R4
370	WS14-M27-370	5	RGD	H	H	H
371	WS14-M27-371	5	RGD	RGD	RGD	RGD
372	WS14-M27-372	5	RGD	RGD	RGD	RGD
373	WS14-M27-373	5	H	H	H	H
374	WS14-M27-374	5	H	RGD	RGD	H
375	WS14-M27-375	5	R4	R4	R4	R4
376	WS14-M27-376	5	R4	R4	R4	R4
377	WS14-M27-377	5	RGD	RGD	RGD	RGD
378	WS14-M27-378	5	H	H	H	H
379	WS14-M27-379	5	RGD	RGD	RGD	RGD
380	WS14-M27-380	5	H	H	H	H
381	WS14-M27-381	5	H	H	H	H
382	WS14-M27-382	5	H	H	H	H
383	WS14-M27-383	5	H	H	H	H
384	WS14-M27-384	5	R4	R4	R4	R4

ตารางที่ ผ.1 การคัดเลือกจีโนไทป์ของลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และลักษณะข้าวเหนียวของประชากร F₂ จำนวน 461 ต้น ที่รอดชีวิตจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี จำนวน 13 วันหลังปล่อยแมลง (ต่อ)

No.	F ₂ introgression lines	13 DAI	Glutinous rice trait	BPH resistance trait		
			Wx-Glu23	RM589	SSR24	RM588
P1	RDD11259-1-9-25	9	RGD	RGD	RGD	RGD
P2	R4-4-2-134-18-57	3	R4	R4	R4	R4
Check	IR57514	7	-	-	-	-
Check	Rathu Heenati	3	RH	RH	RH	RH
Check	RD6	9	-	-	-	-
Check	KDML 105	9	-	-	-	-
385	WS14-M27-385	5	RGD	RGD	RGD	RGD
386	WS14-M27-386	5	R4	R4	R4	R4
387	WS14-M27-387	5	H	H	H	H
388	WS14-M27-388	5	RGD	RGD	RGD	RGD
389	WS14-M27-389	5	R4	R4	R4	R4
390	WS14-M27-390	5	H	H	H	H
391	WS14-M27-391	5	RGD	RGD	RGD	RGD
392	WS14-M27-392	5	R4	R4	R4	R4
393	WS14-M27-393	5	R4	R4	R4	R4
394	WS14-M27-394	5	R4	R4	R4	R4
395	WS14-M27-395	5	RGD	RGD	RGD	RGD
396	WS14-M27-396	5	H	H	H	H
397	WS14-M27-397	5	R4	R4	R4	R4
398	WS14-M27-398	5	RGD	RGD	RGD	RGD
399	WS14-M27-399	5	RGD	H	H	H
400	WS14-M27-400	5	RGD	RGD	RGD	RGD
401	WS14-M27-401	5	H	H	RGD	RGD
402	WS14-M27-402	5	R4	R4	R4	R4
403	WS14-M27-403	5	H	H	H	H
404	WS14-M27-404	5	R4	R4	R4	R4
405	WS14-M27-405	5	H	H	H	H
406	WS14-M27-406	5	RGD	RGD	RGD	RGD
407	WS14-M27-407	5	H	H	H	H
408	WS14-M27-408	5	RGD	H	H	H
409	WS14-M27-409	5	RGD	RGD	RGD	RGD
410	WS14-M27-410	5	RGD	RGD	RGD	RGD
411	WS14-M27-411	5	H	H	H	H
412	WS14-M27-412	5	H	H	H	H
413	WS14-M27-413	5	RGD	H	H	H
414	WS14-M27-414	5	H	RGD	RGD	RGD
415	WS14-M27-415	5	R4	H	H	H
416	WS14-M27-416	5	R4	R4	R4	R4

ตารางที่ ผ.1 การคัดเลือกจีโนไทป์ของลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และลักษณะข้าวเหนียวของประชากร F₂ จำนวน 461 ต้น ที่รอดชีวิตจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี จำนวน 13 วันหลังปล่อยแมลง (ต่อ)

No.	F ₂ introgression lines	13 DAI	Glutinous rice trait	BPH resistance trait		
			Wx-Glu23	RM589	SSR24	RM588
P1	RDD11259-1-9-25	9	RGD	RGD	RGD	RGD
P2	R4-4-2-134-18-57	3	R4	R4	R4	R4
Check	IR57514	7	-	-	-	-
Check	Rathu Heenati	3	RH	RH	RH	RH
Check	RD6	9	-	-	-	-
Check	KDML 105	9	-	-	-	-
417	WS14-M27-417	5	R4	R4	R4	R4
418	WS14-M27-418	5	R4	R4	R4	R4
419	WS14-M27-419	5	H	H	H	H
420	WS14-M27-420	5	R4	R4	R4	R4
421	WS14-M27-421	5	H	H	H	H
422	WS14-M27-422	5	R4	R4	R4	R4
423	WS14-M27-423	5	R4	R4	R4	R4
424	WS14-M27-424	5	H	H	H	H
425	WS14-M27-425	5	R4	R4	R4	R4
426	WS14-M27-426	5	R4	R4	R4	R4
427	WS14-M27-427	5	RGD	RGD	RGD	RGD
428	WS14-M27-428	5	R4	R4	R4	R4
429	WS14-M27-429	5	H	H	H	H
430	WS14-M27-430	5	RGD	RGD	RGD	RGD
431	WS14-M27-431	5	R4	R4	R4	R4
432	WS14-M27-432	5	R4	R4	R4	R4
433	WS14-M27-433	5	H	H	H	H
434	WS14-M27-434	5	R4	R4	R4	R4
435	WS14-M27-435	5	R4	R4	R4	R4
436	WS14-M27-436	5	RGD	RGD	RGD	RGD
437	WS14-M27-437	5	RGD	R4	H	H
438	WS14-M27-438	5	R4	H	H	H
439	WS14-M27-439	5	RGD	RGD	RGD	RGD
440	WS14-M27-440	5	H	H	H	H
441	WS14-M27-441	5	H	H	H	H
442	WS14-M27-442	5	H	H	H	H
443	WS14-M27-443	5	H	H	H	H
444	WS14-M27-444	5	R4	H	H	H
445	WS14-M27-445	5	R4	R4	R4	R4
446	WS14-M27-446	5	R4	R4	R4	R4
447	WS14-M27-447	5	RGD	RGD	RGD	RGD
448	WS14-M27-448	5	H	RH	RH	H

ตารางที่ ผ.1 การคัดเลือกจีโนไทป์ของลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และลักษณะข้าวเหนียวของประชากร F₂ จำนวน 461 ต้น ที่รอดชีวิตจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลประชากร อุบลราชธานี จำนวน 13 วันหลังปล่อยแมลง (ต่อ)

No.	F ₂ introgression lines	13 DAI	Glutinous rice trait	BPH resistance trait		
			Wx-Glu23	RM589	SSR24	RM588
P1	RDD11259-1-9-25	9	RGD	RGD	RGD	RGD
P2	R4-4-2-134-18-57	3	R4	R4	R4	R4
Check	IR57514	7	-	-	-	-
Check	Rathu Heenati	3	RH	RH	RH	RH
Check	RD6	9	-	-	-	-
Check	KDML 105	9	-	-	-	-
449	WS14-M27-449	5	RGD	RGD	RGD	RGD
450	WS14-M27-450	5	RGD	RGD	RGD	RGD
451	WS14-M27-451	5	R4	R4	R4	R4
452	WS14-M27-452	5	RGD	RGD	RGD	RGD
453	WS14-M27-453	5	R4	R4	R4	H
454	WS14-M27-454	5	H	RGD	RGD	H
455	WS14-M27-455	5	R4	R4	R4	R4
456	WS14-M27-456	5	H	H	H	H
457	WS14-M27-457	5	H	H	H	H
458	WS14-M27-458	5	H	H	H	H
459	WS14-M27-459	5	R4	R4	R4	R4
460	WS14-M27-460	5	R4	R4	R4	R4
461	WS14-M27-461	5	H	H	H	H

ตารางที่ ๘.2 การคัดเลือกลักษณะด้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F₃ เปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อแม่ และ สายพันธุ์เปรียบเทียบด้านทานและอ่อนแอ ที่อายุข้าว 7 วัน โดยวิธี SSBS H = heterozygous (RH/JGIR), JGIR =Jasmine glutinous IR57514 และ RH =CNT1-Bph3 (ต่อ)

Entry	F ₃ introgression lines	Phenotype data (day after infestation; DAI)							Genotype on Chr.6			
		7 DAI	8 DAI	9 DAI	10 DAI	11 DAI	12 DAI	AUC	Wx-Glu23	RM589	SSR24	RM588
20	WS14-M27-17-141	3.00	3.00	3.00	3.67	5.67	5.67	22.00	R4	R4	R4	R4
21	WS14-M27-17-146	4.33	5.00	5.00	6.33	7.67	7.67	33.67	R4	R4	R4	R4
22	WS14-M27-17-150	2.33	3.00	4.33	5.00	6.33	6.33	25.33	R4	R4	R4	R4
23	WS14-M27-17-151	2.33	4.33	4.33	5.67	5.67	6.33	26.00	R4	R4	R4	R4
24	WS14-M27-17-157	1.67	3.00	3.67	4.33	5.00	6.33	22.00	R4	R4	R4	R4
25	WS14-M27-17-159	4.33	5.00	5.67	5.67	7.00	7.00	33.33	R4	R4	R4	R4
26	WS14-M27-17-164	3.67	4.33	5.67	6.33	7.67	7.67	33.00	R4	R4	R4	R4
27	WS14-M27-17-166	3.00	4.33	5.00	7.00	7.67	8.33	32.00	R4	R4	R4	R4
28	WS14-M27-17-167	3.00	3.00	3.67	5.67	6.33	7.67	27.00	R4	R4	R4	R4
29	WS14-M27-17-170	1.67	3.00	3.67	3.67	3.67	5.00	18.67	R4	R4	R4	R4
30	WS14-M27-17-174	1.00	2.33	3.00	3.67	4.33	5.00	17.33	R4	R4	R4	R4
31	WS14-M27-17-188	1.67	3.00	3.67	4.33	5.00	6.33	21.67	R4	R4	R4	R4
32	WS14-M27-17-192	2.33	3.67	5.00	5.00	5.67	7.00	26.33	R4	R4	R4	R4
33	WS14-M27-17-195	3.00	5.67	6.33	7.00	8.33	8.33	35.33	R4	R4	R4	R4
34	WS14-M27-17-199	1.67	3.00	4.33	5.00	6.33	7.67	25.00	R4	R4	R4	R4
35	WS14-M27-17-200	1.00	1.67	2.33	4.33	4.33	5.00	16.67	R4	R4	R4	R4
36	WS14-M27-17-202	3.00	3.67	3.67	5.00	5.67	5.67	25.00	R4	R4	R4	R4
37	WS14-M27-17-209	2.33	3.00	4.33	3.67	3.67	5.00	20.67	R4	R4	R4	R4
38	WS14-M27-17-234	4.33	5.00	5.67	5.67	7.00	7.67	32.67	R4	R4	R4	R4
Parent	RGD11259-1-9-25	7.00	7.67	8.33	9.00	9.00	9.00	48.67	RGD	RGD	RGD	RGD
Parent	R4-4-2-134-18-57	3.00	3.00	3.67	4.33	5.67	7.00	23.67	R4	R4	R4	R4
Check	IR57514	3.67	5.67	6.33	7.67	7.67	8.33	36.67	-	-	-	-
Check	Rathu Heenati	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	6.00	RH	RH	RH	RH
Check	RD6	4.33	5.00	6.33	7.67	9.00	9.00	38.67	-	-	-	-
Check	TN1	7.67	8.33	9.00	9.00	9.00	9.00	50.67	-	-	-	-
5%LSD		2.39	2.49	2.57	2.33	2.32	2.21	11.58				
mean		2.89	3.89	4.67	5.39	6.25	6.81	27.53				
CV(%)		51.4	39.8	34.2	26.8	23.1	20.1	26.10				

ตารางที่ ๘.2 การคัดเลือกลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F₃ เปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อแม่ และ สายพันธุ์เปรียบเทียบต้านทานและอ่อนแอ ที่อายุข้าว 7 วัน โดยวิธี SSBS H = heterozygous (RH/JGIR), JGIR =Jasmine glutinous IR57514 และRH =CNT1-Bph3 (ต่อ)

Entry	F ₃ introgression lines	Phenotype data (day after infestation; DAI)							Genotype on Chr.6				
		7 DAI	8 DAI	9 DAI	10 DAI	11 DAI	12 DAI	AUC	Wx-Glu23	RM589	SSR24	RM588	
58	WS14-M27-17-354	3.00	3.00	3.00	3.67	5.67	5.67	22.33	R4	R4	R4	R4	
59	WS14-M27-17-360	5.00	5.67	7.00	7.67	7.67	8.33	38.67	H	R4	R4	R4	
60	WS14-M27-17-364	4.33	5.00	7.00	7.00	7.67	9.00	37.67	H	R4	R4	R4	
61	WS14-M27-17-367	1.67	3.00	3.67	4.33	5.00	5.67	21.33	R4	R4	R4	R4	
62	WS14-M27-17-368	1.67	3.67	4.33	5.67	7.00	8.33	27.67	R4	R4	R4	R4	
63	WS14-M27-17-375	3.00	4.33	6.33	7.00	7.00	8.33	33.00	R4	R4	R4	R4	
64	WS14-M27-17-376	1.00	1.67	3.67	4.33	5.00	5.00	18.67	R4	R4	R4	R4	
65	WS14-M27-17-384	1.00	3.00	3.67	4.33	5.67	5.67	21.00	R4	R4	R4	R4	
66	WS14-M27-17-386	5.00	6.33	7.67	7.67	9.00	9.00	42.33	R4	R4	R4	R4	
67	WS14-M27-17-389	3.67	4.33	4.33	5.00	5.67	7.67	28.00	R4	R4	R4	R4	
68	WS14-M27-17-397	2.33	2.33	3.67	3.67	3.67	5.00	18.67	R4	R4	R4	R4	
69	WS14-M27-17-402	1.00	3.67	4.33	5.00	6.33	7.00	24.33	R4	R4	R4	R4	
70	WS14-M27-17-404	3.00	5.67	6.33	7.67	7.67	8.33	35.33	R4	R4	R4	R4	
71	WS14-M27-17-416	1.00	3.00	3.67	5.00	7.00	7.67	24.00	R4	R4	R4	R4	
72	WS14-M27-17-417	1.67	2.33	4.33	3.00	3.00	5.00	17.67	R4	R4	R4	R4	
73	WS14-M27-17-418	2.33	3.00	4.33	5.00	5.67	5.67	23.67	R4	R4	R4	R4	
74	WS14-M27-17-420	2.33	5.00	5.67	6.33	6.33	6.33	30.33	R4	R4	R4	R4	
75	WS14-M27-17-422	4.33	5.67	6.33	7.00	8.33	9.00	37.67	R4	R4	R4	R4	
76	WS14-M27-17-423	1.67	2.33	4.33	4.33	5.00	5.00	20.67	R4	R4	R4	R4	
Parent	RGD11259-1-9-25	7.00	7.67	8.33	9.00	9.00	9.00	48.67	RGD	RGD	RGD	RGD	
Parent	R4-4-2-134-18-57	3.00	3.00	3.67	4.33	5.67	7.00	23.67	R4	R4	R4	R4	
Check	IR57514	3.67	5.67	6.33	7.67	7.67	8.33	36.67	-	-	-	-	
Check	Rathu Heenati	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	6.00	RH	RH	RH	RH	
Check	RD6	4.33	5.00	6.33	7.67	9.00	9.00	38.67	-	-	-	-	
Check	TN1	7.67	8.33	9.00	9.00	9.00	9.00	50.67	-	-	-	-	
5%LSD		2.39	2.49	2.57	2.33	2.32	2.21	11.58					
mean		2.89	3.89	4.67	5.39	6.25	6.81	27.53					
CV(%)		51.4	39.8	34.2	26.8	23.1	20.1	26.10					

ตารางที่ ผ.3 แสดงระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F₄ โดยใช้ต้นข้าวอายุ 7 วัน และ 25 วัน (7 DAS และ 25 DAS) และใช้ประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล อุลลราชธานี

Entry	F ₄ introgression lines ^{1/}	7 day after sowing (7 DAS) ^{2/}								25 day after sowing (25 DAS) ^{2/}							
		8DAI	9DAI	10DAI	11DAI	12DAI	13DAI	14DAI	15DAI	8DAI	10DAI	12DAI	14DAI	16DAI	18DAI	20DAI	AUC
1	RGD13117-115-52 (G)	2.0	2.0	2.0	2.0	3.0	4.0	4.0	12.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	8.0	
2	RGD13117-115-53 (G)	2.0	2.0	3.0	4.0	5.0	6.0	6.0	18.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	8.0	
3	RGD13117-288-2 (NG)	1.0	2.0	2.0	3.0	3.0	3.0	3.0	12.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	8.0	
4	RGD13117-288-3 (NG)	1.0	2.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	13.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	8.0	
5	RGD13117-418-3 (NG)	2.0	2.0	2.0	4.0	4.0	4.0	4.0	15.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	8.0	
6	RGD13117-418-7 (NG)	2.0	2.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	13.5	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	8.0	
7	RGD13117-175 (Non-Bph3)	2.0	2.0	2.0	3.0	5.0	5.0	5.0	15.5	7.7	7.7	9.0	9.0	9.0	9.0	68.0	
8	RGD13117-330 (Non-Bph3)	1.0	2.0	3.0	3.0	4.0	5.0	5.0	15.0	7.7	8.3	9.0	9.0	9.0	9.0	69.3	
Parent	Jasmin glutinous IR57514	8.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	44.5	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	72.0	
Parent	CNT1-Bph3	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	2.0	2.0	5.5	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	8.0	
Check	Rathu Heenati	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	5.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	8.0	
Check	CNT1-Original	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	4.0	4.0	15.5	6.3	7.7	8.3	8.3	8.3	8.3	63.3	
Check	IR57514	3.0	6.0	6.0	8.0	8.0	9.0	9.0	34.0	7.7	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	70.7	
Check	TN1	8.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	44.5	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	72.0	
	P-value ^{3/}	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
	5%LSD	2.1	2.4	2.4	2.3	2.7	3.7	3.7	10.9	1.0	0.9	0.5	0.5	0.5	0.5	4.3	
	mean	2.6	3.2	3.5	4.0	4.4	4.8	4.8	18.8	4.0	4.2	4.4	4.4	4.4	4.4	34.2	
	CV(%)	37.8	35.3	32.4	26.7	28.8	36.2	36.2	27.0	15.6	12.8	7.0	7.0	7.0	7.0	7.5	

หมายเหตุ: ^{1/} (G) หมายถึง glutinous rice และ (NG) หมายถึง non-glutinous rice

^{2/} AUC หมายถึง ข้อมูลเป็นพื้นที่ใต้กราฟ (Area under curve; AUC) แสดงระดับความเสียหายเมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ตั้งแต่วันแรกที่บันทึกข้อมูล จนถึง วันสุดท้ายของการบันทึกข้อมูล

DAI หมายถึง ข้อมูลความเสียหายหลังจากปล่อยแมลง (Day after infestation)

^{3/} ** หมายถึง แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางที่ ผ.4 แสดงระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F₄ โดยใช้ต้นข้าวอายุ 7 วัน และ 25 วัน (7 DAS และ 25 DAS) และใช้ประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พืชชนิดโลก

Entry	F ₄ introgression lines ^{1/}	7 day after sowing (7 DAS) ^{2/}							25 day after sowing (25 DAS) ^{2/}						
		12DAI	13DAI	14DAI	15DAI	16DAI	16DAI	AUC	8DAI	10DAI	12DAI	14DAI	16DAI	16DAI	AUC
1	RGD13117-115-52 (G)	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	12.0	1.0	1.0	2.3	3.0	4.3	18.0	
2	RGD13117-115-53 (G)	3.0	3.0	3.0	4.0	4.0	4.0	13.5	1.7	2.3	3.0	3.0	5.0	23.3	
3	RGD13117-288-2 (NG)	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	12.0	1.0	1.0	1.0	2.3	3.0	12.7	
4	RGD13117-288-3 (NG)	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	4.0	16.0	1.7	2.3	2.3	2.3	3.7	19.3	
5	RGD13117-418-3 (NG)	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	12.0	3.0	3.0	3.0	3.0	5.0	26.0	
6	RGD13117-418-7 (NG)	3.0	4.0	4.0	5.0	6.0	6.0	17.5	1.7	2.3	2.3	3.0	5.0	22.0	
7	RGD13117-175 (Non-Bph3)	2.0	2.0	3.0	3.0	3.0	3.0	10.5	5.0	7.0	7.7	9.0	9.0	61.3	
8	RGD13117-330 (Non-Bph3)	4.0	4.0	6.0	6.0	6.0	6.0	21.0	8.3	9.0	9.0	9.0	9.0	71.3	
Parent	Jasmin glutinous IR57514	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	8.0	32.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	72.0	
Parent	CNT1-Bph3	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	12.0	1.0	1.0	1.7	2.3	3.7	14.7	
Check	Rathu Heenati	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	4.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	8.0	
Check	CNT1-Original	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	3.0	12.0	5.4	6.2	6.9	7.7	8.0	55.0	
Check	IR57514	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	7.0	28.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	72.0	
Check	TNI	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	36.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	72.0	
P-value ^{3/}		**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**
5%LSD		2.25	1.68	1.50	1.68	1.84	1.84	5.3	2.0	1.7	1.5	1.4	1.5	10.2	
mean		4.06	4.19	4.38	4.56	4.63	4.63	17.5	4.1	4.5	4.8	5.2	6.0	39.1	
CV(%)		26.10	18.90	16.20	17.30	18.70	18.70	14.2	29.2	22.6	18.8	15.6	15.1	15.5	

หมายเหตุ: ^{1/} (G) หมายถึง glutinous rice และ (NG) หมายถึง non-glutinous rice

^{2/} AUC หมายถึง ข้อมูลเป็นพื้นที่ใต้กราฟ (Area under curve; AUC) แสดงระดับความเสียหายเมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ตั้งแต่ต้นแรกที่บ้านที่ปลูก จนถึง วันสุดท้ายของการบันทึกข้อมูล DAI หมายถึง ข้อมูลความเสียหายหลังจากปล่อยแมลง (Day after infestation)

^{3/} ** หมายถึง แสดงถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางที่ ผ.5 แสดงระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F₄ โดยใช้ต้นข้าวอายุ 7 วัน และ 25 วัน (7 DAS และ 25 DAS) และใช้ประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล กำแพงเพชร

Entry	F ₄ introgression lines ^{1/}	7 day after sowing (7 DAS) ^{2/}										25 day after sowing (25 DAS) ^{2/}					
		8DAI	9DAI	10DAI	11DAI	12DAI	13DAI	14DAI	15DAI	AUC	8DAI	10DAI	12DAI	14DAI	16DAI	AUC	
1	RGD13117-115-52 (G)	1.7	2.3	3.7	3.7	3.7	3.7	3.7	3.7	23.3	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	8.0	
2	RGD13117-115-53 (G)	3.0	3.0	4.3	5.0	5.0	5.0	6.3	6.3	33.3	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	8.0	
3	RGD13117-288-2 (NG)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	7.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	8.0	
4	RGD13117-288-3 (NG)	1.0	1.0	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	10.7	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	8.0	
5	RGD13117-418-3 (NG)	1.0	1.0	1.0	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	10.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	8.0	
6	RGD13117-418-7 (NG)	1.0	1.7	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	2.3	15.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	8.0	
7	RGD13117-175 (Non-Bph3)	1.0	1.7	2.3	3.0	3.7	3.7	3.7	3.7	20.3	1.0	1.0	1.0	1.7	1.7	10.0	
8	RGD13117-330 (Non-Bph3)	2.3	3.7	5.0	5.0	5.7	6.3	6.3	6.3	36.3	1.0	1.7	3.0	4.3	4.3	23.3	
Parent	Jasmine glutinous IR57514	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	63.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	72.0	
Parent	CNT1-Bph3	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	7.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	8.0	
Check	Rathu Heenati	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	7.0	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0	8.0	
Check	CNT1-Original	1.0	1.0	1.0	1.7	1.7	1.7	1.7	1.7	10.0	1.0	1.0	1.7	2.3	2.3	13.3	
Check	IR57514	4.3	5.7	5.7	6.3	8.3	8.3	9.0	9.0	50.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	72.0	
Check	TN1	7.7	8.3	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	61.7	9.0	9.0	9.0	9.0	9.0	72.0	
P-value ^{3/}		**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	**	
5%LSD		1.4	1.8	2.2	2.7	2.6	2.8	2.6	2.6	15.4	0.0	0.5	0.5	0.9	0.9	3.5	
mean		2.6	3.0	3.4	3.7	3.9	4.0	4.1	4.1	25.3	2.7	2.8	2.9	3.1	3.1	23.3	
CV(%)		31.8	36.2	38.2	43.7	40.3	42	38.4	38.4	36.3	0	11.2	10.6	17.3	17.3	9.1	

หมายเหตุ: ^{1/} (G) หมายถึง glutinous rice และ (NG) หมายถึง non-glutinous rice

^{2/} AUC หมายถึง ข้อมูลเป็นพื้นที่ใต้กราฟ (Area under curve; AUC) แสดงระดับความเสียหายเมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ตั้งแต่วันแรกที่บันทึกข้อมูล จนถึง วันสุดท้ายของการบันทึกข้อมูล

DAI หมายถึง ข้อมูลความเสียหายหลังจากปล่อยแมลง (Day after infestation)

^{3/} ** หมายถึง แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางที่ ๘.6 แสดงระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร F₄ โดยใช้ต้นข้าวอายุ 7 วัน และ 25 วัน (7 DAS และ 25 DAS) และใช้ประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล น่าน

Entry	F ₄ introgression lines ^{1/}	7 day after sowing (7 DAS) ^{2/}									25 day after sowing (25 DAS) ^{2/}				
		9DAI	10DAI	11DAI	12DAI	13DAI	14DAI	15DAI	16DAI	AUC	8DAI	10DAI	13DAI	15DAI	AUC
1	RGD13117-115-52 (G)	3.0	3.0	3.7	4.3	5.0	7.0	21.0			1.0	1.0	2.0	3.0	11.5
2	RGD13117-115-53 (G)	3.0	3.7	5.0	5.7	6.3	7.7	26.0			1.0	2.0	4.0	5.0	21.0
3	RGD13117-288-2 (NG)	2.3	2.3	2.3	3.0	3.7	5.0	15.0			1.0	1.0	3.0	4.0	15.0
4	RGD13117-288-3 (NG)	3.7	4.3	4.3	5.7	6.3	7.7	26.3			3.0	3.0	4.0	6.0	26.5
5	RGD13117-418-3 (NG)	2.3	2.3	2.3	3.0	3.7	5.0	15.0			1.0	3.0	5.0	5.0	26.0
6	RGD13117-418-7 (NG)	2.3	3.0	4.3	4.3	5.7	6.3	21.7			2.0	4.0	5.0	6.0	30.5
7	RGD13117-175 (Non-Bph3)	3.7	4.3	5.0	5.0	7.0	7.0	26.7			9.0	9.0	9.0	9.0	63.0
8	RGD13117-330 (Non-Bph3)	5.7	6.3	7.0	8.3	9.0	9.0	38.0			9.0	9.0	9.0	9.0	63.0
Parent	Jasmine glutinous IR57514	7.0	8.3	8.3	8.3	8.3	9.0	41.3			9.0	9.0	9.0	9.0	63.0
Parent	CNT1-Bph3	1.0	2.3	3.7	6.3	6.3	7.7	23.0			3.0	3.0	5.0	7.0	30.0
Check	Rathu Heenati	1.0	1.7	3.7	3.7	5.0	6.3	17.7			1.0	1.0	2.0	2.0	10.5
Check	CNT1-Original	1.0	2.3	2.3	3.0	4.3	5.0	15.0			6.0	9.0	9.0	9.0	60.0
Check	IR57514	5.0	5.7	5.7	5.7	5.7	7.0	28.7			9.0	9.0	9.0	9.0	63.0
Check	TN1	5.7	6.3	6.3	8.3	9.0	9.0	37.3			9.0	9.0	9.0	9.0	63.0
P-value ^{3/}		**	**	**	**	**	**	*			**	**	**	**	**
5%LSD		2.1	2.7	3.0	3.1	3.4	2.8	12.9			2.0	2.0	1.6	2.3	8.8
mean		3.3	4.0	4.5	5.2	5.9	7.0	24.7			4.6	5.1	6.0	6.6	39.0
CV(%)		38.7	41.3	40.6	35.9	34.2	24.2	31.4			20.3	18.0	12.6	16.3	10.5

หมายเหตุ: ^{1/} (G) หมายถึง glutinous rice และ (NG) หมายถึง non-glutinous rice

^{2/} AUC หมายถึง ข้อมูลเป็นพื้นที่ใต้กราฟ (Area under curve; AUC) แสดงระดับความเสียหายเมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ตั้งแต่ต้นแรกขึ้นที่ปักชำจนถึง วันสุดท้ายของการบันทึกข้อมูล

DAI หมายถึง ข้อมูลความเสียหายหลังจากปล่อยแมลง (Day after infestation)

^{3/} ** หมายถึง แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ	นายธนธิป ทาปลัด
ประวัติการศึกษา	ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาวิชาพืชไร่นา มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี พ.ศ. 2554
ทุนการศึกษาและวิจัย	คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี โครงการทุนสถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีไทย (TGIST) สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC)
ผลงานทางวิชาการ	ธนธิป ทาปลัด ศิริภา ก่ออินทร์ศักดิ์ อธิยุทธ ตูจินดา และ สุรพร เกตุงาม. 2557. การค้นหา QTLs ควบคุมลักษณะต้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์ IR57514. ใน การประชุมวิชาการข้าวแห่งชาติ ครั้งที่ 3 “ข้าวไทยสู่สากล”, 11-12 กันยายน 2557 ณ โรงแรมมิราเคิลแกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพมหานคร. ธนธิป ทาปลัด ศรีสวัสดิ์ ชันทอง อธิยุทธ ตูจินดา และ สุรพร เกตุงาม. 2559. ผลของอายุข้าวต่อการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มียีน <i>Bph3</i> บนโครโมโซม 6. ใน การประชุมวิชาการข้าวแห่งชาติ ครั้งที่ 4 “งานวิจัยข้าวเพื่อรับการเปลี่ยนแปลงของโลก”, 1-3 กันยายน 2559 ณ โรงแรมเซ็นทารา ศูนย์ราชการและคอนเวนชันเซ็นเตอร์ แจ้งวัฒนะ กรุงเทพมหานคร.