การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในการตรวจหายีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบ้แห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่ปลูกในบางพื้นที่ของภาคเหนือตอนล่าง ประเทศไทย

สโรชา ทวาทศปกรณ์

วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ
ปีการศึกษา 2566
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในการตรวจหายีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบ้แห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่ปลูกในบางพื้นที่ของภาคเหนือตอนล่าง ประเทศไทย

สโรชา ทวาทศปกรณ์

วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ
ปีการศึกษา 2566
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

วิทยานิพนธ์ เรื่อง "การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในการตรวจหายีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบ้แห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่ปลูกในบางพื้นที่ของภาคเหนือตอนล่าง ประเทศไทย"
ของ สโรชา ทวาทศปกรณ์
ได้รับการพิจารณาให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์
(รองศาสตราจารย์ ดร.ธัชคณิน จงจิตวิมล)

..... ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
(รองศาสตราจารย์ ดร.วันดี วัฒนชัยยิ่งเจริญ)

..... กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิทธิชัย อุดก่ำ)

..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เนริสา คุณประทุม)

อนุมัติ

.....
(รองศาสตราจารย์ ดร.กรองกาญจน์ ชูทิพย์)
คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอในการตรวจหายีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง
และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่ปลูกในบางพื้นที่ของภาคเหนือตอนล่าง ประเทศไทย

ผู้วิจัย สโรชา ทวาทศปกรณ์

ประธานที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.วันดี วัฒนชัยยิ่งเจริญ

กรรมการที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิทธิชัย อุดก่ำ

ประเภทสารนิพนธ์ วิทยานิพนธ์ วท.ม. วิทยาศาสตร์ชีวภาพ, มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2566

คำสำคัญ การประเมินลักษณะฟีโนไทป์, ข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง, เครื่องหมายดีเอ็นเอ, โรคและแมลงในข้าว

บทคัดย่อ

การผลิตข้าวและส่งออกข้าวไทยที่ผ่านมายังคงพบปัญหาการระบาดของโรคและแมลงที่ส่งผลต่อเนื่องมาจนถึงปัจจุบัน ได้แก่ ปัญหาการระบาดของโรคไหม้มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* โรคขอบใบแห้งเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens*) ซึ่งพบการระบาดได้ในทุกพื้นที่ทั่วประเทศ รวมถึงประเทศไทย โรคและแมลงเหล่านี้มีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม ทำให้ยากต่อการควบคุม ประเทศไทยนับเป็นแหล่งความหลากหลายทางพันธุกรรมข้าว โดยเฉพาะข้าวพื้นเมืองเป็นแหล่งของยีนที่สำคัญรวมถึงมียีนต้านทานต่อโรคและแมลงศัตรูพืชสามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะต้านทานต่อโรค และแมลงในอนาคต งานวิจัยนี้จึงทำการตรวจสอบยีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 20 สายพันธุ์ ร่วมกับประเมินความต้านทาน พบว่าจากการตรวจสอบยีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล มียีนต้านทานอย่างน้อย 1 ตำแหน่ง และเมื่อประเมินระดับความต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้พบคู่ของยีน *Pi9* และ *Pigm*(t) โรคขอบใบแห้งพบยีน *xa5* ซึ่งส่งผลต่อระดับความต้านทานในข้าว ในขณะที่เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่าความต้านทานในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองมีระดับความต้านทานต่อการทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแตกต่างกัน นอกจากนี้จากการประเมินดังกล่าวพบข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่น่าสนใจ จำนวน 2 สายพันธุ์ (ข้าวหอมดง และข้าวเหลืองเกษตร) ยังคงมีความต้านทานต่อโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (14 วัน) ซึ่งแสดงให้เห็น

ว่าข้าวพันธุ์พื้นเมืองเหล่านี้ยังมีความแปรผันทางพันธุกรรมที่เป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาพันธุ์ข้าวให้มีความต้านทานต่อโรคและแมลงได้ต่อไปในอนาคต

Title USING DNA MARKERS FOR SCREENING OF RICE BLAST, BACTERIAL BLIGHT, AND BROWN PLANTHOPPER RESISTANCE GENES IN LOCAL RICE VARIETIES GROWN IN SOME AREAS OF THE LOWER NORTHERN THAILAND

Author Sarocha Thawathotsapakorn

Advisor Associate Professor Wandee Wattanachaiyingcharoen, Ph.D.

Co-Advisor Assistant Professor Sittichai Urtgam, Ph.D.

Academic Paper M.S. Thesis in Biological Sciences, Naresuan University, 2023

Keywords Phenotypic screening, Local rice varieties, DNA markers, Diseases and insect pest in rice

ABSTRACT

In the past, the production and export of Thai rice have been plagued by disease and insect pest outbreaks, and these issues have persisted to the present, including: the outbreak of rice blast caused by *Pyricularia oryzae*. Bacterial blight is caused by the bacteria *Xanthomonas oryzae* pv. oryzae, and the brown planthopper (*Nilaparvata lugens*) is present throughout the country, including Thailand. These diseases and insects have been adapting to their environment, making them difficult to control. Thailand is considered one of the rice genetic resources, especially local rice varieties, which are the source of important disease and insect resistance genes and can be used in rice breeding programs for disease and insect-resistant varieties. This study aimed to detect rice blast, bacterial blight, and brown planthopper resistance genes using gene-specific primers and evaluate resistance levels in twenty local rice varieties. The results showed that all twenty local rice varieties have at least one resistance gene. The evaluation for rice blast resistance discovered the *Pi9* and *Pigm*(t) gene pairs. Bacterial blight found that the *xa5* gene, which affects the resistance level in rice, while for the brown planthopper found that resistant local rice varieties had different levels of resistance to BPH infestation. Additionally, the above evaluation

found two interesting local rice varieties, namely Hom Dong rice and Lueang Kaset rice. These varieties exhibited resistance to rice blast, bacterial blight, and brown planthopper infestation for a period of 14 days. Hence, these local rice varieties still have genetic variations that are beneficial for the development of rice varieties resistant to diseases and insect pests in the future.

ประกาศคุณูปการ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ รองศาตราจารย์ ดร. วันดี วัฒนชัยยิ่งเจริญ ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา และคำแนะนำ ในการดำเนินงานวิจัยนี้ รวมทั้งชี้แนะแนวทางในการแก้ไปปัญหาต่าง ๆ และการตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์นี้ให้มีความสมบรูณ์ ขอขอบคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สิทธิชัย อุดก่ำ กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำแนะนำในการตรวจแก้วิทยานิพนธ์ให้มีความสมบรูณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ธัชคณิน จงจิตวิมล ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. เนริสา คุณประทุม คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ผู้ทรงคุณวุฒิภายใน ที่ให้เกียรติมาเป็นกรรมการสอบในครั้งนี้ ตลอดจนให้ความรู้ และคำแนะนำในการตรวจแก้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบรูณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้ให้ความรู้ คำชี้แนะ และคำแนะนำ ตลอดการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร และสาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ที่ให้ความอนุเคราะห์การใช้เครื่องมือและสถานที่ในการทำวิจัยครั้งนี้ ตลอดจนพี่เจ้าหน้าที่ทุกคน ที่ให้ความกรุณาอำนวยความสะดวกในการเบิกใช้อุปกรณ์ และดำการเนินเอกสาร ในการทำวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้ และขอขอบคุณศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลกที่ให้ความอนุเคราะห์ข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองและเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพื่อใช้ในการทดสอบครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณพระคุณบิดา มารดา และครอบครัว ที่คอยให้คำปรึกษา คำแนะนำ เป็นกำลังใจที่ดีในการทำวิจัยในครั้งนี้ให้สำเร็จได้ด้วยดี และให้การสนับสนุนในทุก ๆ ด้านอย่างดีที่สุดเสมอมา

สโรชา ทวาทศปกรณ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ค

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

ประกาศคุณูปการ ..... ช

สารบัญ ..... ซ

สารบัญตาราง ..... ฎ

สารบัญรูปภาพ ..... ฑ

บทที่ 1 บทนำ 1

ความเป็นมาของปัญหา 1

จุดมุ่งหมายของการศึกษา 2

ขอบเขตของงานวิจัย 2

สมมติฐานของการวิจัย 3

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4

ความสำคัญและคุณลักษณะของข้าว 4

ข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง (local rice varieties) 5

ความต้านทานต่อการเกิดโรค 7

ลักษณะการต้านทานในพืช 8

ยีนต้านทานโรคพืช (plant disease resistance genes) 9

โรคไหม้ในข้าว (rice blast disease) 10

วงจรชีวิตของเชื้อราโรคไหม้....10
ลักษณะอาการของโรคไหม้....11
การควบคุมและการกำจัดโรคไหม้....12
ยีนต้านทานโรคไหม้ในข้าว (rice blast resistance gene)....13
โรคขอบใบแห้ง (bacterial blight disease)....16
วงจรชีวิตของเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุของโรคขอบใบแห้ง....17
ลักษณะอาการของโรคขอบใบแห้ง....18
การควบคุมและการกำจัดโรคขอบใบแห้ง....19
ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง (bacterial blight resistance gene)....19
เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (brown planthopper)....21
ลักษณะการทำลายและความเสียหาย....22
การป้องกันและกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล....23
ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าว....23
เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker)....25
การประเมินระดับความเสียหายที่เกิดจากโรคและแมลงในข้าว....28
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย....32
การเตรียมตัวอย่างข้าวสำหรับการสกัดดีเอ็นเอ....32
การสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction)....33
การตรวจสอบยีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ....33
การตรวจสอบการแสดงออกของยีนด้วยยีน *Actin*....33

การตรวจสอบยีนต้านทานโรคไหม้ โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะ.....34
การตรวจสอบยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะ.....34
การตรวจสอบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะ.....35
การตรวจสอบยีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล....36
การประเมินระดับความต้านทานของข้าวต่อความต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล.....37
การเตรียมตัวอย่างข้าวในการทดสอบระดับความต้านทาน.....37
การเตรียมสปอร์และการประเมินความต้านทานต่อเชื้อรา *Pyricularia oryzae* ของโรคไหม้.....37
การเตรียมเชื้อและการประเมินความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ของโรคขอบใบแห้ง.....38
การเก็บตัวอย่างและการเลี้ยงเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล.....38
การประเมินระดับความต้านทานของข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองต่อความต้านทาน เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล.....39
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....40
การตรวจสอบยีนต้านทานโรคและแมลงในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ.....40
การตรวจสอบยีนต้านทานโรคไหม้ในข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae*.....40
การตรวจสอบยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งในข้าวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*.....42
การตรวจสอบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens*).....44
การประเมินระดับความต้านทานของข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองต่อความต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล.....50

การประเมินระดับความต้านทานของข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ 50
ความสัมพันธ์ระหว่างยีนต้านทานและระดับความต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง.....53
การประเมินระดับความต้านทานของข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองต่อเชื้อแบคทีเรียโรคขอบใบแห้ง 56
ความสัมพันธ์ระหว่างยีนต้านทานและระดับความต้านทานโรคขอบใบแห้งในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง 60
การประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง 62
ความสัมพันธ์ระหว่างยีนต้านทานและระดับความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง.....65
บทที่ 5 บทสรุป.....68
สรุปผลการวิจัย.....68
อภิปรายผล 69
ข้อเสนอแนะ 72
บรรณานุกรม.....73
ประวัติผู้วิจัย 100

สารบัญตาราง

หน้า

ตาราง 1 การประเมินความต้านทานของโรคไหม้ที่เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* ในสภาพโรงเรือน โดยวิธี SES 28

ตาราง 2 การประเมินความต้านทานของโรคขอบใบแห้งที่เกิดจากเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ในสภาพโรงเรือน โดยวิธี SES 29

ตาราง 3 การประเมินความต้านทานของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพโรงเรือน โดยวิธี SES 29

ตาราง 4 การประเมินความต้านทานโรคในสภาพแปลง โดยวิธี SES 30

ตาราง 5 การประเมินความต้านทานของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพแปลง โดยวิธี SES 31

ตาราง 6 รายชื่อตัวอย่างพันธุ์ข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่ใช้ในการทดสอบ 32

ตาราง 7 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษายีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 35

ตาราง 8 การประเมินความต้านทานของโรคไหม้ที่เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* 37

ตาราง 9 การประเมินความต้านทานของโรคขอบใบแห้งที่เกิดจากเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* 38

ตาราง 10 การประเมินความต้านทานของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 39

ตาราง 11 การตรวจสอบยีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้ไพรเมอร์ 48

ตาราง 12 ระดับความต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 2 ไอโซเลท (PG6034 และ PG6204) ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง 20 สายพันธุ์ 52

ตาราง 13 ความสัมพันธ์ระหว่างยีนต้านทานและระดับความต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ (*Pyricularia oryzae*) ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง 55

ตาราง 14 ระดับความต้านทานของข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง 20 สายพันธุ์ต่อเชื้อแบคทีเรียโรคขอบใบแห้ง จำนวน 2 ไอโซเลท (BB-6436 และ BB-6442).....57

ตาราง 15 ความสัมพันธ์ระหว่างยีนต้านทานโรคและระดับความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง.....60

ตาราง 16 ระดับความต้านทานของการเข้าทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens*) ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง 20 สายพันธุ์ 64

ตาราง 17 ความสัมพันธ์ระหว่างยีนต้านทานและระดับความต้านทานต่อการเข้าทำลายของ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง 20 สายพันธุ์.....66

ตาราง 18 ยีนต้านทานโรคและระดับความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคไหม้ที่พบในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 20 สายพันธุ์ 84

ตาราง 19 ยีนต้านทานโรคและระดับความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งที่พบในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 20 สายพันธุ์.....87

ตาราง 20 ยีนต้านทานโรคและระดับความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่พบในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 20 สายพันธุ์.....91

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างพืชอาศัยกับเชื้อสาเหตุโรคพืช 8

ภาพ 2 วงจรการเข้าทำลายต้นข้าวของเชื้อรา *P. oryzae* 11

ภาพ 3 อาการของโรคไหม้ 12

ภาพ 4 ตำแหน่งของยีนต้านทานโรคไหม้บนโครโมโซมข้าว 14

ภาพ 5 การเข้าทำลายของเชื้อ *Xoo* 17

ภาพ 6 อาการโรคขอบใบแห้ง 18

ภาพ 7 วงจรชีวิตเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 21

ภาพ 8 อาการไหม้ (hopper-burn) ของต้นข้าว 22

ภาพ 9 ผลผลิตพีซีอาร์ของยีน *Actin* มีขนาด 200 bp 40

ภาพ 10 ผลผลิตพีซีอาร์ของยีนต้านทานโรคไหม้ 42

ภาพ 11 ผลผลิตพีซีอาร์ของยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง 44

ภาพ 12 ผลผลิตพีซีอาร์ของยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 45

ภาพ 13 ลักษณะอาการของเชื้อรา *Pyricularia oryzae* ไอโซเลท PG6204 บนใบข้าวหลังปลูกเชื้อ 14 วัน 53

ภาพ 14 ลักษณะอาการของเชื้อรา *Pyricularia oryzae* ไอโซเลท PG6034 บนใบข้าวหลังปลูกเชื้อ 14 วัน 53

ภาพ 15 ลักษณะอาการในแต่ละระดับความต้านทานหลังปลูกเชื้อแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* ไอโซเลท BB-6436 บนใบข้าว 14 วัน 59

ภาพ 16 ลักษณะอาการในแต่ละระดับความต้านทานหลังปลูกเชื้อแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* ไอโซเลท BB-6442 บนใบข้าว 14 วัน 59

ภาพ 17 ลักษณะอาการในแต่ละระดับความต้านทานของการเข้าทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens*) เมื่อประเมินผลที่ 7 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล..63

ภาพ 18 ลักษณะอาการในแต่ละระดับความต้านทานของการเข้าทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens*) 14 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล.....63

ภาพ 19 ลักษณะอาการในแต่ละระดับความต้านทานของการเข้าทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens*) 21 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล.....64

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาของปัญหา

ข้าว (*Oryza sativa*) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย มีการผลิตและส่งออกไปยังประเทศต่างๆ ทั่วโลกมาอย่างยาวนาน แต่การผลิตข้าวไทยลดลงเมื่อเทียบกับประเทศผู้ส่งออกข้าวอื่นที่เป็นคู่แข่งของไทย เนื่องจากพื้นที่ปลูกข้าวส่วนใหญ่ต้องอาศัยน้ำฝนในการเพาะปลูก การขาดแคลนเมล็ดพันธุ์ข้าวที่ดี รวมทั้งต้นทุนการผลิตข้าวของไทยสูงกว่าคู่แข่งรายสำคัญ โดยเฉพาะความจำเป็นที่จะต้องใช้สารเคมีเพื่อกำจัดโรคและแมลงศัตรูพืชในปริมาณมาก เนื่องจากไทยมีการปลูกข้าวต่อเนื่องทั้งปี ส่งผลให้ระบบนิเวศขาดความสมดุลและเกิดการระบาดของโรคและแมลงศัตรูพืช ทำให้ไม่สามารถตัดวงจรของโรคและแมลงศัตรูพืชได้ (กรมการข้าว, 2564) ปัจจุบันยังพบปัญหาการระบาดของโรคและแมลงที่สำคัญในข้าว สร้างความเสียหายต่อผลผลิตข้าวในประเทศไทยเป็นจำนวนมาก ได้แก่ โรคไหม้ (rice blast) มีสาเหตุเกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* ต่อมาโรคขอบใบแห้ง (bacterial blight) จากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* หรือที่เรียกว่าเชื้อ *Xoo* และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (brown planthopper; *Nilaparvata lugens*) และพบการระบาดของศัตรูข้าวทั้ง 3 ชนิด ในทุกพื้นที่ทั่วประเทศ โรคไหม้ทำให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตข้าวได้สูงสุดถึง 90% โรคขอบใบแห้งสร้างความเสียหายส่งผลให้ผลผลิตข้าวลดลงประมาณ 74-81% ส่วนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทำความเสียหายแก่ผลผลิตข้าวสูงถึง 80% ซึ่งความรุนแรงของโรคและแมลงขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ โดยเฉพาะปัจจัยทางสภาพแวดล้อม ที่ทำให้เกิดการปรับตัวของโรคและแมลงให้เข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไป รวมไปถึงความสามารถในการต้านทานต่อสารเคมีกำจัดเชื้อโรคและแมลงศัตรูพืช (Nyunt et al., 2019) อย่างไรก็ตาม วิธีการหนึ่งในการควบคุมการระบาดของโรคและแมลงที่มีประสิทธิภาพ คือการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความต้านทานต่อโรคและแมลง

ประเทศไทยเป็นแหล่งที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าว โดยเฉพาะข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง (local rice varieties) เป็นพันธุ์ข้าวที่เกษตรกรคัดเลือกและเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์สืบทอดต่อกันมา ข้าวพันธุ์พื้นเมืองมีลักษณะเด่นอย่างหนึ่ง คือ มีความสามารถในการต้านทานต่อโรคและแมลง สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี ในเขตพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทยมีการปลูกข้าวพันธุ์พื้นเมืองกันในหลายพื้นที่ ตัวอย่างเช่น ในจังหวัดพิษณุโลก อุตรดิตถ์ สุโขทัย พิจิตร และ

จังหวัดอื่นๆ แต่ปัจจุบันพบว่าการปลูกข้าวพันธุ์พื้นเมืองลดลง เนื่องจากผลตอบแทนจากผลผลิตของข้าวพันธุ์พื้นเมืองน้อยกว่าข้าวพันธุ์การค้า หรือที่เรียกว่า“ข้าวปลูก” เนื่องจากข้าวพันธุ์การค้าให้ผลผลิตสูง คุณภาพเมล็ดดีและเป็นที่ต้องการของตลาด ดังนั้น แหล่งพันธุกรรมข้าวพันธุ์พื้นเมืองจึงลดน้อยลง ข้าวพันธุ์พื้นเมืองนับเป็นแหล่งพันธุกรรมที่สำคัญที่มีคุณค่าต่อการนำมาใช้ปรับปรุงพันธุ์ข้าว เนื่องจากในข้าวพันธุ์พื้นเมืองมีความแปรผันทางพันธุกรรมสูง นอกจากนี้ยังมีลักษณะที่สำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น ความหอม ลักษณะทนต่อความแห้งแล้ง ลักษณะเมล็ดเรียว-ยาว มีน้ำหนักเมล็ดมาก รวมถึงมียีนต้านทานต่อโรคและแมลงหรือทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่แปรปรวน (สุรีพร เกตุงาม และคณะ, 2553) ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีจุดมุ่งหมายเพื่อตรวจสอบยีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองบางสายพันธุ์ที่มีการปลูกในพื้นที่จังหวัดพิษณุโลก สุโขทัย ตาก และพิจิตร โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ และประเมินระดับความต้านทานในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่มียีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้งและเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ข้อมูลเหล่านี้สามารถนำไปใช้ปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความต้านทานโรคและแมลง และอนุรักษ์พันธุ์ข้าวพันธุ์พื้นเมืองให้คงอยู่ต่อไป

จุดมุ่งหมายของการศึกษา

1. เพื่อตรวจสอบยีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่ปลูกในบางพื้นที่ของภาคเหนือตอนล่าง โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อยีนโรคไหม้ (*Pi9*, *Pi36*, *Pigm*(t), *Pi-ta* และ *Pib*) โรคขอบใบแห้ง (*xa5*, *Xa21*, *Xa33* (RMWR7.1) และ *Xa33* (RMWR 7.6)) และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*, *Bph14* และ *Bph18*(t))

2. เพื่อประเมินความต้านทานในข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่มีลักษณะต้านทานต่อโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง

ขอบเขตของงานวิจัย

1. ตรวจสอบยีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้งและเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองจำนวน 20 พันธุ์ ที่มีการปลูกในพื้นที่จังหวัดพิษณุโลก สุโขทัย ตาก และพิจิตร โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อยีนโรคไหม้ (*Pi9, Pi36*, *Pigm*(t), *Pi-ta* และ *Pib*) โรคขอบใบแห้ง (*xa5*, *Xa21*, *Xa33* (RMWR7.1) และ *Xa33* (RMWR 7.6)) และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*, *Bph14* และ *Bph18*(t))

2. ประเมินความต้านทานในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองจำนวน 20 สายพันธุ์ ที่มีลักษณะต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

สมมติฐานของการวิจัย

1. ข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่ปลูกในบางพื้นที่ของจังหวัดพิษณุโลก สุโขทัย ตาก และพิจิตร ในเขตภาคเหนือตอนล่าง อาจมียีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้งและเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

2. ข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่ปลูกในบางพื้นที่ของภาคเหนือตอนล่างมีลักษณะต้านทานต่อโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพื่อเป็นข้อมูลทางพันธุกรรมของพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่มียีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

2. เพื่อใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ความสำคัญและคุณลักษณะของข้าว

ข้าวเป็นพืชที่มีการปลูกแพร่กระจายไปทั่วโลก ประกอบไปด้วยข้าวป่า (wild species) จำนวน 21 ชนิด ที่มีโครโมโซมเป็นทั้งแบบ diploid และ tetraploid (2n = 48) ในประเทศไทยพบข้าวป่าเพียง 5 ชนิด ได้แก่ *O. rufipogon*, *O. nivara*, *O. officinalis*, *O. granulate* และ *O. ridleyi* และข้าวปลูก (cultivated rice) จำนวน 2 ชนิด ได้แก่ข้าวเอเชีย (*Oryza sativa* L.) และข้าวแอฟริกา (*O. glaberrima* Steud.) ข้าวมีโครโมโซมแบบ diploid (2n = 24) โดยข้าวเอเชียเป็นที่นิยมปลูกเพื่อใช้เป็นอาหารมากที่สุด สามารถแบ่งย่อยออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ ข้าวจาปอนิกา (japonica) เป็นข้าวเมล็ดป้อมนิยมปลูกในเขตหนาวได้แก่ ประเทศจีน ญี่ปุ่น เกาหลี และสหรัฐอเมริกา เป็นต้น ข้าวอินดิกา (indica) มีลักษณะเมล็ดยาว เจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อน เป็นข้าวที่ปลูกในภูมิภาคเอเชียเขตมรสุม คือทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ประเทศไทย ฟิลิปปินส์ เวียดนาม ลาว กัมพูชา พม่า มาเลเซีย และอินโดนีเซีย แถบเอเชียใต้ เช่น ประเทศอินเดีย และศรีลังกา และต่อมาถูกนำไปปลูกในทวีปอเมริกาด้วย และข้าวจาวานิกา (javanica) มีลักษณะเมล็ดยาว ป้อม และลำต้นสูง มีการปลูกไม่มากนักในประเทศอินโดนีเซีย ไต้หวัน ญี่ปุ่น และฟิลิปปินส์ ส่วนข้าวแอฟริกามีการปลูกเฉพาะทางด้านตะวันตกของทวีปแอฟริกาเท่านั้น นอกจากนี้ประเทศไทยยังเป็นหนึ่งในศูนย์กลางของความหลากหลายทางชีวภาพ (center of diversity) ของพันธุกรรมข้าว ซึ่งเป็นมรดกทางทรัพยากรทางชีวภาพที่มีความสำคัญยิ่ง มีการเก็บรวบรวมเมล็ดพันธุ์ข้าวในประเทศไทยอีกหลายแห่ง อาทิ กรมการข้าว ศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าว และ ศูนย์วิจัยข้าวของแต่ละจังหวัด มีความหลากหลายในชนิด และพันธุ์ข้าวปลูกแล้ว ข้าวพันธุ์พื้นเมืองมีความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวและมีลักษณะที่เป็นประโยชน์ต่อการทำนา การตลาดและการบริโภค (ธีระรัตน์ ชิณแสน และคณะ, 2561; เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม, 2561)

ประเทศไทยมีการจำแนกลักษณะพันธุ์ข้าวหลายรูปแบบขึ้นอยู่กับปัจจัยและสิ่งแวดล้อมหลายประการ ดังนี้

1. จำแนกตามคุณสมบัติทางเคมีภายในเมล็ด ได้แก่ ข้าวเจ้า (non-glutinous rice) ประกอบด้วยอะไมโลส (amylose) ร้อยละ 10-30 และอะไมโลเพคติน (amylopectin) ร้อยละ

60-90 และข้าวเหนียว (glutinous rice) ประกอบด้วยอะไมโลส (amylose) น้อยมากเพียงร้อยละ 5 หรือไม่มีเลย แต่มีอะไมโลเพคติน (amylopectin) มากถึงร้อยละ 95

2. จำแนกตามสภาพพื้นที่ปลูก ได้แก่ ข้าวไร่ (upland rice) ข้าวนาสวนหรือนาดำ (lowland rice) และข้าวขึ้นน้ำหรือข้าวนาเมือง (floating rice) ข้าวไร่เป็นข้าวที่ปลูกได้ทั้งบนที่ราบและที่ลาดชันนิยมปลูกกันมากในบริเวณที่ราบสูงตามไหล่เขาทางภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออกและภาคใต้ ข้าวนาสวนหรือนาดำ นิยมปลูกกันมากแทบทุกภาคของประเทศไทย ปลูกในสภาพนาที่มีน้ำขัง และมีการทำคันนาเพื่อกักเก็บน้ำ ข้าวขึ้นน้ำหรือข้าวนาเมือง เป็นข้าวที่ปลูกในพื้นที่ที่มีระดับน้ำท่วมขัง ประมาณ 1 ถึง 5 เมตร ส่วนมากนิยมปลูกในแถบจังหวัดพระนครศรีอยุธยา สุพรรณบุรี สิงห์บุรี ลพบุรี ชัยนาท พิจิตร และอ่างทอง

3. จำแนกตามการเก็บเกี่ยว ได้แก่ ข้าวเบา (early variety) ข้าวกลาง (medium variety) และข้าวหนัก (late variety) ข้าวเบามีอายุการเก็บเกี่ยว 90 - 100 วัน ข้าวกลางอายุการเก็บเกี่ยว 100 - 120 วัน และข้าวหนักอายุการเก็บเกี่ยว ตั้งแต่ 120 วันขึ้นไป โดยอายุการเก็บเกี่ยวนับตั้งแต่เพาะกล้าหรือหว่านข้าวไปในนาจนถึงเก็บเกี่ยว

4. จำแนกตามลักษณะความไวต่อช่วงแสง ได้แก่ ข้าวที่ไวต่อช่วงแสง (photoperiod sensitive variety) และข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสง (non-photoperiod sensitive variety) ข้าวที่ไวต่อช่วงแสงจะมีอายุการเก็บเกี่ยวที่ไม่แน่นอน เนื่องจากจะออกดอกในช่วงเดือนที่มีความยาวของกลางวันสั้นกว่ากลางคืน ส่วนข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสง จะออกดอกและเก็บเกี่ยวได้ทุกฤดู เนื่องจากช่วงแสงไม่มีความอิทธิพลต่อการออกดอก

5. จำแนกตามรูปแบบของเมล็ดข้าวสาร ได้แก่ ข้าวเมล็ดสั้น (short grain) ความยาวของเมล็ดไม่เกิน 5.50 มิลลิเมตร ข้าวเมล็ดยาวปานกลาง (medium-long grain) ความยาวของเมล็ดตั้งแต่ 5.51 - 6.60 มิลลิเมตร ข้าวเมล็ดยาว (long grain) ความยาวของเมล็ดตั้งแต่ 6.61 - 7.50 มิลลิเมตร ข้าวเมล็ดยาวมาก (extra-long grain) ความยาวของเมล็ดตั้งแต่ 7.51 มิลลิเมตรขึ้นไป

6. จำแนกตามฤดูกาล ได้แก่ ข้าวนาปี (rainfed rice) คือข้าวที่ปลูกในฤดูการทำนาปกติ เริ่มตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงตุลาคม และจะเก็บเกี่ยวเสร็จสิ้นไม่เกินเดือนกุมภาพันธ์ ส่วนข้าวนาปรัง (off-season rice) คือข้าวที่ปลูกนอกฤดูการทำนา โดยเริ่มตั้งแต่เดือนมกราคมในบางท้องที่ และจะเก็บเกี่ยวอย่างช้าที่สุดไม่เกินเดือนเมษายน จะนิยมปลูกในท้องที่ที่มีการชลประทานดี

ข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง (local rice varieties)

ข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองไทยนับว่ามีความหลากหลายทางด้านพันธุกรรม (genetic diversity) เป็นอย่างมาก ข้าวท้องถิ่นหรือข้าวพันธุ์พื้นเมือง (local rice varieties) หมายถึงพันธุ์ข้าวที่มี

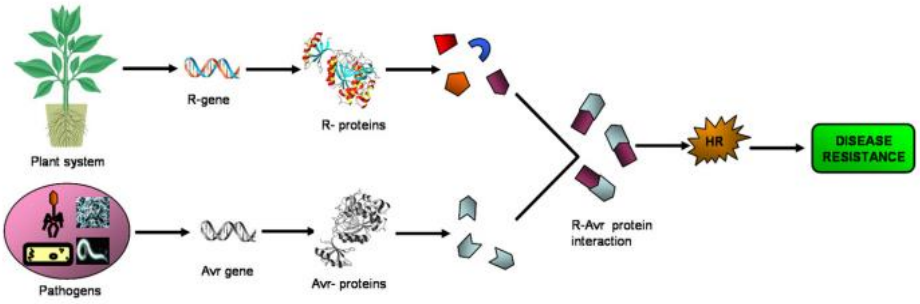
การคัดเลือกโดยธรรมชาติหรือการคัดเลือกโดยมนุษย์ และมีชื่อเรียกที่ยอมรับในหมู่เกษตรกรในท้องถิ่นนั้นๆ ข้าวพันธุ์พื้นเมืองมีลักษณะเด่นในด้านการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมและฤดูปลูก มีความทนทานต่อโรคและแมลงศัตรูพืช และสภาพเครียดต่างๆ นอกจากนี้ยังมีลักษณะสำคัญที่แตกต่างจากพันธุ์ข้าวที่ปลูกเพื่อการค้า โดยส่วนใหญ่ข้าวพันธุ์พื้นเมืองเป็นพันธุ์ที่มีการตอบสนองไวต่อช่วงแสง ต้องการช่วงแสงเวลากลางวันน้อยกว่า 12 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นการออกดอก มีความทนต่อสภาพน้ำลึก ความแห้งแล้ง และข้าวพันธุ์พื้นเมืองทั้งข้าวเจ้าและข้าวเหนียวจะมีความหอม และคุณประโยชน์เฉพาะ (เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม, 2561) ดังนั้นข้าวพันธุ์พื้นเมืองนับว่าเป็นทรัพยากรความหลากหลายทางชีวภาพที่สำคัญของประเทศไทย ข้าวพันธุ์พื้นเมืองจะมีความแปรผันทางพันธุกรรมภายในประชากรสูง เมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม เช่น มีการระบาดของโรคใดโรคหนึ่งขึ้น ข้าวพันธุ์พื้นเมืองบางส่วนจะยังสามารถมีชีวิตอยู่ได้ เนื่องจากภายในกลุ่มประชากรประกอบด้วยแหล่งยีนที่ต้านทานโรคหลาย ๆ ยีนรวมกันอยู่ ซึ่งเกิดขึ้นจากการคัดเลือกโดยธรรมชาติและการคัดเลือกโดยเกษตรกร ทำให้ข้าวพันธุ์พื้นเมืองมีความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม และมีความสามารถในการต้านทานโรคและแมลงได้เป็นอย่างดี (ทรายแก้ว มีสิน, 2547; จักรกฤช ศรีละออ, 2561) รายงานการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองในตำบลเนินเพิ่ม อำเภอนครไทย จังหวัดพิษณุโลกต่อการทนแล้งและให้ผลผลิตสูงจำนวน 18 พันธุ์ พบว่าพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่มีความทนแล้งได้สูงมีจำนวน 7 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวก่ำ ข้าวก่ำนา ข้าวเจ้าฮ่อ ข้าวชิวแม่จัน ข้าวลืมผัว ข้าวแดง และข้าวลาย จากการรายงานของ ชเนษฎ์ ม้าลำพอง และคณะ (2564) ศึกษาการปรับปรุงพันธุ์ข้าวที่ทนทานต่ออุณหภูมิสูงพันธุ์แรกของประเทศไทย โดย “พันธุ์คิมหันต์” เกิดจากการผสมระหว่างพันธุ์พิษณุโลก 2 (พันธุ์รับ: แม่) x พันธุ์ M9962 (พันธุ์ทนร้อน (>40°C) : พ่อ) พบว่าพันธุ์คิมหันต์ มีลักษณะเมล็ดยาว รูปร่างเรียว ทนทานต่ออุณหภูมิสูงในระยะดอกบานจนถึงเก็บเกี่ยว มีร้อยละการติดเมล็ดมากกว่า 70% มีผลผลิตในช่วงฤดูนาปรัง 830 กก./ไร่ นอกจากนี้ รัชนี คงคาฉุยฉาย และคณะ (2551) รายงานว่าในข้าวพันธุ์พื้นเมืองจะมีคุณค่าในทางโภชนาการสูง โดยพบว่าปริมาณธาตุอาหารในข้าวกล้องก่องสีดำจากมุกดาหารมีวิตามินอีสูงสุดคือ 1793.14 ไมโครกรัมต่อ 100 กรัม ข้าวเหนียวดำหอมจากพัทลุงมีธาตุสังกะสีมากถึง 35.50 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ข้าวดิบ ข้าวเกาเหลียง ข้าวม้ามุม และข้าวมะลิเลื้อยมีปริมาณธาตุทองแดง 1.30 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมข้าวดิบ สอดคล้องกับอภิชาติ วรรณวิจิตร (2551) ที่รายงานถึงการค้นพบข้าวเจ้าสีขาวมีธาตุเหล็กสูงระดับ 2.2-2.8 มิลลิกรัม/100 กรัม จากข้าวที่มีการผสมพันธุ์ระหว่างข้าวไร่หอมพม่าและข้าวกล่ำดอยช้าง และจากการผสมพันธุ์ระหว่างข้าวป่านิวาราและข้าวหอมนิลทำให้ได้พันธุ์ข้าวที่มีธาตุเหล็กสูงสุด 4.0 มิลลิกรัม/100 กรัม ในปี 2561 รัชนี คงคาฉุยฉาย รายงานถึงคุณค่าทางโภชนาการของข้าวพันธุ์พื้นเมือง 30 สายพันธุ์ ของกลุ่มอนุรักษ์พันธุกรรมข้าวพันธุ์พื้นเมืองของอำเภอกุดชุม จังหวัดยโสธร พบว่าข้าวพันธุ์พื้นเมืองหลายพันธุ์มีคุณสมบัติในการต่อต้านมะเร็ง

มีสารอาหารประเภทลูทีนและซีแซนทีนช่วยป้องกันภาวะเสื่อมของจอตาและอาการจอประสาทตาเสื่อม อาทิ ข้าวเจ้าแดง ข้าวเหนียวก่ำใหญ่ ข้าวเหนียวก่ำเปลือกขาว ข้าวเหนียวแสนสบาย ข้าวเหนียวสันปลาหลาด

ประพฤติ พรหมสมบูรณ์ (2559) รายงานการศึกษาลักษณะความสูงต้น ความยาวรวง น้ำหนักรวง และจำนวนข้าวเต็มเมล็ด/รวง ของข้าวพันธุ์พื้นเมืองไทย จำนวน 89 พันธุ์ พบว่าข้าวพันธุ์ไม่มีชื่อหมายเลข 2 (unknown 2) ข้าวดำหมอ และข้าวไอ้โข่ง เป็นข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง 3 พันธุ์ที่มีน้ำหนักรวงและจำนวนข้าวเต็มเมล็ด/รวง สูงกว่าข้าวพันธุ์เปรียบเทียบ (ข้าวพันธุ์ไรซ์เบอรี่ และข้าวขาวดอกมะลิ 105) และข้าวพันธุ์พื้นเมืองอื่นๆ นอกจากนี้สุธิสา ฝั้นต๊ะ และคณะ (2562) ศึกษาความแปรปรวนของลักษณะสัณฐานในเมล็ดพันธุ์พื้นเมืองจากภาคเหนือตอนล่าง พบว่าข้าวพื้นเมืองนาสวนมีความยาวของเมล็ดมากที่สุด (10.39 มิลลิเมตร) ส่วนข้าวพื้นเมืองไร่มีความกว้าง ความหนาของเมล็ด และน้ำหนัก 100 เมล็ดมากที่สุด (3.23 และ 2.19 มิลลิเมตร และ 3.33 กรัม ตามลำดับ)

ความต้านทานต่อการเกิดโรค

โรคพืช (plant disease) เป็นความสัมพันธ์ระหว่างพืชอาศัยกับเชื้อสาเหตุโรค หรือระหว่างพืชกับปัจจัยอื่นๆ ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรค มีผลให้พืชเกิดอาการผิดปกติหรือมีสภาพที่เปลี่ยนไปจากเดิม การเกิดโรคพืชมีองค์ประกอบคือ พืชอาศัย (host) เชื้อสาเหตุ (pathogen) สภาพแวดล้อม (environment) ที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค เช่น อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเกิดโรค และเวลา (time) เช่น ระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค การแพร่กระจายของสปอร์ การงอกของสปอร์ หรือช่วงเวลาของการติดเชื้อ เป็นต้น โดยมีรูปแบบความสัมพันธ์ระหว่างพืชอาศัยกับเชื้อสาเหตุโรคพืช คือโมเดลยีน- ต่อ-ยีน (Gene for gene model) อธิบายว่ายีนต้านทานในพืชแต่ละยีนมีความสอดคล้องกันกับโรคพืชที่ก่อให้เกิดโรค (ภาพ 1) เชื้อโรคพืชจะพบในแบคทีเรีย (bacteria) ไวรัส (virus) ไส้เดือนฝอย (nematodes) เชื้อรา (fungus) และแมลง (insects) โมเดลนี้ใช้ได้สำหรับโรคพืชชนิด Biotrophic เช่น ราน้ำค้าง (downy mildew) ราแป้ง (powdery mildew) ราสนิม (rust) โรคใบจุด (leaf spot) ใบไหม้ (leaf blotch/ leaf blight) และอาการเหี่ยว (wilt) เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบปฏิสัมพันธ์ระหว่างพืชและโรคพืชกลุ่ม Hemibiotrophic เป็นกลุ่มของเชื้อโรคพืชทั้งแบคทีเรีย oomycete และกลุ่มของเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคพืช เช่น เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ *Pyricularia oryzae* และโรคพืชชนิด Necrotrophic เป็นกลุ่มของเชื้อโรคที่ชอบกินอาหารจากเซลล์ของสิ่งมีชีวิตที่ตายแล้ว ไม่แสดงปฏิสัมพันธ์จำเพาะต่อสายพันธุ์ของโรคพืช (Gururani et al., 2012)



ภาพ 1 ความสัมพันธ์ระหว่างพืชอาศัยกับเชื้อสาเหตุโรคพืช

Note : From *"Plant disease resistance genes: Current status and future directions" by* Gururani, M. A., Venkatesh, J., Upadhyaya, C. P., Nookaraju, A., Pandey, S. K., & Park, S. W., 2012, Physiological and molecular plant pathology, 78, p. 52.

ลักษณะการต้านทานในพืช

ความต้านทานในพืชจะถูกสร้างขึ้นโดยเชื้อโรคพืช เรียกว่า effector หรือ elicitor ซึ่งมีผลในการส่งเสริมการเกิดโรคในพืชที่ไม่มียีนต้านทาน เรียกว่า virulence effector พืชที่มียีนต้านทาน virulence effector (elicitor) สามารถส่งสัญญาณกระตุ้นความต้านทานขึ้นกลายเป็น avirulence (*Avr*) effector แบ่งได้ดังนี้คือ

1. General resistance คือ พืชมีความต้านทานต่อเชื้อโรคหลากหลายสายพันธุ์ บางครั้งเรียกว่า Horizontal หรือ Polygenic resistance General หรือ non-specific effector (elicitor) ที่สร้างขึ้นมีผลต่อพืชสายพันธุ์ต่าง ๆ ไม่แตกต่างกันจะเป็นสารที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมพื้นฐานของจุลินทรีย์ เช่น glucan และ chitin oligomer

2. Specific resistance คือ พืชที่มีความต้านทานต่อเชื้อสายพันธุ์ใดสายพันธุ์หนึ่งเท่านั้น บางครั้งเรียกว่า Vertical resistance หรือ Major gene resistance โดยมีการสร้าง specific effector (elicitor) จากโรคพืชบางสายพันธุ์เท่านั้น และมีบทบาทเฉพาะในพืชที่มียีนต้านทานที่เข้าคู่กัน การสร้าง effector ชนิดนี้จำเป็นต้องใช้ยีน *Avr* ควบคุมการสร้างโปรตีน หรือเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาสร้างสารที่มีคุณสมบัติหลากหลายแตกต่างกันตามชนิดของโรคพืช โดยกลุ่ม specific effector มักมีโครงสร้างจำเพาะ

3. Tolerance คือลักษณะที่แม้ว่ามีเชื้ออาศัยอยู่ที่ต้นพืชแต่ไม่ส่งผลกระทบต่อผลผลิตของพืช

ยีนต้านทานโรคพืช (plant disease resistance genes)

ยีนต้านทานโรค (resistance gene) มีหน้าที่หลักคือ ตรวจจับโปรตีนหรือสารที่ควบคุมการสร้างโดยยีน *Avr* (*Avr* gene-dependent ligand) และกระตุ้นกลไกการต้านทาน โดยส่วนใหญ่ทำหน้าที่ควบคุมการสร้างโปรตีนแบ่งได้เป็น 8 กลุ่ม ดังนี้

กลุ่มที่ 1 cytoplasm proteins ประกอบด้วย nucleotide-binding site (NBS), leucine rich repeat (LRR) และ toll-interleukin-1-receptor (TIR) ตัวอย่างเช่น กลุ่มยีนต้านทาน *N* จากมะเขือเทศ และ ยีนต้านทาน *L6* และ *RPP5* จากปอ

กลุ่มที่ 2 cytoplasmic proteins ที่มี LRR-NBS motifs และ coiled-coil domain (CC) เช่น กลุ่มยีนต้านทาน *Fusarium oxysporum I2* จากมะเขือเทศ และกลุ่มของยีนต้านทาน *Pseudomonas syringae RPS2 และ RPM1* ในพืช *Arabidopsis*

กลุ่มที่ 3 กลุ่มของโปรตีนที่มี LRR และ transmembrane domain (TrD) เช่น กลุ่มยีนต้านทาน *Cladosporium fulvum* (*Cf-9*, *Cf-4* และ *Cf-2*) ที่มี LRR นอกเซลล์ (eLRR)

กลุ่มที่ 4 ประกอบด้วย ประกอบด้วยยีน *Xa21* จากข้าวที่ต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* โดยยีน *Xa21* แปลรหัสได้เป็น putative transmembrane receptor ที่มีส่วน extracellular LRR domain และ intracellular serine-threonine kinase domain โดยโครงสร้างของ *Xa21* แสดงให้เห็นถึงการรวมระหว่าง LRR protein และ *Pto* kinase

กลุ่มที่ 5 ประกอบด้วย putative extracellular LRRs ร่วมกับ PEST (Pro-Glu-Ser-Thr) domain สำหรับใช้ในการสลายตัวของโปรตีน เช่นกลุ่มยีนต้านทาน *Ve*1 and *Ve*2 จากมะเขือเทศ

กลุ่มที่ 6 Transmembrane protein domain (TrD) ร่วมกับ putative coiled coil domain (CC) เช่น กลุ่มโปรตีน *Arabidopsis* RPW8

กลุ่มที่ 7 กลุ่มของยีน *Arabidopsis* RRS1-R ที่ประกอบไปด้วยโปรตีน TIR-NBS-LRR ร่วมกับ putative nuclear localization signal (NLS) และกรดอะมิโน (amino acid) และ

กลุ่มที่ 8 ประกอบด้วยยีน *HM1* ที่ต้านทานต่อเชื้อรา *Cochlibolus carbonum* race 1 โดย *HM1* แปลรหัสเป็น reduced form ของ nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) -dependent reductase ที่เข้าทำปฏิกิริยากับสารพิษที่สร้างขึ้นจากเชื้อ *C. carbonum* race1 ที่ยีน *HM1* มีความแตกต่างจากกลุ่มยีนต้านทานอื่นเพราะว่า *Avr* component ไม่ได้มีส่วนเกี่ยวข้องกับการทำลายพิษโดย *HM1* (Wang et al., 2009; Thomma et al., 2011; Gururani et al., 2012)

โรคไหม้ในข้าว (rice blast disease)

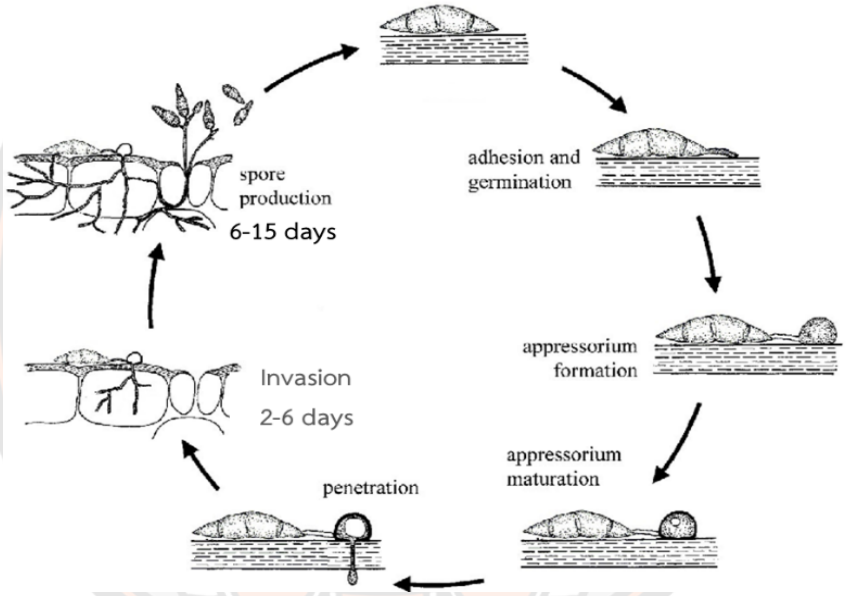
โรคไหม้ (rice blast disease) หรือเรียกว่า โรคใบไหม้ หรือ โรคไหม้คอรวง จัดเป็นหนึ่งในโรคที่สำคัญในการผลิตข้าว สร้างความเสียหายรุนแรงต่อคุณภาพและปริมาณของผลผลิตข้าว ทำให้ผลผลิตข้าวลดลงถึง 90% (Miah et al., 2013; Zhi et al., 2016) มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* สามารถเข้าทำลายได้ตั้งแต่ระยะกล้าไปจนถึงระยะออกรวง พบมากในนาน้ำฝน ในประเทศไทยพบการระบาดของโรคไหม้ได้ในทุกภาค ส่งผลให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตเป็นจำนวนมาก นอกจากนี้เชื้อราชนิดนี้ยังสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดีมีความหลากหลายสูง เชื้อราชนิดนี้มากกว่า 50 ไอโซเลท สามารถเข้าทำลายพืชตระกูลหญ้าได้ เชื้อรา *Pyricularia* spp. สามารถเข้าทำลายข้าวสาลี (*Triticum asetivum*) ข้าวบาร์เลย์ (*Hordeum vulgare*) ข้าวโอ๊ต (*Avena sativa*) ข้าวโพด (*Zae mays*) และข้าวฟ่างหางกระรอก (Italian millet) (Urashima and Silva, 2011) จากการรายงานของ Sirithunya et al. 2008 ได้เก็บรวบรวมเชื้อราก่อโรคไหม้จากแหล่งของข้าวที่เป็น host ได้แก่ ข้าวปลูก ข้าวบาร์เลย์ ข้าวป่า และวัชพืชกว่า 160 ชนิด จากพื้นที่ต่าง ๆ ในประเทศไทย และทำการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรม พบว่าในภาคเหนือของประเทศไทยมีความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อรา *Pyricularia oryzae* มากที่สุด

วงจรชีวิตของเชื้อราโรคไหม้

เชื้อรา *Pyricularia oryzae* เป็นเชื้อราที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศ (asexual reproduction) จัดเป็นชั้นสูงอยู่ใน class deuteromycotina หรือ anamorph phase (imperfect stage) เมื่อสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมเชื้อรา *P. oryzae* จะสร้างแอสโคสปอร์ (ascospore) นอกจากนี้มีการรายงานในกลุ่มของเชื้อราชนิดนี้มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (sexual reproduction) เรียกกลุ่มนี้ว่า *Magnaporthe oryzae* จัดอยู่ใน Division Ascomycota เป็น teleomorph (perfect stage) โดยเชื้อรา *M. oryzae* จะเกิดได้ในสภาพอุณหภูมิ 20–26°C เป็นระยะเวลานานต่อเนื่องกันหรือได้รับการกระตุ้นภายในห้องปฏิบัติการ (Shahriar et al., 2020)

ลักษณะทางสัณฐานของเชื้อรา *P. oryzae* มีโครงสร้างที่เรียกว่า conidiophores เป็นเส้นใยตรงและเรียบ สีน้ำตาลอ่อน มีการสร้างสปอร์ที่เรียกว่า conidia โดยที่บริเวณด้านล่างมีส่วนที่เรียกว่า basal hilum ยื่นออกมาเพื่อใช้ยึดติดกับ sterigma ซึ่งเป็นบริเวณที่ใช้สร้าง conidia โครงสร้างของ conidia จะมี 3 เซลล์ มีผนังที่เรียกว่า septate กั้นอยู่ 2 ผนัง รูปร่างค่อนข้างยาวรี หัวแหลม ท้ายแหลม เซลล์ตรงกลางจะมีลักษณะกว้างสีน้ำตาลซีดกว่าเซลล์ทั้งสองที่บริเวณหัวท้าย (Richard and Valent, 1996; Sharma, 2005) การเข้าทำลายของเชื้อ *P. oryzae* จะเริ่มจาก conidia ตกลงบนผิวใบของข้าว เมื่อได้รับความชื้นที่พอเหมาะ conidia จะสร้าง spore tip

mucilage (STM) ซึ่งเป็นสารเมือกเหนียวอยู่ที่ด้านปลายของ conidia ซึ่งเป็นโครงสร้างพิเศษที่ใช้ในการยึดเกาะกับผิว หลังจากนั้นจะมีการสร้าง single germ tube ขึ้น และจะขยายออกจนมีรูปร่างคล้ายกับตะขอ (hook) เรียกว่า appressorium ซึ่งบริเวณดังกล่าวจะมีการปล่อยสารเคมีออกมาสัมผัสกับผิวพืชเพื่อย่อยผนังเซลล์ แล้วจะมีการสร้างโครงสร้างคล้ายเข็ม (penetration peg) แทงผ่าน cuticle และ cell wall ของพืชเข้าไปภายในเซลล์ จากนั้นจะมีการสร้างเส้นใย (hyphae) จำนวนมากในเซลล์ของพืช (Kankanala et al., 2007) สุดท้ายจะเกิดแผลปรากฏให้เห็นภายใน 7 วัน และมีการสร้าง conidia บนแผล เพื่อเข้าทำลายพืชซ้ำ (ภาพ 2) โดยที่การเพิ่มขึ้นของ conidia บนแผลจะสัมพันธ์กับความชื้นที่ให้รับ (Koga and Nakayachi, 2004; Sharma, 2005)



ภาพ 2 วงจรการเข้าทำลายต้นข้าวของเชื้อรา *P. oryzae*

Note : From “Rice blast disease” by Shahriar, S. A., Imtiaz, A. A., Hossain, M. B., Husna, A., & Eaty, M. N. K.*, 2020, Annual Research & Review in Biology,* p. 57.

ลักษณะอาการของโรคไหม้

เชื้อรา *P. oryzae* สามารถเข้าทำลายต้นข้าวได้ในทุกระยะตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงระยะออกรวง เชื้อสามารถแพร่กระจายไปได้โดยปลิวไปกับลม ในข้าวนาสวน นาปี นาปรังและข้าวไร่ โดยเชื้อราเข้าทำลายบริเวณใบ (ภาพ 3A) ทำให้ใบข้าวเป็นจุด ฉ่ำน้ำ แผลจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและเป็นรูปตาหรือรูปกระสวย ขอบของแผลเป็นสีน้ำตาล ความกว้างของแผลประมาณ 2-5 มิลลิเมตร และความยาวประมาณ 10-15 มิลลิเมตร แต่ถ้าเกิดโรคขึ้นบริเวณรอยต่อระหว่างกาบใบและแผ่นใบ (collar)

เรียกว่า collar blast (ภาพ 3B) ทำให้แผ่นใบเสียหาย ถ้าเกิดขึ้นที่ข้อ เรียกว่า node blast (ภาพ 3C) ทำให้ข้อลำต้นมีสีดำ เปราะและหักง่าย และถ้าเชื้อราเข้าทำลายที่บริเวณคอรวง เรียกว่า โรคไหม้คอรวง (neck/panicle blast) จะพบแผลเป็นสีน้ำตาลแก่ และทำให้เมล็ดลีบ (ภาพ 3D) แต่ถ้าเป็นโรคตอนรวงข้าวแก่ใกล้เก็บเกี่ยวจะปรากฏรอยแผลช้ำสีน้ำตาลที่บริเวณคอรวงทำให้เปราะหักง่าย รวงข้าวร่วงหล่นเสียหายจำนวนมาก (Upadhyay and Bhatta, 2020) จากการรายงานสถานการณ์ศัตรูข้าวรายสัปดาห์ของกรมการข้าว ในช่วงเดือนมกราคม 2564 พบว่ามีการระบาดของโรคไหม้ในพื้นที่ 14 จังหวัด คือ แพร่ น่าน พะเยา อุทัยธานี ตาก ขอนแก่น อุดรธานี สกลนคร มหาสารคาม บุรีรัมย์ อุบลราชธานี ยโสธร บึงกาฬ และจันทบุรี มีพื้นที่การระบาดจำนวน 3,465 ไร่ พบแผลโรคไหม้ทั่วไป 1-5% ของพื้นที่ใบ และพบความรุนแรงของโรคในแปลงที่ทำการสำรวจประมาณ 30% (กรมการข้าว, 2564)

ภาพ 3 อาการของโรคไหม้

(A) leaf blast (B) collar blast (C) node blast (D) panicle blast

Note : From *"Rice blast disease" by* Shahriar, S. A., Imtiaz, A. A., Hossain, M. B., Husna, A., & Eaty, M. N. K.*, 2020, Annual Research & Review in Biology,* p. 56.

การควบคุมและการกำจัดโรคไหม้

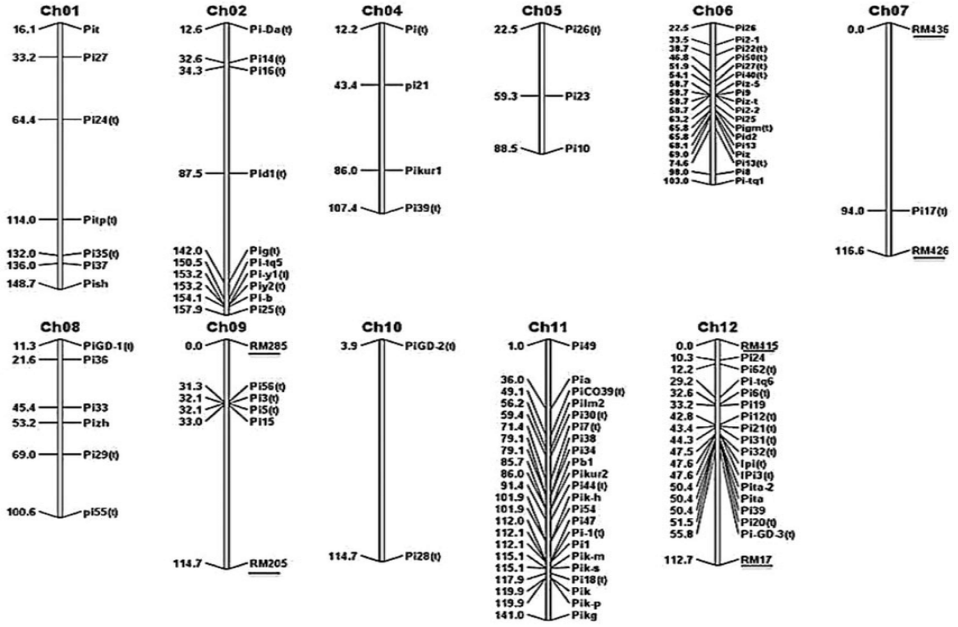
การควบคุมและการกำจัดโรคไหม้ เพื่อลดความเสียหายของผลผลิตข้าว ได้แก่ การใช้พันธุ์ต้านทานโรคไหม้ การใช้สารเคมี การใช้ระยะปลูกข้าวที่เหมาะสม การหว่านเมล็ดพันธุ์ในอัตราที่เหมาะสม คือ 15-20 กิโลกรัม/ไร่ การแบ่งแปลงให้มีการระบายถ่ายเทอากาศดี และการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่เหมาะสมสามารถช่วยป้องกันการเกิดโรคไหม้ได้ หากใส่ในอัตราจะที่สูงเกินไปจะทำให้มีการเจริญเติบโตทางลำต้นทำให้เชื้อสาเหตุโรคไหม้เข้าทำลายได้ง่าย (กรมการข้าว, 2560) แต่อย่างไรก็ตามเกษตรกรนิยมนำสารเคมีมาใช้กำจัดเชื้อราโรคไหม้ เช่น ไตรไซคลาโซล (Tricyclazone) คาซูกาไมซิน (Kasugamycin) คาร์เบนดาซิม (Carbendazim) เป็นต้น แต่การใช้สารเคมีทำให้เกิดสารตกค้างในสภาพแวดล้อม อีกทั้งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคและเพิ่มต้นทุนการผลิต

ให้กับเกษตรกรอีกด้วย นอกจากนี้ส่งผลให้เชื้อราโรคไหม้ในข้าวมีการปรับตัวเพื่อการอยู่รอด ทำให้ต้านทานต่อสารเคมีจนไม่สามารถควบคุมการระบาดของโรคได้ ดังนั้นปัจจุบันจึงมีการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวโดยการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานโรคไหม้ เพื่อใช้ในการควบคุมและป้องกันความเสียหายที่เกิดจากโรคไหม้อย่างมีประสิทธิภาพ (ศรีสวัสดิ์ ขันทอง และคณะ, 2553)

ยีนต้านทานโรคไหม้ในข้าว (rice blast resistance gene)

มีรายงานการค้นพบยีนต้านทานโรคไหม้มากกว่า 100 ยีน แต่ในปัจจุบันยีนต้านทานโรคไหม้จำนวน 22 ยีนที่ได้รับการโคลนแล้ว โดยยีนต้านทานโรคไหม้ส่วนใหญ่จะมีลักษณะเป็นยีนเด่น (dominant gene) ตัวอย่างเช่น *Pib, Pb1, Pid2, Pit, Pik, Pikm, Pikp, Pikh, Pirh, Pia, Pi-ta, Pish, Piz-t, Pi1, Pi2, Pid3, Pi5, Pi9, Pi25, Pi36* และ *Pi37* ยกเว้นยีน *pi21* ที่เป็นยีนด้อย (recessive gene) (Wang, 2014) และมีการวางตำแหน่งของยีนต้านทานโรคไหม้ โดยวิธี Quantitative Trait Loci (QTL) ได้ไม่น้อยกว่า 350 ตำแหน่ง (Sharma et al., 2012) ยีนต้านทานโรคไหม้ส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นยีนเด่น และแหล่งทางพันธุกรรมของยีนต้านทานโรคไหม้ส่วนใหญ่อยู่ในข้าวพันธุ์พื้นเมือง (local rice varieties) มีเพียงยีน *Pi9, Pi54rh, Pi40(t)* และ *Pirf2-1(t)* ที่พบในข้าวสายพันธุ์ป่า *O. minuta, O. rhizomatis, O. australiensis,* และ *O. rufipogon* ตามลำดับ (Wang, 2014) นอกจากนี้ตำแหน่งของยีนต้านทานโรคไหม้มีกระจายในเกือบทุกโครโมโซม ยกเว้นโครโมโซมที่ 3 ส่วนใหญ่พบตำแหน่งของยีนต้านทานโรคไหม้บนโครโมโซมที่ 6, 11 และ 12 (ภาพที่ 4) บนโครโมโซมที่ 6 มียีนต้านทานกว่า 14 ยีนที่อยู่ในตำแหน่งใกล้กับเซนโทรเมียร์ในจำนวนนี้มียีน *Pi2, Piz-t* และ *Pi9* ได้รับการโคลนสำเร็จแล้วและมีการรายงานตำแหน่งของยีนอีกอย่างน้อย 9 ยีน คือ *Pi1, Pi7, Pi18, Pif, Pi34, Pi38, Pi44(t) PBR* และ *Pilm2* ที่พบตำแหน่งบนโครโมโซมที่ 11 บริเวณแขนข้างที่ยาว (long arm) นอกจากนี้พบตำแหน่งยีนบนโครโมโซมที่ 12 มียีนต้านทานโรคไหม้อย่างน้อย 17 ยีนที่อยู่ในตำแหน่งใกล้กับบริเวณเซนโทรเมียร์ คือ *Pi-ta, Pita-2, Pitq6, Pi6(t), Pi12(t), Pi12(t), Pi19(t), Pi20(t), Pi21(t), Pi24(t), Pi31(t), Pi32(t), Pi39(t), Pi62(t), Pi157(t), IPi* และ *IPi3* (Koide et al., 2009) จากการศึกษายีนที่เกี่ยวข้องกับความสามารถในการต้านทานต่อโรคไหม้ สามารถจำแนกได้เป็น 2 กลุ่ม คือยีนต้านทานโรคไหม้แบบแคบ (narrow spectrum resistance gene) และยีนต้านทานโรคไหม้แบบกว้าง (broad spectrum resistance gene) โดยยีนต้านทานโรคไหม้แบบแคบ เป็นยีนที่มีความจำเพาะต่อการต้านทานเชื้อราโรคไหม้ เช่น *pi21, Pb1* และ *Pi34* (Ballinai et al., 2008) ส่วนยีนต้านทานโรคไหม้แบบกว้าง เป็นยีนที่มีความสามารถในการต้านทานต่อเชื้อราโรคไหม้ได้มากกว่า 1 ไอโซเลท เช่น *Pi2, Pi5(t), Pi-ta, Pib, Pigm*(t), *Pi9, Pi6, Pi33* และ *Pi36* เป็นต้น (Lin et al., 2007) นอกจากนี้การตอบสนองของยีน

ต้านทานต่อเชื้อชนิดต่าง ๆ มีระบบการตอบสนองที่หลากหลาย สามารถจำแนกยีนต้านทานได้เป็น 5 ประเภท กลุ่มที่ใหญ่ที่สุด และสำคัญที่สุด คือ nucleotide binding site plus leucine-rich repeat (NBS-LRR) (Martin et al., 2003; Howles et al., 2005) ส่วนใหญ่โดเมน (domain) มีโครงสร้างเป็น NBS-LRR ซึ่งเป็นโครงสร้างที่พบบ่อยที่สุดของยีนต้านทานในพืชมีเพียงยีน *Pid2* เท่านั้นที่มีโครงสร้างโดเมนเป็น serine/threonine kinase-type β-lectin receptor (Chen et al., 2006)



ภาพ 4 ตำแหน่งของยีนต้านทานโรคไหม้บนโครโมโซมข้าว

Note : From “Molecular progress on the mapping and cloning of functional genes for blast disease in rice (*Oryza sativa* L.): current status and future considerations.” by Ashkani, S., Rafii, M. Y., Shabanimofrad, M., Ghasemzadeh, A., Ravanfar, S. A., & Latif, M. A., 2016, *Critical reviews in biotechnology*, *36*(2), p. 357.

ยีนต้านทานโรคไหม้ยีนแรกที่ถูกโคลนสำเร็จ คือ *Pib* โดย Wang และคณะในปี ค.ศ. 2001 มีลักษณะเป็นยีนเด่น (dominant gene) มีตำแหน่งอยู่บริเวณปลายด้านยาวของโครโมโซมคู่ที่ 2 ถูกถ่ายทอดมาจากข้าว Tohoku IL9 โดยยีน *Pib* ถูกจัดอยู่ในกลุ่มของยีนต้านทานโรคที่มีโครงสร้างโปรตีนแบบ NBS–LRR โดยการแสดงออกของยีน มีปัจจัยจากสภาพแวดล้อม เช่น อุณหภูมิ แสง น้ำ และสารเคมี (ชัชวาล จันทราสุริยารัตน์ และสุรีพร เกตุงาม, 2552) ต่อมามีการพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะเจาะจงกับยีน *Pib* และเป็น dominant marker เพื่อใช้ในการตรวจสอบ

ยีนต้านทานโรคไหม้ และใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว (Fjellstom et al., 2004) ในประเทศไทยมีการรายงานว่ายีนต้านทานโรคไหม้ *Pib* มีประสิทธิภาพในการต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่พบในภาคเหนือตอนล่าง คิดเป็นร้อยละ 23.08 จากเชื้อทดสอบทั้งหมด 80 ไอโซเลท (อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ และพูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์, 2552) Bryan และคณะ (2002) ได้มีการโคลนยีนต้านทาน *Pi-ta* โดยยีนต้านทาน *Pi-ta* จะอยู่ตรงตำแหน่งบนโครโมโซมคู่ที่ 12 ใกล้กับเซนโทรเมียร์ในข้าวอินดิกา (indica rice) เป็นยีนต้านทานโรคไหม้แบบกว้าง สามารถต้านทานโรคไหม้ได้หลายไอโซเลท และเป็นยีนที่มีตำแหน่งเดียวในจีโนมของข้าว ยีน *Pi-ta* เป็นยีนต้านทานโรคไหม้กลุ่ม NBS–LRR สร้างกรดอะมิโนทั้งหมดจำนวน 928 ตัว และพบว่าการเปลี่ยนแปลงกรดอะมิโนเพียงกรดอะมิโนเดียวจะส่งผลให้เกิดความแตกต่างระหว่างอัลลีลต้านทานและอัลลีลไม่ต้านทาน Jia et al. (2002) ได้พัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ตำแหน่งยีนต้านทานโรคไหม้ *Pi-ta* เพื่อใช้เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก ยีนต้านทานโรคไหม้ *Pi9* มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 6 ตรงบริเวณเซนโทรเมียร์ โดยยีน *Pi9* ถูกถ่ายทอดมาจากข้าวป่า (*Oryza minuta*) และมีความสามารถในการต้านทานต่อเชื้อราโรคไหม้เป็นแบบกว้าง (broad-spectrum resistance gene) มีรายงาน Liu et al., 2002 ได้นำข้าวสายพันธุ์ 127-1-75 จากสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (International Rice Research Institute, IRRI) มาทดสอบกับเชื้อราโรคไหม้กว่า 100 ไอโซเลทของประเทศฟิลิปปินส์ โดยไม่พบสายพันธุ์เชื้อราโรคไหม้ที่สามารถก่อโรคกับข้าวสายพันธุ์ 127-1-75 ที่มียีนต้านทาน *Pi9* ได้ ต่อมาในปี ค.ศ. 2006 ยีน *Pi9* ถูกโคลน และพบว่ามีโครงสร้าง Nucleotide-Binding Site (NBS) และ leucine-Rich Repeat motif (LRR) คล้ายคลึงกับยีนต้านทานโรคไหม้ *Pi2 Piz-t* และ *Piz* มากถึง 96% ในระดับของกรดอะมิโน โดยพบว่าส่วน LRR motif เป็นส่วนสำคัญในการกำหนดความเฉพาะเจาะจงต่อเชื้อราโรคไหม้สายพันธุ์ต่างๆ (ชัชวาล จันทราสุริยารัตน์และสุรีพร เกตุงาม, 2552) มีการรายงานการตรวจสอบยีนต้านทาน *Pi9* ในข้าวพันธุ์พื้นเมืองของประเทศไทยมากถึง 64 สายพันธุ์ จาก 203 สายพันธุ์ คิดเป็น 31.52% (กฤตกิตติศักดิ์ ไพตรีจิตต์ และคณะ, 2554) Liu et al. (2007) ได้มีการศึกษาข้าวอินดิกา (indica rice) สายพันธุ์ Kasalath รหัส Q61 พบมียีน *Pi36* ซึ่งเป็นยีนต้านทานต่อเชื้อราโรคไหม้สายพันธุ์ต่างๆ ได้ดี มีตำแหน่งของยีนต้านทานนี้อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 8 มีโครงสร้างที่เป็น NBS และ LRR motif มีการรายงานลักษณะฟีโนไทป์ที่ต้านทานโรคไหม้ *Pi36* เป็น single copy gene ในข้าว และมีความใกล้ชิดกับยีน *Mla1* และ *Mla6* ซึ่งเป็นยีนต้านทานโรคราแป้งในข้าวบาร์เลย์มากกว่ายีนต้านทาน *Pi-ta Pib Pi9* และ *Piz-t* ในข้าว ในประเทศไทยมีการนำยีน *Pi36* มาใช้ในการตรวจสอบจีโนมข้าวพันธุ์พื้นเมืองไทยที่ปลูกในภาคเหนือเพื่อหายีนต้านทานเชื้อราสาเหตุของโรคไหม้ พบว่ามียีนต้านทานโรคไหม้ *Pi36* คิดเป็น 84.21% ของข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่ปลูกในภาคเหนือที่ทำการศึกษาจำนวน 19 พันธุ์ (สุรีพร เกตุงามและชัชวาล จันทราสุริยารัตน์, 2555) ในขณะที่ยีนต้านทานโรคไหม้ *Pigm*(t)

มีความสามารถในการต้านทานโรคไหม้แบบกว้าง พบในข้าวสายพันธุ์ Gumei 4 ของประเทศจีน อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 6 ต่อมามีการโคลนยีนต้านทานโรคไหม้ *Pigm*(t) และจัดอยู่ในกลุ่มของยีนต้านทานโรคชนิด NBS–LRR มีความสามารถในการต้านทานต่อโรคไหม้ได้ดีกว่ายีนอื่นๆ จากการตรวจสอบแอลลีลของยีน *Pigm*(t) ในข้าวพันธุ์พื้นเมืองไทยโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ C5483 และ Indel marker S29742 พบว่ายีนต้านทานโรคไหม้ *Pigm*(t) มีความจำเพาะกับไอโซเลทของเชื้อราที่พบทั่วไปในประเทศไทย (Deng et al. 2009) และจากการรายงานการค้นหายีนต้านทาน *Pigm*(t) ในข้าวพื้นเมืองไทย โดยใช้เครื่องหมาย C5483 พบว่าในข้าวพื้นเมืองจำนวน 203 สายพันธุ์ พบยีนต้านทาน *Pigm*(t) จำนวน 198 สายพันธุ์ คิดเป็น 98.51% ของข้าวพื้นเมืองทั้งหมด (สุรีพร เกตุงาม และชัชวาล จันทราสุริยารัตน์, 2552)

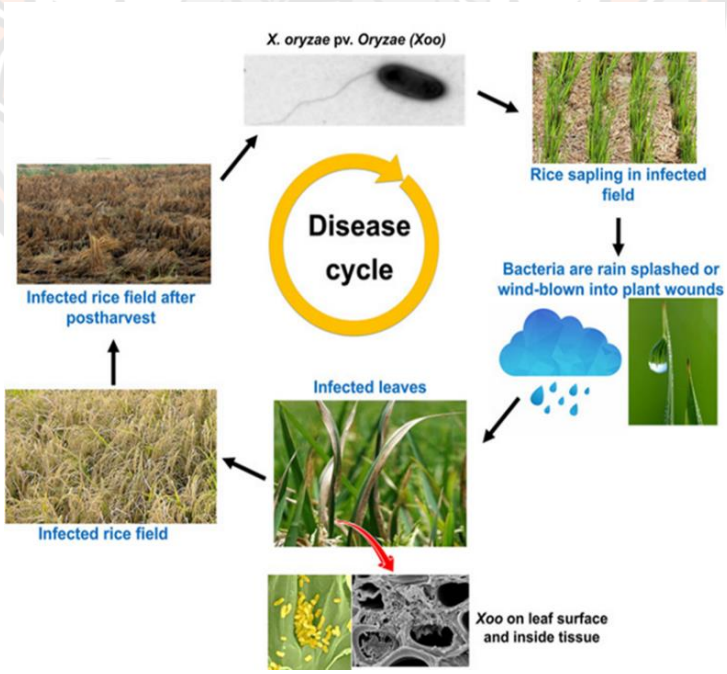
โรคขอบใบแห้ง (bacterial blight disease)

โรคขอบใบแห้ง (bacterial blight disease) มีสาเหตุจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (ex. Ishiyama) Swings et al. หรือมีชื่อย่อว่า *Xoo* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ลักษณะเป็นแท่ง (rod shape) มีความกว้างของเซลล์ประมาณ 0.7 – 2.0 ไมโครเมตร และหนาประมาณ 0.4 – 0.7 ไมโครเมตร เป็นเชื้อที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต โดยสร้างความเสียหายต่อผลผลิตข้าวมากถึง 81% ระบาดมากในนาน้ำฝน นาชลประทาน ในพื้นที่ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้ของประเทศไทย เชื้อ *Xoo* สามารถเข้าทำลายต้นข้าวได้ตั้งแต่ระยะกล้า แตกกอ จนถึงออกรวง อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเข้าทำลายข้าวอยู่ในช่วงระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส โดยจะพบในระยะต้นกล้าส่งผลให้เกิดความเสียหายมากถึง 50% และในระยะข้าวแตกกอจะทำให้ผลผลิตข้าวลดลง 20-40% (Yasmin et al., 2017) โดยเชื้อ *Xoo* อาศัยน้ำเป็นตัวการสำคัญในการระบาด โดยเชื้อจะรวมตัวอยู่ที่ผิวใบมีลักษณะเป็นหยดน้ำเกิดขึ้นที่ช่องว่างระหว่างเซลล์ (intercellular spaces) หลังจากนั้นจะแพร่กระจายเข้าไปในส่วนของท่อลำเลียงน้ำ (xylem vessels) โดยทั่วไปเชื้อจะแพร่กระจายไปกับน้ำ พายุ ฝน ลม ในสภาพอากาศที่ทำให้ใบข้าวต้นข้าวเสียดสี เกิดบาดแผลบริเวณด้านปลายและขอบของใบ แผลจะแผ่ขยายไปตามเส้น veins ของขอบใบ (Ou, 1972) นอกจากเชื้อจะเข้าทำลายข้าว (*O. sativa*) ยังมีการเข้าทำลายในข้าวป่า พืชอื่น ๆ ในตระกูล Graminaceae ที่เป็นพืชอาศัย โดยแสดงอาการขอบใบแห้งชัดเจน นอกจากนี้ในหญ้าชันอากาศ (*Panicum repens*) และหญ้านกสีชมพู (*Echinochloa colonum*) พบอาการโรคขอบใบแห้งเล็กน้อย (Kumar et al., 2012) ในปี 2550 พบการระบาดของโรคขอบใบแห้งอย่างรุนแรงในเขตภาคกลาง และภาคเหนือตอนล่าง ในปี 2554 มีการรายงานความรุนแรงของโรคในสภาพแปลงนาเกษตรกรในจังหวัดสุโขทัย พิษณุโลก และอุตรดิตถ์ ในฤดูนาปีพบว่ามีความรุนแรงของโรคขอบใบแห้ง

ในแปลงนาเกษตรกร จังหวัดสุโขทัยและจังหวัดพิษณุโลก สร้างความเสียหายสูงถึง 80% ส่วนจังหวัดอุตรดิตถ์ พบความรุนแรงของโรคในแปลงเกษตรกรประมาณ 26% (ดวงกมล บุญช่วย, 2555)

วงจรชีวิตของเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุของโรคขอบใบแห้ง

เชื้อ *Xoo* เป็นแบคทีเรียชนิด Obligate aerobe สามารถเจริญเติบโตได้ดีในอุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส และสามารถอยู่ข้ามฤดูได้โดยอาศัยอยู่ใน rhizosphere ของหญ้า และอาศัยอยู่ในลำต้นและต้นข้าวที่เหลือในแปลง โดยสามารถอยู่ได้นาน 1-3 เดือนในเขตหนาว ขึ้นกับความชื้นในดิน อุณหภูมิที่มีความชื้นสูง และความอุดมสมบูรณ์ของพืชอาศัย (Kumar et al., 2020) เชื้อ *Xoo* จะเข้าทำลายข้าวทาง hydathodes ที่ปลายและขอบของใบ เมื่อเซลล์ทีผิวใบถูกเข้าทำลายจะมีลักษณะฉ่ำน้ำ ในช่วงเวลากลางคืนเชื้อ *Xoo* จะซึมออกจากแผลเกาะอยู่ที่ขอบใบลักษณะเป็นหยดกลม (ภาพ 5) หลังจากนั้นจะแพร่กระจายเข้าไปในส่วนของท่อลำเลียงน้ำ (xylem vessels) แล้วทำลาย parenchyma cells ใน xylem ต่อไปส่งผลให้ต้นข้าวแห้งและเหี่ยวตายในที่สุด (วรรณนภา สัตยชิติ, 2555; มัชฌิมา สังข์วรรณะ และคณะ, 2561; Yasmin et al., 2017)



ภาพ 5 การเข้าทำลายของเชื้อ *Xoo*

Note : From “Deployment of genetic and genomic tools toward gaining a better understanding of rice-*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* interactions for development

of durable bacterial blight resistant rice” by Kumar, A., Kumar, R., Sengupta, D., Das, S. N., Pandey, M. K., Bohra, A., ... & Sundaram, R. M., 2020, *Frontiers in Plant Science*, 1152, p. 4.

ลักษณะอาการของโรคขอบใบแห้ง

การเข้าทำลายต้นข้าวของเชื้อแบคทีเรียจะเข้าทำลายตั้งแต่ระยะต้นกล้าก่อนนำไปปักดำ โดยจะพบจุดเล็กๆ มีลักษณะช้ำที่ขอบใบของใบล่าง ต่อมาประมาณ 7-10 วัน จุดช้ำนี้จะขยายกลายเป็นทางสีเหลืองยาวตามใบข้าว (ภาพ 6A) ใบที่เป็นโรคจะแห้ง และสีเขียวจะจางลงเป็นสีเทา เมื่อเชื้อนี้เข้าทำลายในระยะปักดำอาการจะแสดงหลังปักดำแล้วหนึ่งเดือนถึงเดือนครึ่ง โดยขอบใบจะมีรอยขีดช้ำ ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ที่แผลมีหยดน้ำสีครีมคล้ายยางสนกลม ๆ ขนาดเล็กเท่าหัวเข็มหมุด (ภาพ 6B) ต่อมาจะกลายเป็นสีน้ำตาลและหลุดไปตามน้ำหรือฝน ซึ่งจะทำให้โรคสามารถระบาดต่อไปได้ แผลจะขยายไปตามความยาวของใบ บางครั้งขยายเข้าไปข้างในตามความกว้างของใบ ขอบแผลมีลักษณะเป็นขอบลายหยัก นานไปจะเปลี่ยนเป็นสีเทา ใบที่เป็นโรคขอบใบจะแห้งและม้วนตามความยาว ในกรณีที่ต้นข้าวมีความอ่อนแอต่อโรคและเชื้อโรคมีปริมาณมาก จะทำให้ท่อน้ำ ท่ออาหารอุดตัน ต้นข้าวจะเหี่ยวเฉาและแห้งตายทั้งต้นโดยรวดเร็ว เรียกอาการของโรคนี้ว่า kresek หรือ wilt (ภาพ 6C) ถ้าเข้าทำลายในระยะที่ข้าวแตกกอเต็มที่ ต้นข้าวจะยังคงมีชีวิตรอดแต่จะทำให้ผลผลิตลดลง (กนกอร เยาว์ดำ และคณะ, 2560)

ภาพ 6 อาการโรคขอบใบแห้ง

(A) ลักษณะของแผลที่ขอบใบ (B) เชื้อแบคทีเรียที่พบบริเวณแผล (C) อาการแห้งตายทั้งต้น (wilt)

หมายเหตุ : จาก “Bacterial blight” by International Rice Research Institute, 2020, http://www.knowledgebank.irri.org/decision-tools/rice-doctor/rice-doctor-fact-sheets/item/bacterial-blight?tmpl=component&print=1. CC BY-NC-ND.

การควบคุมและการกำจัดโรคขอบใบแห้ง

การป้องกันกำจัดโรคขอบใบแห้ง อาจใช้การใช้สารเคมี สารปฏิชีวนะ สารสกัดจากพืช การควบระดับไนโตรเจน และการใช้พันธุ์ข้าวที่ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด อีกทั้งเป็นการช่วยให้เกษตรกรลดต้นทุนในการผลิต แต่อย่างไรก็ตามพันธุ์ข้าวที่ต้านทานต่อโรคมีจำนวนน้อย และพันธุ์ที่มีอยู่ไม่สามารถต้านทานโรคในแบบกว้างได้เนื่องจากเชื้อโรคขอบใบแห้งมีหลายสายพันธุ์จึงมีความจำเป็นที่จะต้องปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความต้านทานต่อโรค (กนกอร เยาว์ดำ และคณะ, 2560; ประภาษ กาวิชา และธัญญ์วนิช ธัญสิริวรรธน์, 2563)

ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง (bacterial blight resistance gene)

ลักษณะต้านทานโรคขอบใบแห้งของข้าวถูกควบคุมโดยหลายยีน ปัจจุบันมีการค้นพบยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งในข้าวไม่น้อยกว่า 44 ยีน โดยมีลักษณะการแสดงออกของยีนต้านทาน 2 ลักษณะ คือ ยีนต้านทานแบบเด่น (dominant gene) จำนวน 30 ยีน และยีนต้านทานแบบด้อย (recessive gene) จำนวน 14 ยีน (Kumar et al., 2020) และมีตำแหน่งของยีน หรือ QTLs ที่มีความสัมพันธ์กับยีนต้านทานขอบใบแห้งใน 10 โครโมโซม ยกเว้นโครโมโซมที่ 9 และ 10 เช่น ยีน *xa5* ที่อยู่ใกล้บริเวณเทเลเมียร์ของแขนข้างสั้นบนโครโมโซมคู่ที่ 5 ยีน *Xa3, Xa4*, *Xa10* และ *Xa21* มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 11 บริเวณแขนข้างสั้น เป็นต้น นอกจากนี้มีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมเชื้อแบคทีเรียของโรคและพันธุกรรมของพืชต้านทาน โดยเฉพาะการใช้พันธุ์ต้านทานโรคขอบใบแห้งซึ่งในแต่ละประเทศมีความแตกต่างกันออกไป จึงมีการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวที่เป็น Near Isogenic Line (NIL) เพื่อใช้ทดสอบโรคขอบใบแห้ง โดย NIL มีพื้นฐานทางพันธุกรรมเหมือนกับข้าวพันธุ์อ่อนแอ ในแต่ละสายพันธุ์จะมียีนต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งเพียงหนึ่งยีนเท่านั้น (individual resistance gene) จากรายงานความสำเร็จของการโคลนยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง จำนวน 11 ยีน โดยเป็นยีนเด่น 8 ยีน คือ ยีน *Xa1, Xa3/Xa26, Xa4, Xa10, Xa21, Xa23, Xa27* และ *Xa41*และเป็นยีนด้อย 3 ยีน คือ *xa5*, *xa13*, และ *xa25* และระบุตำแหน่งเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่ใกล้ชิดกับยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งบนโครโมโซมที่แตกต่างกัน จำนวน 9 ยีน คือ *Xa2, Xa4, Xa7, Xa22, Xa30, Xa33, Xa38, Xa39* และ *Xa40* (Akhtar et al.,2004; Liu et al, 2011; Tian et al., 2014; Wang et al., 2015; Dilla-Ermita et al., 2017) ปัจจุบันมีการรายงานความสำเร็จของการโคลนยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง เช่น *xa5, Xa21* โดยยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง *xa5* มีลักษณะความต้านทานแบบยีนด้อย (recessive resistance gene) อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 5 ตรงบริเวณเทโลเมียร์ของแขนข้างสั้น (Blair and McCouch, 1997) พบในสายพันธุ์ Aus boro lines (e.g. DZ192) DV85, DV86 และ DZ78 โดยยีน *xa5* มีโครงสร้าง

แบบ gamma subunit of transcription factor IIA (TFIIAγ) พันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทาน *xa5* และพันธุ์ที่อ่อนแอจะมีความแตกต่างกัน 2 นิวคลีโอไทด์ ส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนระหว่างสายพันธุ์ต้านทานและสายพันธุ์อ่อนแอ (Iyer and McCouch, 2004) นอกจากนี้มีการรวมยีน (gene pyramid) ต้านทานโรคขอบใบแห้งโดยใช้ linked marker RG556 เพื่อเป็นตัวช่วยในการคัดเลือก (marker assisted section: MAS) สายพันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งในหลายประเทศ (Jeung et al., 2006) ในขณะที่ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง *Xa21* เป็นยีนต้านทานแบบกว้าง (broad spectrum resistance) พบในสายพันธุ์ข้าวป่า (*O. longistaminata*) ซึ่งเป็นยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งยีนแรกที่ถูกโคลนสำเร็จโดยการใช้เทคนิค map-based cloning มีโครงสร้างโปรตีนแบบ Leucine-rich repeat receptor-like protein kinase (LRR-RLK) เป็นองค์ประกอบ ต่อมามีการพัฒนาเครื่องหมายโมเลกุล PCR-based STS marker และ pTA248 มาจากเครื่องหมายโมเลกุล RFLP marker RG103 ที่มีตำแหน่งใกล้ชิดกับยีนนี้เพียง 1.2 centimorgans (cM) มีการรายงานของ Balachiranjieevi และคณะ (2018) ได้ปรับปรุงพันธุ์ข้าวโดยรวมยีน *Xa21* และ *xa33* โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอสำหรับตรวจหายีนเป้าหมาย ทำให้ได้ข้าวลูกผสมที่มีความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง โดยการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ปทุมธานี 1 กับพันธุ์ที่ทนต่อน้ำท่วมฉับพลัน และต้านทานโรคขอบใบแห้งและเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล คือ KDML105-PlusIII ซึ่งมียีน *Sub1*, qBPH6, qBPH12n, *Xa21* และ *Bph3* (ประกอบกิจ ดังไธสง และคณะ, 2557) พบว่าสายพันธุ์ใหม่มีความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งสูง ต่อมา Korinsak et al. (2009) มีการใช้เครื่องหมาย Simple Sequence Repeat (SSR) ในการตรวจสอบ พบว่าในข้าว Ba7 และ *O. nivara* มียีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง *xa33*(t) อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 7 สามารถต้านทานเชื้อ *Xoo* สายพันธุ์ไทย TXO16 มีลักษณะเป็นยีนด้อย (recessive gene) และมีการวิเคราะห์จีโนมที่ครอบคลุมโดย RM5711 และ RM6728 และประชากร BC_2F_2 ที่ได้จากการผสมข้าม IRGC105710/TN/2×TN1 โดยใช้เครื่องหมาย SSR พบว่า RMWR 7.1 และ RMWR 7.6 มีความใกล้เคียงกับยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง โดยมีระยะห่างทางพันธุกรรมระหว่าง 0.9 และ 1.2 cM (Kumar et al., 2012) ในประเทศไทยมีการรายการสมพันธุ์ระหว่างข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 กับพันธุ์ให้ต้านทานโรคขอบใบแห้ง คือพันธุ์ปิ่นเกษตร 1 (PK1-BB-PY) ที่มียีน *xa5, Xa21* และ *xa33* มาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความสามารถในการต้านทานโรคขอบใบแห้ง (ประกอบกิจ ดังไธสง และคณะ, 2557)

การพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอที่สัมพันธ์กับยีนเหล่านี้สำหรับใช้คัดเลือกข้าวที่ต้านทานโรคขอบใบแห้ง ซึ่งเทคโนโลยีเครื่องหมายดีเอ็นเอเป็นเทคนิคที่นำมาใช้ในการระบุยีนต้านทานในประชากรเชื้อพันธุกรรมข้าวเพื่อปรับปรุงพันธุ์ให้มียีนต้านทาน 1 หรือมากกว่า 1 ยีน และมีข้อได้เปรียบกว่าการปรับปรุงพันธุ์พืชแบบดั้งเดิม เนื่องจากสามารถคัดเลือกและระบุต้นข้าวที่มียีนเด่นและยีนด้อยได้ (Rajpurohit et al., 2010; Nguyen et al., 2018)

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (brown planthopper)

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (brown planthopper) เป็นแมลงจำพวกปากดูด จัดอยู่ในอันดับ Homoptera (หรือในบางแห่งจัดเป็นอันดับ Hemiptera) วงศ์ Delphacidae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Nilaparvata lugens* (Stål) จัดเป็นแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญที่สุดของการปลูกข้าว สร้างความเสียหายแก่ผลผลิตข้าวประมาณ 20-80% พบมากที่สุดในพื้นที่เขตอบอุ่น เขตกึ่งร้อน และเขตร้อนของทวีปเอเชีย ในประเทศไทยมีการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าวในพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือตอนล่าง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือในบางพื้นที่ (ฐานัฏ ณ พัทลุงและวิภา ตังคนานนท์, 2560)

ตัวเต็มวัยของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีลำตัวสีน้ำตาลถึงสีน้ำตาลปนดำ มีรูปร่าง 2 ลักษณะ คือ ชนิดปีกยาว (macroterous form) และชนิดปีกสั้น (brachyurous form) ชนิดปีกยาวสามารถเคลื่อนย้ายและอพยพไปในระยะทางใกล้และไกลโดยอาศัยกระแสลมช่วย ตัวเต็มวัยเพศเมียจะวางไข่เป็นกลุ่ม ส่วนใหญ่วางไข่ที่กาบใบข้าวหรือเส้นกลางใบ โดยวางไข่เป็นกลุ่มเรียงแถวตามแนวตั้งฉากกับกาบใบข้าว บริเวณที่วางไข่จะมีรอยช้ำสีน้ำตาล ไข่มีลักษณะรูปกระสวยโค้งคล้ายกล้วยหอม มีสีขาวขุ่นมีระยะไข่ (egg stage) ประมาณ 8-9 วัน เพศเมียชนิดปีกยาวสามารถวางไข่ ประมาณ 100 ฟอง ตัวเต็มวัยเพศเมียชนิดปีกยาวมีขนาด 4-4.5 มิลลิเมตร ระยะตัวอ่อน (nymphal stage) มี 5 ระยะ ใช้เวลาในการเจริญเติบโต 16-17 วัน และระยะตัวเต็มวัย (adult stage) มีอายุประมาณ 13-15 วัน เพศเมียชนิดปีกสั้นวางไข่ประมาณ 300 ฟอง ส่วนเพศผู้มีขนาด 3.5-4 มิลลิเมตร มีอายุเฉลี่ยประมาณ 13 วัน ตัวเต็มวัยชนิดปีกสั้นบินไม่ได้ จะอาศัยอยู่ในนาข้าวและดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นข้าว และขยายพันธุ์ (ภาพ 7) โดยในหนึ่งฤดูปลูกข้าวเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามารถเพิ่มปริมาณได้ 2-3 อายุขัย (วันทนา ศรีรัตนศักดิ์, 2553)

ภาพ 7 วงจรชีวิตเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

ลักษณะการทำลายและความเสียหาย

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัย ทำลายข้าวโดยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากท่อน้ำท่ออาหาร บริเวณโคนต้นข้าวระดับเหนือผิวน้ำ ทำให้ต้นข้าวมีอาการใบเหลืองแห้งลักษณะคล้ายถูกน้ำร้อนลวกแห้ง ตายเป็นหย่อมๆ เรียก อาการไหม้ (hopper-burn) โดยทั่วไปพบอาการไหม้ในระยะข้าวแตกกอถึงระยะออกรวง ตัวอ่อนจะลงมาอยู่ที่บริเวณโคนกอข้าวหรือบนพื้นดินที่แฉะมีความชื้น (ภาพ 8) นอกจากนี้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลยังเป็นพาหะนำเชื้อไวรัสโรคใบหงิก (rice ragged stunt virus) มาสู่ต้นข้าว ทำให้ต้นข้าวมีอาการแคระแกร็น ต้นเตี้ย ใบสีเขียวแคบและสั้น ใบแก่ช้ากว่าปกติ ปลายใบบิดเป็นเกลียวและขอบใบแหว่งวิ่น และยังเป็นพาหะของเชื้อไวรัสนำโรคเขียวเตี้ย (rice grassy stunt virus) ซึ่งการเป็นพาหะนำโรคทั้ง 2 โรคนี้ก่อให้เกิดความเสียหายต่อการปลูกข้าวสูงถึง 100% อย่างไรก็ตามพฤติกรรมการทำลายข้าวดังกล่าวขึ้นอยู่กับปัจจัยทางกายภาพที่มีผลต่อการทำลายข้าวของแมลง เช่น อุณหภูมิ ความเข้มแสง ความชื้น รวมทั้งกระแสลมที่พัดเปลี่ยนทิศทางเป็นต้น (วันทนา ศรีรัตนศักดิ์, 2553; ฐานัฏ ณ พัทลุง และวิภา ตังคนานนท์, 2560)

ภาพ 8 อาการไหม้ (hopper-burn) ของต้นข้าว

หมายเหตุ : จาก “ brown planthopper” by International Rice Research Institute, 2020, http://www.knowledgebank.irri.org/training/fact-sheets/pestmanagement/insects/item/planthopper. CC BY-NC-ND.

ประเทศไทยมีการแพร่ระบาดขของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเกิดขึ้นครั้งแรกเมื่อปี 2516 สร้างความเสียหายประมาณ 60-80% ต่อมาในปี พ.ศ. 2552–2553 เกิดการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในพื้นที่ภาคกลางและภาคเหนือตอนล่างประมาณ 14–18 จังหวัด มีพื้นที่ความเสียหาย 2,380,000 ไร่ โดยเกษตรกรส่วนใหญ่ในพื้นที่ที่เสียหายจะปลูกข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ชัยนาท 1 สุพรรณบุรี 1 และสุพรรณบุรี 3 ต่อมาในปี พ.ศ 2554 ช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนเมษายนมีความเสียหายที่เกิดจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็นพื้นที่ 1,681,000 ไร่ (กู้เกียรติ สร้อยทอง, 2554) หลังจากนั้นได้มีการรายงานการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่รุนแรงต่อเนื่องกันจนถึงปัจจุบัน

แม้ว่าจะสามารถควบคุมการระบาดในระดับหนึ่งแล้ว แต่ก็กลับมาระบาดเพิ่มขึ้นอีกเป็นระยะ ๆ เนื่องจากแมลงศัตรูข้าวมีการปรับตัวให้อยู่รอดต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปก่อให้เกิดการระบาดที่รุนแรงเพิ่มมากขึ้น (ฐานัฏ ณ พัทลุง และวิภา ตังคนานนท์, 2560) ปัจจุบันมีการรายงานเกี่ยวกับการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในพื้นที่ต่างๆ (กรมการข้าว, 2564)

การป้องกันและกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

การควบคุมและการกำจัดศัตรูแมลงเพื่อลดความเสียหายของผลผลิตข้าว เกษตรกรส่วนใหญ่มีการใช้สารฆ่าแมลงกันอย่างแพร่หลาย อย่างไรก็ตามการใช้สารฆ่าแมลงของเกษตรกรไม่ถูกต้องและใช้ในปริมาณมากเกิน ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีความต้านทานต่อสารฆ่าแมลงที่เคยใช้ นอกจากนี้การใช้ปุ๋ยเคมีประเภทไนโตรเจนปริมาณที่มากเกินไป ทำให้ต้นข้าวมีลำต้นอวบง่ายต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล การใช้พันธุ์ข้าวอ่อนแอ หรือการใช้พันธุ์ข้าวชนิดเดียวกันปลูกติดต่อเป็นระยะเวลานาน รวมถึงการขังน้ำในนาเป็นเวลานาน (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2561) แต่อย่างไรก็ตามในปัจจุบันมีวิธีการที่เหมาะสมใน การป้องกันและกำจัดโรคและแมลงศัตรูพืชในข้าว คือ การใช้พันธุ์ต้านทาน ซึ่งข้าวพันธุ์พื้นเมืองเป็นแหล่งพันธุกรรมที่สามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความต้านทานต่อโรคและแมลงด้วยความก้าวหน้าทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพทำให้ทราบพันธุกรรมความต้านทานที่เป็นผลมาจากยีนบนโครโมโซมที่สามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกหลานซึ่งข้อมูลดังกล่าวมีความสำคัญในการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวในปัจจุบัน (Nyunt et al., 2019)

ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าว

การรายงานการค้นพบตำแหน่งของยีนที่ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลบนโครโมโซมข้าวไม่น้อยกว่า 30 ยีน และความต้านทานที่ควบคุมด้วยยีนมากกว่าหนึ่งยีนหรือกลุ่มของยีน เรียกว่า Qualitative Trait Loci (QTLs) กระจายอยู่ทั่วทั้ง 12 โครโมโซมของข้าว (Sani Haliru et al., 2020) ต้นข้าวที่มียีนหรือ QTLs ที่ควบคุมลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีทั้งลักษณะยีนเด่น (dominant gene) และยีนด้อย (recessive gene) มีการการค้นพบยีนต้านทานครั้งแรก คือ ยีน *Bph1* ในข้าวพันธุ์พื้นเมือง Mudgo, MTU15, CO22, MGL2 และ *Bph2* ในข้าวพื้นเมือง AD7 และ Ptb18 (Athwal et al., 1971; Chen et al., 1971) และต่อมามีการรายงานการศึกษากลไกการต้านทานของยีน *Bph3*, *Qbph6*, และ *Qbph12* ที่มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่ 12 ของข้าว ซึ่งได้รับยีนต้านทานมาจากข้าวพันธุ์ Rathu Heenati และ Abhaya พบว่าทั้งสามยีนมีกลไกความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยสามลักษณะ ได้แก่ ความชอบของแมลงในการใช้พืชอาศัย

(antixenosis) อัตราการดูดกิน ระยะเวลาในการเจริญเติบโต และการรอดชีวิตของแมลงบนพืชอาศัย (antibiosis) และความทนทานของพืชต่อการดูดกินของแมลง (tolerance) ยีนทั้งสามจึงเป็นแหล่งพันธุกรรมที่สำคัญสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (จิรพงศ์ ใจรินทร์ และคณะ, 2552) ในประเทศไทยมีการรายงานการใช้ยีน *Bph3* ที่สัมพันธ์กับความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากข้าว Rathu Heenati โดยใช้ประชากรลูกผสมกลับ BC_3F_2 ซึ่งเกิดจากการผสมระหว่างข้าวพันธุ์ Rathu Heenati กับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 แล้วทดสอบความต้านทาน โดยใช้ประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เก็บรวบรวมจากยีนที่ต่างๆ ของประเทศไทย พบว่ายีน *Bph3* มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่ 6 และอยู่ใกล้ชิดกับเครื่องหมายโมเลกุล RM588 และ RM589 จากการทดสอบการปรับตัวของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เลี้ยงบนข้าวพันธุ์ต้านทาน Rathu Heenati พบว่าประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เก็บจากจังหวัดอุบลราชธานีและขอนแก่นไม่สามารถเข้าทำลายข้าวทั้งสองพันธุ์ได้ (Jairin et al., 2007a) อย่างไรก็ตามยังมียีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลอีกจำนวนที่เป็นแหล่งพันธุกรรมที่สำคัญ มีการรายงานเกี่ยวกับยีนต้านทานต่อประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลส่วนใหญ่ที่ทำการทดสอบ ได้แก่ ยีน *Bph3*, *Bph11*, *Bph12, Bph14* และ *Bph15* นอกจากนั้นยังมีพันธุกรรมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลบางยีนในสายพันธุ์ข้าวที่ยังไม่ได้นำมาศึกษาและทดสอบกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประเทศไทย เช่น *Bph13*, *bph16*, *Bph17*, *Bph18* และ *bph19* จากการค้นพบยีนต้านทานจากแหล่งพันธุกรรมต่างๆ จะนำไปสู่การวางตำแหน่งยีนต้านทานนั้น ๆ เพื่อยืนยันตำแหน่งที่แท้จริง และใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก (Kumar et al., 2020) นอกจากนี้มีการรายงานยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ได้รับการโคลนจนสำเร็จเป็นยีนแรก คือ ยีน *Bph14* (Du et al., 2009) เดิมชื่อ *Qbp2* มาจากข้าวป่า *O. officinalis* อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 3 มีตำแหน่งของยีนอยู่ระหว่างเครื่องหมายโมเลกุล R1925 และ G1318 มีโครงสร้างโปรตีนแบบ Nucleotide-binding and leucine-rich repeat (CC-NB-LRR) Hu et al. (2012) ได้ทำการรวมยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์ลูกผสม โดยใช้ข้าวสายพันธุ์ B5 ที่มียีน *Bph14* และ *Bph15* ที่ได้จากข้าวพันธุ์ป่า *O. officinalis* ทำการปรับปรุงพันธุ์แบบผสมกลับโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการระบุสายพันธุ์ข้าวที่มีลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เช่นเดียวกัน Sul et al. (2011) ได้ปรับปรุงพันธุ์ข้าว Junambyeo ที่มาจากข้าวป่า *O. Australiensis* สายพันธุ์ IR65482-7-216-1-2 ให้มียีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล RM511 และRM1584 ที่เชื่อมโยง *Bph18* โดยยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Bph18(t)* มีตำแหน่งวางอยู่บนโครโมโซมที่ 12 ช่วยในการคัดเลือกร่วมกับการปรับปรุงพันธุ์แบบผสมกลับ ต่อมามีการพัฒนาเครื่องหมาย 7312.T4A marker เพื่อเป็นตัวช่วยในการคัดเลือก (marker assisted selection; MAS) และการปรับปรุงพันธุ์ให้มีความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Jena et al., 2006)

ดังนั้นปัจจุบันการกำจัดเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลนอกเหนือจากการใช้สารฆ่าแมลงแล้ว การใช้พันธุ์ต้านทานสามารถช่วยให้เกษตรลดต้นทุนการผลิตอันเนื่องจากการใช้สารเคมีลงได้ นอกจากนั้นความก้าวหน้าทางด้านเทคโนโลยีชีวภาพ ทำให้ทราบข้อมูลทางพันธุกรรมของยีนที่มีผลต่อความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ซึ่งข้อมูลดังกล่าวมีความสำคัญในการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวได้ ดังนั้นการใช้เครื่องหมายโมเลกุลร่วมกับการปรับปรุงพันธุ์แบบมาตรฐาน จะเพิ่มประสิทธิภาพของการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวให้ทันรับมือกับการปรับตัวของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่สามารถเข้าทำลายข้าวได้อย่างต่อเนื่อง (Nyunt et al., 2019)

เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker)

ปัจจุบันมีเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) หรือเครื่องหมายโมเลกุล (molecular marker) เข้ามามีบทบาทในงานด้านพันธุศาสตร์และการปรับปรุงพันธุ์พืช โดยพัฒนาสายพันธุ์ที่มีลักษณะดีตรงตามความต้องการ เช่น ผลผลิตสูง ผลผลิตมีคุณภาพ ต้านทานต่อโรคและแมลง เป็นต้น โดยการประเมินลักษณะและการคัดเลือกสายพันธุ์มักใช้วิธีสังเกตลักษณะสัณฐานวิทยา (morphological character) หรือลักษณะที่ปรากฏ (phenotype) ลักษณะที่ปรากฏเป็นผลจากการแสดงออกของจีโนไทป์ (genotype) และมีผลกระทบของสภาพแวดล้อมที่สิ่งมีชีวิตเจริญเติบโตในช่วงเวลา ทำให้การใช้ลักษณะที่ปรากฏจำแนกสิ่งมีชีวิตจึงอาจไม่เพียงพอในการคัดเลือกหรือระบุสายพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตให้ถูกต้องแม่นยำได้ ดังนั้นการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก (marker-assisted selection, MAS) จึงเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่มีประสิทธิภาพและแม่นยำมากขึ้น

เครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA Markers) คือ ลำดับเบสช่วงหนึ่งของดีเอ็นเอที่ใช้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้ความเป็นเอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิต โดยอาจมีตำแหน่งบนโครโมโซม ในนิวเคลียส (nuclear DNA) หรือในออร์แกเนลล์ ได้แก่ mitochondria DNA หรือ chloroplast DNA และสามารถถ่ายทอดไปยังรุ่นลูกได้ พืชแต่ละชนิดแต่ละสายพันธุ์มีการจัดเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอที่เป็นเอกลักษณ์ความแตกต่าง (polymorphisms) ของลำดับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอที่สามารถแบ่งสิ่งมีชีวิตที่มีความแตกต่างกันออกไปได้ โดยแบ่งประเภทของเครื่องหมายดีเอ็นเอ ออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ ดังนี้

1. Hybridization-based marker เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอซึ่งพัฒนาขึ้นโดยอาศัยหลักการเข้าคู่ของลำดับเบสดีเอ็นเอที่เป็นคู่สมกันระหว่างดีเอ็นเอตรวจสอบ (probe) กับดีเอ็นเอที่ต้องการตรวจสอบ โดยใช้เทคนิคไฮบริไดเซชัน (hybridization) ได้แก่ เครื่องหมายอาร์เอฟแอลพี (RFLP marker) เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่พัฒนาขึ้นมาโดยอาศัยความแตกต่างของขนาดดีเอ็นเอที่เกิดจากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) มีลักษณะเด่น คือ สามารถแยกความแตกต่าง

ที่ดีเอ็นเอโดยตรง โดยไม่มีอิทธิพลของสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง การตรวจสอบจะเจาะจงที่ยีนหรือตำแหน่งที่แน่นอนบนโครโมโซม (locus specific marker) ผลที่ได้จึงมีความแม่นยำ และสามารถทำซ้ำได้ผลเหมือนเดิม (reproducibility) (Shahid et al., 2012; Dhutma et al., 2018)

2. PCR-based marker เป็นเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่พัฒนาขึ้นโดยอาศัยหลักการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่จำลองตัวดีเอ็นเอ หรือ เทคนิคพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction (PCR) technique) ตัวอย่างเครื่องหมายดีเอ็นเอที่นิยมใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์พืช ได้แก่ เครื่องหมายอาร์เอพีดี (RAPD marker) (William et al., 1990) เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่พัฒนาขึ้นเพื่อใช้ตรวจสอบความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตที่ไม่เฉพาะเจาะจงที่ตำแหน่งยีนเหมือนอาร์เอฟแอลพี มักเกิดในลักษณะมีและไม่มีแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งหนึ่งๆ โดยแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจะแสดงการข่มต่อการไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ ดังนั้นเครื่องหมายอาร์เอพีดี จึงจัดเป็น dominant marker ไม่สามารถบอกความแตกต่างระหว่างพวกที่เป็นโฮโมไซโกต และเฮเทอโรไซโกตได้ เครื่องหมายเอเอฟแอลพี (AFLP marker) เป็นเครื่องหมายที่ตรวจสอบความแตกต่างของชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะแล้วนำมาเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยา ลูกโซ่จำลองตัวหรือปฏิกิริยาพีซีอาร์ ดังนั้นเอเอฟแอลพีจึงรวมจุดเด่นหรือความน่าเชื่อถือของอาร์เอฟแอลพีและประสิทธิภาพของปฏิกิริยาลูกโซ่จำลองตัว (PCR) เข้าด้วยกัน (Vos et al., 1995) สารพันธุกรรมจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะสองชนิดที่มีตำแหน่งจดจำแตกต่างกัน ชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จะถูกต่อเข้ากับชิ้นดีเอ็นเอสังเคราะห์ที่ทราบรหัส (adapter) สองชนิด และเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ (microsatellite) หรือเอสเอสอาร์ (SSR marker) (Brown et al., 1996, Powell et al., 1996) จะประกอบด้วยเบสซ้ำต่อเนื่อง (tandem repeat) มีตั้งแต่ 1-6 เบส โดยเบสซ้ำหนึ่งเบส เรียกว่า mono-nucleotide repeat เช่น (A)n ซ้ำสองเบส เรียกว่า di-nucleotide repeat เช่น (CA)n ซ้ำสามเบส เรียกว่า tri-nucleotide repeat เช่น (TAA)n และ ซ้ำเบส เรียกว่า tetra-nucleotide repeat) เช่น (GATA)n โดยที่ n เป็นจำนวนเบสซ้ำเหล่านี้พบกระจายอยู่บริเวณต่างๆของจีโนมประมาณ 10^4-10^5 โลกัส ในจีโนมของพืชเขตร้อนส่วนใหญ่ เช่น ข้าวโพด จะพบลำดับเบสซ้ำ (GT)n และ (AG)n ในปริมาณมาก (ประมาณ 10^4-10^5) ส่วนในจีโนมข้าวจะพบ (GGC)n เสียเป็นส่วนใหญ่ โดยทั่วไปเบสซ้ำเหล่านี้มักมีลำดับเบสที่จำเพาะ (unique sequences) อยู่บริเวณรอบๆ เบสซ้ำต่อเนื่อง จากลักษณะเฉพาะนี้สามารถนำมาพัฒนาเป็นเครื่องหมายโมเลกุลได้ โดยการออกแบบไพร์เมอร์ที่สามารถเข้าคู่กับเบสจำเพาะ (unique sequences) นอกจากนี้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ มีเอกลักษณ์และลักษณะเด่นเฉพาะตัวที่ทำให้ไมโครแซทเทลไลท์กลายเป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ดีที่สุดตัวหนึ่งในการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ คือสามารถตรวจสอบได้ง่ายโดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ รวมทั้งไพร์เมอร์ที่ออกแบบขึ้นมาสำหรับพืชนั้นมีความจำเพาะเจาะจงและสามารถแลกเปลี่ยนข้อมูลลำดับเบสของไมโครแซทเทลไลท์ไพร์เมอร์

ระหว่างห้องปฏิบัติการที่ร่วมวิจัยได้สะดวก (electronically exchangeable primer sequences) เป็นต้น (Shahid et al., 2012; Dhutma et al., 2018; Lalith et al., 2018)

Toojinda et al. (2005) ได้พัฒนาข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ด้วยวิธีการรวมยีนสำคัญทางเศรษฐกิจ (QTL) จำนวน 6 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะทนต่อสภาพน้ำท่วมฉับพลัน ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง ต้านทานต่อโรคไหม้ ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ความหอม และลักษณะที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพการหุงต้ม (amylose content, gelatinization temperature และ gel consistency) โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก และทำการคัดเลือกประชากรต้นแบบโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการคัดเลือกประชากร แล้วทำการประเมินทุกลักษณะที่ได้ทำการปรับปรุงด้วยวิธี step wise screening พบว่าประชากรที่ได้รับการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายโมเลกุลนั้นมีลักษณะเด่นกว่าข้าวขาวดอกมะลิ 105 และยังคงรักษาลักษณะทางการเกษตร ความหอม และคุณภาพการหุงต้มเช่นเดียวกับข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

เชาวเลิศ ธีระอำพล และคณะ (2550) ได้ปรับปรุงพันธุ์ข้าว กข 6 ให้ต้านทานต่อโรคไหม้โดยใช้ข้าวพันธุ์ PO489 เป็นพันธุ์ที่มียีนต้านทานโรคไหม้ที่อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 2 และ 12 โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ (microsatellite marker) RM207, RM48, RM277 และ RM313 ช่วยในการคัดเลือกในขั้นตอนกาปรับปรุงพันธุ์แบบผสมกลับ ธีรวัช สุวรรณนวล และคณะ (2552) ได้รายงานการผนวกยีน (gene pyramiding) ต้านทานโรคไหม้ที่อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 1 และ 11 จากเจ้าหอมนิลไปยังข้าวพันธุ์คล้าย กข 6 ที่ปรับปรุงพันธุ์ให้มียีนต้านทานโรคไหม้ ที่อยู่บนโครโมโซมคู่ที่ 2และ 12 แล้วนี้ โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้ชิดกับยีนต้านทานโรคไหม้ดังกล่าว มาช่วยในการคัดเลือกทำให้ได้พันธุ์ข้าวคล้าย กข 6 (near isogenic lines) ที่มีความสามารถในการต้านทานโรคไหม้แบบกว้าง (broad spectrum blast resistance) ส่วนอมรรัตน์ ม้ายอง และคณะ (2558) รายงานการถ่ายทอดลักษณะความหอมสู่ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 โดยการปรับปรุงพันธุ์แบบผสมกลับร่วมกับการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือก ที่เกิดจากสายพันธุ์ข้าวลูกผสมจากประชากร BC_2F_2 ที่เกิดจากการผสมระหว่างข้าวพันธุ์ Basmati 370 ทำให้พันธุ์ข้าวชัยนาท 1 มีลักษณะเด่น คือ ต้านทานต่อโรคและแมลง ได้แก่ โรคใบหงิก โรคไหม้ และเพลี้ยกระโดดหลังขาว รวมทั้งให้ผลผลิตข้าวสูง ดังนั้นเครื่องหมายดีเอ็นเอจึงมีบทบาทสำคัญในการช่วยคัดเลือกสายพันธุ์พืชที่ต้องการได้อย่างแม่นยำ แต่อย่างไรก็ตามในการใช้เครื่องหมายโมเลกุลคัดเลือกลักษณะความต้านทานของสายพันธุ์ข้าวต่อโรค และแมลง เพียงอย่างเดียวอาจจะไม่เพียงพอ จึงมีการนำมาใช้ร่วมกับการคัดเลือกด้วยลักษณะฟีโนไทป์ (phenotype screening) ของสายพันธุ์ข้าว โดยการประเมินจากระดับความต้านทานของต้นข้าวที่มีต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรค และการเข้าทำลายของแมลงในข้าว ซึ่งจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการคัดเลือกให้ได้สายพันธุ์ข้าวที่มีลักษณะต้านทานต่อโรค และ

แมลง (Collard and Markill, 2008) รวมทั้งนำมาใช้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต่อไป

การประเมินระดับความเสียหายที่เกิดจากโรคและแมลงในข้าว

การทดสอบและคัดเลือกพันธุ์ข้าวต้านทานต่อโรคและแมลง สามารถทำได้ 2 วิธี คือ การประเมินในสภาพแปลงและการประเมินในสภาพโรงเรือน การประเมินความต้านทานของโรคและแมลงโดยวิธีมาตรฐานของสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (Standard Evaluation System, SES) (IRRI, 2013) ในการประเมินความต้านทานของข้าวในสภาพโรงเรือน จะทำการเพาะข้าวในกระบะปลูก โดยมีพันธุ์ที่อ่อนแอและพันธุ์ต้านทาน สายพันธุ์ละ 1 แถว หลังจากนั้นทำการเลี้ยงเชื้อราโรคไหม้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จนเชื้อเจริญเต็มอาหารวุ้น แล้วทำการกระตุ้นเส้นใยเพื่อให้เกิดการสร้างสปอร์ จากนั้นเตรียมสารแขวนลอยสปอร์ (spore suspension) ให้ได้ความหนาแน่นของสปอร์ที่ต้องการแล้วฉีดพ่นเชื้อลงไปบนต้นข้าวที่มีอายุ 21 วัน (Roumen et al., 1997)

การปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง ทำการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นเตรียมสารแขวนลอย เพื่อทดสอบปฏิกิริยาความรุนแรงของเชื้อโรคขอบใบแห้งในข้าว ด้วยวิธี leaf clipping technique ใช้กรรไกรจุ่มน้ำที่ผสมเชื้อแบคทีเรีย (Jennings et al., 1979) จากนั้นตัดบริเวณปลายใบข้าวของต้นข้าวที่มีอายุ 21 วัน ลงมาประมาณ 1 เซนติเมตรจากปลายใบ หลังจากนั้นทำการให้คะแนนการเกิดโรค (ตาราง 1 และ 2)

ตาราง 1 การประเมินความต้านทานของโรคไหม้ที่เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* ในสภาพโรงเรือน โดยวิธี SES

คะแนน	ลักษณะอาการ	ระดับความต้านทาน
0	ไม่มีรอยโรคเกิดขึ้น	HR
1	บริเวณใบของต้นข้าวมีจุดสีน้ำตาลขนาดเล็ก	R
3	บริเวณใบมีจุดสีเทา ลักษณะกลมถึงเรียวยาว เส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 1-3 มม. ขอบใบมีสีน้ำตาลเด่นชัด	MR
5	มีแผลบริเวณใบขนาดตั้งแต่ 3 มม.ขึ้นไป	MS
7	บริเวณใบมีรอยโรค 26-50% ใบข้าวเริ่มมีการเหี่ยวแห้ง	S
9	บริเวณใบมีรอยโรคมากกว่า 50%	HS

HR = highly resistant; R = resistant; MR = moderately resistant; MS = moderately susceptible; S = susceptible; HS = highly susceptible (IRRI, 2013)

ตาราง 2 การประเมินความต้านทานของโรคขอบใบแห้งที่เกิดจากเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ในสภาพโรงเรือน โดยวิธี SES

คะแนน	ลักษณะอาการ	ระดับความต้านทาน
0	ไม่มีรอยแผลเกิดขึ้น	HR
1	บริเวณใบมีรอยโรค 1-5% ของพื้นที่ใบ	R
3	บริเวณใบมีรอยโรค 6-12% ของพื้นที่ใบ	MR
5	บริเวณใบมีรอยโรค 13-25% ของพื้นที่ใบ	MS
7	บริเวณใบมีรอยโรค 26-50% ของพื้นที่ใบ	S
9	บริเวณใบมีรอยโรคของพื้นที่ใบ และมีใบแห้งตาย	HS

HR = highly resistant; R = Resistant; MR = moderately resistant; MS = moderately susceptible; S = susceptible; HS = highly susceptible (IRRI, 2013)

การตรวจสอบติดตามการเปลี่ยนแปลงของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การศึกษาลักษณะทางชีววิทยาที่เปลี่ยนแปลงไป การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการศึกษาพฤติกรรมของแมลงที่เปลี่ยนแปลงไป (จิรพงศ์ ใจรินทร์, 2552) ปัจจุบันการประเมินความต้านทานในระยะกล้าโดยวิธี Standard Seedbox Screening Test (SSST) ซึ่งเป็นวิธีคัดเลือกพันธุ์หรือสายพันธุ์ข้าวต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จากนั้นประเมินความรุนแรงในการเข้าทำลายพันธุ์ทดสอบของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยวิธี Standard Evaluation System (SES) โดยมีค่าระดับความเสียหายที่เกิดจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ตามตาราง 3

ตาราง 3 การประเมินความต้านทานของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพโรงเรือน โดยวิธี SES

คะแนน	ลักษณะอาการ	ระดับความต้านทาน
0	ต้นข้าวไม่มีการเสียหาย	HR
1	ต้นข้าวมีความเสียหายเล็กน้อย	R
3	ใบข้าวส่วนด้านล่างบางส่วนสีเหลือง	MR
5	ใบข้าวมีสีเหลืองและแคระแกร็น หรือประมาณ 10 - 25% ของพืชที่เหี่ยวเฉาหรือตาย	MS
7	ต้นข้าวเสียหายมากกว่า 50%	S
9	ต้นข้าวตายหมด	HS

HR = highly resistant; R = resistant; MR = moderately resistant; MS = moderately susceptible; S = susceptible; HS = highly susceptible (IRRI,2013)

การประเมินความต้านทานในสภาพแปลง จะทำการวางผังแปลงในการทดสอบความต้านทาน โดยปลูกข้าวพันธุ์อ่อนแอ 1 แถว ต่อข้าวพันธุ์ทดสอบ 2 แถว และมีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนปริมาณสูงเพื่อกระตุ้นการออกดอก หลังจาก 21 วันหลังปลูก จะทำการประเมินความต้านทาน (ทัศนีย์ สงวนสัจ, 2540) (ตาราง 4)

ตาราง 4 การประเมินความต้านทานโรคในสภาพแปลง โดยวิธี SES

คะแนน	**ลักษณะอาการ**	**ระดับความต้านทาน**
0	ไม่มีรอยโรคเกิดขึ้น	HR
1	บริเวณใบของต้นข้าวมีจุดสีน้ำตาลขนาดเล็กไม่มีจุดผ่านศูนย์กลาง	
2	บริเวณจุดสีเทา ลักษณะกลมเล็ก เส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 1-2 มม. ขอบใบมีสีน้ำตาลเด่นชัด	R
3	พบรอยโรคที่ใบด้านล่างชัดเจน เหมือนกับระดับคะแนนเท่ากับ 2	MR
4	บริเวณใบด้านบนมีรอยแผลอย่างสม่ำเสมอ มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3 มม.	MS
5	บริเวณใบมีรอยโรค 4-10% ของพื้นที่ใบ	
6	บริเวณใบมีรอยโรค 16-25% ของพื้นที่ใบ	MS
7	บริเวณใบมีรอยโรค 26-50% ของพื้นที่ใบ	S
8	ใบมีรอยโรค 51-75% ของพื้นที่ใบและเกิดหลายใบ	HS
9	บริเวณใบมีรอยโรคมากกว่า 75%	

HR = highly resistant; R = resistant; MR = moderately resistant; MS = moderately susceptible; S = susceptible; HS = highly susceptible (IRRI, 2013)

เช่นเดียวกัน ในการทดสอบความสามารถของพันธุ์ข้าวต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพแปลงโดยวิธี SES มีการให้ระดับความเสียหายเป็นค่าคะแนน 0-9 (ตาราง 5)

ตาราง 5 การประเมินความต้านทานของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพแปลง โดยวิธี SES

คะแนน	ลักษณะอาการ	ระดับความต้านทาน
0	ต้นข้าวไม่มีการเสียหาย	HR
1	ใบเริ่มมีสีเหลืองเล็กน้อย	R
3	ใบมีสีเหลืองอ่อน	MR
5	ใบที่มีสีเหลืองเด่นชัดและแคระแกร็น หรือ 10-25% ของพืชเกิดอาการไหม้ (hopper burn)	MS
7	ต้นข้าวเหี่ยวเฉามากกว่าครึ่งหรือเกิดอาการไหม้ ทำให้พืชที่เหลืออยู่แคระแกร็นอย่างรุนแรง	S
9	ต้นข้าวตายทั้งหมด	HS

HR = highly resistant; R = resistant; MR = moderately resistant; MS = moderately susceptible; S = susceptible; HS = highly susceptible (IRRI, 2013)

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

การเตรียมตัวอย่างข้าวสำหรับการสกัดดีเอ็นเอ

นำข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่ปลูกในจังหวัดพิษณุโลก สุโขทัย ตาก และพิจิตร จำนวน 20 สายพันธุ์ (ตาราง 6) ซึ่งได้รับมาจากศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก มาแช่ในน้ำเป็นเวลา 1 คืน แล้วนำมาปลูกลงดินในถาดพลาสติกสำหรับปลูก เมื่อข้าวมีอายุประมาณ 2-3 สัปดาห์ จะอยู่ในระยะที่มีใบอ่อน นำใบอ่อนของข้าวประมาณ 50-80 มิลลิกรัม มาสกัดดีเอ็นเอ

ตาราง 6 รายชื่อตัวอย่างพันธุ์ข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่ใช้ในการทดสอบ

ลำดับที่	สายพันธุ์ข้าว	สถานที่รวบรวม
1	หอมครัว	จ.พิษณุโลก
2	ล้นครก	จ.พิษณุโลก
3	ขาวน้ำค้าง	จ.พิษณุโลก
4	สายบัว	จ.พิษณุโลก
5	ข้าวกุลาหลุดหนี้	จ.สุโขทัย
6	ตาแขก	จ.สุโขทัย
7	คัดนาโพธิ์	จ.สุโขทัย
8	ทองย้อย	จ.สุโขทัย
9	พุดตำ	จ.สุโขทัย
10	หอมดง	จ.สุโขทัย
11	พิจิตร	จ.ตาก
12	เหลืองหลวง	จ.ตาก
13	พวงดอกมะลิ	จ.ตาก
14	พวงกระดาษ	จ.ตาก
15	สันป่าตองหลวง	จ.ตาก
16	กล้วยปี	จ.ตาก
17	เจ็ดรวง	จ.พิจิตร
18	ขาวกอเดียวหนัก	จ.พิจิตร
19	เหลืองเกษตร	จ.พิจิตร
20	ขาวชลอ	จ.พิจิตร

การสกัดดีเอ็นเอ (DNA extraction)

สกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี Cetyltrimethyl ammonium bromide method (CTAB) ดัดแปลงจาก Doyle and Doyle (1987) โดยนำใบอ่อนของข้าวประมาณ 50-80 มิลลิกรัม มาทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อและใส่ลงไปในหลอด 1.5 มิลลิลิตร ใส่สาร CTAB buffer (2% CTAB, 1.4 M NaCl, 100 mM Tris base, 20 mM EDTA) ปริมาตร 320 ไมโครลิตร เติม 5% PVP ปริมาตร 80 ไมโครลิตร และ 10% SDS ปริมาตร 40 ไมโครลิตร บดให้ละเอียด นำไป vortex เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที ดูดสารละลายส่วนใสใส่หลอด 1.5 มิลลิลิตร และเติม Chloroform: Isoamyl alcohol (24:1) เท่ากับปริมาตรสารละลายส่วนใสที่ดูดได้ นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที ดูดสารละสายส่วนใสใส่หลอด 1.5 มิลลิลิตร และเติม Isopropanol สองเท่าของสารละลายส่วนใส เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 คืน นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เทสารละลายทิ้งแล้วล้างตะกอนด้วย 70% Ethanol ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เท 70% Ethanol ทิ้ง เปิดฝาเพื่อระเหย 70% Ethanol ออกจนหมด เติม RNaseA (50 µg/ml) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร แล้วนำไป vortex เป็นเวลา 20-30 วินาที และบ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที นำดีเอ็นเอที่ได้มาตรวจสอบคุณภาพดีเอ็นเอโดยการแยกแถบดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้าใน 1% agarose gel ในสารละลาย 1X TBE ด้วยกระแสไฟฟ้า 120 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที แล้วส่องดูภายใต้เครื่อง Gel documentation (Bio-Rad, USA) และเก็บดีเอ็นเอที่ได้ไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

การตรวจสอบยีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ

การตรวจสอบการแสดงออกของยีนด้วยยีน *Actin*

การแสดงออกของยีน *Actin* สามารถใช้ตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอสำหรับใช้เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม ในการศึกษาครั้งนี้จึงทำการศึกษาการแสดงออกของยีน *Actin* ซึ่งเป็นยีนควบคุมในทุกตัวอย่าง ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในปฏิกริยาประกอบด้วย DNA template 20 นาโนกรัม ร่วมกับ 10X buffer, 50 mM $MgCl_2$, 10 mM dNTP, 10 µM Forward primer (5'-ATGAAGATCAAGGTGGTCGC-3') และ Reverse primer (5'-GTACTCAGCCTTGGCAATCC-3') (Park et al., 2010) และ 1 unit *Taq* DNA polymerase ตามวิธีของบริษัท Invitrogen และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้ได้ 25 ไมโครลิตร จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วย

เทคนิค Polymerase Chain Reaction; PCR (Mullis et al., 1992) ด้วยสภาวะที่เหมาะสม ดังนี้ pre-denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที ตามด้วยขั้นตอน denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 45 วินาที และ annealing ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 45 วินาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1.50 นาที ทำซ้ำจำนวน 35 รอบ และ final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

นำผลผลิตสารพันธุกรรมที่เพิ่มปริมาณได้มาแยกด้วยกระแสไฟฟ้าใน 2.5% TBE agarose gel ในสารละลาย 1XTBE ด้วยกระแสไฟฟ้า 120 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที แล้วส่องดูภายใต้เครื่อง Gel documentation เพื่อตรวจสอบคุณภาพผลผลิต PCR และเก็บผลผลิตที่ได้ไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

การตรวจสอบยีนต้านทานโรคไหม้ โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะ

นำดีเอ็นเอของตัวอย่างข้าวพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 20 สายพันธุ์มาตรวจสอบหายีนต้านทานโรคไหม้ *Pi9*, *Pi36*, *Pigm*(t), *Pi-ta* และ *Pib* ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ โดยกระบวนการ Polymerase Chain Reaction (PCR) (Mullis et al., 1992) โดยใช้ดีเอ็นเอ 20 นาโนกรัม ร่วมกับ 10X buffer, 50 mM $MgCl_2$, 10 mM dNTP, 10 µM Forward primer และ Reverse primer (ตาราง 7) และ 1 unit ของ *Taq* DNA polymerase ตามวิธีของบริษัท Invitrogen และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้ได้ 25 ไมโครลิตร เพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยสภาวะ ดังนี้ pre-denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ตามด้วยขั้นตอน denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 2 นาที และ annealing ที่อุณหภูมิ 52-60 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1.30 นาที ทำซ้ำจำนวน 35 รอบ และ final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

นำผลผลิตสารพันธุกรรมที่เพิ่มปริมาณได้มาแยกด้วยกระแสไฟฟ้าใน 1.5% TBE agarose gel ในสารละลาย 1X TBE ด้วยกระแสไฟฟ้า 120 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที แล้วส่องดูด้วยเครื่อง Gel documentation และเก็บผลผลิตที่ได้ไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

การตรวจสอบยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะ

นำดีเอ็นเอที่สกัดมาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยกระบวนการ PCR (Mullis et al., 1992) ของยีน *xa5*, *Xa21*, *Xa33* (RMWR7.1) และ *Xa33* (RMWR7.6) (ตาราง 7) ประกอบด้วยดีเอ็นเอ 20 นาโนกรัม ร่วมกับ 10X buffer, 50 mM $MgCl_2$, 10 mM dNTP, 10 µM Forward primer และ Reverse primer และ 1 unit *Taq* DNA polymerase ตามวิธีของบริษัท Invitrogen (USA) และ

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อให้ได้ 25 ไมโครลิตร จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยสภาวะ ดังนี้ pre-denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ตามด้วยขั้นตอน denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 45 วินาที และ annealing ที่อุณหภูมิ 57-59 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที ทำซ้ำจำนวน 35 รอบ และ Final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

นำผลผลิตสารพันธุกรรมที่เพิ่มปริมาณได้มาแยกด้วยกระแสไฟฟ้าใน 2% TBE agarose gel ในสารละลาย 1X TBE ด้วยกระแสไฟฟ้า 120 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที แล้วส่องดูด้วยเครื่อง Gel documentation และเก็บผลผลิตที่ได้ไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

การตรวจสอบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะ

ตรวจสอบหายีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Bph3*, *Bph14* และ *Bph18*(t) ด้วยไพรเมอร์จำเพาะ ดังตาราง 7 โดยกระบวนการ PCR (Mullis et al., 1992) ปริมาตร 25 ไมโครลิตร โดยใช้ดีเอ็นเอ 20 นาโนกรัม ร่วมกับ 10X buffer, 50 mM $MgCl_2$, 10 mM dNTP, 10 µM Forward primer และ Reverse primer และ 1 unit *Taq* DNA polymerase ตามวิธีของบริษัท Invitrogen (USA) จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยสภาวะที่เหมาะสม ดังนี้ pre-denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที ตามด้วยขั้นตอน denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และ annealing ที่อุณหภูมิ 55-58 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และ extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที ทำซ้ำจำนวน 35 รอบ และ Final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที

นำผลผลิตสารพันธุกรรมที่เพิ่มปริมาณได้มาแยกด้วยกระแสไฟฟ้าใน 2% TBE agarose gel ในสารละลาย 1X TBE ด้วยกระแสไฟฟ้า 120 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที แล้วส่องดูด้วยเครื่อง Gel documentation และเก็บผลผลิตที่ได้ไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส

ตาราง 7 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ที่ใช้ในการศึกษายีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

โรคและแมลง	ยีน	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ (5'-3')	ขนาดของผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ (bp)	อ้างอิง
โรคไหม้	*Pi9*	*Pi9*-F; CCCAATCTCCAATGACCCATAAC *Pi9*-R; CCGGACTAAGTACTGGCTTCGATA	500	Liu et al., 2002
	Pi36	*Pi36*-F; CCGGACTAAGTACTGGCTTCGATA *Pi36*-R; GCTCCAATGAAACAACAGGGC	1,200	Liu et al., 2007

ตาราง 7 (ต่อ)

โรคและแมลง	ยีน	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของไพรเมอร์ (5'-3')	ขนาดของผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ (bp)	อ้างอิง
โรคไหม้	*Pigm*(t)	*Pigm*(t)-F; TTAGGCTGCTTGTCTTGGG *Pigm*(t)-R; GGGAGGAGGAATGGTAGGAA	468	Deng et al., 2006
	Pi-ta	*Pi-ta*-F; AGCAGGTTATAAGCTGCTAGCCC *Pi-ta*-R; CTACCAACAAGTTCATCATCAAA	1,000	Jia et al., 2002
	Pib	*Pib*-F; GAACAATGCCCAAACTTGAGA *Pib*-R; GGCTCCACATGTCAGTGAGC	365	Fjeiistrom et al.,2004
โรคขอบใบแห้ง	*xa5*	*xa5*-F; GAGTCGATGTAATGTCATCAGTGC *xa5*-R; GAAGGAGGTATCGCTTTGTTGGAC	R: 227 S: 190	Blair et al., 2003
	Xa21	*Xa21*-F; ATAGACGCGGAAGGGTGGTTC *Xa21*-R; ATAGACGCGGTAATCGAAAGATG	R: 1,000 S: 700	Korinsak, 2009
	Xa33 (RMWR 7.1)	*Xa33* (7.1)-F; TTTTATCCCCTTCTTCCTTC *Xa33* (7.1)-R; CGTGTTTTGTGTGTCTTTTG	R: 350 S: 210	Podisetty, 2014
	Xa33 (RMWR 7.6)	*Xa33* (7.6)-F; CAACAAACACCTCCATGGTC *Xa33* (7.6)-R; GGGAATGAGCAAAAATTGG	R: 190 S: 210	Podisetty, 2014
เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล	*Bph3*	*Bph3*-F; ATCATGGTCGGTGGCTTAAC *Bph3*-R; CAGGTTCCAACCAGACACTG	200	Jirapong et al., 2007a
	Bph14	*Bph14*-F; AGACCAGAAGCTATTCGGACTCC *Bph14*-R; TGTGAAGGGTGTGTGTGTGTCAC	700	Du et al., 2009
	Bph18(t)	*Bph18*-F; ACGGCGGTGAGCATTGG *Bph18*-R; TACAGCGAAAAGCATAAAGAGTC	1,100	Jena et al., 2006

R = ขนาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ของอัลลีลต้านทานโรคขอบใบแห้ง

S = ขนาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ของอัลลีลอ่อนแอ่ต่อโรคขอบใบแห้ง

การตรวจสอบยีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

นำผลผลิตที่ได้จากการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมของยีนต้านโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล มาแยกด้วยกระแสไฟฟ้า ใน 1 - 2.5% TBE agarose gel ในสารละลาย 1X TBE และแยกด้วยกระแสไฟฟ้า 120 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นส่องดูด้วยเครื่อง Gel documentation เพื่อตรวจสอบแถบดีเอ็นเอผลผลิตสารพันธุกรรมที่เพิ่มปริมาณได้

การประเมินระดับความต้านทานของข้าวต่อความต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

การเตรียมตัวอย่างข้าวในการทดสอบระดับความต้านทาน

ทำการปลูกข้าวข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองจำนวน 20 สายพันธุ์ ที่ต้องการทดสอบลงในกระถาง โดยใช้ข้าวชัยนาท 1 และข้าวหอมมะลิ 105 เป็นตัวอย่างเปรียบเทียบ จากนั้นนำเมล็ดพันธุ์ข้าวมาแช่น้ำเป็นเวลา 1 คืน และนำเมล็ดข้าวปลูกลงดินในกระถาง เมื่อต้นข้าวมีอายุ 21 วัน จึงทำการทดสอบเชื้อสาเหตุของโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลกับข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ที่เตรียมไว้

การเตรียมสปอร์และการประเมินความต้านทานต่อเชื้อรา *Pyricularia oryzae* ของโรคไหม้

นำตัวอย่างเชื้อรา *Pyricularia oryzae* ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก จำนวน 2 ไอโซเลท คือ PG6034 และ PG6204 ที่เป็นสาเหตุของโรคไหม้มาเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-7 วัน จากนั้นนำสปอร์ที่ได้มาผสมกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อให้มีความหนาแน่นเท่ากับ 1×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร โดยปริมาณสปอร์ของเชื้อราจะถูกนับภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วย hemacytometer จากนั้นเติม Tween 20 (สารจับใบ) 0.2% และปรับให้ได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร แล้วทำการฉีดพ่นลงบนต้นข้าวที่มีอายุ 21 วัน ตามวิธีของ Roumen et al. (1997) โดยใช้ข้าวชัยนาท 1 ที่เป็นข้าวสายพันธุ์ต้านทาน และข้าวหอมมะลิ 105 สายพันธุ์อ่อนแอต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้เป็นตัวอย่างเปรียบเทียบ ประเมินความต้านทานของเชื้อสาเหตุโรคไหม้โดยให้คะแนน (0-9) หลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 และ 14 วัน ดังตาราง 8

ตาราง 8 การประเมินความต้านทานของโรคไหม้ที่เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae*

คะแนน	ลักษณะอาการ	ระดับความต้านทาน	
0	ไม่มีรอยโรคเกิดขึ้น	HR	ต้านทานสูง
1	บริเวณใบของต้นข้าวมีจุดสีน้ำตาลขนาดเล็ก	R	ต้านทาน
3	บริเวณใบมีจุดสีเทา ลักษณะกลมถึงเรียวยาว เส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 1-3 มม. ขอบใบมีสีน้ำตาลเด่นชัด	MR	ต้านทานปานกลาง
5	มีแผลบริเวณใบขนาดตั้งแต่ 3 มม.ขึ้นไป	MS	อ่อนแอปานกลาง
7	บริเวณใบมีรอยโรค 26-50% ใบข้าวเริ่มมีการเหี่ยวแห้ง	S	อ่อนแอ
9	บริเวณใบมีรอยโรคมากกว่า 50%	HS	อ่อนแอมาก

ระดับความต้านทาน HR = highly resistant; R = resistant; MR = moderately resistant; MS = moderately susceptible; S = susceptible; HS = highly susceptible (IRRI, 2013)

การเตรียมเชื้อและการประเมินความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ของโรคขอบใบแห้ง

นำตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียมาเลี้ยงบนอาหาร Nutrient agar (NA) ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก จำนวน 2 ไอโซเลท คือ BB-6436 และ BB-6442 บ่มนาน 24-48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25-28 องศาเซลเซียส โดยเตรียมสารละลายแบคทีเรียให้มีความหนาแน่นเท่ากับ 1×10^6 colony forming units (CFU)/mL จากนั้นทำการปลูกเชื้อด้วยวิธี clipping technique (Jennings et al., 1979) โดยใช้กรรไกรจุ่มเชื้อแบคทีเรียที่เตรียมไว้ ตัดปลายใบข้าวที่อายุ 21 วัน ให้มีขนาดยาวจากปลายใบข้าวลงมาประมาณ 1 เซนติเมตร ต้น ๆ ละ 2-3 ใบ โดยใช้ข้าวชัยนาท 1 ที่เป็นข้าวสายพันธุ์อ่อนแอ และข้าวหอมมะลิ 105 สายพันธุ์ต้านทานต่อเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* เป็นตัวอย่างเปรียบเทียบ ประเมินความต้านทานที่เกิดหลังจาก 7 และ 14 วันหลังการปลูกเชื้อ โดยให้คะแนน 0-9 (IRRI, 2013) ดังตาราง 9

ตาราง 9 การประเมินความต้านทานของโรคขอบใบแห้งที่เกิดจากเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

คะแนน	ลักษณะอาการ	ระดับความต้านทาน	
0	ไม่มีรอยแผลเกิดขึ้น	HR	ต้านทานสูง
1	บริเวณใบมีรอยโรค 0-5 เซนติเมตร	R	ต้านทาน
3	บริเวณใบมีรอยโรค 5-10 เซนติเมตร	MR	ต้านทานปานกลาง
5	บริเวณใบมีรอยโรค11-15 เซนติเมตร	MS	อ่อนแอปานกลาง
7	บริเวณใบมีรอยโรค มากกว่า 15 เซนติเมตร	S	อ่อนแอ
9	บริเวณใบมีรอยโรคของพื้นที่ใบ และมีใบแห้งตาย	HS	อ่อนแอมาก

ระดับความต้านทาน HR = highly resistant; R = resistant; MR = moderately resistant; MS =moderately susceptible; S = susceptible; HS = highly susceptible (IRRI, 2013)

การเก็บตัวอย่างและการเลี้ยงเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

เก็บตัวอย่างเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยใช้สวิงจับแมลง จากแปลงปลูกข้าวของเกษตรกรในพื้นที่รอบ ๆ มหาวิทยาลัยนเรศวร ต.ท่าโพธิ์ อ.เมือง จ.พิษณุโลก และศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก ต.วังทอง อ.วังทอง จ.พิษณุโลก จากนั้นนำมาใส่ในกล่องพลาสติก 12×17×7 เซนติเมตร ที่มีการเจาะรูที่ฝากล่องและติดตาข่ายตาถี่เพื่อระบายอากาศ นำมาเลี้ยงในห้องเลี้ยงแมลงของภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ห้องเลี้ยงแมลงจะควบคุมอุณหภูมิที่ $25 \pm 1^{O}C$ ความชื้น 60% หลังจากนั้นเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจะถูกนำมาเลี้ยงในกรงที่มีต้นข้าว เพื่อให้

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพศผู้และเพศเมียผสมพันธุ์ วางไข่และฟักตัวเป็นตัวอ่อน ให้ต้นข้าวเพื่อเป็นอาหารของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ฟักออกมา ย้ายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพศผู้และเพศเมียตัวเต็มวัยออกจากกรงโดยใช้ aspirator นำออกไปไว้ในกรงใหม่ เพื่อให้เพศผู้และเพศเมียผสมพันธุ์และวางไข่อีกครั้ง ส่วนตัวอ่อนจะเลี้ยงจนเป็นวัยที่ 2 เพื่อนำมาใช้ในการทดสอบ

การประเมินระดับความต้านทานของข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองต่อความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

การระดับความต้านทานของข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 20 สายพันธุ์ โดยเปรียบเทียบกับข้าวสายพันธุ์มาตรฐานต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล คือ ข้าวชัยนาท 1 และข้าวสายพันธุ์มาตรฐานอ่อนแอ 1 สายพันธุ์ คือ ข้าวหอมมะลิ 105 โดยปลูกข้าวในกระถางที่วางไว้ในกรงตาข่ายถี่ป้องกันแมลง วางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD) จำนวน 6 ซ้ำ เมื่อข้าวมีอายุ 21 วัน นำตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล วัยที่ 2 ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลกมาปล่อยลงในกรงที่มีต้นข้าวที่ต้องการทดสอบ จำนวน 10 ตัว/กระถาง (Jena et al., 2010) หลังจากนั้นทำการตรวจให้คะแนนเพื่อประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ด้วยวิธี Standard Seedbox Screening Test (SSST) ทำการประเมินความเสียหายของต้นข้าวแต่ละสายพันธุ์ ในวันที่ 7, 14 และ 21 หลังจากปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลไว้ในกรง โดยให้คะแนนระดับความต้านทานเป็นตัวเลขตั้งแต่ 0-9 ดังตาราง 10 ตามวิธีมาตรฐานของสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (Standard Evaluation System, SES) (IRRI, 2013)

ตาราง 10 การประเมินความต้านทานของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

คะแนน	ลักษณะอาการ	ระดับความต้านทาน	
0	ต้นข้าวไม่มีการเสียหาย	HR	ต้านทานสูง
1	ต้นข้าวมีความเสียหายเล็กน้อย	R	ต้านทาน
3	ใบข้าวส่วนด้านล่างบางส่วนสีเหลือง	MR	ต้านทานปานกลาง
5	ใบข้าวมีสีเหลืองและแคระแกร็น หรือประมาณ 10 - 25% ของพืชที่เหี่ยวเฉาหรือตาย	MS	อ่อนแอปานกลาง
7	ต้นข้าวเสียหายมากกว่า 50%	S	อ่อนแอ
9	ต้นข้าวตายหมด	HS	อ่อนแอมาก

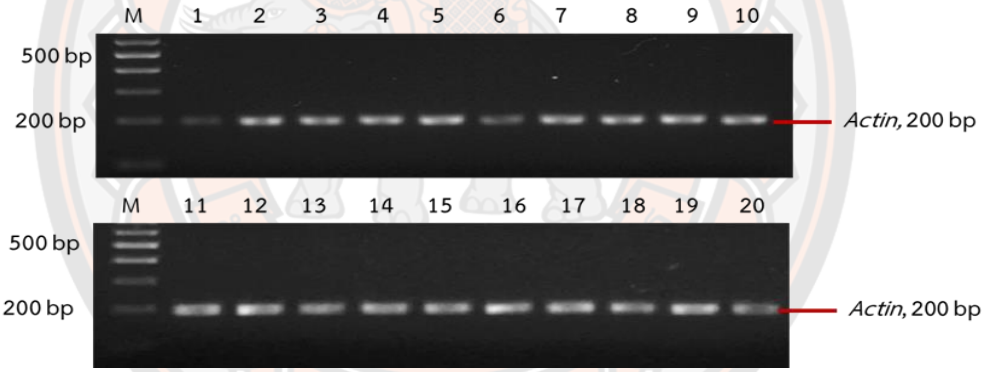
ระดับความต้านทาน HR = highly resistant; R = resistant; MR = moderately resistant; MS =moderately susceptible; S = susceptible; HS = highly susceptible (IRRI, 2013)

บทที่ 4

ผลการวิจัย

การตรวจสอบยีนต้านทานโรคและแมลงในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ

ทำการสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี Cetyltrimethyl ammonium bromide method (CTAB) พบว่าดีเอ็นเอมีขนาดประมาณ 10 kb ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 20 สายพันธุ์ จากนั้นนำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมโดยใช้ยีน *Actin* เป็นยีนตรวจสอบ พบว่า สามารถเพิ่มปริมาณยีน *Actin* จากดีเอ็นเอของข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 20 สายพันธุ์ และมีขนาด 200 bp (ภาพ 9) แสดงให้เห็นว่าดีเอ็นเอของข้าวทั้ง 20 สายพันธุ์ มีคุณภาพเพียงพอสำหรับในการนำมาตรวจสอบยีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง

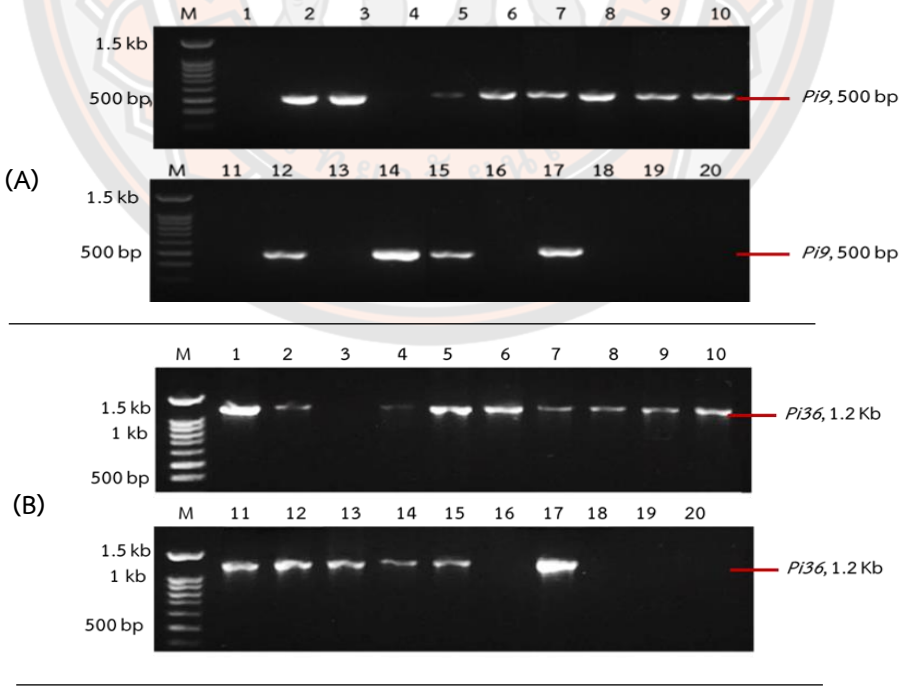


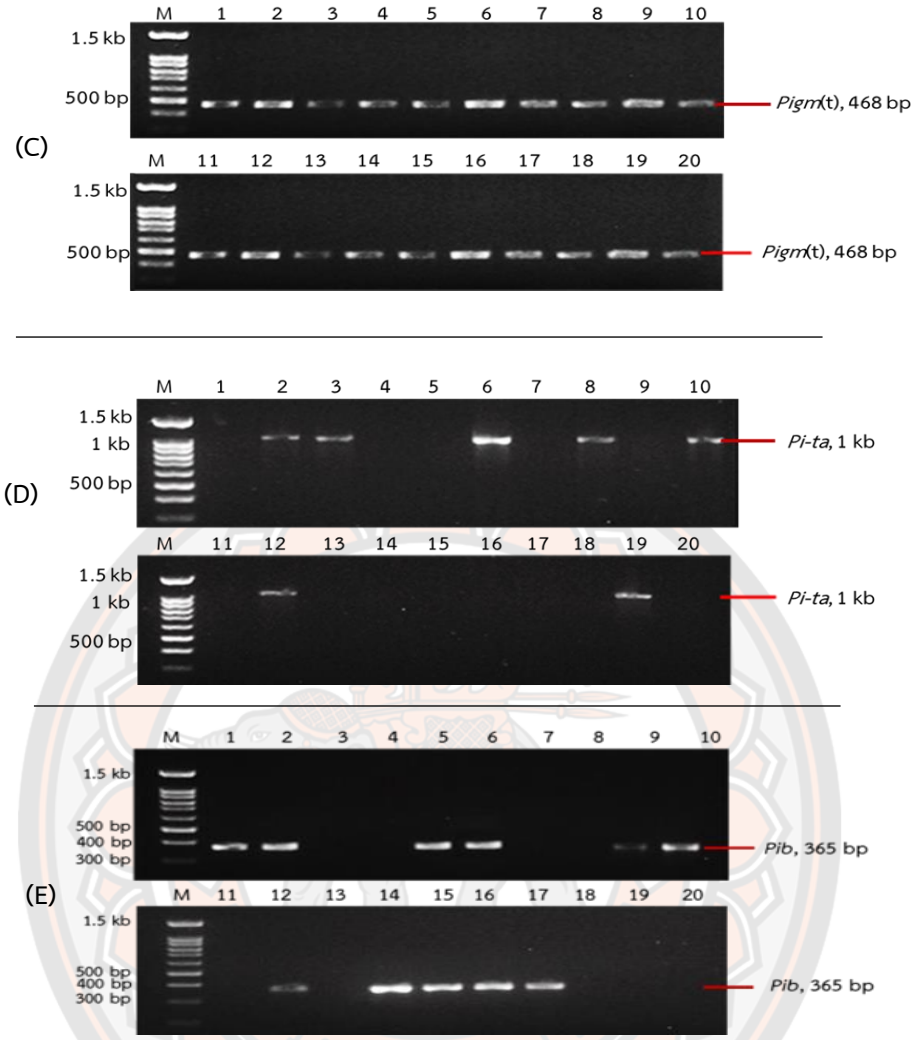
ภาพ 9 ผลผลิตพีซีอาร์ของยีน *Actin* มีขนาด 200 bp
(M) คือ 100 bp DNA ladder (1) ข้าวหอมครัว (2) ข้าวล้นครก (3) ข้าวขาวน้ำค้าง (4) ข้าวสายบัว (5) ข้าวกุลาหลุดหนี้ (6) ข้าวตาแขก (7) ข้าวคัดนาโพธิ์ (8) ข้าวทองย้อย (9) ข้าวพุดตำ่ (10) ข้าวหอมดง (11) ข้าวพิจิตร (12) ข้าวเหลืองหลวง (13) ข้าวพวงดอกมะลิ (14) ข้าวพวงกระดาษ (15) ข้าวสันป่าตองหลวง (16) ข้าวกล้วยปี (17) ข้าวเจ็ดรวง (18) ข้าวขาวกอเดียวหนัก (19) ข้าวเหลืองเกษตร และ (20) ข้าวขาวชะลอ

การตรวจสอบยีนต้านทานโรคไหม้ในข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae*

จากการตรวจสอบยีนต้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 20 สายพันธุ์ ด้วยเทคนิคลูกโซ่พอลิเมอเรส (Polymerase chain reaction, PCR) ร่วมกับไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีนต้านทานโรคไหม้ *Pi9*, *Pi36*, *Pigm*(t), *Pi-ta* และ *Pib* พบว่า สามารถตรวจพบยีนต้านทานโรคไหม้ *Pi9* ที่มีขนาดของผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ ประมาณ 500 bp (ภาพ 10A) ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองจำนวน

12 สายพันธุ์ (60%) คือ ข้าวล้นครก ข้าวขาวน้ำค้าง ข้าวกุลาหลุดหนี้ ข้าวตาแขก ข้าวคัดนาโพธิ์ ข้าวทองย้อย ข้าวพุดตำ ข้าวหอมดง ข้าวเหลืองหลวง ข้าวพวงกระดาษ ข้าวสันป่าตอง และข้าวเจ็ดรวง ยีนต้านทานโรคไหม้ *Pi36* มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 1.2 kb (ภาพ 10B) พบในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 15 สายพันธุ์ (75%) คือ ข้าวหอมครัว ข้าวล้นครก ข้าวสายบัว ข้าวกุลาหลุดหนี้ ข้าวตาแขก ข้าวคัดนาโพธิ์ ข้าวทองย้อย ข้าวพุดตำ ข้าวหอมดง ข้าวพิจิตร ข้าวเหลืองหลวง ข้าวพวงดอกมะลิ ข้าวพวงกระดาษ ข้าวสันป่าตองหลวง และข้าวเจ็ดรวง ยีนต้านทานโรคไหม้ *Pigm*(t) มีผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ขนาด 468 bp (ภาพ 10C) สามารถพบได้ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 20 สายพันธุ์ คิดเป็น 100% ยีนต้านทานโรคไหม้ *Pi-ta* มีขนาดประมาณ 1 kb (ภาพ 10D) พบในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองจำนวน 7 สายพันธุ์ (35%) คือ ข้าวล้นครก ข้าวขาวน้ำค้าง ข้าวตาแขก ข้าวทองย้อย ข้าวหอมดง ข้าวเหลืองหลวง และข้าวเหลืองเกษตร และยีนต้านทานโรคไหม้ *Pib* มีขนาดประมาณ 365 bp (ภาพ 10E) พบในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 10 สายพันธุ์ (50%) ได้แก่ ข้าวหอมครัว ข้าวล้นครก ข้าวตาแขก ข้าวพุดตำ ข้าวหอมดง ข้าวพวงกระดาษ ข้าวสันป่าตองหลวง ข้าวกล้วยปี และข้าวเจ็ดรวง นอกจากนี้จากการตรวจสอบยีนต้านทานโรคไหม้ พบว่าข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 20 สายพันธุ์ พบมีการกระจายตัวของยีนต้านทานโรคไหม้ *Pigm*(t) มากที่สุด รองลงมา คือ ยีน *Pi36*, *Pi9*, *Pib* และ *Pi-ta* ตามลำดับ





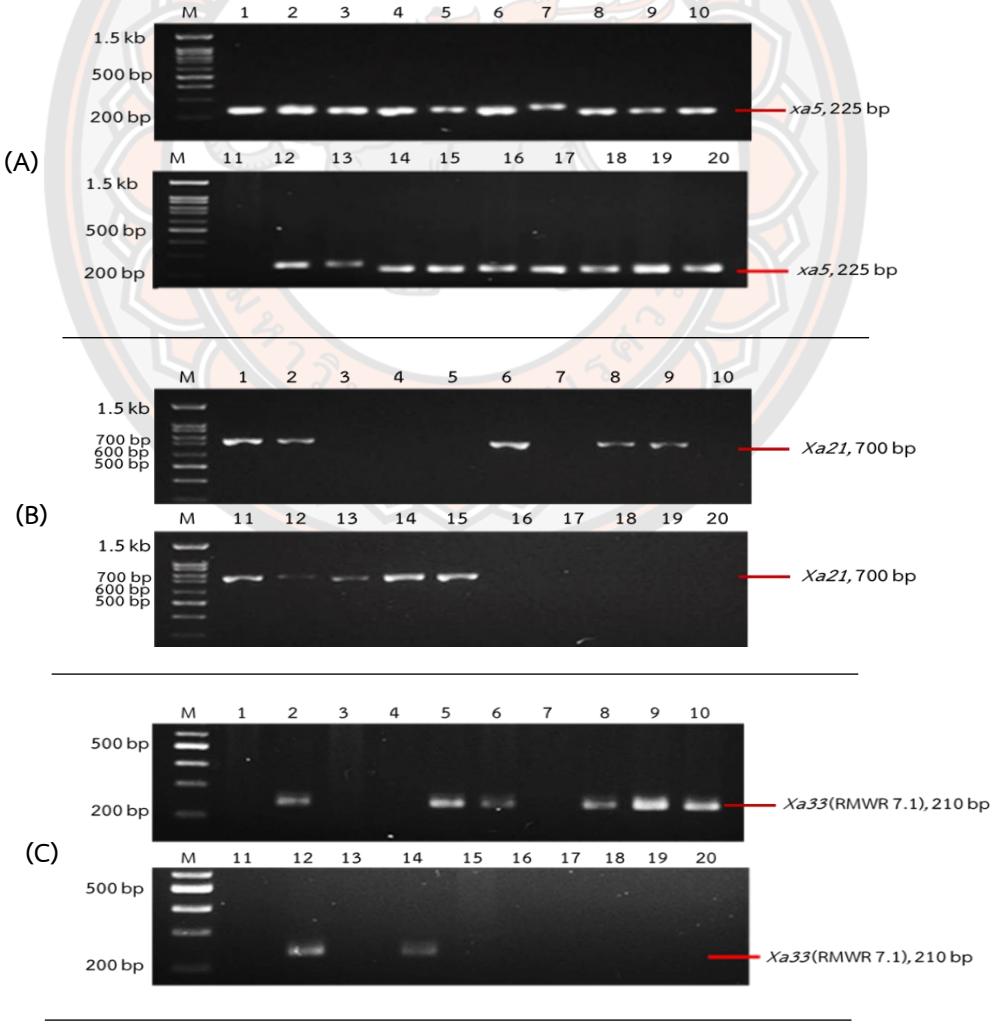
ภาพ 10 ผลผลิตพีซีอาร์ของยีนต้านทานโรคไหม้

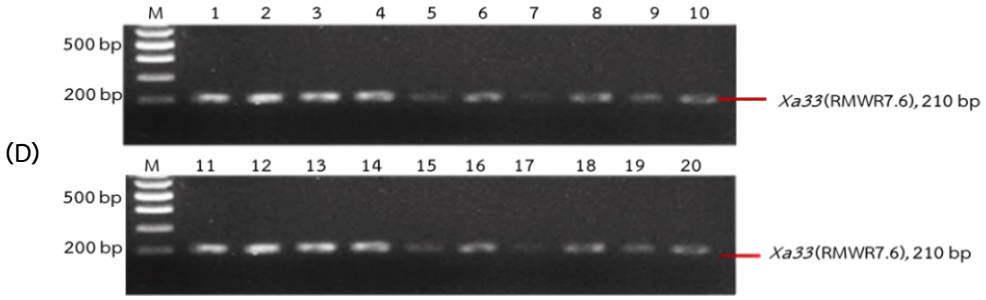
(A) ยีน *Pi9* (B) ยีน *Pi36* (C) ยีน *Pigm*(t) (D) ยีน *Pi-ta* (E) ยีน *Pib*; (M) 100 bp DNA ladder (1) ข้าวหอมครัว (2) ข้าวล้นครก (3) ข้าวขาวน้ำค้าง (4) ข้าวสายบัว (5) ข้าวกุลาหลุดหนี้ (6) ข้าวตาแขก (7) ข้าวคัดนาโพธิ์ (8) ข้าวทองย้อย (9) ข้าวพุดตำ่ (10) ข้าวหอมดง (11) ข้าวพิจิตร (12) ข้าวเหลืองหลวง (13) ข้าวพวงดอกมะลิ (14) ข้าวพวงกระดาษ (15) ข้าวสันป่าตองหลวง (16) ข้าวกล้วยปี (17) ข้าวเจ็ดรวง (18) ข้าวขาวกอเดียวหนัก (19) ข้าวเหลืองเกษตร และ (20) ข้าวขาวชะลอ

การตรวจสอบยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งในข้าวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

การตรวจสอบยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งด้วยเทคนิคลูกโซ่พอลิเมอเรสร่วมกับไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งจำนวน 4 ไพรเมอร์ คือ *xa5*, *Xa21*, *Xa33* (RMWR 7.1) และ *Xa33* (RMWR 7.6) ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 20 สายพันธุ์ สามารถตรวจพบยีนต้านทานโรคขอบ

ใบแห้ง *xa5* ที่มีขนาดของผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ 227 bp (ภาพ 11A) ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 19 สายพันธุ์ (95%) ยกเว้น ข้าวพิจิตร ส่วนยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง *Xa21* พบมีขนาดของผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ประมาณ 700 bp (ภาพ 11B) ซึ่งเป็นอัลลีลอ่อนแอต่อโรคขอบใบแห้ง พบในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 10 สายพันธุ์ (50%) คือ ข้าวหอมครัว ข้าวล้นครก ข้าวตาแขก ข้าวทองย้อย ข้าวพุดตำ ข้าวพิจิตร ข้าวเหลืองหลวง ข้าวพวงดอกมะลิ ข้าวพวงกระดาษ และข้าวสันป่าตอง ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง *Xa33* (RMWR 7.1) พบในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 8 สายพันธุ์ (40%) คือ ข้าวล้นครก ข้าวกุลาหลุดหนี้ ข้าวตาแขก ข้าวทองย้อย ข้าวพุดตำ ข้าวหอมดง ข้าวเหลืองหลวง และข้าวพวงกระดาษ มีขนาดของผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ ประมาณ 210 bp (ภาพ 11C) ซึ่งเป็นขนาดของอัลลีลที่อ่อนแอต่อโรคขอบใบแห้ง ส่วนยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง *Xa33* (RMWR 7.6) พบในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 20 สายพันธุ์ (100%) มีขนาดของผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ ประมาณ 210 bp (ภาพ11D) ซึ่งขนาดที่พบเป็นขนาดของอัลลีลอ่อนแอ่ต่อโรคขอบใบแห้ง



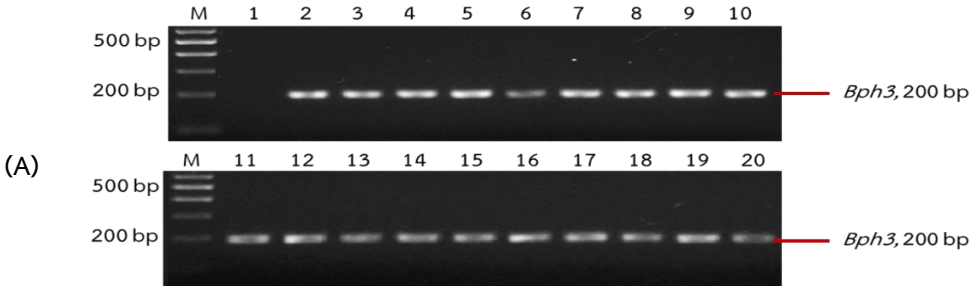


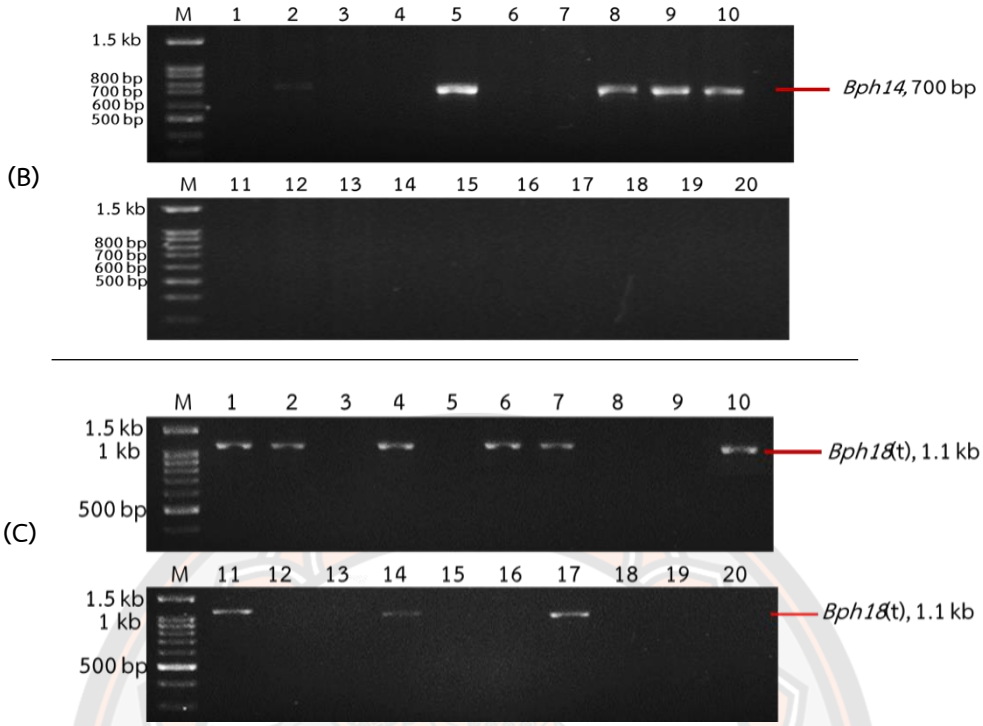
ภาพ 11 ผลผลิตพีซีอาร์ของยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง

(A) ยีน *xa5*; (B) ยีน *Xa21*; (C) ยีน *Xa33* (RMWR 7.1); (D) ยีน *Xa33* (RMWR 7.6); (M)n100 bp DNA ladder (1) ข้าวหอมครัว (2) ข้าวล้นครก (3) ข้าวขาวน้ำค้าง (4) ข้าวสายบัว (5) ข้าวกุลาหลุดหนี้ (6) ข้าวตาแขก (7) ข้าวคัดนาโพธิ์ (8) ข้าวทองย้อย (9) ข้าวพุดตำ (10) ข้าวหอมดง (11) ข้าวพิจิตร (12) ข้าวเหลืองหลวง (13) ข้าวพวงดอกมะลิ (14) ข้าวพวงกระดาษ (15) ข้าวสันป่าตองหลวง (16) ข้าวกล้วยปี (17) ข้าวเจ็ดรวง (18) ข้าวขาวกอเดียวหนัก (19) ข้าวเหลืองเกษตร และ (20) ข้าวขาวชะลอ

การตรวจสอบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens*)

การตรวจสอบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อยีน *Bph3, Bph14* และ *Bph18*(t) ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 20 สายพันธุ์ พบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Bph3* ที่มีขนาดผลผลิตพีซีอาร์ประมาณ 200 bp (ภาพ 12A) ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองจำนวน 19 ตัวอย่าง (95%) ยกเว้น ข้าวหอมครัว ในขณะที่ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Bph14* มีขนาดผลผลิตพีซีอาร์ประมาณ 700 bp (ภาพ 12B) พบในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 5 สายพันธุ์ (25%) คือ ข้าวล้นครก ข้าวกุลาหลุดหนี้ ข้าวทองย้อย ข้าวพุดตำ และข้าวหอมดง และพบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Bph18*(t) ที่มีขนาดผลผลิตพีซีอาร์ประมาณ 1.2 kb (ภาพ 12C) ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 9 สายพันธุ์ (45%) คือ ข้าวหอมครัว ข้าวล้นครก ข้าวสายบัว ข้าวตาแขก ข้าวคัดนาโพธิ์ ข้าวหอมดง ข้าวพิจิตร ข้าวพวงกระดาษ และข้าวขาวกอเดียวหนัก และจากการตรวจสอบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบการกระจายตัวของยีน *Bph3* มากที่สุดในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง รองลงมาคือ ยีน *Bph18*(t) และ *Bph14* ตามลำดับ





ภาพ 12 ผลผลิตพีซีอาร์ของยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

(A) ยีน *Bph3*; (B) ยีน *Bph14*; (C) ยีน *Bph18(t)*; (M) 100 bp DNA ladder (1) ข้าวหอมครัว (2) ข้าวล้นครก (3) ข้าวขาวน้ำค้าง (4) ข้าวสายบัว (5) ข้าวกุลาหลุดหนี้ (6) ข้าวตาแขก (7) ข้าวคัดนาโพธิ์ (8) ข้าวทองย้อย (9) ข้าวพุดตำ (10) ข้าวหอมดง (11) ข้าวพิจิตร (12) ข้าวเหลืองหลวง (13) ข้าวพวงดอกมะลิ (14) ข้าวพวงกระดาษ (15) ข้าวสันป่าตองหลวง (16) ข้าวกล้วยปี (17) ข้าวเจ็ดรวง (18) ข้าวขาวกอเดียวหนัก (19) ข้าวเหลืองเกษตร และ (20) ข้าวขาวชะลอ

จากการตรวจหายีนต้านโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะต่อยีนโรคไหม้ (*Pi9, Pi36*, *Pigm*(t), *Pi-ta* และ *Pib*) โรคขอบใบแห้ง (*xa5*, *Xa21*, *Xa33* (RMWR7.1) และ *Xa33* (RMWR 7.6)) และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*, *Bph14* และ *Bph18*(t)) ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 20 สายพันธุ์ พบว่าข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 20 สายพันธุ์ มียีนต้านทานโรคและแมลง อย่างน้อย 1 ตำแหน่ง (ตาราง 11) โดยพบว่าข้าวล้นครก และข้าวหอมดง มียีนต้านทาน จำนวน 9 ยีน คือ ยีนต้านทานโรคไหม้ทั้ง 5 ยีน ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง จำนวน 1 ยีน (*xa5*) และยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้ง 3 ยีน รองลงมา คือ ข้าวตาแขก พบยีนต้านทาน จำนวน 8 ยีน ประกอบด้วย ยีนต้านทานโรคไหม้ 5 ยีน ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง จำนวน 1 ยีน (*xa5*) และยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 2 ยีน (*Bph3* และ *Bph18*(t)) ข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่พบยีนต้านทาน จำนวน 7 ยีน คือ ข้าวขาวกุลาหลุดหนี้ ข้าวพุดตำ (ยีนต้านทานโรคไหม้ จำนวน 4 ยีน *Pi9, Pi36*, *Pigm*(t) และ *Pib* ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง จำนวน

1 ยีน (*xa5*) และยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 2 ยีน (*Bph3* และ *Bph14*) ข้าวทองย้อย (ยีนต้านทานโรคไหม้ จำนวน 4 ยีน *Pi9, Pi36*, *Pigm*(t) และ *Pi-ta* ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง จำนวน 1 ยีน (*xa5*) และยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 2 ยีน (*Bph3* และ *Bph14*)) ข้าวเหลืองหลวง (ยีนต้านทานโรคไหม้ทั้ง 5 ยีน ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง จำนวน 1 ยีน (*xa5*) และยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 1 ยีน (*Bph3*) ข้าวพวงกระดาษ และข้าวเจ็ดรวง มียีนต้านทานโรคไหม้ จำนวน 4 ยีน *Pi9, Pi36*, *Pigm*(t) และ *Pib* ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง จำนวน 1 ยีน (*xa5*) และยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 2 ยีน (*Bph3* และ *Bph18*(t)) ข้าวที่พบยีนต้านทาน จำนวน 6 ยีน คือ ข้าวคัดนาโพธิ์ ประกอบด้วยยีนต้านทานโรคไหม้ จำนวน 3 ยีน คือ *Pi9, Pi36*, และ *Pigm*(t) ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง จำนวน 1 ยีน (*xa5*) และยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 2 ยีน (*Bph3* และ *Bph18*(t)) และข้าวสันป่าตองหลวง ประกอบด้วยยีนต้านทานโรคไหม้ จำนวน 4 ยีน *Pi9, Pi36*, *Pigm*(t), และ *Pib* ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง จำนวน 1 ยีน (*xa5*) และยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 1 ยีน (*Bph3*) ข้าวที่พบยีนต้านทาน จำนวน 5 ยีน คือ ข้าวหอมครัว ประกอบด้วยยีนต้านทานโรคไหม้ จำนวน 3 ยีน *Pi36*, *Pigm*(t) และ *Pib* ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง จำนวน 1 ยีน (*xa5*) และยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 1 ยีน (*Bph18*(t)) ข้าวขาวน้ำค้าง ประกอบด้วยยีนต้านทานโรคไหม้ จำนวน 3 ยีน คือ *Pi9, Pigm*(t) และ *Pi-ta* ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง จำนวน 1 ยีน (*xa5*) และยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 1 ยีน (*Bph3*) ข้าวสายบัว ประกอบด้วยยีนต้านทานโรคไหม้ จำนวน 2 ยีน *Pi36* และ *Pigm*(t) ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง จำนวน 1 ยีน (*xa5*) และยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 2 ยีน (*Bph3* และ *Bph18*(t)) ข้าวที่พบยีนต้านทาน จำนวน 4 ยีน คือ ข้าวพิจิตร ประกอบด้วยยีนต้านทานโรคไหม้ จำนวน 2 ยีน *Pi36*, และ *Pigm*(t) และยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 2 ยีน (*Bph3* และ *Bph18*(t)) ข้าวพวงดอกมะลิ ประกอบด้วยยีนต้านทานโรคไหม้ จำนวน 2 ยีน *Pi36* และ *Pigm*(t) ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง จำนวน 1 ยีน (*xa5*) และยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 1 ยีน (*Bph3*) ข้าวกล้วยปี ประกอบด้วยยีนต้านทานโรคไหม้ จำนวน 2 ยีน *Pigm*(t) และ *Pib* ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง 1 ยีน (*xa5*) และยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 1 ยีน (*Bph3*) และข้าวเหลืองเกษตร ประกอบด้วยยีนต้านทานโรคไหม้ จำนวน 2 ยีน *Pigm*(t) และ *Pi-ta* ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง จำนวน 1 ยีน (*xa5*) และยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 1 ยีน (*Bph3*) และข้าวที่พบยีนต้านทาน จำนวน 3 ยีน คือ ข้าวขาวกอเดียวหนัก และข้าวขาวชลอ ประกอบด้วยยีนต้านทานโรคไหม้ จำนวน 1 ยีน (*Pigm*(t)) ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง จำนวน 1 ยีน(*xa5*) และยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 1 ยีน (*Bph3*) อย่างไรก็ตาม จากการตรวจสอบยีนในข้าวทั้ง 20 สายพันธุ์ พบว่าการใช้ไพรเมอร์จำเพาะ *Xa21*, *Xa33* (RMWR7.1) และ *Xa33* (RMWR7.6) ของโรคขอบใบแห้ง ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองปรากฏ

ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ของอัลลีลอ่อนแอต่อโรค โดยข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 20 สายพันธุ์ ที่นำมาตรวจสอบพบอัลลีลอ่อนแอของยีน *Xa33* (RMWR7.6) มากที่สุด ทั้ง 20 สายพันธุ์ รองลงมา คือ *Xa21* พบจำนวน 10 สายพันธุ์ คือ ข้าวหอมครัว ข้าวล้นครก ข้าวตาแขก ข้าวทองย้อย ข้าวพุดตำ ข้าวพิจิตร ข้าวเหลืองหลวง ข้าวพวงดอกมะลิ ข้าวพวงกระดาษ และข้าวสันป่าตองหลวง และ *Xa33* (RMWR7.1) จำนวน 8 สายพันธุ์ คือ ข้าวล้นครก ข้าวกุหลาหลุดหนี้ ข้าวตาแขก ข้าวทองย้อย ข้าวพุดตำ ข้าวหอมดง ข้าวเหลืองหลวง และข้าวพวงกระดาษ

ตาราง 11 การตรวจสอบยีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะ

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ยีนต้านทานโรคไหม้					ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง				ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล		
		Pi9	*Pi36*	*Pigm*(t)	*Pi-ta*	*Pib*	*xa5*	*Xa21*	*Xa33* (7.1)	*Xa33* (7.6)	*Bph3*	*Bph14*	*Bph18(t)*
1	ข้าวหอมครัว		/	/		/	/			S			/
2	ข้าวล้นครก	/	/	/	/	/	/	S	S	S	/	/	/
3	ข้าวขาวน้ำค้าง	/		/	/		/			S	/		
4	ข้าวสายบัว		/	/			/			S	/		/
5	ข้าวกุลาหลุดหนี้	/	/	/		/	/		S	S	/	/	
6	ข้าวตาแขก	/	/	/	/	/	/	S	S	S	/		/
7	ข้าวคัดนาโพธิ์	/	/	/			/			S	/		/
8	ข้าวทองย้อย	/	/	/	/		/	S	S	S	/	/	
9	ข้าวพุดตำ	/	/	/		/	/	S	S	S	/	/	
10	ข้าวหอมดง	/	/	/	/	/	/		S	S	/	/	/
11	ข้าวพิจิตร		/	/				S		S	/		/
12	ข้าวเหลืองหลวง	/	/	/	/	/	/	S	S	S	/		
13	ข้าวพวงดอกมะลิ		/	/			/	S		S	/		
14	ข้าวพวงกระดาษ	/	/	/		/	/	S	S	S	/		/

ตาราง 11 (ต่อ)

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ยีนต้านทานโรคไหม้					ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง				ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล		
		Pi9	*Pi36*	*Pigm*(t)	*Pi-ta*	*Pib*	*xa5*	*Xa21*	*Xa33* (7.1)	*Xa33* (7.6)	*Bph3*	*Bph14*	*Bph18(t)*
15	ข้าวสันป่าตองหลวง	/	/	/		/	/	S		S	/		
16	ข้าวกล้วยปี			/		/	/			S	/		
17	ข้าวเจ็ดรวง	/	/	/		/	/			S	/		/
18	ข้าวขาวกอเดียวหนัก			/			/			S	/		
19	ข้าวเหลืองเกษตร			/	/		/			S	/		
20	ข้าวขาวชลอ			/			/			S	/		
รวม		**12 (60%)**	**15 (75%)**	**20 (100%)**	**7 (35%)**	**10 (50%)**	**19 (95%)**	**0**	**0**	**0**	**19 (95%)**	**5 (25%)**	**9 (45%)**

/ = พบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่เป็นอัลลีลต้านทาน; S = พบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่เป็นอัลลีลอ่อนแอต่อโรคขอบใบแห้ง

การประเมินระดับความต้านทานของข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองต่อความต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

การประเมินระดับความต้านทานของข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้

ทำการปลูกเชื้อรา *Pyricularia oryzae* จำนวน 2 ไอโซเลท คือ PG6034 และ PG6204 ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 20 สายพันธุ์ ตามวิธีของ Roumen et al. (1997) โดยเปรียบเทียบกับข้าวชัยนาท 1 เป็นสายพันธุ์ต้านทานต่อโรคไหม้ และข้าวหอมมะลิ 105 เป็นสายพันธุ์อ่อนแอต่อโรคไหม้ และประเมินความต้านทานหลังจากการปลูกเชื้อ 7 และ 14 วัน พบว่าข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองมีระดับความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคไหม้ *P. oryzae* ไอโซเลท PG6034 มีระดับความต้านทานของข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองแตกต่างกัน ดังแสดงในตาราง 12 โดยเมื่อประเมินระดับความต้านทานในวันที่ 7 หลังปลูกเชื้อ ข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่มีระดับความต้านทานอยู่ที่ R จำนวน 16 สายพันธุ์ คิดเป็น 80% คือ ข้าวหอมครัว ข้าวล้นครก ข้าวขาวน้ำค้าง ข้าวกุลาหลุดหนี้ ข้าวตาแขก ข้าวคัดนาโพธิ์ ข้าวทองย้อย ข้าวพุดตำ ข้าวหอมดง ข้าวพิจิตร ข้าวเหลืองหลวง ข้าวพวงกระดาษ ข้าวสันป่าตองหลวง ข้าวกล้วยปี ข้าวเจ็ดรวง และข้าวเหลืองเกษตร และข้าวที่แสดงอาการต้านทานระดับ MR ต่อเชื้อ *P. oryzae* ไอโซเลท PG6034 จำนวน 4 สายพันธุ์ (20%) คือ ข้าวสายบัว ข้าวพวงดอกมะลิ ข้าวขาวกอเดียวหนัก และข้าวขาวชะลอ เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวชัยนาท 1 ที่เป็นข้าวสายพันธุ์มาตรฐานต้านทาน พบว่ามีระดับ R ที่ 7 วัน และข้าวหอมมะลิ 105 มีระดับความต้านทานอยู่ที่ MS ในวันที่ 7 และเมื่อเก็บข้อมูลต่อไปจนถึงวันที่ 14 หลังปลูกเชื้อ *P. oryzae* ไอโซเลท PG6034 (ภาพ 13) พบว่าข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 10 สายพันธุ์ (50%) ที่มีระดับความต้านทานอยู่ที่ R ตั้งแต่วันที่ 7 จนถึงวันที่ 14 ยังคงมีระดับความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคไหม้เท่าเดิม คือ ข้าวล้นครก ข้าวขาวน้ำค้าง ข้าวกุลาหลุดหนี้ ข้าวตาแขก ข้าวคัดนาโพธิ์ ข้าวท้องย้อย ข้าวเหลืองหลวง ข้าวพวงกระดาษ ข้าวสันป่าตองหลวง และข้าวขาวกอเดียวหนัก และข้าวที่มีระดับความต้านทานลดลงโดยอยู่ที่ระดับ MR หลังการปลูกเชื้อ *P. oryzae* ที่ 14 วัน จำนวน 6 สายพันธุ์ (30%) คือ ข้าวหอมครัว ข้าวพุดตำ ข้าวหอมดง ข้าวพิจิตร ข้าวกล้วยปี และข้าวเหลืองเกษตร และข้าวที่มีระดับความต้านทานอยู่ที่ MS จำนวน 4 สายพันธุ์ (20%) คือ ข้าวสายบัว ข้าวพวงดอกมะลิ ข้าวขาวกอเดียวหนัก และข้าวขาวชะลอ เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวชัยนาทที่เป็นสายพันธุ์มาตรฐานต้านทานในวันที่ 14 หลังปลูกเชื้อ มีระดับความต้านทานอยู่ที่ R และข้าวหอมมะลิ 105 ที่เป็นสายพันธุ์อ่อนแอต่อเชื้อสาเหตุ *P. oryzae* มีผลการประเมินอยู่ที่ระดับ S (อ่อนแอ)

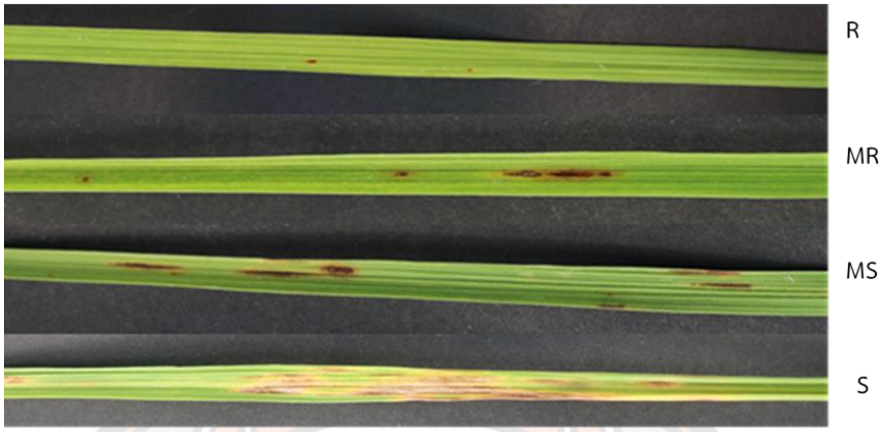
การประเมินระดับความต้านทานของข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองต่อเชื้อสาเหตุโรคไหม้ *P. oryzae* ไอโซเลท PG6204 มีระดับความต้านทานของข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองแตกต่างกัน (ตาราง 12) โดยเมื่อประเมินระดับความต้านทานในวันที่ 7 หลังปลูกเชื้อ พบว่า ข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่มีระดับ

ต้านทานอยู่ที่ R จำนวน 16 สายพันธุ์ (80%) คือ ข้าวหอมครัว ข้าวล้นครก ข้าวขาวน้ำค้าง ข้าวกุลาหลุดหนี้ ข้าวตาแขก ข้าวคัดนาโพธิ์ ข้าวทองย้อย ข้าวพุดตำ ข้าวหอมดง ข้าวพิจิตร ข้าวเหลืองหลวง ข้าวพวงกระดาษ ข้าวสันป่าตองหลวง ข้าวกล้วยปี ข้าวเจ็ดรวง และข้าวเหลืองเกษตร และข้าวที่มีระดับต้านทานอยู่ที่ MR จำนวน 4 สายพันธุ์ (20%) คือ ข้าวสายบัว ข้าวพวงดอกมะลิ ข้าวขาวกอเดียวหนัก และข้าวขาวชะลอ เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวชัยนาท 1 ที่เป็นข้าวสายพันธุ์มาตรฐานต้านทาน พบว่ามีระดับความต้านทานอยู่ที่ R ที่ 7 วัน และข้าวหอมมะลิ 105 มีระดับความต้านทานอยู่ที่ MS ในวันที่ 7 และเมื่อเก็บข้อมูลต่อไปจนถึงวันที่ 14 หลังปลูกเชื้อ *P. oryzae* ไอโซเลท PG6204 (ภาพ 14) พบว่าข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 10 สายพันธุ์ (50%) ที่มีระดับความต้านทานอยู่ที่ R ยังคงมีระดับความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคไหม้เท่าเดิม ตั้งแต่วันที่ 7 จนถึงวันที่ 14 คือ ข้าวล้นครก ข้าวขาวน้ำค้าง ข้าวกุลาหลุดหนี้ ข้าวตาแขก ข้าวคัดนาโพธิ์ ข้าวทองย้อย ข้าวเหลืองหลวง ข้าวพวงกระดาษ ข้าวสันป่าตองหลวง และข้าวขาวกอเดียวหนัก และข้าวที่มีระดับความต้านทานลดลงหลังการปลูกเชื้อ *P. oryzae* ที่ 14 วัน อยู่ที่ระดับ MR มีจำนวน 6 สายพันธุ์ (30%) คือ ข้าวหอมครัว ข้าวพุดตำ ข้าวหอมดง ข้าวพิจิตร ข้าวกล้วยปี และข้าวเหลืองเกษตร และข้าวที่มีระดับความต้านทานอยู่ที่ MS มีจำนวน 4 สายพันธุ์ (20%) คือ ข้าวสายบัว ข้าวพวงดอกมะลิ ข้าวขาวกอเดียวหนัก และข้าวขาวชะลอ เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวชัยนาทที่เป็นสายพันธุ์มาตรฐานต้านทาน ในวันที่ 14 หลังปลูกเชื้อ แสดงระดับความต้านทานอยู่ที่ R และข้าวหอมมะลิ 105 ที่เป็นสายพันธุ์อ่อนแอต่อเชื้อสาเหตุ *P. oryzae* แสดงผลการประเมินอยู่ที่ระดับ S (อ่อนแอ) จากการประเมินความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคไหม้ทั้ง 2 ไอโซเลท (PG6034 และ PG6204) พบว่าเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ทั้ง 2 ไอโซเลทที่นำมาทดสอบในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 20 สายพันธุ์มีระดับความต้านทานไม่แตกต่างกัน และข้าวที่มีระดับความต้านทานอยู่ที่ R (ต้านทาน) และ MR (ต้านทานปานกลาง) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์รวม เท่ากับ 100% ในวันที่ 7 และในวันที่ 14 พบข้าวที่มีระดับความต้านทานอยู่ที่ R (ต้านทาน) และ MR (ต้านทานปานกลาง) รวมเป็น 80% และข้าวที่มีระดับความต้านทานอยู่ที่ MS (อ่อนแอปานกลาง) คิดเป็น 20% ของข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองทั้งหมดที่นำมาทดสอบ

ตาราง 12 ระดับความต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 2 ไอโซเลท (PG6034 และ PG6204) ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง 20 สายพันธุ์

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ระดับความต้านทานหลัง 7 วันปลูกเชื้อไอโซเลท PG6034	ระดับความต้านทานหลัง 14 วันปลูกเชื้อไอโซเลท PG6034	ระดับความต้านทานหลัง 7 วันปลูกเชื้อไอโซเลท PG6204	ระดับความต้านทานหลัง 14 วันปลูกเชื้อไอโซเลท PG6204
1	ข้าวหอมครัว	R (ต้านทาน)	MR (ต้านทานปานกลาง)	R (ต้านทาน)	MR (ต้านทานปานกลาง)
2	ข้าวล้นครก	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
3	ข้าวขาวน้ำค้าง	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
4	ข้าวสายบัว	MR (ต้านทานปานกลาง)	MS (อ่อนแอปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)	MS (อ่อนแอปานกลาง)
5	ข้าวกุลาหลุดหนี้	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
6	ข้าวตาแขก	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
7	ข้าวคัดนาโพธิ์	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
8	ข้าวทองย้อย	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
9	ข้าวพุดตำ	R (ต้านทาน)	MR (ต้านทานปานกลาง)	R (ต้านทาน)	MR (ต้านทานปานกลาง)
10	ข้าวหอมดง	R (ต้านทาน)	MR (ต้านทานปานกลาง)	R (ต้านทาน)	MR (ต้านทานปานกลาง)
11	ข้าวพิจิตร	R (ต้านทาน)	MR (ต้านทานปานกลาง)	R (ต้านทาน)	MR (ต้านทานปานกลาง)
12	ข้าวเหลืองหลวง	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
13	ข้าวพวงดอกมะลิ	MR (ต้านทานปานกลาง)	MS (อ่อนแอปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)	MS (อ่อนแอปานกลาง)
14	ข้าวพวงกระดาษ	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
15	ข้าวสันป่าตองหลวง	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
16	ข้าวกล้วยปี	R (ต้านทาน)	MR (ต้านทานปานกลาง)	R (ต้านทาน)	MR (ต้านทานปานกลาง)
17	ข้าวเจ็ดรวง	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
18	ข้าวขาวกอเดียวหนัก	MR (ต้านทานปานกลาง)	MS (อ่อนแอปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)	MS (อ่อนแอปานกลาง)
19	ข้าวเหลืองเกษตร	R (ต้านทาน)	MR (ต้านทานปานกลาง)	R (ต้านทาน)	MR (ต้านทานปานกลาง)
20	ข้าวขาวชลอ	MR (ต้านทานปานกลาง)	MS (อ่อนแอปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)	MS (อ่อนแอปานกลาง)
21	ข้าวชัยนาท 1	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
22	ข้าวหอมมะลิ 105	MS (อ่อนแอปานกลาง)	S (อ่อนแอ)	MS (อ่อนแอปานกลาง)	S (อ่อนแอ)

n = ทำการทดสอบ จำนวน 3 ซ้ำ; ระดับความต้านทาน HR = Highly resistant; R = Resistant; MR = Moderately resistant; MS = Moderately susceptible; S = Susceptible; HS = Highly susceptible



ภาพ 13 ลักษณะอาการของเชื้อรา *Pyricularia oryzae* ไอโซเลท PG6204 บนใบข้าวหลังปลูกเชื้อ 14 วัน
HR = Highly resistant; R = Resistant; MR = Moderately resistant; MS = Moderately susceptible; S = Susceptible; HS = Highly susceptible

ภาพ 14 ลักษณะอาการของเชื้อรา *Pyricularia oryzae* ไอโซเลท PG6034 บนใบข้าวหลังปลูกเชื้อ 14 วัน
HR = Highly resistant; R = Resistant; MR = Moderately resistant; MS = Moderately susceptible; S = Susceptible; HS = Highly susceptible

ความสัมพันธ์ระหว่างยีนต้านทานและระดับความต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง

จากตารางความสัมพันธ์การมีหรือไม่มียีนต้านทาน และระดับความต้านทานโรคในข้าวทั้ง 20 สายพันธุ์ พบว่าข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 10 สายพันธุ์ มีระดับความต้านทานอยู่ที่ R ต่อโรค

(ตาราง 13) ดังนี้ ข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่พบยีนต้านทานโรคไหม้ทั้ง 5 ยีน (*Pi9, Pi36, Pigm*(t), *Pi-ta* และ *Pib*) มีจำนวน 3 สายพันธุ์ ข้าวล้นครก ข้าวตาแขก และข้าวเหลืองหลวง ส่วนข้าวทองย้อย พบยีนต้านทานโรคไหม้ 4 ยีน คือ *Pi9, Pi36, Pigm*(t) และ *Pi-ta* ข้าวพวงกระดาษ ข้าวสันป่าตอง หลวง และข้าวกล้วยปี พบยีน *Pi9, Pi36, Pigm*(t) และ *Pib* ข้าวขาวน้ำค้าง พบยีนต้านทานโรคไหม้ 3 ยีน คือ *Pi9, Pigm*(t) และ *Pi-ta* ข้าวกุลาหลุดหนี้ และข้าวคัดนาโพธิ์ พบยีน *Pi9, Pi36* และ *Pigm*(t) ข้าวที่มีระดับความทานที่ MR ต่อเชื้อ *P. oryzae* จำนวน 6 สายพันธุ์ โดยข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่พบยีนต้านทานโรคไหม้ทั้ง 5 ยีน (*Pi9, Pi36, Pigm(t), Pi-ta* และ *Pib*) คือ ข้าวหอมดง ส่วนข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่พบยีนต้านทานโรคไหม้ 4 ยีน (*Pi9, Pi36, Pigm*(t) และ *Pib*) คือ ข้าวพุดตำ ข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่พบยีนต้านทานโรคไหม้ 3 ยีน (*Pi36, Pigm*(t) และ *Pib*) คือ ข้าวหอมครัว และข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่พบยีนต้านทานโรคไหม้ 2 ยีน คือ ข้าวพิจิตร โดยพบยีน *Pi36* และ *Pigm*(t) และข้าวกล้วยปี พบยีน *Pigm*(t) และ *Pib* ส่วนข้าวเหลืองเกษตร พบยีน *Pigm*(t) และ *Pi-ta* ในขณะที่ข้าวสายบัว และข้าวพวงดอกมะลิ พบยีนต้านทาน 2 ยีน คือ *Pi36* และ *Pigm*(t) ส่วนข้าวขาวกอเดียว และข้าวขาวชะลอ พบยีนต้านทานโรคไหม้เพียง 1 ยีนเท่านั้น คือ *Pigm*(t) และมีความต้านทานอยู่ในระดับที่ MS และจากการความสัมพันธ์การมียีนและระดับความต้านทาน พบว่าข้าวทั้ง 10 สายพันธุ์ ที่มีความต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้อยู่ที่ระดับต้านทาน (R) จะพบคู่ของยีน *Pi9* และยีน *Pigm*(t) ส่งผลให้ข้าวสามารถต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ได้ในวันที่ 7 และ 14 นอกจากนี้ในกลุ่มของข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 6 สายพันธุ์ มีระดับความต้านทานลดลง อยู่ในระดับ MR จะพบคู่ของยีนต้านทานโรคไหม้ *Pi36* และ *Pigm*(t) ซึ่งการพบยีน *Pi36* คู่กับยีน *Pigm*(t) อาจส่งผลข้าวจะมีระดับความต้านทานลดลงจากระดับ R และข้าวที่มีระดับความต้านทานอยู่ที่ MS จำนวน 4 สายพันธุ์ มียีน *Pigm*(t) อยู่ในข้าว แต่จะไม่พบการมียีนต้านทานโรคไหม้ *Pi9* และ *Pi36* ส่งผลให้ข้าวที่ไม่พบยีนดังกล่าวนี้มีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ ส่วนยีน *Pi-ta* และ *Pib* ที่นำมาตรวจสอบในครั้งนี้อาจจะไม่ได้มีผลต่อระดับความต้านทานเชื้อสาเหตุโรคไหม้ ดังนั้นจากการศึกษาครั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าการที่ข้าวมียีน *Pi9, Pi36* และ *Pigm*(t) ส่งผลให้ข้าวมีความสามารถในการต้านทานต่อโรคไหม้ได้ในระดับต้านทาน (R) และต้านทานปานกลาง (MR)

ตาราง 13 ความสัมพันธ์ระหว่างยีนต้านทานและระดับความต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ (*Pyricularia oryzae*) ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ยีนต้านทานโรคไหม้					ระดับความต้านทาน	
		Pi9	*Pi36*	*Pigm*(t)	*Pi-ta*	*Pib*	PG6034 isolate	PG6204 isolate
1	ข้าวหอมครัว		/	/		/	MR (ต้านทานปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)
2	ข้าวล้นครก	/	/	/	/	/	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
3	ข้าวขาวน้ำค้าง	/	/	/	/		R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
4	ข้าวสายบัว		/	/			MS (อ่อนแอปานกลาง)	MS (อ่อนแอปานกลาง)
5	ข้าวกุลาหลุดหนี้	/	/	/			R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
6	ข้าวตาแขก	/	/	/	/	/	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
7	ข้าวคัดนาโพธิ์	/	/	/			R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
8	ข้าวทองย้อย	/	/	/	/		R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
9	ข้าวพุดตำ	/	/	/		/	MR (ต้านทานปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)
10	ข้าวหอมดง	/	/	/	/	/	MR (ต้านทานปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)
11	ข้าวพิจิตร		/	/			MR (ต้านทานปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)
12	ข้าวเหลืองหลวง	/	/	/	/	/	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
13	ข้าวพวงดอกมะลิ		/	/			MS (อ่อนแอปานกลาง)	MS (อ่อนแอปานกลาง)
14	ข้าวพวงกระดาษ	/	/	/		/	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
15	ข้าวสันป่าตองหลวง	/	/	/		/	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
16	ข้าวกล้วยปี			/		/	MR (ต้านทานปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)
17	ข้าวเจ็ดรวง	/	/	/		/	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
18	ข้าวขาวกอเดียวหนัก			/			MS (อ่อนแอปานกลาง)	MS (อ่อนแอปานกลาง)
19	ข้าวเหลืองเกษตร			/	/		MR (ต้านทานปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)
20	ข้าวขาวชลอ			/			MS (อ่อนแอปานกลาง)	MS (อ่อนแอปานกลาง)
21	ข้าวชัยนาท 1	/	/	/			R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
22	ข้าวหอมมะลิ 105	/	/	/	/	/	S (อ่อนแอ)	S (อ่อนแอ)

ระดับความต้านทาน; HR = Highly resistant; R = Resistant; MR = Moderately resistant; MS = Moderately susceptible; S = Susceptible; HS = Highly susceptible

การประเมินระดับความต้านทานของข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองต่อเชื้อแบคทีเรียโรคขอบใบแห้ง

ประเมินระดับความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง หลังปลูกเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* ที่ 7 และ 14 วัน จำนวน 2 ไอโซเลท คือ BB-6436 และ BB-6442 ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 20 สายพันธุ์ โดยวิธี clipping technique (Jennings et al., 1979) และเปรียบเทียบกับข้าวชัยนาท 1 เป็นสายพันธุ์อ่อนแอต่อโรคขอบใบแห้ง และข้าวหอมมะลิ 105 เป็นสายพันธุ์ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง และประเมินความต้านทานหลังการปลูกเชื้อ พบว่าหลังจากปลูกเชื้อลงบนใบข้าว 7 วันข้าวทุกสายพันธุ์ไม่พบบาดแผลบริเวณใบข้าวที่ทำการปลูกเชื้อไอโซเลท BB-6436 (ตาราง 14) แต่เมื่อทำการเก็บข้อมูลต่อไปจนถึงวันที่ 14 พบว่าใบข้าวที่เชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง ไอโซเลท BB-6436 เริ่มเข้าทำลายบริเวณตามเส้นขอบใบข้าวก่อนและแผลจะขยายมาที่บริเวณโคนใบ สีและพื้นที่ใบเริ่มเปลี่ยนจากสีเขียวจนเป็นสีเหลือง และใบจะแห้งในที่สุด (ภาพ 15) ข้าวแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างของอาการของโรคเมื่อประเมินผลภายหลังจากการปลูกเชื้อ 14 วัน สามารถจัดกลุ่มสายพันธุ์ข้าวตามระดับความต้านทานของโรคได้ดังนี้ ข้าวที่มีระดับความต้านทานสูง (HR) มีจำนวน 1 สายพันธุ์ (5%) คือ ข้าวคัดนาโพธิ์ มีความยาวของแผล 0.50 $\pm$ 0.00 เซนติเมตร ข้าวที่มีระดับความต้านทานอยู่ที่ R จำนวน 5 สายพันธุ์ (25%) คือ ข้าวหอมครัว ข้าวล้นครก ข้าวทองย้อย ข้าวพุดตำ และข้าวพวงกระดาษ โดยมีความยาวของแผลเฉลี่ย 2.63 $\pm$ 0.73 เซนติเมตร ข้าวที่แสดงความต้านทานปานกลาง(MR) มีจำนวน 10 สายพันธุ์ (50%) คือ ข้าวขาวน้ำค้าง ข้าวกุลาหลุดหนี้ ข้าวตาแขก ข้าวหอมดง ข้าวพวงดอกมะลิ ข้าวสันป่าตองหลวง ข้าวกล้วยปี ข้าวเจ็ดรวง ข้าวเหลืองเกษตร และข้าวขาวชลอ มีความยาวของแผลเฉลี่ย 7.16 $\pm$ 10.73 เซนติเมตร และข้าวที่มีความอ่อนแอปานกลาง (MS) ต่อโรคขอบใบแห้ง มีจำนวน 3 สายพันธุ์ (15%) คือ ข้าวสายบัว ข้าวเหลืองหลวง และข้าวขาวกอเดียวหนัก มีความยาวของแผลเฉลี่ย 13.86 $\pm$ 2.26 เซนติเมตร และข้าวที่มีความอ่อนแอ (S) ต่อโรค มีจำนวน 1 สายพันธุ์ (5%) คือ ข้าวพิจิตร มีความยาวของแผลเท่ากับ 16.93 $\pm$ 1.01 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวชัยนาท 1 ที่เป็นข้าวสายพันธุ์อ่อนแอต่อโรคขอบใบแห้ง มีความยาวของแผลเท่ากับ 24.33 $\pm$ 4.04 เซนติเมตร มีความอ่อนแอต่อโรค (S) และข้าวหอมมะลิ 105 ที่เป็นสายพันธุ์ต้านทานมาตรฐานต่อโรคขอบใบแห้ง มีความยาวของแผลเท่ากับ 0.40 $\pm$ 0.17 เซนติเมตร

การประเมินความต้านทานหลังการปลูกเชื้อ *X. oryzae pv. oryzae* ไอโซเลท BB-6442 พบว่าหลังจากปลูกเชื้อลงบนใบข้าว 7 วัน ไม่พบบาดแผลบริเวณใบข้าวเช่นเดียวกับการปลูกเชื้อไอโซเลท BB-6436 แต่เมื่อทำการเก็บข้อมูลต่อไปจนถึงวันที่ 14 พบว่าใบข้าวที่เชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง ไอโซเลท BB-6442 เริ่มมีแผลเกิดขึ้นบริเวณตามเส้นขอบใบข้าว (ภาพ 16) ซึ่งข้าวแต่ละ

สายพันธุ์มีความแตกต่างของอาการของโรคหลังจากการปลูกเชื้อ 14 วัน ดังนี้ ข้าวที่มีระดับความต้านทานสูง(HR) มีความยาวของแผล 0.40 ± 0.17 เซนติเมตร จำนวน 1 สายพันธุ์ (5%) คือ ข้าวคัดนาโพธิ์ ข้าวที่มีความต้านทานอยู่ที่ระดับ R มีจำนวน 5 สายพันธุ์ (25%) คือ ข้าวหอมครัว ข้าวล้นครก ข้าวทองย้อย ข้าวพุดตำ และข้าวพวงกระดาษ มีความยาวของแผลเฉลี่ย 2.76 ± 0.61 เซนติเมตร ข้าวที่มีระดับความต้านทานปานกลาง (MR) มีจำนวน 10 สายพันธุ์ (50%) คือ ข้าวขาวน้ำค้าง ข้าวกุลาหลุดหนี้ ข้าวตาแขก ข้าวหอมดง ข้าวพวงดอกมะลิ ข้าวสันป่าตองหลวง ข้าวกล้วยปี ข้าวเจ็ดรวง ข้าวเหลืองเกษตรและข้าวขาวชลอ มีความยาวของแผลเฉลี่ย 7.78 ± 0.81 เซนติเมตร และข้าวที่มีความอ่อนแอปานกลาง (MS) ต่อโรคขอบใบแห้ง มีความยาวของแผลเฉลี่ย 12.86 ± 0.42 เซนติเมตร มีจำนวน 3 สายพันธุ์ (15%) คือ ข้าวสายบัว ข้าวเหลืองหลวง และข้าวขาวกอเดียวหนัก และข้าวที่มีความอ่อนแอต่อโรค (S) มีจำนวน 1 สายพันธุ์ (5%) คือ ข้าวพิจิตร มีความยาวของแผลเท่ากับ 17.33 ± 0.76 เซนติเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวชัยนาท 1 ที่เป็นข้าวสายพันธุ์อ่อนแอต่อโรคขอบใบแห้ง มีความยาวของแผล เท่ากับ 27.00 ± 1.73 เซนติเมตร มี และข้าวหอมมะลิ 105 ข้าวสายพันธุ์ต้านทานมาตรฐาน มีความยาวของแผล เท่ากับ 0.40 ± 0.17 เซนติเมตร และจากการประเมินความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งทั้ง 2 ไอโซเลท (BB-6436 และ BB-6442) พบว่าระดับความต้านทานในข้าวทั้ง 20 สายพันธุ์พื้นเมืองเมื่อทดสอบกับเชื้อทั้ง 2 ไอโซเลทไม่แตกต่างกัน โดยคิดเป็นข้าวที่มีระดับความต้านทานอยู่ที่ต้านทานมาก (HR) ไปจนถึงต้านทานปานกลาง (MR) รวมเป็น 80% และข้าวที่มีระดับความต้านทานปานกลาง (MS) และอ่อนแอ (S) รวมเป็น 20%

ตาราง 14 ระดับความต้านทานของข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง 20 สายพันธุ์ต่อเชื้อแบคทีเรียโรคขอบใบแห้ง จำนวน 2 ไอโซเลท (BB-6436 และ BB-6442)

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	การปลูกเชื้อไอโซเลท BB-6436 (14 Days)		การปลูกเชื้อไอโซเลท BB-6442 (14 Days)	
		ค่าเฉลี่ยความยาวของการเกิดแผล (ซม.) (mean ± SD)	ระดับความต้านทาน	ค่าเฉลี่ยความยาวของการเกิดแผล (ซม.) (mean ± SD)	ระดับความต้านทาน
1	ข้าวหอมครัว	2.00 ± 0.87	R (ต้านทาน)	2.17 ± 0.76	R (ต้านทาน)
2	ข้าวล้นครก	4.67 ± 0.58	R (ต้านทาน)	4.50 ± 0.50	R (ต้านทาน)
3	ข้าวขาวน้ำค้าง	8.73 ± 1.08	MR (ต้านทานปานกลาง)	8.33 ± 1.26	MR (ต้านทานปานกลาง)
4	ข้าวสายบัว	12.60 ± 0.53	MS (อ่อนแอปานกลาง)	12.43 ± 0.40	MS (อ่อนแอปานกลาง)
5	ข้าวกุลาหลุดหนี้	5.67 ± 0.58	MR (ต้านทานปานกลาง)	6.00 ± 0.50	MR (ต้านทานปานกลาง)

ตาราง 14 (ต่อ)

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	การปลูกเชื้อไอโซเลท BB-6436 (14 Days)		การปลูกเชื้อไอโซเลท BB-6442 (14 Days)	
		ค่าเฉลี่ยความยาวของการเกิดแผล (ซม.) (mean ± SD)	ระดับความต้านทาน	ค่าเฉลี่ยความยาวของการเกิดแผล (ซม.) (mean ± SD)	ระดับความต้านทาน
6	ข้าวตาแขก	5.00 ± 0.00	MR (ต้านทานปานกลาง)	5.50 ± 0.50	MR (ต้านทานปานกลาง)
7	ข้าวคัดนาโพธิ์	0.50 ± 0.00	HR (ต้านทานสูง)	0.40 ± 0.17	HR (ต้านทานสูง)
8	ข้าวทองย้อย	2.67 ± 0.58	R (ต้านทาน)	3.00 ± 0.50	R (ต้านทาน)
9	ข้าวพุดตำ	2.50 ± 1.32	R (ต้านทาน)	3.00 ± 1.00	R (ต้านทาน)
10	ข้าวหอมดง	9.33 ± 1.15	MR (ต้านทานปานกลาง)	9.67 ± 1.04	MR (ต้านทานปานกลาง)
11	ข้าวพิจิตร	16.93 ± 1.01	S (อ่อนแอ)	17.33 ± 0.76	S (อ่อนแอ)
12	ข้าวเหลืองหลวง	15.00 ± 1.73	MS (อ่อนแอปานกลาง)	11.83 ± 0.29	MS (อ่อนแอปานกลาง)
13	ข้าวพวงดอกมะลิ	5.97 ± 0.87	MR (ต้านทานปานกลาง)	7.50 ± 0.50	MR (ต้านทานปานกลาง)
14	ข้าวพวงกระดาษ	1.33 ± 0.29	R (ต้านทาน)	1.17 ± 0.29	R (ต้านทาน)
15	ข้าวสันป่าตองหลวง	8.40 ± 1.97	MR (ต้านทานปานกลาง)	9.50 ± 1.00	MR (ต้านทานปานกลาง)
16	ข้าวกล้วยปี	6.77 ± 0.93	MR (ต้านทานปานกลาง)	7.50 ± 0.50	MR (ต้านทานปานกลาง)
17	ข้าวเจ็ดรวง	6.87 ± 0.98	MR (ต้านทานปานกลาง)	7.17 ± 0.76	MR (ต้านทานปานกลาง)
18	ข้าวขาวกอเดียวหนัก	14.00 ± 0.00	MS (อ่อนแอปานกลาง)	14.33 ± 0.58	MS (อ่อนแอปานกลาง)
19	ข้าวเหลืองเกษตร	7.67 ± 1.26	MR (ต้านทานปานกลาง)	9.00 ± 0.50	MR (ต้านทานปานกลาง)
20	ข้าวขาวชลอ	7.27 ± 1.55	MR (ต้านทานปานกลาง)	7.67 ± 1.53	MR (ต้านทานปานกลาง)
21	ข้าวชัยนาท 1	24.33 ± 4.04	S (อ่อนแอ)	27.00 ± 1.73	S (อ่อนแอ)
22	ข้าวหอมมะลิ 105	0.40 ± 0.17	HR (ต้านทานสูง)	0.40 ± 0.17	HR (ต้านทานสูง)

n = ทำการทดสอบ จำนวน 3 ซ้ำ; ระดับความต้านทาน; HR = Highly resistant, > 1 cm; R = Resistant, > 1-5 cm; MR = Moderately resistant, > 5-10 cm; MS = Moderately susceptible, > 10-15 cm; S = Susceptible, > 15 cm; HS = Highly susceptible, > 20 cm

ภาพ 15 ลักษณะอาการในแต่ละระดับความต้านทานหลังปลูกเชื้อแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* ไอโซเลท BB-6436 บนใบข้าว 14 วัน

HR = Highly resistant, > 1 cm; R = Resistant, > 1-5 cm; MR = Moderately resistant, > 5-10 cm; MS = Moderately susceptible, > 10-15 cm; S = Susceptible, > 15 cm; HS = Highly susceptible, > 20 cm; scale bar = 5 mm

ภาพ 16 ลักษณะอาการในแต่ละระดับความต้านทานหลังปลูกเชื้อแบคทีเรีย *X. oryzae* pv. *oryzae* ไอโซเลท BB-6442 บนใบข้าว 14 วัน

HR = Highly resistant, > 1 cm; R = Resistant, > 1-5 cm; MR = Moderately resistant, > 5-10 cm; MS = Moderately susceptible, > 10-15 cm; S = Susceptible, > 15 cm; HS = Highly susceptible, > 20 cm

ความสัมพันธ์ระหว่างยีนต้านทานและระดับความต้านทานโรคขอบใบแห้งในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง

จากตารางความสัมพันธ์การมีหรือไม่มียีนต้านทาน และระดับความต้านทานของการเกิดโรคขอบใบแห้งในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 20 สายพันธุ์ (ตาราง 15) พบว่าข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่ระดับความต้านทานต่อโรคสูง (HR) มีจำนวน 1 สายพันธุ์ คือ ข้าวคัดนาโพธิ์ โดยพบว่ามียีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง 2 ยีน คือ *xa5* และ *Xa33* (RMWR 7.6) ข้าวที่มีระดับความต้านอยู่ที่ R จำนวน 5 สายพันธุ์ คือ ข้าวหอมครัว ข้าวล้นครก ข้าวทองย้อย ข้าวพุดตำ และข้าวพวงกระดาษ พบยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งทั้ง 4 ยีน (*xa5, Xa21, Xa33* (RMWR 7.1) และ *Xa33* (RMWR 7.6)) และข้าวหอมครัว พบยีน 3 ยีน คือ *xa5, Xa21* และ *Xa33* (RMWR 7.6) ข้าวที่มีระดับความต้านทานปานกลาง (MR) มีจำนวน 10 สายพันธุ์ ดังนี้ ข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่มียีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง 2 ยีน (*xa5* และ *Xa33* (RMWR 7.6)) คือ ข้าวขาวน้ำค้าง ข้าวกล้วยปี ข้าวเจ็ดรวง ข้าวเหลืองเกษตร และข้าวขาวชลอ ข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่มียีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง 3 ยีน คือ ข้าวกุลาหลุดหนี้ พบยีน *xa5, Xa33* (RMWR 7.1) และ *Xa33* (RMWR 7.6) ข้าวพวงดอกมะลิ พบยีน 3 ยีน คือ *xa5, Xa21* และ *Xa33* (RMWR 7.6) และข้าวตาแขก พบทั้ง 4 ยีน (*xa5, Xa21, Xa33* (RMWR 7.1) และ *Xa33* (RMWR 7.6)) ข้าวที่มีความอ่อนแอปานกลาง (MS) มีจำนวน 2 สายพันธุ์ คือ ข้าวสายบัว และข้าวขาวกอเดียวหนัก พบยีนต้านทาน 2 ยีน คือ *xa5* และ *Xa33* (RMWR 7.6) และข้าวเหลืองหลวง พบทั้ง 4 ยีน คือ *xa5, Xa21, Xa33* (RMWR 7.1) และ *Xa33* (RMWR 7.6) ในขณะที่ข้าวพิจิตร พบยีน 2 ยีน คือ *Xa21* และ *Xa33* (RMWR 7.6) และมีความอ่อนแอต่อโรค (S) ซึ่งจากการศึกษาครั้งนี้จะเห็นได้ว่าข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองส่วนใหญ่มียีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง *xa5* ส่งผลให้มีความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งอยู่ที่ต้านทานสูง (HR) ไปจนถึงต้านทานปานกลาง (MS) ในขณะที่ข้าวที่ไม่พบยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง *xa5* จะมีความอ่อนแอ (S) ต่อโรคขอบใบแห้ง

ตาราง 15 ความสัมพันธ์ระหว่างยีนต้านทานโรคและระดับความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง				ระดับความต้านทาน	
		xa5	*Xa21*	*Xa33* (7.1)	*Xa33* (7.6)	BB-6436 isolate	BB-6442 isolate
1	ข้าวหอมครัว	/	S		S	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
2	ข้าวล้นครก	/	S	S	S	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
3	ข้าวขาวน้ำค้าง	/			S	MR (ต้านทานปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)

ตาราง 15 (ต่อ)

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง				ระดับความต้านทาน	
		xa5	*Xa21*	*Xa33* (7.1)	*Xa33* (7.6)	BB-6436 isolate	BB-6442 isolate
4	ข้าวสายบัว	/			S	MS (อ่อนแอปานกลาง)	MS (อ่อนแอปานกลาง)
5	ข้าวกุลาหลุดหนี้	/		S	S	MR (ต้านทานปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)
6	ข้าวตาแขก	/	S	S	S	MR (ต้านทานปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)
7	ข้าวคัดนาโพธิ์	/			S	HR (ต้านทานสูง)	HR (ต้านทานสูง)
8	ข้าวทองย้อย	/	S	S	S	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
9	ข้าวพุดตำ	/	S	S	S	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
10	ข้าวหอมดง	/		S	S	MR (ต้านทานปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)
11	ข้าวพิจิตร		S		S	S (อ่อนแอ)	S (อ่อนแอ)
12	ข้าวเหลืองหลวง	/	S	S	S	MS (อ่อนแอปานกลาง)	MS (อ่อนแอปานกลาง)
13	ข้าวพวงดอกมะลิ	/	S		S	MR (ต้านทานปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)
14	ข้าวพวงกระดาษ	/	S	S	S	R (ต้านทาน)	R (ต้านทาน)
15	ข้าวสันป่าตองหลวง	/	S		S	MR (ต้านทานปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)
16	ข้าวกล้วยปี	/			S	MR (ต้านทานปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)
17	ข้าวเจ็ดรวง	/			S	MR (ต้านทานปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)
18	ข้าวขาวกอเดียวหนัก	/			S	MS (อ่อนแอปานกลาง)	MS (อ่อนแอปานกลาง)
19	ข้าวเหลืองเกษตร	/			S	MR (ต้านทานปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)
20	ข้าวขาวชลอ	/			S	MR (ต้านทานปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)
21	ข้าวชัยนาท 1	/	S	S	S	S (อ่อนแอ)	S (อ่อนแอ)
22	ข้าวหอมมะลิ 105	/	S	S	S	HR (ต้านทานสูง)	HR (ต้านทานสูง)

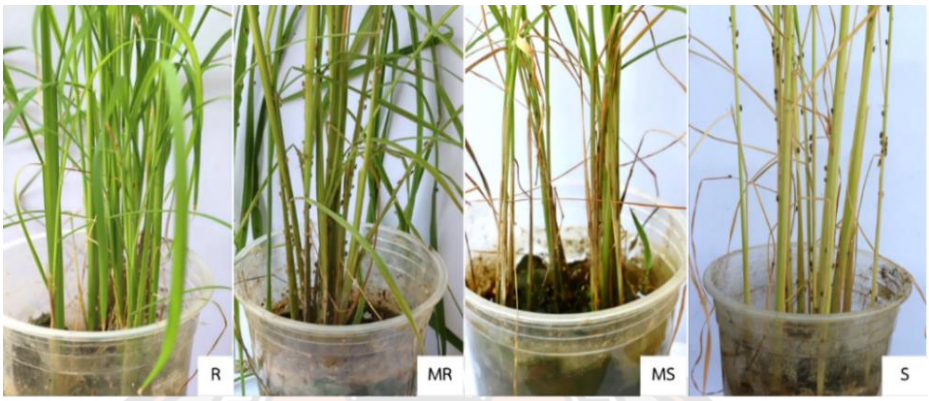
S; ข้าวที่ผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่เป็นอัลลีลอ่อนแอต่อโรคขอบใบแห้ง

ระดับความต้านทาน; HR = Highly resistant, > 1 cm; R = Resistant, > 1-5 cm; MR = Moderately resistant, > 5-10 cm; MS = Moderately susceptible, > 10-15 cm; S = Susceptible, > 15 cm; HS = Highly susceptible, > 20 cm

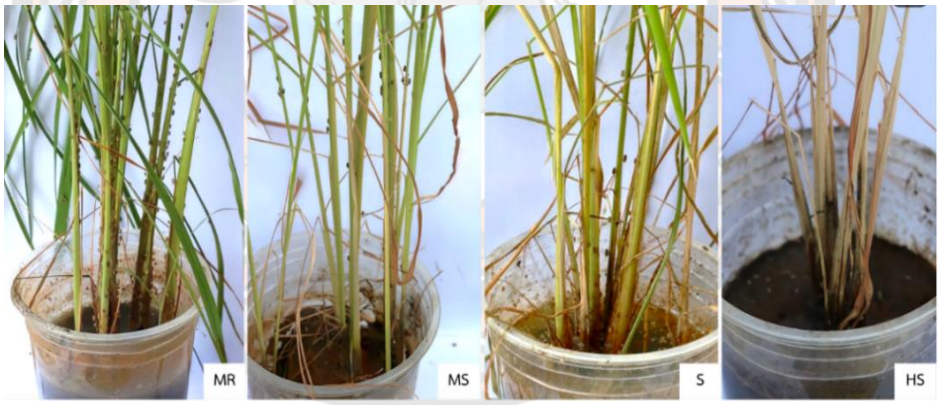
การประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง

การประเมินการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 20 สายพันธุ์ โดยมีข้าวชัยนาท 1 เป็นสายพันธุ์ต้านทาน และข้าวหอมมะลิ 105 เป็นสายพันธุ์อ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็นสายพันธุ์เปรียบเทียบ ทำการประเมินระดับความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในวันที่ 7, 14 และ 21 หลังจากปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลให้เข้าทำลายต้นข้าว พบว่าข้าวแต่ละสายพันธุ์มีระดับความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแตกต่างกัน แสดงในตาราง 16 โดยในวันที่ 7 มีระดับความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ดังนี้ ข้าวสายพันธุ์ที่มีระดับความต้านทานอยู่ที่ R จำนวน 7 สายพันธุ์ (35%) คือ ข้าวคัดนาโพธิ์ ข้าวพุดตำ ข้าวหอมดง ข้าวเหลืองหลวง ข้าวพวงกระดาษ ข้าวขาวกอเดียวหนัก และข้าวขาวชะลอ ข้าวที่แสดงความต้านทานระดับปานกลาง (MR) มีจำนวน 8 สายพันธุ์ (40%) คือ ข้าวหอมครัว ข้าวล้นครก ข้าวสายบัว ข้าวกุลาหลุดหนี้ ข้าวตาแขก ข้าวทองย้อย ข้าวสันป่าตองหลวง และข้าวกล้วยปี ข้าวที่มีความอ่อนแอปานกลาง (MS) มีจำนวน 4 สายพันธุ์ (20%) คือ ข้าวพิจิตร ข้าวเหลืองหลวง ข้าวพวงกระดาษ และข้าวขาวกอเดียวหนัก และข้าวที่มีความอ่อนแอมาก (S) ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล มีจำนวน 1 สายพันธุ์ คือ ข้าวขาวน้ำค้าง มีระดับอาการของต้นข้าวเท่ากับ 7.00 เมื่อเทียบกับข้าวชัยนาท 1 ที่มีระดับความต้านทานปานกลาง (MR) และข้าวหอมมะลิ 105 ที่มีระดับอ่อนแอปานกลาง (MS) เมื่อเก็บข้อมูลความต้านทานที่ 14 วัน หลังการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่าข้าวสันป่าตอง และข้าวขาวน้ำค้าง มีระดับความต้านทานอยู่ในระดับเดียวกับวันที่ 7 คืออ่อนแอปานกลาง (MS) และอ่อนแอ (S) ตามลำดับ นอกจากนี้พบข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองมีความต้านทานลดลงจากวันที่ 7 ดังนี้ ข้าวที่มีความต้านทานปานกลาง (MR) มีจำนวน 3 สายพันธุ์ คือ ข้าวหอมดง ข้าวขาวกอเดียวหนัก และข้าวเหลืองเกษตร ซึ่งลดลงจากระดับต้านทาน (R) ข้าวแสดงความอ่อนแอปานกลาง (MS) มีจำนวน 4 สายพันธุ์ คือ ข้าวหอมครัว ข้าวพุดตำ ข้าวพวงกระดาษ และข้าวสันป่าตองหลวง และข้าวแสดงความอ่อนแอ (S) มีจำนวน 13 สายพันธุ์ คือ ข้าวล้นครก ข้าวสายบัว ข้าวกุลาหลุดหนี้ ข้าวตาแขก ข้าวคัดนาโพธิ์ ข้าวทองย้อย ข้าวพุดตำ ข้าวพิจิตร ข้าวเหลืองหลวง ข้าวพวงดอกมะลิ ข้าวกล้วยปี ข้าวเจ็ดรวง และข้าวขาวกอเดียวหนัก และเมื่อประเมินผล 21 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่าข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ ข้าวหอมดง ข้าวเหลืองเกษตร และข้าวขาวชะลอ มีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (S) ในขณะข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองอีก 17 สายพันธุ์ มีอาการเหี่ยวหรือตายเกือบทั้งหมด อยู่ในระดับที่อ่อนแอมาก (HS) คือ ข้าวหอมครัว ข้าวล้นครก ข้าวขาวน้ำค้าง ข้าวสายบัว ข้าวกุลาหลุดหนี้ ข้าวตาแขก ข้าวคัดนาโพธิ์ ข้าวทองย้อย ข้าวพุดตำ ข้าวพิจิตร ข้าวเหลืองหลวง ข้าวพวงดอกมะลิ ข้าวพวงกระดาษ ข้าวสันป่าตองหลวง ข้าวกล้วยปี ข้าวเจ็ดรวง ข้าวขาวกอเดียวหนัก (ภาพ 17-19) จะเห็นได้

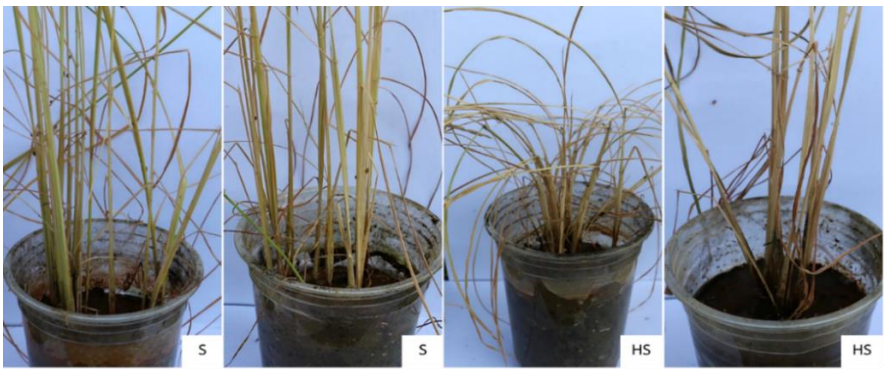
ว่าข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองเหล่านี้มีลักษณะอาการอ่อนแอและตายทั้งหมดเมื่อมีการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลอย่างต่อเนื่อง (21 วัน)



ภาพ 17 ลักษณะอาการในแต่ละระดับความต้านทานของการเข้าทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens*) เมื่อประเมินผลที่ 7 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
ระดับความต้านทาน; HR = Highly resistant; R = Resistant; MR = Moderately resistant;
MS = Moderately susceptible; S = Susceptible; HS = Highly susceptible



ภาพ 18 ลักษณะอาการในแต่ละระดับความต้านทานของการเข้าทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens*) 14 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
ระดับความต้านทาน; HR = Highly resistant; R = Resistant; MR = Moderately resistant;
MS = Moderately susceptible; S = Susceptible; HS = Highly susceptible



ภาพ 19 ลักษณะอาการในแต่ละระดับความต้านทานของการเข้าทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens*) 21 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

ระดับความต้านทาน; HR = Highly resistant; R = Resistant; MR = Moderately resistant; MS = Moderately susceptible; S = Susceptible; HS = Highly susceptible

ตาราง 16 ระดับความต้านทานของการเข้าทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens*) ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง 20 สายพันธุ์

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ระดับความต้านทานที่ 7 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล	ระดับความต้านทานที่ 14 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล	ระดับความต้านทานที่ 21 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
1	ข้าวหอมครัว	MR (ต้านทานปานกลาง)	MS (อ่อนแอปานกลาง)	HS (อ่อนแอมาก)
2	ข้าวล้นครก	MR (ต้านทานปานกลาง)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
3	ข้าวขาวน้ำค้าง	S (อ่อนแอ)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
4	ข้าวสายบัว	MR (ต้านทานปานกลาง)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
5	ข้าวกุลาหลุดหนี้	MR (ต้านทานปานกลาง)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
6	ข้าวตาแขก	MR (ต้านทานปานกลาง)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
7	ข้าวคัดนาโพธิ์	R (ต้านทาน)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
8	ข้าวทองย้อย	MR (ต้านทานปานกลาง)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
9	ข้าวพุดตำ	R (ต้านทาน)	MS (อ่อนแอปานกลาง)	HS (อ่อนแอมาก)
10	ข้าวหอมดง	R (ต้านทาน)	MR (ต้านทานปานกลาง)	S (อ่อนแอ)

ตาราง 16 (ต่อ)

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ระดับความต้านทานที่ 7 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล	ระดับความต้านทานที่ 14 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล	ระดับความต้านทานที่ 21 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
11	ข้าวพิจิตร	MS (อ่อนแอปานกลาง)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
12	ข้าวเหลืองหลวง	R (ต้านทาน)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
13	ข้าวพวงดอกมะลิ	MS (อ่อนแอปานกลาง)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
14	ข้าวพวงกระดาษ	R (ต้านทาน)	MS (อ่อนแอปานกลาง)	HS (อ่อนแอมาก)
15	ข้าวสันป่าตองหลวง	MS (อ่อนแอปานกลาง)	MS (อ่อนแอปานกลาง)	HS (อ่อนแอมาก)
16	ข้าวกล้วยปี	MR (ต้านทานปานกลาง)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
17	ข้าวเจ็ดรวง	MR (ต้านทานปานกลาง)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
18	ข้าวขาวกอเดียวหนัก	MS (อ่อนแอปานกลาง)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
19	ข้าวเหลืองเกษตร	R (ต้านทาน)	MR (ต้านทานปานกลาง)	S (อ่อนแอ)
20	ข้าวขาวชลอ	R (ต้านทาน)	MR (ต้านทานปานกลาง)	S (อ่อนแอ)
21	ข้าวชัยนาท 1	MR (ต้านทานปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)
22	ข้าวหอมมะลิ 105	MS (อ่อนแอปานกลาง)	HS (อ่อนแอมาก)	HS (อ่อนแอมาก)

n = ทำการทดสอบ จำนวน 6 ซ้ำ; ระดับความต้านทาน; HR = Highly resistant; R = Resistant; MR = Moderately resistant; MS = Moderately susceptible; S = Susceptible; HS = Highly susceptible

ความสัมพันธ์ระหว่างยีนต้านทานและระดับความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง

เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของการมีหรือไม่มียีนต้านทานและระดับความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 20 สายพันธุ์ พบว่าข้าวหอมดงมียีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้ง 3 ยีน (*Bph3*, *Bph14* และ *Bph18*(t)) และมีความต้านทานอยู่ที่ R และ MR หลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในวันที่ 7 และ 14 ตามลำดับ (ตาราง 17) และข้าวล้นครก พบยีนต้านทานทั้ง 3 ยีน (*Bph3*, *Bph14* และ *Bph18*(t)) เช่นกันหลังปล่อยเพลี้ย

กระโดดสีน้ำตาลที่ 7 วัน พบมีความต้านทานปานกลาง (MR) และเมื่อเก็บข้อมูลต่อไปถึงวันที่ 14 ข้าวมีระดับความต้านทานลดลงมาอยู่ในระดับอ่อนแอ (S) นอกจากนี้ข้าวที่มีระดับความต้านทาน (R) อีก 6 สายพันธุ์ พบมียีน จำนวน 1-2 ยีน ดังนี้ ข้าวคัดนาโพธิ์ และข้าวพวงกระดาษ มียีน *Bph3* และ *Bph18*(t) ข้าวพุดตำ พบยีน *Bph3* และ *Bph14* ข้าวเหลืองหลวง ข้าวเหลืองเกษตร และข้าวขาวชลอ พบยีน *Bph3* มีระดับความต้านทานที่อยู่ที่ R ในวันที่ 7 และเมื่อประเมินต่อพบมีระดับต้านทานจะลดลงไปอยู่ที่อ่อนแอ (S) และอ่อนแอมาก (HS) ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในวันที่ 14 และ 21 ของการเก็บข้อมูล เช่นเดียวกับข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่มีระดับความต้านทานปานกลาง (MR) พบยีนต้านทานจำนวน 1-2 ยีน ดังนี้ ข้าวหอมครัว ข้าวสายบัว และข้าวตาแขก พบยีน *Bph3* และ *Bph18*(t) ข้าวกุลาหลุดหนี้และข้าวทองย้อย พบยีน *Bph3* และ *Bph14* ข้าวกล้วยปี และข้าวเจ็ดรวง พบยีน *Bph3* มีระดับความต้านทานอยู่ที่ระดับปานกลาง (MR) ไปจนถึงอ่อนแอ (S) ในช่วง 7 วัน ของการบันทึกข้อมูล ในขณะที่ข้าวมีระดับความต้านทานในช่วง 14 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลอยู่ที่ระดับอ่อนแอปานกลาง (MS) จำนวน 3 สายพันธุ์ และเมื่อประเมินผลที่ 21 วันพบว่าข้าวมีระดับต้านทานลดลงอยู่ที่ระดับอ่อนแอมาก (HS) อย่างไรก็ตามจากความสัมพันธ์ดังกล่าวพบว่าการที่ข้าวมียีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Bph3, Bph14* และ *Bph18*(t) อาจไม่มีผลต่อการแสดงลักษณะความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จะเห็นได้ถึงแม้ว่าข้าวมียีนต้านทานเหล่านี้ ยังคงมีความต้านทานตั้งแต่ระดับต้านทาน (R) ไปจนถึงอ่อนแอ (S) ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในวันที่ 7 และมีระดับความต้านทานลดลงไปจนถึงอ่อนแอมาก (HS) เมื่อมีการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีนี้ตาลนานขึ้น (21 วัน)

ตาราง 17 ความสัมพันธ์ระหว่างยีนต้านทานและระดับความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง 20 สายพันธุ์

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล			ระดับความต้านทานหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล		
		Bph3	*Bph14*	*Bph18*(t)	7 วัน	14 วัน	21 วัน
1	ข้าวหอมครัว			/	MR (ต้านทานปานกลาง)	MS (อ่อนแอปานกลาง)	HS (อ่อนแอมาก)
2	ข้าวล้นครก	/	/	/	MR (ต้านทานปานกลาง)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
3	ข้าวขาวน้ำค้าง	/			S (อ่อนแอ)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
4	ข้าวสายบัว	/		/	MR (ต้านทานปานกลาง)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)

ตาราง 17 (ต่อ)

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล			ระดับความต้านทานหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล		
		Bph3	*Bph14*	*Bph18*(t)	7 วัน	14 วัน	21 วัน
5	ข้าวกุลาหลุดหนี้	/	/		MR (ต้านทานปานกลาง)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
6	ข้าวตาแขก	/		/	MR (ต้านทานปานกลาง)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
7	ข้าวคัดนาโพธิ์	/		/	R (ต้านทาน)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
8	ข้าวทองย้อย	/	/		MR (ต้านทานปานกลาง)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
9	ข้าวพุดตำ	/	/		R (ต้านทาน)	MS (อ่อนแอมาก)	HS (อ่อนแอมาก)
10	ข้าวหอมดง	/	/	/	R (ต้านทาน)	MR (ต้านทานปานกลาง)	S (อ่อนแอ)
11	ข้าวพิจิตร	/		/	MS (อ่อนแอปานกลาง)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
12	ข้าวเหลืองหลวง	/			R (ต้านทาน)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
13	ข้าวพวงดอกมะลิ	/			MS (อ่อนแอปานกลาง)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
14	ข้าวพวงกระดาษ	/		/	R (ต้านทาน)	MS (อ่อนแอปานกลาง)	HS (อ่อนแอมาก)
15	ข้าวสันป่าตองหลวง	/			MS (อ่อนแอปานกลาง)	MS (อ่อนแอปานกลาง)	HS (อ่อนแอมาก)
16	ข้าวกล้วยปี	/			MR (ต้านทานปานกลาง)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
17	ข้าวเจ็ดรวง	/			MR (ต้านทานปานกลาง)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
18	ข้าวขาวกอเดียวหนัก	/		/	MS (อ่อนแอปานกลาง)	S (อ่อนแอ)	HS (อ่อนแอมาก)
19	ข้าวเหลืองเกษตร	/			R (ต้านทาน)	MR (ต้านทานปานกลาง)	S (อ่อนแอ)
20	ข้าวขาวชลอ	/			R (ต้านทาน)	MR (ต้านทานปานกลาง)	S (อ่อนแอ)
21	ข้าวชัยนาท 1	/		/	MR (ต้านทานปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)	MR (ต้านทานปานกลาง)
22	ข้าวหอมมะลิ 105	/		/	MS (อ่อนแอปานกลาง)	HS (อ่อนแอมาก)	HS (อ่อนแอมาก)

บทที่ 5

บทสรุป

สรุปผลการวิจัย

1. การตรวจสอบยีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 20 สายพันธุ์ โดยใช้ยีนไพรเมอร์จำเพาะ พบว่าข้าวทั้ง 20 สายพันธุ์ มียีนต้านทานดังกล่าว อย่างน้อย 1 ตำแหน่ง และพบข้าวพันธุ์พื้นเมือง 2 สายพันธุ์ คือ ข้าวล้นครก และข้าวหอมดง ที่มียีนต้านทานโรคและแมลงทั้งหมด 9 ยีน รองลงมาคือ ข้าวตาแขก พบจำนวน 8 ยีน

2. การประเมินระดับความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคไหม้ พบว่าข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่มีระดับความต้านทานอยู่ที่ R จะพบคู่ของยีน *Pi9* และ *Pigm*(t) ในข้าวที่มีระดับ R ทุกสายพันธุ์ ส่งผลให้ข้าวสามารถต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้

3. การประเมินความต้านโรคขอบใบแห้ง พบว่าข้าวที่มีระดับความต้านทานอยู่ที่ R จนถึง MS ปรากฏมียีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง *xa5* ซึ่งถือเป็นยีนหลักที่ควบคุมลักษณะต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง

4. การประเมินความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่าข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองมีระดับความต้านทานต่อการทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามเมื่อมีการแพร่ระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลนานขึ้น (การเก็บผลการทดสอบที่ 21 วัน) ส่งผลให้ข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองทุกสายพันธุ์แสดงความอ่อนแอและตายทั้งหมด ดังนั้นเมื่อเกิดการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าวจะต้องมีการควบคุมและกำจัดทันที ภายในไม่เกิน 7 วัน เพื่อไม่ให้ส่งผลเสียต่อผลผลิตข้าว

นอกจากนี้จากการประเมินความต้านทานทั้งโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ ข้าวหอมดงและข้าวเหลืองเกษตร ที่มีความต้านทานอยู่ที่ระดับปานกลาง (MR) จึงเป็นสายพันธุ์ข้าวที่น่าสนใจในการนำไปใช้ปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความต้านทานต่อโรคและแมลง ตลอดจนข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองทุกสายพันธุ์ที่นำมาทดสอบในครั้งนี้ยังมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่แตกต่างกัน และบางสายพันธุ์มีความต้านทานอยู่ในระดับที่สามารถต้านทานต่อการเข้าทำลายของโรคหรือแมลงได้ รวมทั้งมียีนที่ควบคุมลักษณะที่เป็นประโยชน์ต่อการนำมาใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต่อไป

อภิปรายผล

โรคไหม้ในข้าว

การตรวจสอบยีนต้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 20 สายพันธุ์ ในการศึกษาครั้งนี้ พบข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองทั้งหมดมียีนต้านทานโรคไหม้ *Pigm*(t) รองลงมาคือ ยีน *Pi36*, *Pi9*, *Pib* และ *Pi-ta* ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานยีนต้านทานโรคไหม้ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองไทย พบยีน *Pigm*(t) มีการกระจายตัวในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองไทยมากที่สุด จำนวน 198 สายพันธุ์ (98.51%) จาก 203 สายพันธุ์ รองลงมา คือ ยีน *Pi36*, *Pib*, *Pi9* และ *Pi-ta* ตามลำดับ (สุรีพร เกตุงาม และชัชวาท จันทราสุริยารัตน์, 2555) และจากการศึกษาในครั้งนี้ที่ทำการประเมินระดับความต้านทาน พบว่าข้าวทุกสายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้อยู่ที่ระดับต้านทาน (R) จะพบคู่ของยีน *Pi9* และยีน *Pigm*(t) ซึ่งอาจส่งผลให้ข้าวสามารถต้านทานต่อโรคไหม้ในวันที่ 7 และ 14 ได้ นอกจากนี้ในกลุ่มของข้าวที่มีคู่ของยีนต้านทาน *Pi36* และ *Pigm*(t) ข้าวจะมีระดับความต้านทานลดลง อยู่ในระดับต้านทานปานกลาง (MR) และข้าวที่มีระดับความต้านทานอยู่ที่ต้านทานปานกลาง (MS) ทุกสายพันธุ์จะมียีน *Pigm*(t) อยู่เพียงยีนเดียว อาจเป็นผลให้ข้าวมีระดับต้านทานน้อยลง เนื่องจากยีนต้านทานที่นำมาศึกษาครั้งนี้จัดอยู่ในกลุ่มของยีนต้านทานโรคไหม้แบบกว้าง มีความสามารถในการต้านทานต่อโรคไหม้ได้หลายสายพันธุ์ อีกทั้งยีนต้านทานโรคไหม้มีความจำเพาะกับสายพันธุ์ของเชื้อรา (Boman et al., 1992) จึงอาจเป็นไปได้ว่าสายพันธุ์ของเชื้อราที่จำเพาะกับยีนต้านทานทานโรคไหม้ *Pigm*(t) นี้เป็นสายพันธุ์ที่พบทั่วไปในประเทศไทย ทำให้สายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองต่าง ๆ ส่วนใหญ่มีการปรับตัวให้มียีนต้านทานโรคไหม้ *Pigm*(t) และมีความสามารถในการต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ได้ดีกว่ายีนอื่น ๆ (Deng et al. 2009; กฤตกิตติศักดิ์ ไพตรีจิตต์ และคณะ, 2554) นอกจากนี้การมียีนต้านทานโรคไหม้ *Pi9* ในข้าว ทำให้เชื้อสาเหตุโรคไหม้สามารถเข้าทำลายได้เพียง 0.5% และมีโครงสร้างโปรตีน แบบ NBS-LRR โดยบริเวณ LRR motif จะเป็นส่วนสำคัญในการกำหนดความพาะเจาะจงต่อปฏิกิริยาตอบสนอวของยีนต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ (พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ และคณะ, 2550) ในขณะที่ยีนต้านทาน *Pi36* มีการรายงานว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีโนมข้าวจาโปนิกาสายพันธุ์ Nipponbare มีโครงสร้างโปรตีนที่เป็น NBS และ LRR motif ประกอบด้วย 1,056 กรดอะมิโน และมีเพียงหนึ่งกรดอะมิโนเท่านั้นที่ถูกแทนที่จากกรดแอสปาร์ติก (Aspartic acid, Asp) เป็นเซรีน (Serine, Ser) ในตำแหน่ง 590 ทำให้มีผลต่อลักษณะของฟีโนไทป์ (ชัชวาล จันทราสุริยารัตน์ และสุรีพร เกตุงาม, 2552) ดังนั้นจากการศึกษาครั้งนี้อาจสรุปได้ว่าข้าวพบคู่ของยีนต้านทาน *Pi9* และ *Pigm*(t) ทำให้ข้าวมีความสามารถในการต้านทานต่อโรคไหม้ในข้าวได้ดี และข้าวที่มีระดับต้านทานปานกลาง (MR) จะพบคู่ของยีน *Pi36* และ *Pigm*(t)

ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการมียีนต้านทานโรคไหม้เหล่านี้จะเป็นประโยชน์ต่อการต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ได้

โรคขอบใบแห้ง

การตรวจสอบยีนต้านทานและประเมินความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งพบข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองส่วนใหญ่มียีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง *xa5* คิดเป็น 95% ส่งผลให้ข้าวมีความสามารถในการการต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง คิดเป็น 95% และมีระดับความต้านทานอยู่ที่ HR ไปจนถึง MS ในขณะที่ข้าวที่มีความอ่อนแอ (S) ต่อโรคขอบใบแห้งจะไม่มียีนต้านทาน *xa5* ซึ่งจะเห็นได้ว่าการที่ข้าวมียีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง *xa5* เพียงยีนเดียว ส่งผลให้ข้าวมีระดับความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุของโรคขอบใบแห้งได้ ซึ่งจากการรายงานการมียีน *xa5* ถือเป็นยีนหลักที่ควบคุมลักษณะต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งในหลายประเทศในเอเชีย มีโครงสร้างโปรตีนแบบ gamma subunit of transcription factor IIA (TFIIAγ) โดยโปรตีนชนิดนี้มีผลต่อความต้านทานจะมีการเปลี่ยนแปลงของอัลลีลที่ตำแหน่งกรดอะมิโน 39 โดยข้าวที่มีลักษณะต้านทานจะพบกรดอะมิโนกรดกลูตามิก (glutamic acid) ข้าวที่อ่อนแอต่อโรคขอบใบแห้งพบมีการเปลี่ยนแปลงของกรดอะมิโนในตำแหน่ง 39 เป็นวาลีน (valine) ทำให้มีผลต่อลักษณะทางฟีโนไทป์ของข้าว (Iyer and McCouch, 2004; Jeung et al., 2006) นอกจากนี้ข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองบางสายพันธุ์ที่ตรวจพบยีน *Xa21*, *Xa33* (RMWR7.1) และ *Xa33* (RMWR7.6) แต่ไม่มีผลต่อระดับความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง เนื่องจากขนาดผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ที่พบเป็นอัลลีลอ่อนแอต่อโรคขอบใบแห้ง ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าแอลลีลของยีนหลักไปมีผลต่อการยับยั้งการแสดงออกของยีนอีกคู่หนึ่ง ทำให้ลักษณะฟีโนไทป์สามารถข่มการแสดงออกของยีนอีกตำแหน่งหนึ่งได้ ทำให้ไม่มีการแสดงออกจากยีนคู่นั้น อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันมีการรายงานยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งไม่น้อยกว่า 40 ยีน เช่น งานวิจัยของ Sombunjitt และคณะ (2017) ได้ใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่สัมพันธ์กับยีนต้านทาน *Xa4*, *xa5*, *Xa7* และ *xa13* สำหรับคัดเลือกข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองของไทย หรืองานวิจัยของ Yaodam และคณะ (2017) ทำการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ โดยการรวมยีนของ *Xa4* และ *Xa21* ทำให้ได้ลูกผสมที่มีความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งในระดับต้านทาน (R) เป็นต้น โดยยีนต้านทานเหล่านี้จะทำหน้าที่กำหนดการสร้างโปรตีน R ที่แตกต่างกันและมีกลไกการตอบสนองต่อไอโซเลทของเชื้อก่อโรคขอบใบแห้งอย่างจำเพาะ (Tian et al., 2014; Kumar et al., 2020) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าการมียีนเหล่านี้อาจมีผลต่อความต้านทานโรคขอบใบแห้งที่สามารถนำไปใช้ในการตรวจสอบ เพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งต่อไปในอนาคต

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

จากการศึกษาครั้งนี้พบข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองส่วนใหญ่มียีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Bph3* มากที่สุด คิดเป็น 95% และการที่ข้าวมียีนนี้อยู่ส่งผลให้ข้าวมีระดับความต้านทานที่ R และ S แสดงให้เห็นว่าข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองมียีน *Bph3* ส่วนใหญ่ ซึ่งจากการรายงานการมียีน *Bph3* พบว่าสายพันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทาน *Bph3* สามารถต้านทานได้ดีต่อประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เก็บได้ในหลายจังหวัดของประเทศไทย อาทิ จังหวัดกาญจนบุรี ชัยนาท เชียงราย นครปฐม นครพนม นครราชสีมา นครศรีธรรมราช นครสวรรค์ น่าน บุรีรัมย์ ปทุมธานี พิษณุโลก แพร่ ร้อยเอ็ด ราชบุรี ลพบุรี ลำปาง สระแก้ว สุพรรณบุรี อ่างทอง อุดรธานี และอุบลราชธานี (Jairin et al., 2007a) ในขณะที่ยีน *Bph14* และ *Bph18*(t) ที่ตรวจพบในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองบางสายพันธุ์ในการศึกษาครั้งนี้ อาจเป็นตัวช่วยในการแสดงออกของข้าว เนื่องจากมีการรายงานการมียีน *Bph14* ซึ่งเป็นยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีโครงสร้างโปรตีน coiled-coil, nucleotide-binding และ leucine-rich repeat (CC-NB-LRR) เมื่อต้นข้าวมียีนนี้จะส่งผลต่อการทำงานของวิถี salicylic acid เพิ่มขึ้น เมื่อพืชมีการหลั่งสาร salicylic acid ซึ่งทำหน้าที่เป็นสัญญาณ (SAR signal) ส่งไปยังเซลล์ต่าง ๆ ทั่วทั้งต้นพืช ทำให้พืชสร้างโปรตีนที่เป็นส่วนหนึ่งในโครงสร้างของผนังเซลล์จะทำให้ผนังเซลล์ของพืชมีความแข็งแรงมากขึ้น จึงช่วยลดความเสียหายจากการดูดกินของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในต้นข้าว ส่งผลให้ต้นข้าวมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (Du et al., 2009) และยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Bph18*(t) มีโปรตีน coiled-coil nucleotide-binding site-leucine-rich repeat (CC-NBS-NBS-LRR) อยู่ที่เยื่อหุ้ม endoplasmic reticulum และ Golgi apparatus ซึ่งเป็นตัวช่วยในการส่งสัญญาณในพืช เมื่อเกิดการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลบริเวณท่อลำเลียงอาหาร (phloem) (Ji et al., 2016) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อมีการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลนานขึ้น (21 วัน) ส่งผลให้ข้าวเสียหายทั้งหมด ดังนั้นเมื่อมีการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจึงต้องมีการควบคุมหรือตัดวงจรการแพร่ระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ภายใน 7 วัน เพื่อไม่ให้เกิดการระบาดรุนแรงต่อผลผลิตข้าวเป็นวงกว้าง นอกจากนี้ปัจจุบันมีการรวบรวมยีนต้านทานเพื่อใช้เป็นเครื่องหมายในการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่มีลักษณะต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ซึ่งมีการรายงานพบตำแหน่งของยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลไม่น้อยกว่า 30 ยีน เช่น *bph4*, *Bph6*, *Bph10*, *Bph11*, *bph12*, *Bph14* และ *Bph15* ที่มีการรายงานว่าสามารถต้านทานต่อประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลบางพื้นที่ในเอเชียรวมถึงประเทศไทยด้วย ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่ทดสอบอาจมียีนเหล่านี้อยู่ ส่งผลให้มีโครงสร้างโปรตีน R ที่แตกต่างกันและมีกลไกการตอบสนองต่อการเข้าทำลายต่อเพลี้ยกระโดด

สีน้ำตาลได้แตกต่างกันไป (Kobayashi, 2016; Jing et al., 2017) ดังนั้นการคัดเลือกจากสายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่มียีนต้านทานและมีการตอบสนองทางฟีโนไทป์ที่ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล มีความสำคัญอย่างยิ่งในการปรับปรุงสายพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลต่อไป

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการเพิ่มเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ในการตรวจสอบยีนต้านทานโรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้น เพื่อให้เห็นแนวโน้มของการมียีนและระดับความต้านทานที่ชัดเจนมากยิ่งขึ้น

บรรณานุกรม

บรรณานุกรม

กนกอร เยาว์ดำ ประภา ศรีพิจิตต์ และ ธานี ศรีวงศ์ชัย. (2560). การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวต้านทานโรคขอบใบแห้งโดยวิธีการผสมกลับ และคัดเลือกด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ. *KKU Science Journal, 45(3), 595-604.*

กฤตกิตติศักดิ์ ไพตรีจิตต์ อิงออน สีแก้ว ชัชวาล จันทราสุริยารัตน์ ธานี ศรีวงศ์ชัย และ สุรีพร เกตุงาม. (2554). การค้นหายีนต้านทานโรคไหม้ *Pi9, Pi36, Pigm*(t) ในข้าวพื้นเมืองไทยโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ. *Thai Journal of Genetics*, *4*(1), 52-62.

จิรพงศ์ ใจรินทร์, วราภรณ์ วงศ์บุญ, กิจติพงษ์ เพ็งรัตน์, สงวน เทียงดีฤทธิ์, พิกุล ลีลากุด และ กัลยา สานเสน. (2552). การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและมีคุณภาพเมล็ดเหมือนขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย. ใน: *การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว*. วันที่ 9-11 มิถุนายน 2552 ณ โรงแรมซีนรีช จอมเทียน รีสอร์ท พัทยา จังหวัดชุลบุรี. น.187-207

ฐานัฎ ณ พัทลุง และวิภา ตังคนานนท์. (2560). พฤติกรรมการทำลายข้าวของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในพื้นที่นาชลประทานภาคกลางของประเทศไทย. *Thai Journal of Science and Technology, 6*(4), 369-391.

ดวงกมล บุญช่วย อนรรฆพล บุญช่วย ดวงพร วิธูรจิตต์ และเสน่ห์ คชรัตน์. (2555). การลดระดับความรุนแรงของโรคขอบใบแห้งของข้าวโดยวิธีผสมผสาน. *สัมมนาวิชาการกลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคเหนือตอนบนและภาคเหนือตอนล่าง* (น. 97-113). กรุงเทพฯ : สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว.

ชัชวาล จันทราสุริยารัตน์ และ สุรีพร เกตุงาม. (2552). โรคไหม้ในข้าวและสถานการณ์ปัจจุบันของงานวิจัยด้านยีนต้านทานโรคไหม้ในข้าว. *วารสารแก่นเกษตร*, *37*, 69-78.

ชาญณรงค์ ดวงสะอาด. (2553). *การโต้ตอบทางนิเวศวิทยา*. สืบค้น 30 เมษายน 2564, จาก: http://www.thaibiocontrol.org/ main.php?filename=topic1

ทรายแก้ว มีสิน. (2547). *โครงสร้างความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อพันธุ์ข้าวพื้นเมืองไทย*. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาพืชไร่ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม. (2561). *วิทยาการข้าวไทย*. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ประกอบกิจ ดังไธสง รื่นฤดี แก้วชื่นชัย สุนิยม ตาปราบ ธีรยุทธ ตู้จินดา วัชรีวรรณ แจ่มบุญศร ศรีสวัสดิ์ ขันทอง และวรรณนภา สัตยชิต. (2557). การปรับปรุงพันธุ์ข้าวปทุมธานี 1 ให้ทนต่อน้ำท่วม

ฉับพลัน ต้านทานต่อ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและโรคขอบใบแห้งโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการคัดเลือก. *การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว, 31*, 116-134.

ประพฤติ พรหมสมบูรณ์. (2559). การรวบรวมพันธุ์และศึกษาลักษณะทางการเกษตรของข้าว (*Oryza sativa* L.) พันธุ์พื้นเมืองไทย. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า*, *34*(3), 126-132.

ประภาษ กาวิชา และธัญญ์วนิช ธัญสิริวรรธน์. (2563). การคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่มียีนต้านทานโรคขอบใบแห้งโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ. *วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์*, 7(1), xx-xx.

พยอม โคเบลลี่ สมใจ สาลีโท ธีรดา หวังสมบูรณ์ดี อนุชาติ คชสถิตย์ จิตติมา วงศ์หนองหว้า วราพงษ์ ชมาฤกษ์,...สิรดา อ่อนเจริญ. (2558). การใช้ประโยชน์เครื่องหมายโมเลกุลชนิด STS สำหรับงานปรับปรุง พันธุ์ข้าวไทยให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งแบบคงทนถาวร. *Thai Rice Research Journal*, *6*(1), 56-69.

พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ พยอม โคเบลลี่ อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ ถนอมจิตร์ ฤทธิ์ มนตรี กุลชนา เกศ สุวรรณ ชนสิริน กลิ่นมณี และ สงวน เที่ยงดีฤทธิ์. (2550). การตรวจสอบความหลากหลายของสายพันธุ์ เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวในประเทศไทย. *วารสารวิชาการข้าว, 1*(1), 52-64.

ภมร ปัตตาวะตัง. (2548). *การศึกษาตำแหน่งของยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งในข้าว*. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

รัชนี คงคาฉุยฉาย ริญ เจริญศิริ อรวรรณ กริ่งเกษมศรี อภิชาติ วรรณวิจิตร และ ศิริพัฒน์ เรืองพยัคฆ์. (2551). ปริมาณ ธาตุเหล็ก สังกะสี ธาตุทองแดง วิตามินอี เบต้าแคโรทีน และลูทีนในข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากแหล่งต่างๆของประเทศไทย. *วารสารสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วิทยาศาสตร์)*, *40*(2), 13-32.

รัชนี คงคาฉุยฉาย. (2561). *มหัศจรรย์พันธุ์ข้าวพื้นเมืองไทย กินข้าวเป็นยา สุขภาพดีมีชัยไปกว่าครึ่ง*. สืบค้น 8 พฤษภาคม 2564 จาก:https://www.technologychaoban.com/agricultural-technology/article_76337.

วันทนา ศรีรัตนศักดิ์. (2553). เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลศัตรูตัวร้ายของชาวนาในพื้นที่ชลประทาน. *วารสารเกษตรก้าวหน้า*, *23*, 20-32.

ศรีสวัสดิ์ ขันทอง ชัชวาล จันทราสุริยารัตน์ และ สุรีพร เกตุงาม. (2553). โรคไหม้และการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการคัดเลือก. *Thai Journal of Genetics*, *3*(2), 106-119

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. (2556). *โรคขอบใบแห้ง*. สืบค้น 30 เมษายน 2564, จาก: https://www.plantwise.org/FullTextPDF/2016/20167800210.pdf.

สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. (2563). *สรุปรายงานสถานการณ์ศัตรูข้าว กรมการข้าว*. สืบค้น 30 เมษายน 2564, จาก: http://brrd.ricethailand.go.th/index.php/2016-07-15-05-32-35/726-17-23-2564.

สุธิสา ฝั้นต๊ะ อุษณรัศมิ์ รักมาก และ อนุพงศ์ วงค์ตามี. (2562). ความแปรปรวนของลักษณะสัณฐานในเมล็ดพันธุ์ข้าวพื้นเมือง จากภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย. *วารสารเกษตรนเรศวร, 16*(2), 55-62.

อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ และพูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์. (2552). ความหลากหลายของ pathotype ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวในปี 2550/51 และยีนต้านทานกว้างขวางที่เป็นประโยชน์ในภาคเหนือตอนล่าง. ใน: *การประชุมข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2552* ณ โรงแรง ซีบรีท จอมเทียน พัทยา. น. 208-219.

Anand Kumar, A.D.V.S.L.P, Mallikharjuna, R.N., & Rama Rao, C.V. (2021). Impact of insecticides on feeding of rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (stal.). *Multilogue in science*, *12*(40), 106-109.

Ashkani, S., Rafii, M. Y., Shabanimofrad, M., Ghasemzadeh, A., Ravanfar, S. A., & Latif, M. A. (2016). Molecular progress on the mapping and cloning of functional genes for blast disease in rice (Oryza sativa L.): current status and future considerations. *Critical reviews in biotechnology*, *36*(2), 353-367.

Ballini, E., Morel, J. B., Droc, G., Price, A., Courtois, B., Notteghem, J. L., & Tharreau, D. (2008). 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.

Bryan, G. T., Wu, K. S., Farrall, L., Jia, Y., Hershey, H. P., McAdams, S. A., ... & Valent, B. (2000). A single amino acid difference distinguishes resistant and susceptible alleles of the rice blast resistance gene *Pi-ta*. *The Plant Cell*, *12*(11), 2033-2045.

Bonman, J. M., Khush, G. S., & Nelson, R. J. (1992). Breeding rice for resistance to pests. *Annual review of Phytopathology*, *30*(1), 507-528.

Chen, X., Shang, J., Chen, D., Lei, C., Zou, Y., Zhai, W., ... & Zhu, L. (2006). AB-lectin receptor kinase gene conferring rice blast resistance. *The Plant Journal*, *46*(5), 794-804.

Collard, B. C., & Mackill, D. J. (2008). Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *363*(1491), 557-572.

Deng, Y., Zhu, X., Shen, Y., & He, Z. (2006). Genetic characterization and fine mapping of the blast resistance locus Pigm (t) tightly linked to *Pi2* and *Pi9* in a broad-spectrum resistant Chinese variety. *Theoretical and applied genetics*, *113*, 705-713.

Deng, Y., Zhu, X., Xu, J., Chen, H., & He, Z. (2009). Map-based cloning and breeding application of a broad-spectrum resistance gene Pigm to rice blast. In *Advances in genetics, genomics and control of rice blast disease* (pp. 161-171). Springer Netherlands.

Devanna, B. N., Jain, P., Solanke, A. U., Das, A., Thakur, S., Singh, P. K., ... & Sharma, T. R. (2022). Understanding the dynamics of blast resistance in rice-Magnaporthe oryzae interactions. *Journal of Fungi*, *8*(6), 584.

Doyle, J. J., & Doyle, J. L. (1987). *A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue* (No. RESEARCH).

Du, B., Zhang, W., Liu, B., Hu, J., Wei, Z., Shi, Z., ... & He, G. (2009). Identification and characterization of Bph14, a gene conferring resistance to brown planthopper in rice. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *106*(52), 22163-22168.

Fjellstrom, R., Conaway-Bormans, C. A., McClung, A. M., Marchetti, M. A., Shank, A. R., & Park, W. D. (2004). Development of DNA markers suitable for marker assisted selection of three *Pi* genes conferring resistance to multiple Pyricularia grisea pathotypes. *Crop Science*, *44*(5), 1790-1798.

Gururani, M. A., Venkatesh, J., Upadhyaya, C. P., Nookaraju, A., Pandey, S. K., & Park, S. W. (2012). Plant disease resistance genes: current status and future directions. *Physiological and molecular plant pathology*, *78*, 51-65.

Hu, J., Xiao, C., & He, Y. (2016). Recent progress on the genetics and molecular breeding of brown planthopper resistance in rice. *Rice*, *9*(1), 1-12.

IRRI (International Rice Research Institute). Standard evaluation system for rice. Manila (Philippines): International Rice Research Institute; 2013.

Iyer, A. S., & McCouch, S. R. (2004). The rice bacterial blight resistance gene *xa5* encodes a novel form of disease resistance. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *17*(12), 1348-1354.

Jairin, J., Phengrat, K., Teangdeerith, S., Vanavichit, A., & Toojinda, T. (2007). Mapping of a broad-spectrum brown planthopper resistance gene, *Bph3*, on rice chromosome 6. *Molecular Breeding*, *19*, 35-44.

Jena, K. K., Jeung, J. U., Lee, J. H., Choi, H. C., & Brar, D. S. (2006). High-resolution mapping of a new brown planthopper (BPH) resistance gene, *Bph18* (t), and marker-assisted selection for BPH resistance in rice (Oryza sativa L.). *Theoretical and Applied Genetics*, *112*, 288-297.

Jena, K. K., Pasalu, I. C., Rao, Y. K., Varalaxmi, Y., Krishnaiah, K., Khush, G. S., & Kochert, G. (2003). Molecular tagging of a gene for resistance to brown planthopper in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica*, *129*, 81-88.

Ji, H., Kim, S. R., Kim, Y. H., Suh, J. P., Park, H. M., Sreenivasulu, N., ... & Jena, K. K. (2016). Map-based cloning and characterization of the *BPH18* gene from wild rice conferring resistance to brown planthopper (BPH) insect pest. *Scientific reports*, *6*(1), 1-14.

Jia, Y., Bryan, G. T., Farrall, L., & Valent, B. (2003). Natural variation at the *Pi-ta* rice blast resistance locus. *Phytopathology*, *93*(11), 1452-1459.

Jing, S., Zhao, Y., Du, B., Chen, R., Zhu, L., & He, G. (2017). Genomics of interaction between the brown planthopper and rice. *Current Opinion in Insect Science*, *19*, 82-87.

Kobayashi, T. (2016). Evolving ideas about genetics underlying insect virulence to plant resistance in rice-brown planthopper interactions. *Journal of insect physiology*, *84*, 32-39.

Koide, Y., Kobayashi, N., Xu, D., & Fukuta, Y. (2009). Resistance genes and selection DNA markers for blast disease in rice (*Oryza sativa* L.). *Japan Agricultural Research Quarterly: JARQ*, *43*(4), 255-280.

Korinsak, S. (2009). *Marker-assisted pyramiding bacterial blight resistance genes (xa5, Xa21, xa33 (t), Xa34 (t) and qBB11) in rice* (Doctoral dissertation, Kasetsart University).

Korinsak, S., Sirithunya, K., & Toojinda, T. (2014). Identifying a source of a bacterial blight resistance gene *xa5* in rice variety 'IR62266'and development of a functional marker 'PAxa5', the easy agarose based detection. *Genomics and Genetics*, *7*(3), 164-172.

Kumar, P. N., Sujatha, K., Laha, G. S., Rao, K. S., Mishra, B., Viraktamath, B. C., ... & Sundaram, R. M. (2012). Identification and fine-mapping of *Xa33*, a novel gene for resistance to *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Phytopathology*, *102*(2), 222-228.

Kumar, A., Kumar, R., Sengupta, D., Das, S. N., Pandey, M. K., Bohra, A., ... & Sundaram, R. M. (2020). Deployment of genetic and genomic tools toward gaining a better understanding of rice-*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* interactions for development of durable bacterial blight resistant rice. *Frontiers in Plant Science*, 1152.

Liu, G., Lu, G., Zeng, L., & Wang, G. L. (2002). Two broad-spectrum blast resistance genes, *Pi9* (t) and *Pi2* (t), are physically linked on rice chromosome 6. *Molecular Genetics and Genomics*, *267*, 472-480.

Liu, X., Lin, F., Wang, L., & Pan, Q. (2007). The in silico map-based cloning of *Pi36*, a rice coiled-coil–nucleotide-binding site–leucine-rich repeat gene that confers race-specific resistance to the blast fungus. *Genetics*, *176*(4), 2541-2549.

Mullis, K., Faloona, F., Scharf, S., Saiki, R., Horn, G., & Erlich, H. (1992). Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. *Biotechnology Series*, 17-17.

Naveed, S. A., Babar, M., Arif, A., Zafar, Y., Sabar, M., Ali, I., ... & Arif, M. (2010). Detection of bacterial blight resistant gene xa5 using linked marker approaches. *African Journal of Biotechnology*, *9*(24), 3549-3554.

Neuenschwander, U., Vernooij, B., Friedrich, L., Uknes, S., Kessmann, H., & Ryals, J. (1995). Is hydrogen peroxide a second messenger of salicylic acid in systemic acquired resistance?. *The Plant Journal*, *8*(2), 227-233.

Nguyen, H. T., Vu, Q. H., Van Mai, T., Nguyen, T. T., Vu, L. D., Nguyen, T. T., ... & Van Vu, L. (2018). Marker-assisted selection of *Xa21* conferring resistance to bacterial leaf blight in indica rice cultivar LT2. *Rice Science*, *25*(1), 52-56.

Nyunt, K. T., Khin, O., & Yin, N. (2019). Screening of Myanmar rice for resistant to brown plant hopper and detection of BPH resistance genes. *Preprint. https://www.researchgate.net/publication/333718558_Screening_of_Myanmar_Rice_for_Resistant_to_Brown_Plant_ Hopper_and_Detection_of_BPH_Resistance_Genes*.

Park, M., Yim, H. K., Park, H. G., Lim, J., Kim, S. H., & Hwang, Y. S. (2010). Interference with oxidative phosphorylation enhances anoxic expression of rice α-amylase genes through abolishing sugar regulation. *Journal of experimental botany*, *61*(12), 3235-3244.

Pati, P., Jena, M., Bhattacharya, S., Annamalai, M., Raghu, S., Behera, S.K., Sanghamitra, P., Pandi, G. & Meena, S. K. 2019. Evaluation of red rice genotypes against brown planthopper, BPH (*Nilaparvata lugens* Stal.) by phenotypic analysis and study of mechanism of resistance involved. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, *7*(5), 149-155.

Podishetty, N.K. (2014*). Bacterial Leaf Blight resistance gene, Xa33 in Rice: Identification and genetic characterization of new Bacertial Leaf Blight (BLB) resistance gene in Rice*. Germany: Scholars' Press.

Pusadee, T., Oupkaew, P., Rerkasem, B., Jamjod, S., & Schaal, B. A. (2014). Natural and human-mediated selection in a landrace of Thai rice (*Oryza sativa*). *Annals of applied biology*, *165*(2), 280-292.

Sani Haliru, B., Rafii, M. Y., Mazlan, N., Ramlee, S. I., Muhammad, I. I., Silas Akos, I., ... & Rini Bashir, Y. (2020). Recent strategies for detection and improvement of brown planthopper resistance genes in rice: A review. *Plants*, *9*(9), 1202.

Shahriar, S. A., Imtiaz, A. A., Hossain, M. B., Husna, A., & Eaty, M. N. K. (2020). Rice blast disease. *Annual Research & Review in Biology*, 50-64.

Sharma, T. R., Rai, A. K., Gupta, S. K., Vijayan, J., Devanna, B. N., & Ray, S. (2012). Rice blast management through host-plant resistance: retrospect and prospects. *Agricultural Research*, *1*, 37-52.

Sirithunya, P., Sreewongchai, T., Sriprakhon, S., Toojinda, T., Pimpisithavorn, S., Kosawang, C., & Smitamana, P. (2008). Assessment of genetic diversity in Thai isolates of *Pyricularia grisea* by random amplification of polymorphic DNA. *Journal of Phytopathology*, *156*(4), 196-204. doi: 10.1111/j.1439-0434.2007.01341.x

Sombunjitt, S., Sriwongchai, T., Kuleung, C., & Hongtrakul, V. (2017). Searching for and analysis of bacterial blight resistance genes from Thailand rice germplasm. *Agriculture and Natural Resources*, *51*(5), 365-375.

Wang X., Lee S., Wang J., Ma, J., Bianco T. & Jia, Y. (2014). Current Advances on Genetic Resistance to Rice Blast Disease. *licensee InTech*. Retrieves May 4, 2021, from https://www.intechopen.com/books/rice-germplasm-genetics-and-improvement/current-advances-on-genetic-resistance-to-rice-blast-disease.

Yaodam, K., Sripichitt, P., Sriwongchai, T., & Junbuathong, S. (2017). Development of rice lines for bacterial leaf blight resistance using backcross method and marker assisted selection. *KKU Science Journal, 45*(3), 595-604.

Yasmin, S., Hafeez, F.Y., & Mirza, M.S. (2017). Biocontrol of Bacterial Leaf Blight of Rice and Profiling of Secondary Metabolites Produced by Rhizospheric *Pseudomonas aeruginosa* BRp3. *Biocontrol Science Technology*, *24*, 1227–1242.

Zhi, J.J., Shu, D.Y., Yu, X.Z., Yan, L., Chang, D.Y, & Qian, Q. (2016). Pyramiding blast, bacterial blight and brown planthopper resistance genes in rice restorer lines. *Journal of Integrative Agriculture*, *15*(7), 1432–1440.

ภาคผนวก

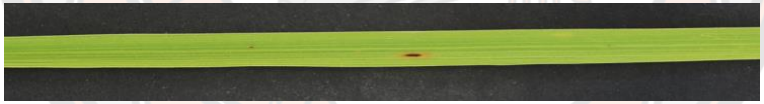
อักษรย่อ

HR	=	Highly resistant
R	=	Resistant
MR	=	Moderately resistant
MS	=	Moderately susceptible
S	=	Susceptible
HS	=	Highly susceptible
SES	=	Standard Evaluation System
CTAB	=	Cetyltrimethyl ammonium bromide method
PCR	=	Polymerase Chain Reaction
Avr	=	Avirulence
NBS	=	Nucleotide-binding site
LRR	=	Leucine rich repeat
TIR	=	Toll-interleukin-1-receptor
CC	=	coiled-coil domain
TFIIAγ	=	Gamma subunit of transcription factor IIA
ml	=	มิลลิลิตร
µl	=	ไมโครลิตร

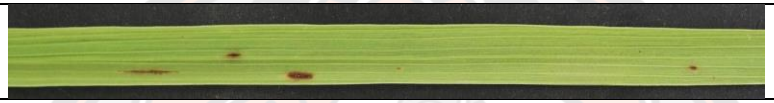
ตาราง 18 ยีนต้านทานโรคและระดับความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคไหม้ที่พบในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 20 สายพันธุ์

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ลักษณะใบข้าวที่เกิดโรคไหม้	ยีนต้านทานโรคไหม้	ความต้านทาน
1	ข้าวหอมครัว		*Pi36, Pigm*(t) และ *Pib*	MR
2	ข้าวล้นครก		*Pi9*, *Pi36*, *Pigm*(t), *Pi-ta* และ *Pib*	R
3	ข้าวขาวน้ำค้าง		*Pi9*, *Pigm*(t) และ *Pi-ta*	R
4	ข้าวสายบัว		*Pi36* และ *Pigm*(t)	MS
5	ข้าวกุลาหลุดหนี้		*Pi9*, *Pi36*, *Pigm*(t) และ *Pib*	R
6	ข้าวตาแขก		*Pi9*, *Pi36*, *Pigm*(t), *Pi-ta* และ *Pib*	R
7	ข้าวคัดนาโพธิ์		*Pi9*, *Pi36* และ *Pigm*(t)	R

ตาราง 18 (ต่อ)

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ลักษณะใบข้าวที่เกิดโรคไหม้	ยีนต้านทานโรคไหม้	ความต้านทาน
8	ข้าวทองย้อย		*Pi9*, *Pi36*, *Pigm*(t) และ *Pi-ta*	R
9	ข้าวพุดตำ่		*Pi9*, *Pi36*, *Pigm*(t) และ *Pib*	MR
10	ข้าวหอมดง		*Pi9*, *Pi36*, *Pigm*(t), *Pi-ta* และ *Pib*	MR
11	ข้าวพิจิตร		*Pi36* และ *Pigm*(t)	MR
12	ข้าวเหลืองหลวง		*Pi9*, *Pi36*, *Pigm*(t), *Pi-ta* และ *Pib*	R
13	ข้าวพวงดอกมะลิ		*Pi36* และ *Pigm*(t)	MS
14	ข้าวพวงกระดาษ		*Pi9*, *Pi36*, *Pigm*(t) และ *Pib*	R
15	ข้าวสันป่าตองหลวง		*Pi9*, *Pi36*, *Pigm*(t) และ *Pib*	R

ตาราง 18 (ต่อ)

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ลักษณะใบข้าวที่เกิดโรคไหม้	ยีนต้านทานโรคไหม้	ความต้านทาน
16	ข้าวกล้วยปี		*Pigm*(t) และ *Pib*	MR
17	ข้าวเจ็ดรวง		*Pi9*, *Pi36*, *Pigm*(t) และ *Pib*	R
18	ข้าวขาวกอเดียวหนัก		*Pigm*(t)	MS
19	ข้าวเหลืองเกษตร		*Pigm*(t) และ *Pi-ta*	MR
20	ข้าวขาวชลอ		*Pigm*(t)	MS
21	ข้าวชัยนาท 1		*Pi9*, *Pi36* และ*Pigm*(t)	R
22	ข้าวหอมมะลิ 105		*Pi9*, *Pi36*, *Pigm*(t), *Pi-ta* และ *Pib*	S

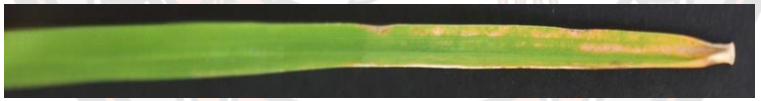
ตาราง 19 ยีนต้านทานโรคและระดับความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งที่พบในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 20 สายพันธุ์

ลำดับที่	สายพันธุ์ข้าว	ลักษณะใบข้าวที่เกิดโรคขอบใบแห้ง	ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง	ความต้านทาน
1	ข้าวหอมครัว		*xa5*, *Xa21* และ *Xa33* (RMWR7.6)	R
2	ข้าวล้นครก		*xa5*, *Xa21*, *Xa33* (RMWR7.1) และ *Xa33* (RMWR7.6)	R
3	ข้าวขาวน้ำค้าง		*xa5* และ *Xa33* (RMWR7.6)	MR
4	ข้าวสายบัว		*xa5* และ *Xa33* (RMWR7.6)	MS
5	ข้าวกุลาหลุดหนี้		*xa5*, *Xa33* (RMWR7.1) และ *Xa33* (RMWR7.6)	MR
6	ข้าวตาแขก		*xa5*, *Xa21*, Xa33 (RMWR7.1) และ *Xa33* (RMWR7.6)	MR

ตาราง 19 (ต่อ)

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ลักษณะใบข้าวที่เกิดโรคขอบใบแห้ง	ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง	ความต้านทาน
7	ข้าวคัดนาโพธิ์		*xa5* และ *Xa33* (RMWR7.6)	HR
8	ข้าวทองย้อย		*xa5*, *Xa21, Xa33* (RMWR7.1) และ *Xa33* (RMWR7.6)	R
9	ข้าวพุดตั่ำ		*xa5*, *Xa21, Xa33* (RMWR7.1) และ *Xa33* (RMWR7.6)	R
10	ข้าวหอมดง		*xa5*, *Xa33* (RMWR7.1) และ *Xa33* (RMWR7.6)	MR
11	ข้าวพิจิตร		*Xa21* และ *Xa33* (RMWR7.6)	S
12	ข้าวเหลืองหลวง		*xa5*, *Xa21, Xa33* (RMWR7.1) และ *Xa33* (RMWR7.6)	MS
13	ข้าวพวงดอกมะลิ		*xa5*, *Xa21* และ *Xa33* (RMWR7.6)	MR

ตาราง 19 (ต่อ)

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ลักษณะใบข้าวที่เกิดโรคขอบใบแห้ง	ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง	ความต้านทาน
14	ข้าวพวงกระดาษ		*xa5*, *Xa21,* Xa33 (RMWR7.1) และ *Xa33* (RMWR7.6)	R
15	ข้าวสันป่าตองหลวง		*xa5*, *Xa21,* และ *Xa33* (RMWR7.6)	MR
16	ข้าวกล้วยปี		*xa5* และ *Xa33* (RMWR7.6)	MR
17	ข้าวเจ็ดรวง		*xa5* และ *Xa33* (RMWR7.6)	MR
18	ข้าวขาวกอเดียวหนัก		*xa5* และ *Xa33* (RMWR7.6)	MS
19	ข้าวเหลืองเกษตร		*xa5* และ *Xa33* (RMWR7.6)	MR
20	ข้าวขาวชลอ		*xa5* และ *Xa33* (RMWR7.6)	MR

ตาราง 19 (ต่อ)

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ลักษณะใบข้าวที่เกิดโรคขอบใบแห้ง	ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง	ความต้านทาน
21	ข้าวชัยนาท 1		*xa5*, *Xa21, Xa33* (RMWR7.1) และ *Xa33* (RMWR7.6)	S
22	ข้าวหอมมะลิ 105		*xa5*, *Xa21, Xa33* (RMWR7.1) และ *Xa33* (RMWR7.6)	HR

ตาราง 20 ยีนต้านทานโรคและระดับความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่พบในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 20 สายพันธุ์

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	7 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล		14 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล		21 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล		ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
		ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	
1	ข้าวหอมครัว		MR		MS		HS	*Bph*18(t)
2	ข้าวล้นครก		MR		S		HS	*Bph3*, *Bph14* และ *Bph*18(t)
3	ข้าวขาวน้ำค้าง		S		S		HS	*Bph3*

ตาราง 20 (ต่อ)

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
4	ข้าวสายบัว		MR		S		HS	*Bph3* และ *Bph*18(t)
5	ข้าวกุลาหลุดหนี้		MR		S		HS	*Bph3* และ *Bph14*
6	ข้าวตาแขก		MR		S		HS	*Bph3* และ *Bph*18(t)

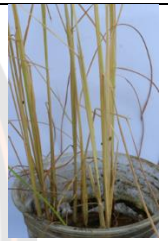
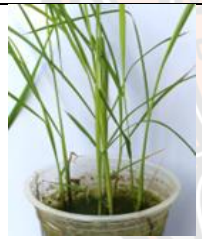
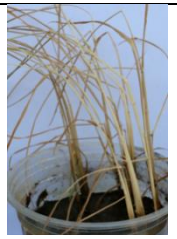
ตาราง 20 (ต่อ)

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
7	ข้าวคัดนาโพธิ์		R		S		HS	*Bph3* และ *Bph*18(t)
8	ข้าวทองย้อย		MR		S		HS	*Bph3* และ *Bph14*
9	ข้าวพุดตำ่		R		MS		HS	*Bph3* และ *Bph14*

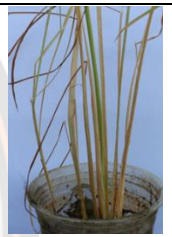
ตาราง 20 (ต่อ)

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
10	ข้าวหอมดง		R		MR		S	*Bph3*, *Bph14* และ *Bph*18(t)
11	ข้าวพิจิตร		MS		S		HS	*Bph3* และ *Bph*18(t)
12	ข้าวเหลืองหลวง		R		S		HS	*Bph3*

ตาราง 20 (ต่อ)

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
13	ข้าวพวงดอกมะลิ		MS		S		HS	*Bph3*
14	ข้าวพวงกระดาษ		R		MS		HS	*Bph3* และ *Bph*18(t)
15	ข้าวสันป่าตองหลวง		MS		MS		HS	*Bph3*

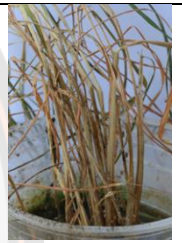
ตาราง 20 (ต่อ)

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
16	ข้าวกล้วยปี		MR		S		HS	*Bph3*
17	ข้าวเจ็ดรวง		MR		S		HS	*Bph3*
18	ข้าวขาวกอเดียวหนัก		MS		S		HS	*Bph3* และ *Bph*18(t)

ตาราง 20 (ต่อ)

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
19	ข้าวเหลืองเกษตร		R		MR		S	*Bph3*
20	ข้าวขาวชลอ		R		MR		S	*Bph3*
21	ข้าวชัยนาท 1		MR		MR		MR	*Bph3* และ *Bph*18(t)

ตาราง 20 (ต่อ)

ลำดับ	สายพันธุ์ข้าว	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ลักษณะต้นข้าว	ระดับความต้านทาน	ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล
22	ข้าวหอมมะลิ 105		MS		MS		HS	*Bph3* และ *Bph*18(t)

ประวัติผู้วิจัย

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล	สโรชา ทวาทศปกรณ์
วัน เดือน ปี เกิด	4 เมษายน 2541
ที่อยู่ปัจจุบัน	1/4 ม.5 ต.เมืองเก่า อ.เมือง จ.สุโขทัย 64210
ประวัติการศึกษา	ปริญญาตรี: วท.บ. (ชีววิทยา) เกียรตินิยมอันดับ 1 มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม