อภินันทนาการ สัญญาเลขที่ R2556B005

สำนักหอสมุด

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การรวบยอดยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามชนิดจากข้าวสายพันธุ์ข้าวผสมกลับ BC_4F_{3-4} ((Rathu Heenati/KDML105) X Chai Nat 1) และ ((Abhaya/KDML105) X Chai Nat 1)

Pyramiding Brown Planthopper Resistant Genes from BC_4F_{3-4} Backcross Rice Lines ((Rathu Heenati/KDML105) X Chai Nat 1) and ((Abhaya/KDML105) X Chai Nat 1)

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร
วันลงทะเบียน 19 ส.ค. 2559
เลขทะเบียน
เลขเรียกหนังสือ 1 QL 527 .A64 2557 2557

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย นายวีรเทพ พงษ์ประเสริฐ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร
คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติ และสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยนเรศวร

ผู้ร่วมโครงการวิจัย นายสมชาย ธนสินชยกุล
ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาเขตกำแพงแสน
นายเจตน์ คชฤกษ์
ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก ต.วังทอง อ.วังทอง จ.พิษณุโลก
นางคณิตา เกิดสุข
ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก ต.วังทอง อ.วังทอง จ.พิษณุโลก

สนับสนุนโดยกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยนเรศวร

สารบัญเรื่อง

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อ	III
แบบสรุปการวิจัย	V
บทนำ	1
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
ขอบเขตของโครงการวิจัย	4
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
แผนการดำเนินงาน	6
วิธีดำเนินการวิจัย	8
ผลการวิจัยและวิเคราะห์ผล	11
วิจารณ์ผล	28
สรุปผล	29
เอกสารอ้างอิง	30

มหาวิทยาลัยนเรศวร

สารบัญตาราง

ตารางที่	เรื่อง	หน้า
1	การให้คะแนนปฏิกิริยาของพันธุ์ข้าวต่อแมลงบั่วในสภาพโรงเรือนโดยใช้ โดยใช้มาตรฐานตาม Standard Evaluation System for Rice ของ IRRI (IRRI, 2002)	10
2	Reaction pattern and damage score of Rathu R8-24--1-183-84-227/Abbaya A12-26-201-436(F1) and 9 standard rice varieties responded to brown planthopper collected from lower northern Thailand, first trial	18
3	Reaction pattern and damage score of Rathu R8-24-1-183-84-227/Abbaya A12-26-201-436(F1)and 9 standard rice varieties responded to brown planthopper collected from lower northern Thailand, second trail.	23

สารบัญภาพ

ภาพที่	เรื่อง	หน้า
1	การทดสอบเพื่อคัดเลือกโมเลกุลเครื่องหมายแบบ SSR ชนิด RM6094, RM5509, RM8082, RM19341, RM8002, RM20590, RM19341, RM1003, SSR24, SSR25 ที่แสดง polymorphism ระหว่างสายพันธุ์พ่อ R8-24-1-183-84-227 และแม่ A12-26-201-436	12
2	การทดสอบเพื่อคัดเลือกโมเลกุลเครื่องหมายแบบ SSR ชนิด RM190, RM170, RM589, RM50, RM225, RM277 ที่แสดง polymorphism ระหว่างสายพันธุ์พ่อ R8-24-1-183-84-227 และแม่ A12-26-201-436	13
3	การทดสอบเพื่อคัดเลือกโมเลกุลเครื่องหมายแบบ SSR ชนิด RM8084, RM400, RM7443, RM6293, RM8639, RM8102, RM586, RM30, RM588, RM8240, RM3285 ที่แสดง polymorphism ระหว่างสายพันธุ์พ่อ R8-24-1-183-84-227 และแม่ A12-26-201-436	14
4	Dendrogram presents the relationship of Rathu R8-24--1-183-84-227/Abbaya A12-26-201-436(F1) (Rathu/Abha) and 9 standard rice varieties: Rathu Heenati (Rathu), KDML105, Abhaya A-12-26-201-436 (Abha12), Taichung Native 1 (TN1), PTB33, Abhaya, Rathu/KDML105 (Rat/KDML), Chai Nat 1 (CNT1) and Rathu R8-24--1-183-84-227(Rathu227) responded to brown planthopper population in lower northern Thailand, first trial.	19
5	Dendrogram presents the relationship of Rathu R8-24--1-183-84-227/Abbaya A12-26-201-436(F1) (Rathu/Abha) and 9 standard rice varieties: Rathu Heenati (Rathu), KDML105, Abhaya A-12-26-201-436 (Abha12), Taichung Native 1 (TN1), PTB33, Abhaya, Rathu/KDML105 (Rat/KDML), Chai Nat 1 (CNT1) and Rathu R8-24--1-183-84-227(Rathu227) responded to brown planthopper population in lower northern Thailand, Second trail	24
6	ข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ต่าง ๆ อายุ 14 วันก่อนการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลาย	25
7	สภาพของข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ต่าง ๆ หลังการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลาย 14 วัน	26

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	เรื่อง	หน้า
8	สภาพของข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ต่าง ๆ หลังการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลาย 22 วัน	27

ส่วนที่ 1 รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัย

1. ชื่อโครงการวิจัย (ภาษาไทย) การรวบยอดยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 3 ชนิดจากข้าวสายพันธุ์ผสมกลับ BC_4F_{3-4}((Rathu Heenati/KDML105) X Chai Nat 1) และ ((Abhaya/KDML105) X Chai Nat 1)

2. (ภาษาอังกฤษ) Pyramiding 3 Brown Planthopper Resistant Genes from BC_4F_{3-4} Backcross Rice Lines ((Rathu Heenati/KDML105) X Chai Nat 1) and ((Abhaya/KDML105) X Chai Nat 1)

3. รายชื่อคณะผู้วิจัย พร้อมทั้งหน่วยงานที่สังกัด หมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ E-mail

3.1 หัวหน้าโครงการวิจัย นายวีรเทพ พงษ์ประเสริฐ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์
ทรัพยากรธรรมชาติ และสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร
โทรศัพท์ 055962704
E-mail : weerathepp@nu.ac.th

3.2 ผู้ร่วมโครงการวิจัย นายสมชาย ธนสินชยกุล
ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ต.กำแพงแสน อ.
กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140
โทรศัพท์ 0-3435-1886, 0-3435-1016
โทรสาร 0-3428-1886
นายเจตน์ คชฤกษ์
ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก ถ. มิตรภาพ ต. วังทอง อ. วังทอง
จ. พิษณุโลก 65130 โทรศัพท์ 0-5531-1184, 0-5531-1185
โทรสาร 0-5531-1185
นางคณิตา เกิดสุข
ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก ถ. มิตรภาพ ต. วังทอง อ. วังทอง
จ. พิษณุโลก 65130 โทรศัพท์ 0-5531-1184, 0-5531-1185
โทรสาร 0-5531-1185

4. ได้รับอนุมัติจัดสรรงบประมาณประจำปี 2557 จำนวนเงิน 291,200 บาท
5. ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยสาขา เกษตรศาสตร์และชีววิทยา
6. เริ่มทำการวิจัยเมื่อ (เดือน,ปี) 1 ตุลาคม พ.ศ. 2556 ถึง (เดือน,ปี) 1 ตุลาคม พ.ศ. 2557

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ได้ให้การสนับสนุนทุนวิจัยการรวบยอดยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 3 ชนิดจากข้าวสายพันธุ์ผสมกลับ BC_4F_{3-4}((Rathu Heenati/KDML105) X Chai Nat 1) และ ((Abhaya/KDML105) X Chai Nat 1) ประจำปี 2557 เป็นจำนวนเงิน 291,200 บาท และใคร่ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ทุกท่าน จากศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่ให้การสนับสนุนการวิจัยเป็นอย่างดียิ่งทั้งในส่วนของ เครื่องมือ ข้อมูล และอุปกรณ์ ตลอดจนคำแนะนำต่าง ๆ นอกจากนี้ ขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติ และสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ได้ร่วมสนับสนุนการวิจัยครั้งนี้ จนทำให้การวิจัยสำเร็จสมบูรณ์เป็นอย่างดี

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้คือเพื่อสร้างลูกผสม F1 ซึ่งเป็นการรวบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 3 ชนิดจากข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC_4F_{3-4} ((Rathu Heenati/KDML105) X Chai Nat 1) และ ((Abhaya/KDML105) X Chai Nat 1) และศึกษาปฏิกิริยาของข้าวสายพันธุ์ลูกผสมดังกล่าวกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลซึ่งเก็บรวบรวมจากนาเขตชลประทานของภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย การทดลองดำเนินการในเรือนทดลองและทำการทดสอบปฏิกิริยาของข้าวลูกผสมจำนวน 2 ครั้งโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ 4 ซ้ำ โดยมีพันธุ์ข้าว/สายพันธุ์ข้าวเปรียบเทียบจำนวน 9 พันธุ์ คือ A12-26-201-436, สายพันธุ์แม่คือ R8-24-1-183-84-227, ชัยนาท 1, ราตูฮีเนติ, ขาวดอกมะลิ 105, อาบาญ่า, ราตูฮีเนติxขาวดอกมะลิ 105 และการประเมินผลปฏิกิริยาของข้าวต่อการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลใช้เกณฑ์มาตาฐานตาม Standard Evaluation System for Rice ของ IRRI ผลการทดลองสามารถผลิตลูกผสมที่มีการรวบยีนต้านทานทั้ง 3 ชนิดได้จำนวน 292 เมล็ด และข้าวสายพันธุ์ลูกผสมดังกล่าวแสดงปฏิกิริยาต่อตอบโต้ต่อการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในภาคเหนือตอนล่าง ได้ในระดับที่ดีกว่าพ่อและแม่ รวมทั้งมีความสามารถในการฟื้นตัวจากความเสียหายที่เกิดจากการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะกล้าได้อย่างรวดเร็ว จนอยู่ในระดับที่ไม่แตกต่างจากพันธุ์ต้านทานมาตรฐานเปรียบเทียบคือ PTB33 ที่ 29 และ 33 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงลงทำลาย

คำสำคัญ: เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ยีนต้านทาน การรวบยอดยีน

Abstract:

The objectives of this study were to produce F1 rice lines that pyramided 3 brown planthopper resistant genes from of BC_4F_{3-4} backcross rice lines ((Rathu Heenati/KDML105) X Chai Nat 1) and ((Abhaya/KDML105) X Chai Nat 1) and evaluate on the reactions of those F1 lines on brown planthoppers (BPH) collected from irrigation paddy fields in lower northern Thailand. The experiments were carried out in green house and the evaluation on F1 was perform twice based on randomized complete block design with 4 replications, using 9 standard rice varieties for comparison: PTB33, TN1, A12-26-201-436, R8-24-1-183-84-227, Chai Nat 1, Rathu Heenati, KDML105, Abhaya, and Rahtu HeenatixKDML105 and indices for resistant evaluation based on standard evaluation system for rice from International Rice Research Institute (IRRI). The result revealed that the total of 292 seeds of F1 rice lines from R8-24-1-183-84-227 carried Bph3 resistant gene and A12-26-201-436 carried Qbph6 and Qbph12 resistant genes was produced. The reactions of those F1 rice lines responded to the infestation of BPH populations were better than those of their parents. The remarkable recovery of those F1 rice lines from the damage caused by the infestation of BPH was found at 29 and 33 days after BPH release and damage score was in the same level as found in PTB33, BPH resistant check variety.

Keywords: brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål), resistant variety, pyramiding genes

แบบสรุปผลการวิจัย
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

---

1. **ชื่อโครงการวิจัย** การรวบยอดยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 3 ชนิดจากข้าวสายพันธุ์ผสมกลับ BC_4F_{3-4}((Rathu Heenati/KDML105) X Chai Nat 1) และ ((Abhaya/KDML105) X Chai Nat 1)

2. **ผู้วิจัยและผู้ร่วมวิจัย**

2.1 หัวหน้าโครงการวิจัย นายวีรเทพ พงษ์ประเสริฐ

2.2 ผู้ร่วมโครงการวิจัย นายสมชาย ธนสินชยกุล

นายเจตน์ คชฤกษ์

นางคณิตา เกิดสุข

3. **ที่ทำงาน** (ที่สามารถติดต่อได้สะดวก)

- ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคเหนือตอนล่าง มหาวิทยาลัยนเรศวร อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก
- คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี (1 ตุลาคม 2556 – 1 ตุลาคม 2557)

ความเป็นมา/ปัญหาในการวิจัย

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens* (Stål)) (=Delphax oryzae) (Homoptera: Delphacidae) จัดว่าเป็นหนึ่งในแมลงศัตรูข้าวที่มีการแพร่ระบาดมากที่สุดในเอเชีย ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นข้าว ทำให้ต้นข้าวมีอาการเหี่ยว และไหม้ตาย (ปรีดา และพันนิภา, 2552) และยังเป็นพาหะถ่ายทอดเชื้อไวรัสโรคเขียวเตี้ย และโรคใบหงิกมาสู่ข้าว ทำให้ข้าวไม่สามารถออกรวง (Heinrichs, 1979; Rivera et al., 1966; Renganayaki et al., 2002) ผลผลิตข้าวลดลง และไม่คุ้มค่าการลงทุน (สุวัฒน์, 2544) การควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมักนิยมใช้สารเคมีฆ่าแมลงเป็นหลัก (สำนวน และวีรเทพ, 2548) ซึ่งมีผลกระทบต่อมนุษย์และสภาพแวดล้อมเป็นอย่างมาก เป็นสาเหตุสำคัญในการทำให้สมดุลธรรมชาติเสียหายอย่างรุนแรง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการทำลายศัตรูธรรมชาติที่สำคัญในนาข้าว นอกจากนี้การใช้สารฆ่าแมลงอย่างต่อเนื่องมีผลทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามารถต้านทาน (Resistance) ต่อสารฆ่าแมลงได้อย่างรวดเร็ว และเร่งการกลับมากระบาดใหม่ (Resurgence) ให้เกิดได้เร็วมากขึ้น (Heinrichs and Mochida, 1984) การควบคุมโดยใช้ข้าว

พันธุ์ต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลนั้นเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการป้องกันกำจัดแมลงที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก และเป็นวิธีการที่ปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม

ปัจจุบันมีการค้นพบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากข้าวพื้นบ้าน ข้าวป่า และหญ้าต่าง ๆ อย่างต่อเนื่อง โดยมียีนต้านทานที่มีคุณลักษณะเด่นไม่น้อยกว่า 21 ชนิดที่ถูกถ่ายทอดลงสู่ข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ซึ่งต่างได้รับการตอบรับจากเกษตรกรเป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามระดับความต้านทานของข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ดังกล่าวเหล่านั้นมักลดลงอย่างรวดเร็วและกลายเป็นพันธุ์อ่อนแอในที่สุด ทั้งนี้เป็นผลจากในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมาการปรับปรุงพันธุ์มักนิยมใช้ยีนเด่นเพียงชนิดเดียวเป็นหลักในการพัฒนาพันธุ์ข้าวต้านทาน กลไกการสร้างความต้านทานไม่ซับซ้อนมาก ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามารถปรับตัวเข้าลงทำลายได้ง่ายและรวดเร็วมาก การรวบยอดยีน (Gene pyramiding) คือการรวมยีนต้านทานแมลงจากข้าวหลายสายพันธุ์ให้อยู่ในสายพันธุ์เดียว เป็นแนวทางที่สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลให้สูงขึ้น ยาวนานขึ้น และครอบคลุมมากขึ้น (Sharma et al., 2004)

ในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมาคณะผู้วิจัยได้ดำเนินการปรับปรุงพันธุ์ข้าวลูกผสมกลับจำนวน 2 สาย โดยวิธี MAS ตั้งแต่ พ.ศ. 2545 สายแรกเป็นการพัฒนาข้าวลูกผสมพันธุ์ราตูฮีเนติ/ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นแหล่งผู้ให้ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด Bph3 กับพันธุ์ชัยนาท 1 และ สายที่สองเป็นข้าวลูกผสมพันธุ์อาบาญ่า/ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นแหล่งผู้ให้ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด Qbph6 และQbph12 กับพันธุ์ชัยนาท 1 และทำการคัดเลือกลูกผสมกลับรุ่น BC_4F_{3-4} ที่มีคุณสมบัติต้านทานดีที่สุดสายละ 1 สายพันธุ์ คือ R8-24-1-183-84-227 และ A12-26-201-436 ตามลำดับ โดยข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์มีพื้น (background) ความเป็นข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 สูงถึง ร้อยละ 96.875 ทางทฤษฎี และหากผสมข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์เข้าด้วยกัน ลูกผสมที่เกิดขึ้น ควรมียีนต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้ง 3 ชนิดรวมเข้าไว้ด้วยกันและมีประสิทธิภาพในการต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดีขึ้นกว่าสายพันธุ์พ่อและแม่

วัตถุประสงค์ของโครงการ

1 เพื่อสร้างข้าวลูกผสมจากการรวบยอดยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามชนิดจากข้าวสายพันธุ์ข้าวผสมกลับ BC_4F_{3-4} ((Rathu Heenati/KDML105) X Chai Nat 1) และ ((Abhaya/KDML105) X Chai Nat 1)

2 ศึกษาปฏิกิริยาและคัดเลือกข้าวสายพันธุ์ลูกผสมจากการรวบยอดยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามชนิดจากข้าวสายพันธุ์ข้าวผสมกลับ BC_4F_{3-4} ((Rathu Heenati/KDML105) X Chai Nat 1) และ ((Abhaya/KDML105) X Chai Nat 1) ที่สามารถต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากพื้นที่นาข้าวแหล่งต่าง ๆ ในเขตชลประทานของภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทยได้

วิธีดำเนินการวิจัย

ดำเนินการผสมข้าวสายพันธุ์ผสมกลับ BC_4F_{3-4} ((Rathu Heenati/KDML105) X Chai Nat 1) คือ R8-24-1-183-84-227 กับ BC_4F_{3-4} ((Abhaya/KDML105) X Chai Nat 1) คือ A12-26-201-436 คัดเลือกและเพาะเมล็ดพันธุ์ที่ได้จำนวน 50 เมล็ด ทำการทดสอบ 2 ชุด

เก็บรวบรวมประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จากพื้นที่นาชลประทานของพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง โดยใช้เกณฑ์จากลักษณะทางภูมิศาสตร์ ช่วยในการคัดเลือก ประกอบด้วยประชากรจากพื้นที่จังหวัดพิษณุโลก พิจิตร กำแพงเพชร ตาก และเพชรบูรณ์ ทำการเลี้ยงเพื่อคัดกรองเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ไม่สมบูรณ์และขยายเพิ่มจำนวนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลบนข้าวพันธุ์ไทชุง 1 (TN1) ซึ่งอ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในโรงเรือนทดลอง โดยทำการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตัวเต็มวัยลงไปเมื่อข้าวอายุ 14 วัน ทำการเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ผ่านการคัดกรองแล้วให้มีปริมาณเพียงพอบนข้าวพันธุ์ไทชุง 1 (TN1) ในโรงเรือนทดลอง

ทดสอบปฏิกิริยาข้าวลูกผสมต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง จำนวน 2 ครั้งโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ 4 ซ้ำ โดยใช้พันธุ์ข้าว PTB33 เป็นพันธุ์มาตรฐานต้านทาน (Resistant Check) และพันธุ์ TN1 เป็นพันธุ์มาตรฐานไม่ต้านทาน (Susceptible Check) มีพันธุ์เปรียบเทียบต่าง ๆ ดังนี้ R8-24-1-183-84-227, A12-26-201-436, ชัยนาท 1, ราตูฮีเนติ, ขาวดอกมะลิ 105, อาบาญ่า, ลูกผสมราตูฮีเนติxขาวดอกมะลิ 105 ทดสอบในสภาพกรงเลี้ยงแมลง หรือในโรงเรือน ทำการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงไปในข้าวทดสอบ เมื่อข้าวอายุ 14 วัน ตรวจและเช็คการกระจายตัวของแมลง โดยปัดบริเวณแถวข้าวทดสอบเพื่อให้แมลงมีการเคลื่อนย้ายกระจายตัวให้ทั่วบริเวณแถวข้าวทดสอบในกระบะเพาะ หลังการปลดปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ 13, 17, 22, 29 และ 33 วัน ทำการตรวจผลการทดสอบความต้านทาน โดยใช้มาตรฐานตาม Standard Evaluation System for Rice ของ IRRI คัดเลือกต้นข้าวที่ผ่านการทดสอบ เพื่อใช้สำหรับพัฒนาสายพันธุ์ต่อไป

ผลการวิจัย

ผลการทดลองสามารถผลิตลูกผสมที่ R8-24-1-183-84-227xA12-26-201-436 มีการรวบยีนต้านทานทั้ง 3 ชนิดได้จำนวน 292 เมล็ด และข้าวสายพันธุ์ลูกผสมดังกล่าวแสดงปฏิกิริยาต่อตอบโต้ต่อการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในภาคเหนือตอนล่าง ได้ในระดับที่ดีกว่าพ่อและแม่ รวมทั้งมีความสามารถในการฟื้นตัวจากความเสียหายที่เกิดจากการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะกล้าได้อย่างรวดเร็ว จนอยู่ในระดับที่ไม่แตกต่างจากพันธุ์ต้านทานมาตรฐานเปรียบเทียบคือ PTB33 ที่ 29 และ 33 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลาย

ประโยชน์ที่ได้รับ

ได้ประชากรข้าวลูกผสมเกิดจากการรวบยอดยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามชนิดจากข้าวสายพันธุ์ข้าวผสมกลับ BC_4F_{3-4} ((Rathu Heenati/KDML105) X Chai Nat 1) และ BC_4F_{3-4} ((Abhaya/KDML105) X Chai Nat 1) ที่มีคุณลักษณะต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพื่อใช้ประโยชน์ในพัฒนาเป็นแหล่งสายพันธุ์ที่เหมาะสมเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าวอื่น ๆ รวมทั้งเพื่อใช้สำหรับพัฒนาเป็นสายพันธุ์และผลิตเป็นเมล็ดพันธุ์ให้แก่เกษตรกรต่อไป

บทนำ

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (Nilaparvata lugens (Stål)) (=Delphax oryzae) (Homoptera: Delphacidae) จัดว่าเป็นหนึ่งในแมลงศัตรูข้าวที่มีการแพร่ระบาดมากที่สุดในเอเชีย ลงทำลายข้าวได้หลากหลายพันธุ์ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นข้าว ทำให้ต้นข้าวมีอาการเหี่ยว และไหม้ตาย (hopperburn) (Yang et al., 2002) นอกจากนี้ยังเป็นพาหะถ่ายทอดเชื้อไวรัสโรคเขียวเตี้ย และโรคใบหงิกมาสู่ข้าว ทำให้ข้าวไม่สามารถออกรวง (Heinrichs, 1979; Rivera et al., 1966; Renganayaki et al., 2002) ผลผลิตข้าวลดลงและไม่คุ้มค่าการลงทุน (สุวัฒน์, 2544) การควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมักนิยมใช้สารเคมีฆ่าแมลงเป็นหลัก (สำนวน และวีรเทพ, 2548) ซึ่งมีผลกระทบต่อมนุษย์และสภาพแวดล้อมเป็นอย่างมาก เป็นสาเหตุสำคัญในการทำให้สมดุลธรรมชาติเสียหายอย่างรุนแรง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการทำลายศัตรูธรรมชาติที่สำคัญในนาข้าว นอกจากนี้การใช้สารฆ่าแมลงอย่างต่อเนื่องมีผลทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามารถต้านทาน (Resistance) ต่อสารฆ่าแมลงได้อย่างรวดเร็ว และเร่งการกลับมากระบาดใหม่ (Resurgence) ให้เกิดได้เร็วมากขึ้น (Heinrichs and Mochida, 1984) การควบคุมโดยใช้ข้าวพันธุ์ต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลนั้นเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการป้องกันกำจัดแมลงที่ได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก และเป็นวิธีการที่ปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม

ในช่วง 3 ทศวรรษ ที่ผ่านมาได้มีการวิจัยและพัฒนาพันธุ์ข้าวต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจนได้รับการรับรองพันธุ์และผลิตเป็นพันธุ์ข้าวมาตรฐานอย่างต่อเนื่อง เช่น สุพรรณบุรี 60 สุพรรณบุรี 90 ชัยนาท 1 ปทุมธานี 1 พิษณุโลก 1 พิษณุโลก 2 พิษณุโลก 3 กข 29 กข 41 กข 47 เป็นต้น ซึ่งข้าวแต่ละพันธุ์ต่างมียีนที่เกี่ยวข้องกับการต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแตกต่างกันในหลายรูปแบบ ทั้งชนิดประเภท คุณสมบัติและจำนวน (ทัศนีย์, 2540; กุลชนา และคณะ, 2550; พันนิภา และนพดล, 2554) ประกอบกับในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมาการพัฒนาศักยภาพของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในพื้นที่ต่าง ๆ ในการเข้าทำลายข้าวต้านทานเหล่านั้น เกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว (ปรีดา และพันนิภา, 2552) ส่งผลต่อช่วงระยะเวลาการใช้ประโยชน์จากข้าวพันธุ์ต้านทานดังกล่าวอย่างชัดเจน (พันนิภา และคณะ, 2548) ปัจจุบันข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลส่วนใหญ่ไม่สามารถต้านทานได้อีกต่อไปแล้ว คงเหลือเพียงข้าวพันธุ์พิษณุโลก 2 และ กข 29 เท่านั้นที่ยังพอใช้ได้ (พุฒิพงษ์ และคณะ, 2554) จึงมีความจำเป็นอย่างเร่งด่วนในการเร่งพัฒนาพันธุ์ข้าวต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลขึ้นมาทดแทนให้ได้โดยเร็ว

ปัจจุบันมีการค้นพบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากข้าวพื้นบ้าน ข้าวป่า และหญ้าต่าง ๆ อย่างต่อเนื่อง โดยมียีนต้านทานที่มีคุณลักษณะเด่นไม่น้อยกว่า 21 ชนิดที่ถูกถ่ายทอดลงสู่ข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ซึ่งต่างได้รับการตอบรับจากเกษตรกรเป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามระดับความต้านทานของข้าวพันธุ์ต่าง ๆ

ดังกล่าวเหล่านั้นมักลดลงอย่างรวดเร็วและกลายเป็นพันธุ์อ่อนแอในที่สุด ทั้งนี้เป็นผลจากในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมาการปรับปรุงพันธุ์มักนิยมใช้ยีนเด่นเพียงชนิดเดียวเป็นหลักในการพัฒนาพันธุ์ข้าวต้านทาน กลไกการสร้างความต้านทานไม่ซับซ้อนมาก ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามารถปรับตัวเข้าลงทำลายได้ง่ายและรวดเร็วมาก จากผลการศึกษาของ Heinrichs (1986) และ Bosque-Perez and Buddenhagen (1992) เกี่ยวกับยีนต้านทานต่อแมลงศัตรูพืชพบว่า คุณลักษณะต้านทานที่ได้จากยีนที่แสดงความต้านทานในระดับกลางหรือจากการแสดงออกของยีนหลาย ๆ ชนิดร่วมกันมักให้ผลในการต้านทานได้ยาวนานกว่า คงทนกว่าคุณลักษณะต้านทานที่ได้จากยีนเด่นเพียงชนิดเดียว จึงเกิดแนวคิดในการรวมยีนต้านทานแมลงที่เป็นอิสระต่อกันทั้งที่ค้นพบใหม่หรือใช้ประโยชน์อยู่แล้วแต่มีคุณสมบัติต้านทานลดลงเข้าไว้ในสายพันธุ์ข้าวเพียงหนึ่งเดียวหรือที่เรียกว่าการรวบยอดยีน (Gene pyramiding) ขึ้น ซึ่งเป็นแนวทางที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลให้สูงขึ้น ยาวนานขึ้น และครอบคลุมความหลากหลายทางชีวชนิดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดีขึ้น (Sharma et al., 2004) เช่น การรวมยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด *Bph1* และ *Bph2* ลงในข้าว japonica ทำให้มีความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้สูงมากกว่าพันธุ์เดิมที่มีเพียงยีนเดียวได้อย่างชัดเจน ประกอบกับปัจจุบันด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลรูปแบบต่าง ๆ ทำให้เกิดการค้นพบโมเลกุลเครื่องหมาย (Molecular markers) มากมายที่เกี่ยวข้องกับยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และนำสู่การพัฒนาการใช้ประโยชน์ เพื่อช่วยในการตรวจสอบลักษณะทางพันธุกรรม ติดตาม และคัดเลือกข้าวลูกผสมสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่ต้องการ (marker-assisted selection, MAS) รวมทั้งการรวบยอดยีนต่าง ๆ เข้าด้วยกัน ในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการปรับปรุงพันธุ์ ได้อย่างรวดเร็ว ถูกต้อง แม่นยำ สามารถลดระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ ให้สั้นลงได้เป็นอย่างมาก (Tanksley et. al., 1989; จิระพงศ์ และคณะ, 2548)

ในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมาคณะผู้วิจัยได้ดำเนินการปรับปรุงพันธุ์ข้าวลูกผสมกลับจำนวน 2 สาย โดยวิธี MAS ตั้งแต่ พ.ศ. 2545 สายแรกเป็นการพัฒนาข้าวลูกผสมพันธุ์ราตูฮีเนติ/ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นแหล่งผู้ให้ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด *Bph3* กับพันธุ์ชัยนาท 1 และ สายที่สองเป็นข้าวลูกผสมพันธุ์อาบาญ่า/ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นแหล่งผู้ให้ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด *Qbph6* และ*Qbph12* กับพันธุ์ชัยนาท 1 จนถึงขณะนี้ได้ทำการคัดเลือกลูกผสมกลับรุ่น BC4F3-4 ที่มีคุณสมบัติต้านทานดีที่สุดสายละ 1 สายพันธุ์ คือ R8-24-1-183-84-227 และ A12-26-201-436 ตามลำดับ ซึ่งผ่านการทดสอบกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากแหล่งต่าง ๆ ในภาคเหนือตอนล่าง รวมทั้งผ่านการตรวจสอบการคงอยู่ของยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้ง 3 ชนิดด้วยโมเลกุลเครื่องหมายแล้ว โดยข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์มีพื้น (background) ความเป็นข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 สูงถึง ร้อยละ 96.875 ทางทฤษฎี ดังนั้นหากผสมข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์เข้าด้วยกัน จะเป็นการรวบยอดยีน (pyramiding genes) ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้ง 3 ชนิดเข้าไว้ด้วยกันในลูกผสมที่เกิดขึ้น สามารถเสริมการทำงาน

ร่วมกันให้เกิดประสิทธิภาพในการต้านทานได้สูงขึ้นและยาวนานขึ้นได้ โดยมีความเป็นข้าวชัยนาท 1 ร้อยละ 96.875 ทางทฤษฎี

คณะผู้วิจัยจึงได้เล็งเห็นความสำคัญในการดำเนินการพัฒนาข้าวลูกผสมดังกล่าวให้เป็นข้าวที่มีความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มีประสิทธิภาพ รองรับการแก้ไขปัญหาจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ในอนาคต จึงได้จัดทำโครงการวิจัยเรื่อง การรวบยอดยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามชนิดจากข้าวสายพันธุ์ข้าวผสมกลับ BC4F3-4 ((Rathu Heenati/KDML105) X Chai Nat 1) และ ((Abhaya/KDML105) X Chai Nat 1) ขึ้น เพื่อสร้างและคัดเลือกข้าวลูกผสมสายพันธุ์ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เหมาะสม เพื่อใช้สำหรับการพัฒนาสายพันธุ์เพื่อการรับรองพันธุ์และผลิตเป็นเมล็ดพันธุ์ให้แก่เกษตรกรต่อไป

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1 เพื่อสร้างข้าวลูกผสมจากการรวบยอดยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามชนิดจากข้าวสายพันธุ์ข้าวผสมกลับ BC4F3-4 ((Rathu Heenati/KDML105) X Chai Nat 1) และ ((Abhaya/KDML105) X Chai Nat 1)

2 ศึกษาปฏิกิริยาและคัดเลือกข้าวสายพันธุ์ลูกผสมจากการรวบยอดยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามชนิดจากข้าวสายพันธุ์ข้าวผสมกลับ BC4F3-4 ((Rathu Heenati/KDML105) X Chai Nat 1) และ ((Abhaya/KDML105) X Chai Nat 1) ที่สามารถต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากพื้นที่นาข้าวแหล่งต่าง ๆ ในเขตชลประทานของภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทยได้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ประชากรข้าวลูกผสมเกิดจากการรวบยอดยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามชนิดจากข้าวสายพันธุ์ข้าวผสมกลับ BC4F3-4 ((Rathu Heenati/KDML105) X Chai Nat 1) และ ((Abhaya/KDML105) X Chai Nat 1) BC4F3 ((อาบาญ่าXขาวดอกมะลิ) X ชัยนาท 1) ที่มีคุณลักษณะต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพื่อใช้ประโยชน์ในพัฒนาเป็นแหล่งสายพันธุ์ที่เหมาะสมเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าวอื่น ๆ รวมทั้งเพื่อใช้สำหรับพัฒนาเป็นสายพันธุ์และผลิตเป็นเมล็ดพันธุ์ให้แก่เกษตรกรต่อไป

ขอบเขตของโครงการวิจัย

โครงการนี้ดำเนินการครอบคลุมการศึกษาตั้งแต่ สร้างข้าวลูกผสมจากการรวบยอดยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามชนิดจากข้าวสายพันธุ์ข้าวผสมกลับ BC4F3-4 ((Rathu Heenati/KDML105) X Chai Nat 1) และ ((Abhaya/KDML105) X Chai Nat 1) และการศึกษาปฏิกิริยาและคัดเลือกข้าวสายพันธุ์ลูกผสมดังกล่าวกับประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากพื้นที่นาข้าวแหล่งต่าง ๆ ในเขตชลประทานของภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทยได้

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

พืชชนิดต่าง ๆ ในธรรมชาติ มักพบได้เสมอว่า พืชจำนวนหนึ่งมีคุณลักษณะทางพันธุกรรมที่สามารถทนทานหรือต้านทานต่อการทำลายของแมลงศัตรูพืชได้ โดยทั่วไปสามารถจำแนกได้เป็น 3 รูปแบบ คือ ประเภทแรก พืชสร้างสารพิษในรูปแบบต่าง ๆ (Antibiosis) ทำให้แมลงเกิดอาการผิดปกติ เช่น หยุดการเจริญ เบื่ออาหาร หรือตายได้ ประเภทที่สอง พืชสร้างโครงสร้างพิเศษ เช่น มีขน ไข หรือ epidermal cell หนาขึ้น แข็งขึ้น ทำให้แมลงไม่ชอบ (Non-preference) ประเภทที่สาม พืชสามารถสร้างหรือเจริญเติบโตทดแทนส่วนที่ถูกแมลงทำลายได้จนถึงระดับที่ไม่ก่อให้เกิดความเสียหายหรือเป็นอันตรายใด ๆ กับพืช (Tolerance) โดยพืชชนิดหนึ่ง ๆ อาจมีลักษณะความต้านทานแมลงเพียงแบบเดียวหรือหลายแบบร่วมกันก็ได้ (Pedigo, 1996) ในปัจจุบัน ลักษณะความต้านทานต่อแมลงของพืชหลายชนิดได้รับการศึกษาค้นคว้า จนสามารถกำหนดรู้ตำแหน่งที่ตั้งของยีนบนโครโมโซม และนำมาใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์อย่างกว้างขวาง (Vanavichit et al., 2003; Xiao et al., 1996; Morgante and Olivieri, 1993;Frisch et al., 1999; Jenning at al., 1979) หนึ่งในจำนวนยีนต้านทานเหล่านั้น

การปรับปรุงพันธุ์โดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย (Marker Assisted Selection, MAS) เป็นวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพที่นำโมเลกุลเครื่องหมาย ซึ่งเป็นชิ้นส่วนของดีเอ็นเอในตำแหน่งที่อยู่ใกล้กับยีน (linkage) หรือเป็นส่วนหนึ่งของยีน ช่วยในการตรวจสอบพันธุ์กรรมของลูกผสมที่ได้จากกระบวนการปรับปรุงพันธุ์เพื่อคัดเลือกเฉพาะลูกผสมที่มีลักษณะทางพันธุกรรมตรงตามที่ต้องการ (Jena and Mackill, 2008) โดยการตรวจสอบสามารถทำได้ตั้งแต่ในระยะที่พืชเป็นต้นกล้า ไม่ต้องรอจนกระทั่งพืชให้ผลผลิต นอกจากทำให้กระบวนการปรับปรุงพันธุ์ใช้ระยะเวลาสั้นลงเป็นอย่างมากแล้ว ผลการตรวจสอบการถ่ายทอดยีนที่ต้องการยังมีความแม่นยำมากเพราะเป็นการตรวจสอบจากลักษณะทางพันธุกรรมโดยตรง (Frisch et al., 1999)

ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เป็นข้าวสายพันธุ์ที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์จากสถานีทดลองข้าวชัยนาท โดยมีชื่อเดิมว่า CNTBR82075-43-2-1 และได้รับการทดสอบสายพันธุ์จนได้รับการรับรองพันธุ์เมื่อ พ.ศ. 2536 ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 เป็นข้าวที่เกิดจากการผสม 3 ทางระหว่างลูกผสมชั่วที่ 1 ของคู่ผสม IR13146-158-1 กับสายพันธุ์ IR15314-43-2-3-3 และ BKN6995-16-1-1-2 จัดเป็นข้าวที่มีคุณสมบัติดี สอดคล้องกับความต้องการของเกษตรกรในเขตพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างและภาคกลาง ผลผลิตสูง คุณภาพดีเป็นที่ต้องการของตลาด ที่สำคัญเป็นข้าวที่มีความต้านทานต่อการทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดีมาก เนื่องจากได้รับยีนต้านทาน *bph4* ของ ข้าวพันธุ์ babawe ซึ่งถ่ายทอดผ่านมาทางพันธุกรรมของข้าวสายพันธุ์ IR15314-43-2-3-3 (กรมวิชากรเกษตร, 2546) จึงได้รับการยอมรับจากเกษตรกรอย่างรวดเร็ว และนิยมปลูกกันอย่างแพร่หลายติดต่อกันเป็นเวลาหลายปีตั้งแต่กรมวิชาการได้แนะนำพันธุ์เป็นต้นมา มีผลทำให้เกิดแรงกดดันจากกระบวนการคัดเลือกโดยธรรมชาติกระทำต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลให้เกิดการปรับตัวจนสามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ได้อย่างรวดเร็ว จึงมีผลทำให้ในปัจจุบันระดับความต้านทานเพลี้ยกระโดสีน้ำตาลของข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ลดลงเป็นอย่างมาก จำเป็นต้องเร่งค้นหาแนวทางในการแก้ไขปรับปรุงพันธุ์ข้าวชัยนาท 1 ให้มีระดับความต้านทานที่เพิ่มสูงขึ้น

ในประเทศไทย Jairin et al. (2005) ได้นำข้าว Abhaya ผสมกับข้าวขาวดอกมะลิ 105 และด้วยเทคนิคการผสมกลับ ร่วมกับเทคนิค Bulked segregant analysis (BSA) และ qualitative trait loci (QTL) ทำให้พบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแบบ *Qbph6* และ *Qbph12* บนโครโมโซม 6 และ 12 ตามลำดับ และจากการทดสอบระดับความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เก็บรวบรวมจากแหล่งปลูกข้าวหลายแหล่งของประเทศไทย พบว่า ยีนควบคุมลักษณะความต้านทานแบบ broad spectrum และมีศักยภาพในการนำมาใช้ประโยชน์ได้ รวมทั้งได้พัฒนาข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงระหว่างข้าว ขาวดอกมะลิ (KDML105) กับข้าวสายพันธุ์อาบาญ่าจนกระทั่งถึง BC4F3 (Jairin et al., 2007) จากนั้น วีรเทพ และคณะ (2550) ได้นำข้าวพันธุ์ปรับปรุงระหว่างข้าว ขาวดอกมะลิ (KDML105)\ข้าวพันธุ์อาบาญ่า BC4F3 ดังกล่าวผสมกับข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และใช้โมเลกุลเครื่องหมายแบบเกี่ยวพันคือ RM 50, RM 217 และ RM 225 ติดตามการถ่ายยีน *Qbph6* และ RM 260, RM 277 และRM309 สำหรับติดตามการถ่ายยีน *Qbph12* (วีรเทพ และคณะ, 2550) ในข้าวรุ่นต่าง ๆ ได้ ซึ่งคณะผู้วิจัยได้ใช้เทคนิคการผสมกลับร่วมกับการคัดเลือกข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงจนถึงระยะ BC4F3 ได้จำนวน 6 สายพันธุ์ ซึ่งมีคุณลักษณะต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดี (เจตน์ และคณะ, 2552)

ส่วนยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด *Bph3* จากข้าวสายพันธุ์ ราตูฮีนาติ ถูกค้นพบ โดยเทคนิค Bulked segregant analysis (BSA) และ QTL ระหว่างข้าว PTB33 กับข้าวสายพันธุ์ราตูฮีนาติ และกำหนดตำแหน่งของยีนบนโครโมโซมได้สำเร็จ (Jairin et al., 2005) ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด *Bph3* เป็นยีนที่มีศักยภาพให้ความต้านทานในระดับสูงมาก และครอบคลุมชีวชนิดของแมลง

ได้หลายชนิด (Khush and Barar, 1991) และมีผลการค้นพบโมเลกุลเครื่องหมายที่เหมาะสมและเกี่ยวข้องกับยีนในตำแหน่งดังกล่าว ระหว่างสายพันธุ์ผู้ให้ที่เป็นข้าวสายพันธุ์ปรับปรุงราตูฮีนาติ กับ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และสายพันธุ์ผู้รับคือพันธุ์ชัยนาท 1 สำเร็จแล้ว และโมเลกุลเครื่องหมายที่มีความเหมาะสมมากที่สุดในการติดตามและตรวจสอบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด *Bph3* คือ RM 190, RM 170 และ RM 589 (สุรเดช และคณะ, 2548) ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด Bph3 ได้รับการคัดเลือกและถ่ายทอดลงในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และผ่านการพัฒนาตามขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์ด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุล จนได้ข้าวลูกผสมสายพันธุ์ปรับปรุง BC4F3 เรียบร้อยแล้ว จำนวน 11 สายพันธุ์

การรวบยอดยีน จากผลการศึกษาของ Heinrichs (1986) และ Bosque-Perez and Buddenhagen (1992) เกี่ยวกับยีนต้านทานต่อแมลงศัตรูพืชพบว่า คุณลักษณะต้านทานที่ได้จากยีนที่แสดงความต้านทานได้ในระดับกลางหรือจากการแสดงออกของยีนหลาย ๆ ชนิดร่วมกันมักให้ผลในการต้านทานได้ยาวนานกว่า คงทนกว่าคุณลักษณะต้านทานที่ได้จากยีนเด่นเพียงชนิดเดียว จึงเกิดแนวคิดในการรวมยีนต้านทานแมลงที่เป็นอิสระต่อกันทั้งที่ค้นพบใหม่หรือใช้ประโยชน์อยู่แล้วแต่มีคุณสมบัติต้านทานลดลงเข้าไว้ในสายพันธุ์ข้าวเพียงหนึ่งเดียวหรือที่เรียกว่าการรวบยอดยีน (Gene pyramiding) ขึ้น ซึ่งเป็นแนวทางที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้สูงขึ้น ยาวนานขึ้น และครอบคลุมความหลากหลายทางชีวชนิดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้มากขึ้นได้ (Sharma et al., 2004) เช่น การรวมยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด *Bph1* และ *Bph2* ลงในข้าว japonica ทำให้มีความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้สูงมากกว่าพันธุ์เดิมที่มีเพียงยีนเดียวได้อย่างชัดเจน

ดังนั้นการรวบยอดยีนทั้ง 3 ชนิดจาก ข้าวทั้ง 2 สาย เป็นการเพิ่มยีนต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มีศักยภาพเข้าไปในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ซึ่งมียีนต้านทานดั้งเดิมอยู่แล้ว จึงเป็นหนทางในการเพิ่มศักยภาพของข้าวลูกผสมที่ได้ ทั้งทางตรงคือยีนชนิดใหม่ทั้ง 3 ชนิดแสดงผลต่อการยับยั้งการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยตรง หรือทางอ้อม ยีนชนิดใหม่ทั้งสามชนิดทำงานร่วมกับยีน *bph4* ที่มีอยู่เดิมเสริมสร้างกลไกการยับยั้งการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดียิ่งขึ้น

แผนการดำเนินการ

ระยะเวลาทำการวิจัยตั้งแต่เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2556–กันยายน พ.ศ. 2557 รวมระยะเวลา 1 ปี สถานที่ทำการทดลอง คือ ห้องปฏิบัติการและเรือนเพาะชำ คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร อ.เมือง จ.พิษณุโลก ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก ถนน มิตรภาพ ตำบล วังทอง อำเภอ วังทองจังหวัด พิษณุโลก และ Rice Gene Discovery Unit, National Center for

Genetic Engineering and Biotechnology Central Laboratory, Kasetsart University Kamphangsaen Campus, Nakhon Prathom

กิจกรรม	ต.ค.-ธ.ค. 2556	ม.ค.-ก.ย. 2557
ทำการผสมข้าวสายพันธุ์ R8-24-1-183-84-227 กับ A12-26-201-436 และคัดเลือกและเพาะเมล็ดพันธุ์		
ตรวจสอบการคงอยู่ของยีนต้านทานทั้ง 3 ชนิด ด้วยโมเลกุลเครื่องหมาย		
คัดเลือกต้นกล้าข้าวของข้าวลูกผสมที่มียีนทั้ง 3 ชนิดปรากฏอยู่		
เก็บรวบรวมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จากพื้นที่จังหวัดภาคเหนือตอนล่าง		
ปลูกข้าวทดสอบพันธุ์ต่าง ๆ		
ทดสอบปฏิกิริยาต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลกับข้าวลูกผสม		
คัดเลือกข้าว BC_4F_{3-4} ที่ผ่านการทดสอบและทำการขยายพันธุ์		
รวบรวมข้อมูล จัดพิมพ์รายงานการวิจัย		

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ทำผสมข้าวสายพันธุ์ผสมกลับ BC_4F_{3-4} ((Rathu Heenati/KDML105) X Chai Nat 1) คือ R8-24-1-183-84-227 กับ BC_4F_{3-4} ((Abhaya/KDML105) X Chai Nat 1) คือ A12-26-201-436 คัดเลือกและเพาะเมล็ดพันธุ์ที่ได้จำนวน 50 เมล็ด ทำการทดสอบ 2 ชุด
2. ตรวจสอบการคงอยู่ของยีนต้านทานทั้ง 3 ชนิด โดยตัดใบในระยะต้นกล้าข้าว อายุ 7 วัน จากพันธุ์ข้าวชัยนาท 1 ขาวดอกมะลิ 105 Rathu Heenati/KDML105 ((Rathu Heenati/KDML105) X Chai Nat 1) Abhaya/KDML105 ((Abhaya/KDML105) X Chai Nat 1) และ พันธุ์ลูกผสมทั้ง 100 เมล็ด สกัดดีเอ็นเอ โดยใช้ ชุดสกัดดีเอ็นเอ (DNA Traps Kits, หน่วยค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ,http://dnatec.kps.ku.ac.th) ตรวจสอบปริมาณและคุณภาพของดีเอ็นเอที่ได้โดย spectrophotometer และ agarose gel-electrophoresis
3. ติดตามการคงอยู่ของยีนจากโมเลกุลเครื่องหมาย RM 190, RM 170 และ RM 589 สำหรับตรวจสอบยีนต้านทานชนิด *Bph3* ส่วน RM 50, RM 217, RM 225 สำหรับตรวจสอบยีนต้านทานชนิด *Qbph6* และ RM 260, RM 277, RM 309 สำหรับตรวจสอบยีนต้านทานชนิด *Qbph12* โดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอเครื่องหมาย ด้วยปฏิกิริยา polymerase chain reaction, PCR ของเครื่อง thermocycler, MJ Research (PTC 100) ส่วนผสมของ PCR ในแต่ละปฏิกิริยาที่มีปริมาตร 10 µL ประกอบด้วย 40 ng ดีเอ็นเอข้าวแต่ละสายพันธุ์; 200 µM ของ dNTP (Bio 101), primer ที่เป็นทั้ง forward และ reverse ของ SSR marker สายละ 0.2 µM ของดีเอ็นเอเครื่องหมายละชนิดที่คัดเลือกจาก ข้อ 2, 3 mM $MgCl_2$, 0.2 Unit ของ Taq DNA polymerase และ 1X ของ PCR buffer นำส่วนผสมที่ได้ใส่เครื่องเพิ่มปริมาณ ดีเอ็นเอ โดยมีรายละเอียดของอุณหภูมิและระยะเวลาในแต่ละรอบดังนี้ เริ่มต้นด้วยอุณหภูมิ 94 °C เป็นเวลา 3 นาที และตามด้วยรอบของอุณหภูมิ 94 °C เป็นเวลา 30 วินาที, อุณหภูมิ 55 °C เป็นเวลา 30 วินาที และอุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 2 นาที เป็นจำนวน 35 รอบ ปิดท้ายด้วยอุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 5 นาที และรักษาอุณหภูมิไว้ที่ 4 °C ทำการตรวจสอบดีเอ็นเอเครื่องหมายที่ได้ด้วย 4.5% denaturing polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) ใน 1X TBE buffer และย้อมแผ่นเจลด้วย silver nitrate นับจำนวนและตำแหน่งของดีเอ็นเอเครื่องหมายแบบ SSR ที่เกิดขึ้น

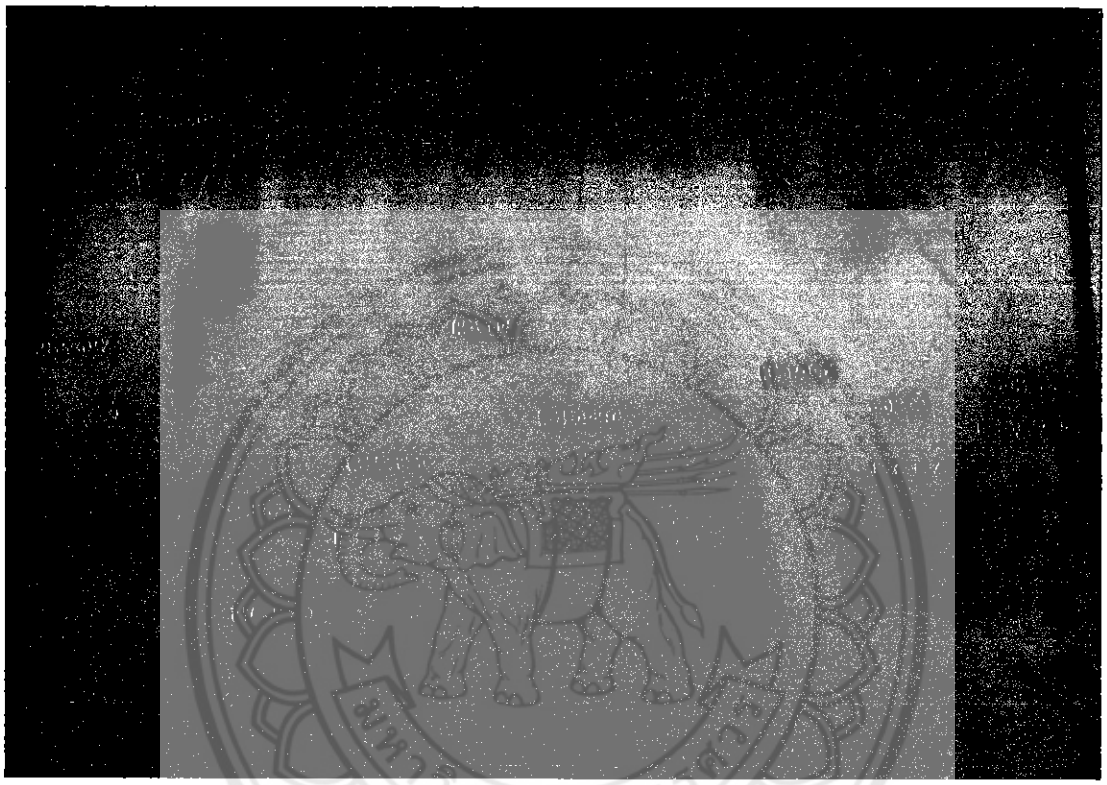
4. คัดเลือกข้าวลูกผสมที่ปรากฏการคงอยู่ของยีนทั้ง 3 ชนิดบนสารพันธุกรรม
5. เก็บรวบรวมประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จากพื้นที่นาชลประทานของพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง โดยใช้เกณฑ์จากลักษณะทางภูมิศาสตร์ ช่วยในการคัดเลือก ในเบื้องต้นประกอบด้วยประชากรจากพื้นที่จังหวัดพิษณุโลก พิจิตร กำแพงเพชร ตาก และเพชรบูรณ์
6. ทำการเลี้ยงเพื่อคัดกรองเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ไม่สมบูรณ์และขยายเพิ่มจำนวนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลบนข้าวพันธุ์ไทชุง 1 (TN1) ซึ่งอ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในโรงเรือนทดลอง โดยทำการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตัวเต็มวัยลงไปเมื่อข้าวอายุ 14 วัน
7. ทำการเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ผ่านการคัดกรองแล้วให้มีปริมาณเพียงพอบนข้าวพันธุ์ไทชุง 1 (TN1) ในโรงเรือนทดลอง
8. ทดสอบปฏิกิริยาข้าวลูกผสมต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง โดยใช้พันธุ์ข้าว PTB33 เป็นพันธุ์มาตรฐานต้านทาน (Resistant Check) และพันธุ์ TN1 เป็นพันธุ์มาตรฐานไม่ต้านทาน (Susceptible Check) มีพันธุ์เปรียบเทียบต่าง ๆดังนี้ R8-24-1-183-84-227, A12-26-201-436, ชัยนาท 1, ราตูฮีเนติ, ขาวดอกมะลิ 105, อาบาญ่า, ลูกผสมราตูฮีเนติxขาวดอกมะลิ 105 ทดสอบในสภาพกรงเลี้ยงแมลง หรือในโรงเรือน
9. ปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงไปในข้าวทดสอบ เมื่อข้าวอายุ 14 วัน ตรวจและเช็คการกระจายตัวของแมลง โดยปัดบริเวณแถวข้าวทดสอบเพื่อให้แมลงมีการเคลื่อนย้ายกระจายตัวให้ทั่วบริเวณแถวข้าวทดสอบในกระบะเพาะ
10. หลังจากปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแล้ว 13, 17, 22,19 และ 33 วัน ทำการตรวจผลการทดสอบความต้านทาน โดยใช้มาตรฐานตาม Standard Evaluation System for Rice ของ IRRI
11. วิเคราะห์ข้อมูลจัดทำ Dendrogram เปรียบเทียบปฏิกิริยาของข้าวพันธุ์และสายพันธุ์ต่าง ๆที่มีต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ด้วย Hierarchical cluster analysis ใช้วิธีการจัดกลุ่มแบบ Between-groups linkage
12. คัดเลือกต้นข้าวที่ผ่านการทดสอบ เพื่อทำการทดสอบในสภาพนาทดลอง และทำการขยายพันธุ์ข้าวที่ผ่านการคัดเลือกเพื่อใช้สำหรับพัฒนาสายพันธุ์ และผลิตเป็นเมล็ดพันธุ์ให้แก่เกษตรกรต่อไป

ตาราง 1 การให้คะแนนปฏิกิริยาของพันธุ์ข้าวต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสภาพโรงเรือนโดยใช้ วิธีการปรับปรุงจาก SES (1988)[1]

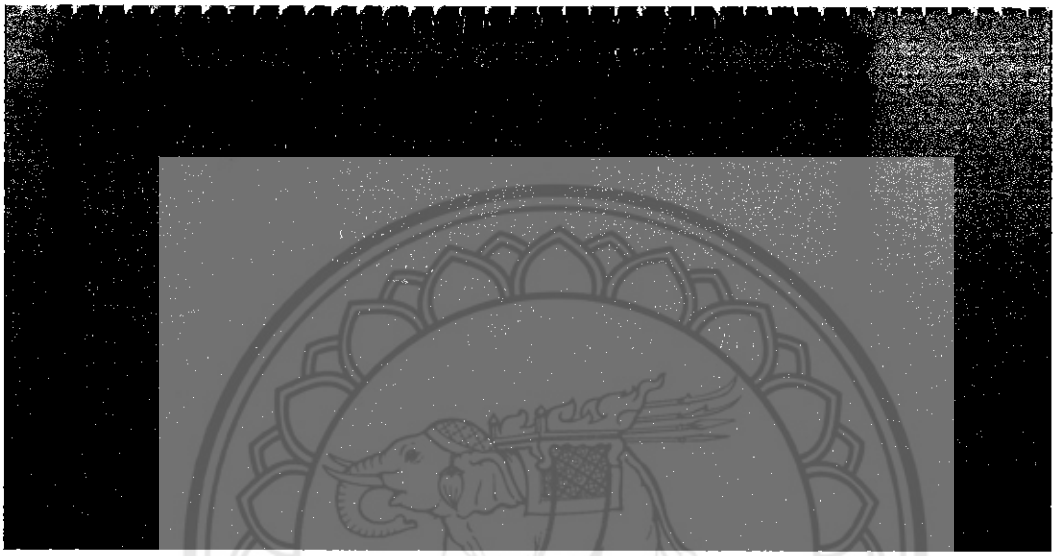
คะแนนความเสียหาย	ลักษณะอาการของต้นข้าวภายหลังการทดสอบ	ระดับความต้านทาน
0	ต้นข้าวสวยสมบูรณ์ไม่มีอาการผิดปกติ	HR
1	ไม่เกิน 50% ของต้นข้าวทั้งหมดมีปลายใบล่างสุดเหลืองเล็กน้อย (<1/3 ของใบ)	R
2	ต้นข้าวส่วนใหญ่ (มากกว่า 50% ของต้นข้าวทั้งหมด) มีใบล่างสุดเหลืองเล็กน้อย (ประมาณ 1/3 ของใบข้าว)	R
3	ต้นข้าวส่วนใหญ่ (มากกว่า 50% ของต้นข้าวทั้งหมด) มีใบที่ 1 และ 2 เหลืองประมาณ 1/3 ของใบ	MR
4	ใบข้าวส่วนใหญ่ เหลืองตั้งแต่ >1/3-1/2 ของใบ	MS
5	ใบข้าวทั้งหมดเหลืองอย่างเด่นชัด และต้นเตี้ยแคระแกร็น หรือต้นข้าวเหี่ยวหรือตาย 10-25%	MS
6	ใบข้าวทั้งหมดเหลืองอย่างเด่นชัด และต้นเตี้ยแคระแกร็น หรือต้นข้าวเหี่ยวหรือตาย 30-50%	MS
7	ต้นข้าว 55-75% เหี่ยวหรือตาย ต้นข้าวที่เหลืองเตี้ยแคระแกร็น	S
8	ต้นข้าว 80-95% เหี่ยวหรือตายต้นข้าวที่เหลืองเตี้ยแคระแกร็น	HS
9	ต้นข้าวตายหมด 100%	HS

ผลการวิจัยและวิเคราะห์ผล

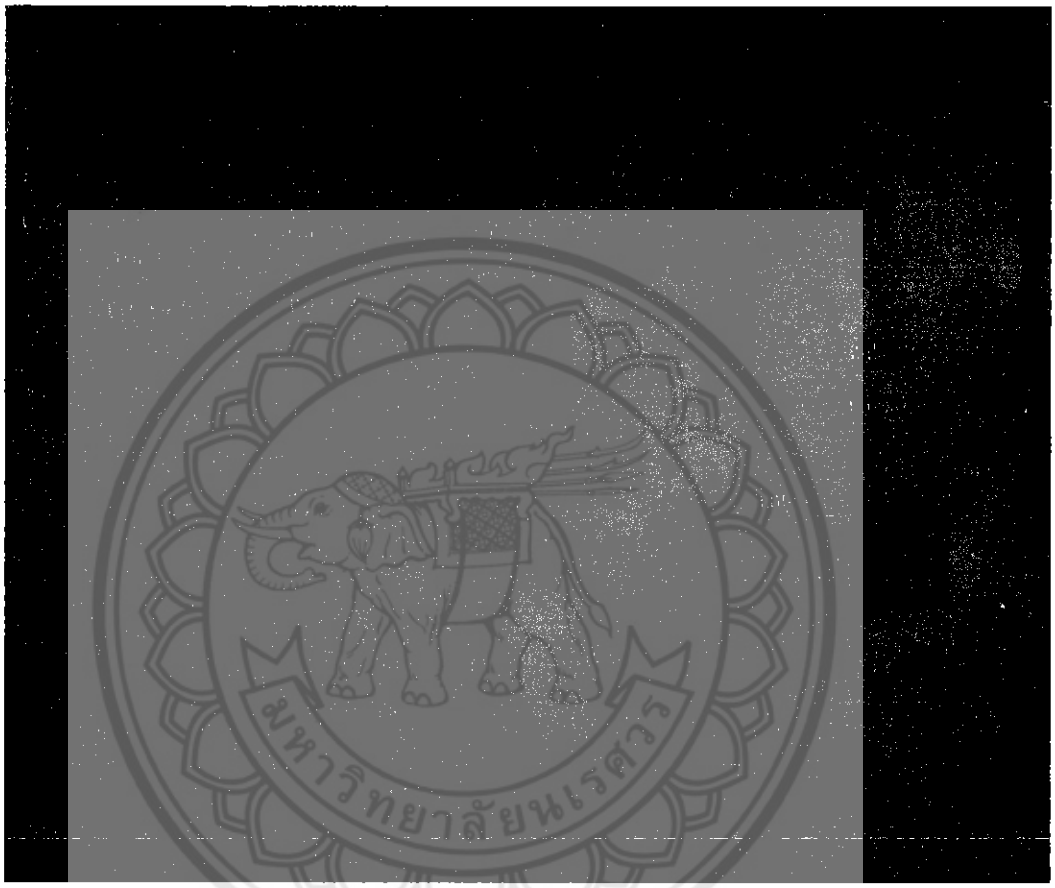
การผสมข้าวสายพันธุ์ R8-24-1-183-84-227 กับ A12-26-201-436 ได้เมล็ดพันธุ์ลูกผสม F1 จำนวน 292 เมล็ด และทำการสุ่มคัดเลือกเมล็ดพันธุ์ ทำการเพาะกล้า ได้เมล็ดที่งอกเป็นต้นกล้าจำนวน 50 เมล็ด จำนวน 2 ชุด ให้หมายเลขเมล็ดพันธุ์ R8-227 A12-436-001จนถึง R8-227 A12-436-100 และตัดใบกล้าตรวจสอบการคงอยู่ของยีนต้านทานทั้ง 3 ชนิด ด้วยดีเอ็นเอเครื่องหมาย RM 190, RM 170 และ RM 589 สำหรับตรวจสอบยีนต้านทานชนิด *Bph3* ส่วน RM 50, RM 217, RM 225 สำหรับตรวจสอบยีนต้านทานชนิด *Qbph6* และ RM 260, RM 277, RM 309 สำหรับตรวจสอบยีนต้านทานชนิด *Qbph12* โดยมีรายงานว่า โมเลกุลเครื่องหมาย RM170, RM586, RM589, RM50, RM225 และ RM277 สามารถใช้ในการตรวจสอบความแตกต่างของยีนต้านทานในชุดนี้ได้ (Saisamai, 2013) อย่างไรก็ตาม พบว่าโมเลกุลเครื่องหมายทุกตัวข้างต้นไม่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์พ่อและแม่ได้ คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการค้นหาดีเอ็นเอเครื่องหมายที่เหมาะสมบนโครงโมโซม 4, 6 และ 12 เพิ่มเติม โดยทำการทดสอบโมเลกุลเครื่องหมายที่มีแนวโน้มที่สร้างความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์พ่อและแม่ทั้งหมดที่มีรายงานบนตำแหน่งที่ใกล้เคียงกับยีนทั้ง สาม ชนิด คือ RM400 RM8084 RM7443 RM6293 RM8102 RM30 RM588 RM7240 RM3285 RM6094 RM5509 RM8072 RM19341 RM8002 RM20590 RM19341 RM1003 SSR24 SSR25 ซึ่งอยู่ในตำแหน่งที่ใกล้เคียงกับยีนทั้ง 3 ตำแหน่ง แต่ผลการทดสอบพบว่าโมเลกุลเครื่องหมายทุกตัวข้างต้นที่ทดลองเพิ่มเติมยังไม่สามารถจำแนกความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์พ่อและแม่ได้ (ภาพที่ 1,2,3) ทำให้ไม่สามารถตรวจสอบการคงอยู่ของยีนในการปรับปรุงพันธุ์ด้วยเทคนิค MAS ได้ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องทำการปรับปรุงข้าวสายพันธุ์นี้โดยวิธีปกติแทน คือใช้วิธีการทดสอบปฏิกิริยาของข้าวลูกผสมกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็นสิ่งคัดเลือกสายพันธุ์แทน อย่างไรก็ตาม คณะผู้วิจัยยังคงรอการค้นพบโมเลกุลเครื่องหมายชนิดใหม่ ๆ ที่อยู่ใกล้เคียงกับยีนทั้งสามชนิด ซึ่งอาจมีการค้นพบเพิ่มเติม เพื่อใช้ในการคัดเลือกลูกผสมในระยะต่าง ๆ ในอนาคต



ภาพที่ 1 การทดสอบเพื่อคัดเลือกโมเลกุลเครื่องหมายแบบ SSR ชนิด RM6094, RM5509, RM8082, RM19341, RM8002, RM20590, RM19341, RM1003, SSR24, SSR25 ที่แสดง polymorphism ระหว่างสายพันธุ์แม่ R8-24-1-183-84-227 (1) และพ่อ A12-26-201-436 (2) โดยมี ชัยนาท 1 (3), Rathu Heenati/KDML105 (4) และ Abhaya (5) เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ



ภาพที่ 2 การทดสอบเพื่อคัดเลือกโมเลกุลเครื่องหมายแบบ SSR ชนิด RM190, RM170, RM589, RM50, RM225, RM277 ที่แสดง polymorphism ระหว่างสายพันธุ์แม่ R8-24-1-183-84-227 (1) และพ่อ A12-26-201-436 (2) โดยมี ชัยนาท 1 (3), Rathu Heenati/KDML105 (4) และ Abhaya (5) เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ



ภาพที่ 3 การทดสอบเพื่อคัดเลือกโมเลกุลเครื่องหมายแบบ SSR ชนิด RM8084, RM400, RM7443, RM6293, RM8639, RM8102, RM586, RM30, RM588, RM8240, RM3285 ที่แสดง polymorphism ระหว่างสายพันธุ์แม่ R8-24-1-183-84-227 (1) และพ่อ A12-26-201-436 (2) โดยมี ชัยนาท 1 (3), Rathu Heenati/KDML105 (4) และ Abhaya (5) เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ

ในส่วนของแมลง ได้ทำการเก็บรวบรวมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากพื้นที่นาในจังหวัดพิษณุโลก พิจิตร กำแพงเพชร ตาก นครสวรรค์ เพชรบูรณ์ อุตรดิตถ์ และสุโขทัย เนื่องจากพบเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในปริมาณที่น้อยมาก จากแต่ละจังหวัด ประกอบกับประสบปัญหาสภาพอากาศที่ร้อนมาก เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลส่วนใหญ่ไม่สามารถดำรงชีพรอดได้ ทำให้จำนวนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลไม่เพียงพอต่อการทดสอบเป็นรายจังหวัดได้ จึงได้ทำการรวมประชากรของเพลี้ยทั้งหมดเข้าด้วยกันเป็นประชากรของเพลี้ยกระโดดในภาคเหนือตอนล่าง เพาะเลี้ยงเพิ่มปริมาณจนเพียงพอต่อการทดลอง

ทำการการทดสอบปฏิกิริยาข้าวลูกผสมต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง โดยใช้พันธุ์ข้าว PTB33 เป็นพันธุ์มาตรฐานต้านทาน (Resistant Check) และพันธุ์ TN1 เป็นพันธุ์มาตรฐานไม่ต้านทาน (Susceptible Check) พันธุ์เปรียบเทียบต่าง ๆดังนี้ R8-24-1-183-84-227, A12-26-201-436, ชัยนาท 1, ราตูฮีเนติ, ขาวดอกมะลิ 105, อาบาญ่า, ลูกผสมราตูฮีเนติxขาวดอกมะลิ 105 ทดสอบในสภาพกรงเลี้ยงแมลง หรือในโรงเรือน ดำเนินการ 2 ครั้ง ผลการทดสอบพบว่า คะแนนระดับปฏิกิริยาของข้าวที่มีต่อการเข้าทำลายจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยผลในชุดแรกพบว่า

ที่ 13 วัน หลังทำการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลายข้าวพันธุ์มาตรฐานไม่ต้านทาน TN1 มีระดับคะแนนปฏิกิริยาเท่ากับ 7 ซึ่งเสียหายสูงสุดในกลุ่มพันธุ์ข้าวที่ทดสอบ ข้าวมีลักษณะเหลือง มีอาการแห้งแล้ว 55-75% และ พันธุ์มาตรฐานต้านทาน PTB33 มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 3 ยังแสดงความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดได้สูงสุด ข้าวมีสีเขียวสดใส มีใบที่ 1 และ 2 เหลืองประมาณ 1/3 ของใบเท่านั้น ข้าวลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) มีระดับคะแนนปฏิกิริยาเท่ากับ 5 ใบข้าวทั้งหมดเหลืองอย่างเด่นชัด และต้นเตี้ยแคระแกร็น ต้นข้าวเหี่ยวหรือตาย 10-25% ซึ่งเทียบเท่ากับ ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1, A12-26-201-436 และ อาบาญ่า, ส่วนลูกผสมราตูฮีเนติxขาวดอกมะลิ 105 และขาวดอกมะลิ 105 มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 6 สูงกว่าลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) ทั้ง ๆ ที่มีสายพันธุกรรมร่วมกัน ส่วนข้าวพันธุ์ราตูฮีเนตินั้น มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 4 ใบข้าวส่วนใหญ่ เหลืองตั้งแต่ >1/3-1/2 ของใบ แสดงถึงระดับความต้านทานต่อการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ในระดับดี และความต้านทานที่แสดงออกในส่วนของลูกผสมมีโอกาสเป็นความต้านทานที่มาจากยีนต้านทานของข้าว ราตูฮีเนติ มากกว่าอาบาญ่า

ที่ 17 วัน หลังทำการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลาย ข้าวพันธุ์มาตรฐานไม่ต้านทาน TN1 มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 9 ซึ่งเป็นค่าความเสียหายสูงสุด คือต้นข้าวแห้งตายหมด 100% ณ จุดนี้มักนิยมใช้เปรียบเทียบกับพันธุ์อื่น ๆ ที่ทดสอบปฏิกิริยาซึ่งแสดงถึงระดับความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสี

น้ำตาลได้อย่างชัดเจน ข้าวพันธุ์ที่ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้สูงที่สุดยังคงเป็น ข้าวพันธุ์ PTB33 มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 4 ซึ่งจัดว่ามีระดับความเสียหายต่ำสุดของกลุ่มข้าวทั้งหมดที่ทดสอบ โดยพันธุ์ราตูฮีเนติ สายพันธุ์ต้านทานตั้งต้นที่มียีน Bph3 มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 5 ถัดมาจาก PTB33 ส่วนข้าวลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) มีคะแนนระดับปฏิกิริยาในระดับ 6 เทียบเท่ากับสายพันธุ์พ่อ A12-26-201-436 และชัยนาท 1 ในขณะที่สายพันธุ์แม่คือ R8-24-1-183-84-227 มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 7 เท่ากับ Rathu Heenati/KDML105, Abhaya และ KDML105

ที่ 22 วัน หลังทำการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลาย ข้าวพันธุ์มาตรฐานไม่ต้านทาน TN1 คงคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 9 สภาพต้นข้าวแห้งตายหมด 100% และ ข้าวต้านทานต่อการลงทำลายของเพลี้ยมากที่สุดยังคงเป็น ข้าวพันธุ์ PTB33 มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 4 เช่นเดิม ส่วนข้าวทดสอบพันธุ์อื่น ๆ ส่วนใหญ่ยังคงมีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่าเดิมเทียบกับที่ 17 วัน คือ ราตูฮีเนติ A12-26-201-436, R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) และ Rathu Heenati/KDML105 มีคะแนนที่ระดับ 5, 6, 6 และ 7 ตามลำดับ ส่วนพันธุ์ที่มีการเปลี่ยนแปลงระดับปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นคือ ชัยนาท 1 เพิ่มขึ้นจากระดับ 6 เป็นระดับ 7 และ KDML105, Abaya, และ R8-24-1-183-84-227 เพิ่มขึ้นจาก ระดับ 7 เป็นระดับ 8

ที่ 29 วัน หลังทำการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลาย ข้าวพันธุ์มาตรฐานไม่ต้านทาน TN1 คงคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 9 สภาพต้นข้าวแห้งตายหมด 100% และ ข้าวต้านทานต่อการลงทำลายของเพลี้ยมากที่สุดยังคงเป็น ข้าวพันธุ์ PTB33 มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 4 เช่นเดิม ในขณะที่ข้าวหลายสายพันธุ์ยังคงระดับปฏิกิริยาเท่าเดิม ได้แก่ ชัยนาท 1 คือ ระดับ 7 ส่วน KDML105 และ R8-24-1-183-84-227 คือระดับ 8 แต่มีข้าวหลายสายพันธุ์แสดงอาการฟื้นตัวจากการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้กล่าวคือมีระดับปฏิกิริยาในระดับที่ดีขึ้น ได้แก่ Rathu Heenati ลดลงจากเดิมที่ระดับ 5 เป็น 4 Abaya A-12-26-201-436 ลดลงจากเดิมที่ระดับ 6 เป็น 5 และที่สำคัญคือ R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) ลดลงแรงที่สุดจากระดับเดิมที่ 6 เป็นที่ระดับ 4 กลับมาเทียบเท่าข้าวพันธุ์ PTB33 และราตูฮีเนติ

ที่ 33 วัน หลังทำการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลาย ข้าวพันธุ์มาตรฐานไม่ต้านทาน TN1 คงคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 9 สภาพต้นข้าวแห้งตายหมด 100% และ ข้าวพันธุ์ PTB33 มีระดับ

ปฏิกิริยาต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระดับที่ดีขึ้นลดลงจากระดับ 4 เป็นระดับ 3 เช่นเดียวกับข้าวพันธุ์ราตูฮีเนติ และ ข้าวลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) แสดงถึงศักยภาพในการฟื้นตัวของข้าวลูกผสมนี้ได้อย่างชัดเจน โดยที่สายพันธุ์ พ่อและแม่มีการฟื้นตัวได้เช่นกันแต่ในระดับที่ข้ากว่าข้าวลูกผสมมาก คือ R8-24-1-183-84-227 ฟื้นตัวจากระดับปฏิกิริยาที่ 8 เป็น 7 และ Abaya A-12-26-201-436 ฟื้นตัวจากระดับปฏิกิริยาที่ 5 เป็น 4 ในขณะที่ข้าวทดสอบอื่น ๆ ได้แก่ ชัยนาท 1, KDML 105, Abhaya และ Rathu Heenati/KDML105 ยังคงแสดงระดับของปฏิกิริยาต่อการลงทำลายของเพลี้ยเท่าเดิมที่ 29 วัน

เมื่อพิจารณาระดับความต้านทานจากระดับปฏิกิริยาตอบสนองต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 33วันหลังการปลดปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลายข้าว ซึ่งเป็ฯผลจากการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและการฟื้นตัวของข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ พบว่า ข้าวที่มีระดับความต้านทานดีที่สุดคือ พันธุ์ต้านทานมาตรฐาน PTB33 ซึ่งอยู่ที่ระดับ ค่อนข้างต้านทาน (MR) และข้าวที่มีคุณลักษณะต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้เทียบเท่าคือ Rathu Heenati และ ข้าวลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) รองลงมาจัดอยู่ในระดับค่อนข้างอ่อนแอ (MS) ประกอบด้วยข้าว A12-26-201-436 ถัดมาคือระดับอ่อนแอ (S) คือ R8-24-1-183-84-227 ชัยนาท 1 และ Abaya กลุ่มสุดท้ายคือระดับอ่อนแอมาก (HS) เทียบเท่ากับพันธุ์มาตรฐานอ่อนแอ TN1 คือ Rathu Heenati/KDML105 และ KDML105

เมื่อทำการวิเคราะห์ในภาพรวมของความเชื่อมโยงของปฏิกิริยาของข้าวพันธุ์ต่าง ด้วย dendogram ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ผลจากระดับปฏิกิริยาตอบสนองต่อการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และการฟื้นตัวของข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ตลอดระยะเวลา 33 วันหลังการปลดปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลายข้าว พบว่า สามารถจัดกลุ่มพันธุ์ข้าวได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีปฏิกิริยารุนแรงที่สุดหรืออีกนัยคืออ่อนแอที่สุด คือ TN1 กลุ่มที่มีปฏิกิริยาโต้ตอบปานกลาง คือ Abaya, Rathu Heenati สายพันธุ์แม่ R8-24-1-183-84-227, ชัยนาท 1, KDML105 และ Rathu Heenati/KDML105 กลุ่มที่มีปฏิกิริยาโต้ตอบต่ำสุดหรืออีกนัยคือทนทานหรือต้านทานต่อการลงทำลายของเพลี้ยมากที่สุด คือ สายพันธุ์พ่อ A12-26-201-436, ราตูฮีเนติ, PTB33 และข้าวลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1)

Table 2 Reaction pattern and damage score of R8-24--1-183-84-227/A12-26-201-436(F1) and 9 standard rice varieties responded to brown planthopper collected from lower northern Thailand, first trial: R = resistant and S = susceptible.

Varieties/Accessions	Reaction score of rice varieties responded to brown plant hopper after BPH release (days)					Damage score at last check
	13	17	22	29	33	
Chai Nat 1	5	6	7	7	7	S
Rathu Heenati	4	5	5	4	3	MR
KDML105	6	7	8	8	8	HS
Abhaya A-12-26-201-436	5	6	6	5	4	MS
Taichung Native 1	7	9	9	9	9	HS
PTB33	3	4	4	4	3	MR
Abhaya	5	7	8	7	7	S
Rathu Heenati/KDML105	6	7	7	8	8	HS
R8-24--1-183-84-227	5	7	8	8	7	S
R8-24--1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1)	5	6	6	4	3	MR

Missing

ส่วนในชุดที่สองพบว่า ที่ 13 วัน

หลังทำการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลายข้าวพันธุ์มาตรฐานไม่ต้านทาน TN1 มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 7 ซึ่งเสียหายสูงสุดในกลุ่มพันธุ์ข้าวที่ทดสอบ ข้าวมีลักษณะเหลือง มีอาการแห้งแล้ว 70-75% และ พันธุ์มาตรฐานต้านทาน PTB33 มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 3 ยังแสดงความทนทานต่อเพลี้ยกระโดดได้สูงสุด ข้าวมีสีเขียวสดใส มีใบที่ 1 และ 2 เหลืองเล็กน้อยเท่านั้น ข้าวทดสอบอื่น ๆ อยู่ในระดับระหว่างทั้งสองพันธุ์นี้เช่นเดียวกับการทดสอบในชุดแรก โดยข้าวลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1)มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 5 ใบข้าวทั้งหมดเหลืองอย่างเด่นชัด ต้นเตี้ยแคระแกร็น ต้นข้าวเหี่ยวหรือตาย 10-15% ซึ่งเทียบเท่ากับข้าวพันธุ์ชัยนาท 1, อาบาญ่า, Rathu Heenati/KDML105และสายพันธุ์แม่ R8-24--1-183-84-227 ส่วนสายพันธุ์แม่คือ A12-26-201-436 มีระดับปฏิกิริยากับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระดับ 6 ขณะที่ KDML105 มีระดับปฏิกิริยากับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระดับ 7 ซึ่งเท่ากับ TN1 ซึ่งเป็นระดับที่ สูงสุดในกลุ่มประชากรนี้

ที่ 17 วัน คะแนนระดับปฏิกิริยาข้าวพันธุ์มาตรฐานไม่ต้านทาน TN1 มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 8 ต้นข้าว 90-95% เหี่ยวหรือตาย ต้นข้าวเหลือง เตี้ยแคระแกร็นมาก ข้าวพันธุ์ที่ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดสีน้ำตาลได้สูงเป็น ข้าวพันธุ์ ราตูฮีเนติ มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 3 ซึ่งจัดว่ามีระดับความเสียหายต่ำสุดของกลุ่มข้าวทั้งหมดที่ทดสอบ ส่วนข้าวพันธุ์มาตรฐานต้านทานที่เป็นตัวแทน คือ PTB33 มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 4 มีระดับความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลต่ำกว่าพันธุ์ราตูฮีเนติเล็กน้อย ข้าวลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) มีคะแนนระดับปฏิกิริยาในระดับ 5 แสดงถึงมีระดับความต้านทานที่ดีกว่า R8-24--1-183-84-227 และ A12-26-201-436 ซึ่งเป็นพันธุ์พ่อและแม่ มีคะแนนระดับปฏิกิริยาต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ระดับ 6 และ 8 ตามลำดับ ส่วนพันธุ์อื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องและนำมาเปรียบเทียบพบว่า พันธุ์ชัยนาท 1 และ Rathu Heenati/KDML105 มีคะแนนระดับปฏิกิริยาในระดับ 6 เช่นเดียวกับสายพันธุ์แม่ R8-24-1-183-84-227 ส่วน Abaya นั้นมีคะแนนระดับปฏิกิริยาในระดับ 7 สูงขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับที่ 13 วัน ที่เหลือคือ KDML105 และ A12-26-201-436 มีคะแนนระดับปฏิกิริยาระดับ 7

ที่ 22 วัน หลังทำการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลาย ข้าวพันธุ์มาตรฐานไม่ต้านทาน TN1 ถึงจุดที่มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 9 สภาพต้นข้าวแห้งตายหมด 100% ช้ากว่าในส่วนแรกประมาณ

5 วัน ในขณะที่ KDML105 มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วจนถึงระดับ 9 สภาพข้าวแห้งตายหมดเช่นกันเท่า ๆ กับ TN1 ข้าวพันธุ์ต้านทานที่เป็นมาตรฐานเปรียบเทียบพบว่าในการทดสอบครั้งนี้ ข้าวพันธ์ราตูฮีเนติมีปฏิกิริยาที่แสดงความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลกลุ่มนี้ได้อยู่ที่ระดับ 4 ดีกว่าข้าวพันธุ์ PTB33 ขณะที่ลูกผสม Rathu Heenati/KDML105 แสดงผลความร้านทานระดับ 6 อยู่ระหว่าง Rathu Heenati กับ KDML105 แต่ R8-24-1-183-84-227 ซึ่งเป็นลูกผสมระหว่างพ่อคือ Rathu Heenati/KDML105 กับแม่คือ ขัยนาท 1 กลับแสดงผลระดับความต้านทานที่ระดับ 7 เท่ากับแม่คือ ขัยนาท 1 และมีระดับต่ำกว่าพ่อ Rathu Heenati/KDML105 ส่วนข้าวในสาย Abhaya ประกอบด้วย Abhaya และ A12-26-201-436 นั้น แสดงผลความต่านทานในระดับ 8 สภาพต้นข้าวใกล้เคียงกันคือ ต้นข้าว 80-85% เหี่ยวหรือตาย ต้นข้าวที่เหลืองเตี้ยแคระแกร็นชัดเจน อย่างไรก็ตาม ข้าวลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) กลับมีคุณสมบัติที่แสดงความต้านทานกลับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ในระดับ 5 ซึ่งดีกว่าสายพันธุ์พ่อและแม่ที่อยู่ที่ระดับ 6 และ 7 อย่างชัดเจนมาก

ที่ 29 วัน หลังทำการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลาย ข้าวพันธุ์มาตรฐานไม่ต้านทาน TN1 และ KDML105 ยังคงคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 9 สภาพต้นข้าวแห้งตายหมด 100% และ ข้าวต้านทานต่อการลงทำลายของเพลี้ยมากที่สุดมี 2 พันธุ์ คือ Rathu Heenati มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 4 และPTB33 ที่มีการฟื้นตัวจากเดิมที่ 22 วันอยู่ที่ระดับ 5 เป็นระดับ 4 ในครั้งนี้ ข้าวลูกผสม Rathu Heenati/KDML105 มีระดับความต้านทานเท่ากับ 6 อยู่กึ่งกลางระหว่างพันธุ์พ่อและแม่ แสดงว่าการนำข้าว Rathu Heenati ผสมกับ KDML105 ช่วยให้ข้าวที่ได้มีคุณลักษณะที่ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดีขึ้น ในขณะที่ R8-24-1-183-84-227 นั้นมีปฏิกิริยาที่แสดงระดับความต้านทานเท่ากับ 7 ส่วน Abhaya มีมีปฏิกิริยาที่แสดงระดับความต้านทานเท่ากับ 8 แต่ลูกผสม A12-26-201-436 มีปฏิกิริยาที่แสดงระดับความต้านทานเท่ากับ 6 ซึ่งเป็นผลการฟื้นตัวจากระดับ 8 เมื่อ 22วัน อย่างไรก็ตามข้าวลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) มีปฏิกิริยาที่แสดงระดับความต้านทานที่ฟื้นตัวจากระดับ 5 ที่ 22วัน เป็นระดับ เท่ากับ 4 ซึ่งดีกว่าการแสดงออกของพ่อและแม่ที่อยู่ระดับ 7 และ6 อย่างชัดเจน และระดับปฏิกิริยาที่แสดงความต้านทานนี้เทียบเท่ากับของพันธุ์ต้านทานมาตรฐาน คือ PTB33 และ Rathu Heenati

ที่ 33 วัน หลังทำการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลาย ข้าวพันธุ์มาตรฐานไม่ต้านทาน TN1 และ KDML105 สภาพต้นข้าวแห้งตายหมด ระดับปฏิกิริยาต่อการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

เท่ากับ 9 รองลงมาคือพันธุ์ ชัยนาท 1, Abhaya และ R8-24-1-183-84-227 ที่แสดงระดับปฏิกิริยาต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเท่ากับ 8, 8 และ 7 ตามลำดับ ซึ่งไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับที่ 22 และ 29 วัน ตามลำดับ เช่นเดียวกับ ข้าวลูกผสม Rathu Heenati/KDML105 ที่ยังคงระดับปฏิกิริยาต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเท่ากับ 6 ไม่เปลี่ยนแปลงตั้งแต่ที่ 17, 22, 29 วัน ขณะที่ A12-26-201-436 ฟื้นตัวอย่างต่อเนื่องจากระดับปฏิกิริยาต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ 6 เมื่อ 29 วันเป็นระดับ 5 ที่ 33 วัน อย่างไรก็ตามข้าวลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) มีปฏิกิริยาที่แสดงระดับความต้านทานที่ฟื้นตัวอย่างต่อเนื่องจากระดับ 4 ที่ 29 วัน เป็นระดับ เท่ากับ 3 ซึ่งดีกว่าการแสดงออกของพ่อและแม่ที่อยู่ระดับ 7 และ 5 อย่างชัดเจน และระดับปฏิกิริยาที่แสดงความต้านทานนี้เทียบเท่ากับของพันธุ์ต้านทานมาตรฐาน คือ PTB33 และ Rathu Heenati

เมื่อพิจารณาระดับความต้านทานจากระดับปฏิกิริยาตอบสนองต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 33 วันหลังการปลดปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลายข้าว ซึ่งเป็นผลจากการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและการฟื้นตัวของข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ พบว่า ข้าวที่มีระดับความต้านทานดีที่สุดเทียบเท่ากับพันธุ์ต้านทานมาตรฐาน PTB33 ซึ่งอยู่ที่ระดับ ค่อนข้างต้านทาน (MR) คือ Rathu Heenati และ ข้าวลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) รองลงมาจัดอยู่ในระดับค่อนข้างอ่อนแอ (MS) ประกอบด้วยข้าว A12-26-201-436, Rathu Heenati/KDML105 ถัดมาคือระดับอ่อนแอ (S) คือ R8-24-1-183-84-227 กลุ่มสุดท้ายคือระดับอ่อนแอมาก (HS) เทียบเท่ากับพันธุ์มาตรฐานอ่อนแอ TN1 คือ KDML105, Abaya และชัยนาท 1

เมื่อทำการวิเคราะห์ในภาพรวมของความเชื่อมโยงของปฏิกิริยาของข้าวพันธุ์ต่าง ด้วย dendogram ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ผลจากระดับปฏิกิริยาตอบสนองต่อการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และการฟื้นตัวของข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ตลอดระยะเวลา 33วันหลังการปลดปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลายข้าว พบว่า สามารถจัดกลุ่มพันธุ์ข้าวได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีปฏิกิริยารุนแรงที่สุดหรืออีกนัยคืออ่อนแอที่สุด คือ TN1 และ KDML105 กลุ่มที่มีปฏิกิริยาโต้ตอบปานกลาง คือ ชัยนาท 1, R8-24-1-183-84-227, Abaya, Rathu Heenati/KDML105, A12-26-201-436 และกลุ่มที่มีปฏิกิริยาโต้ตอบต่ำสุดหรืออีกนัยคือทนทานหรือต้านทานต่อการลงทำลายของเพลี้ยมากที่สุด คือ ราตูฮีเนติ PTB33 และข้าวลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1)

Table 3 Reaction pattern and damage score of R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1)and 9 standard rice varieties responded to brown planthopper collected from lower northern Thailand, second trail: R = resistant and S = susceptible.

พันธุ์/สายพันธุ์	คะแนนระดับความเสียหายของข้าวที่ระยะต่างๆ (วัน) หลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลาย					Damage score at last check
	13	17	22	29	33	
CNT1	5	6	7	7	8	HS
Rathu Heenati	3	3	4	4	3	MR
KDML105	7	8	9	9	9	HS
Abaya A-12-26-201-436	6	8	8	6	5	MS
TN1	7	8	9	9	9	HS
PTB33	3	4	5	4	3	MR
Abaya	5	7	8	8	8	HS
Rathu Heenati/KDML105	5	6	6	6	6	MS
R8-24--1-183-84-227	5	6	7	7	7	S
R8-24--1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1)	5	5	5	4	3	MR

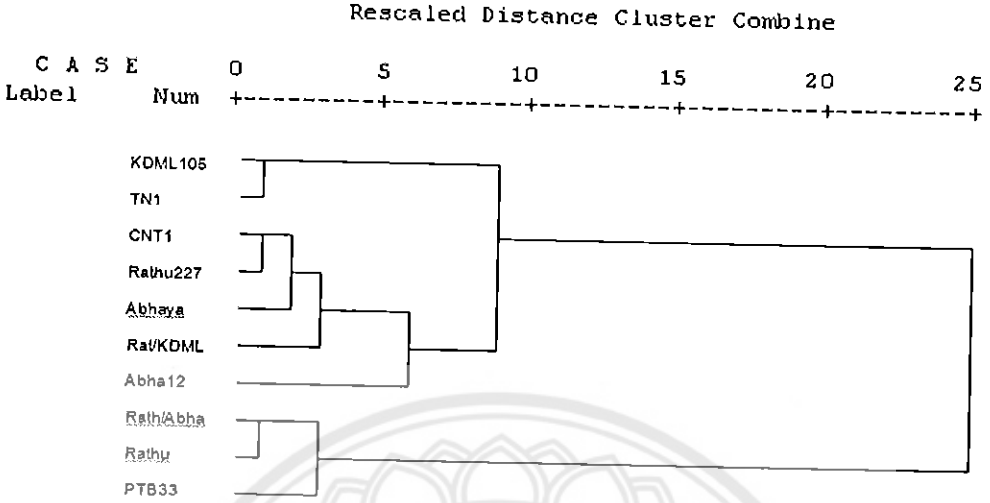
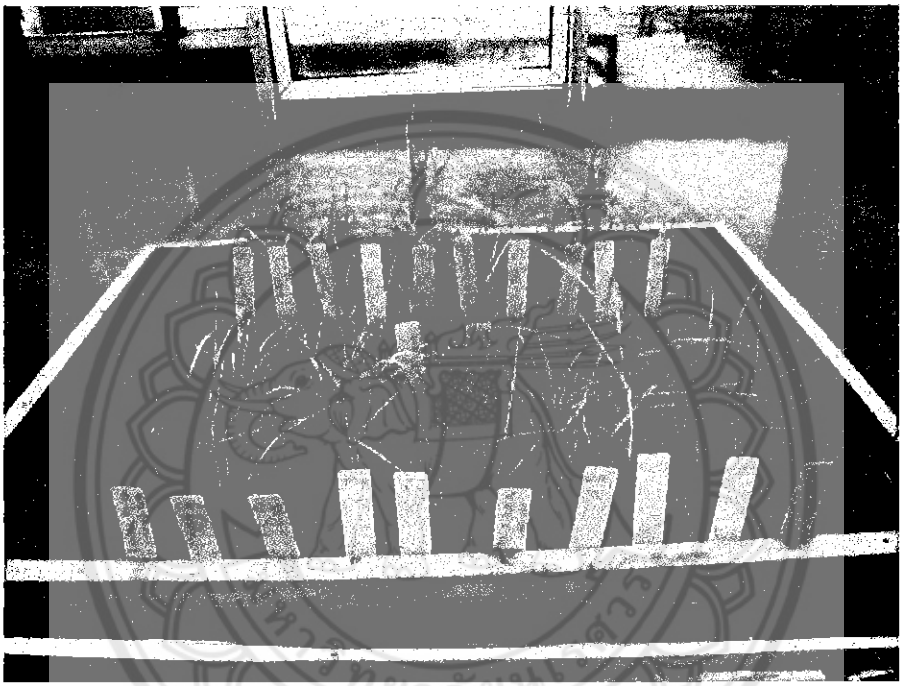


Figure 5 Dendrogram presents the relationship of R8-24--1-183-84-227/A12-26-201-436(F1) (Rathu/Abha) and 9 standard rice varieties: Rathu Heenati (Rathu), KDML105, Abhaya A-12-26-201-436 (Abha12), Taichung Native 1 (TN1), PTB33, Abhaya, Rathu Heenati/KDML105 (Rat/KDML), Chai Nat 1 (CNT1) and R8-24--1-183-84-227(Rathu227) responded to brown planthopper population in lower northern Thailand, Second trail.

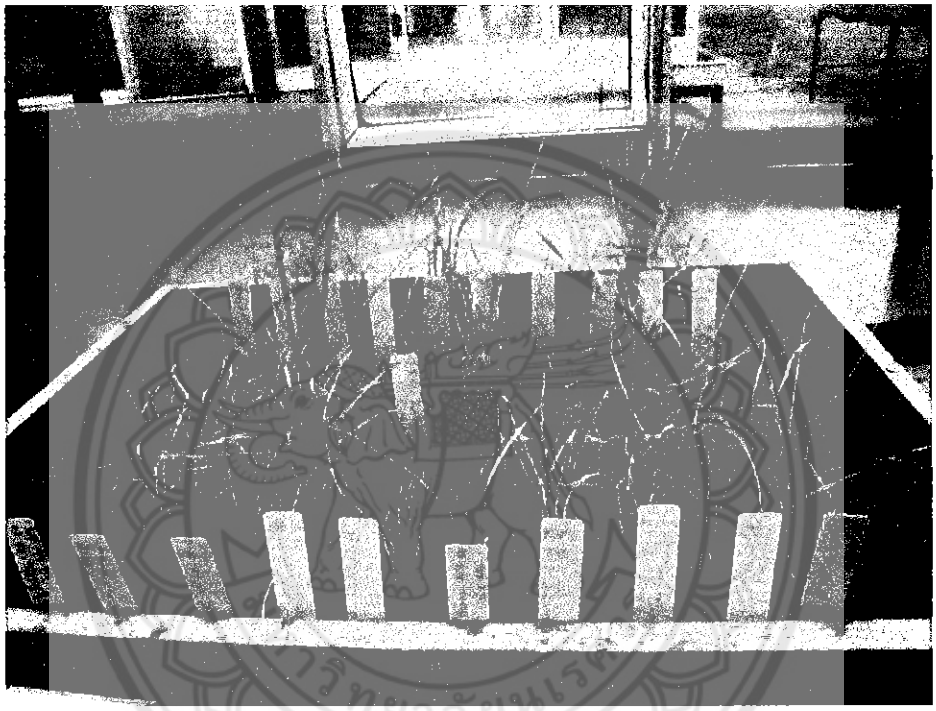
17017698

สำนักหอสมุด
19 ส.ค. 2559
ว GL
527
.A64
ว๔๒๗๙
๒๕๕๗

ภาพที่ 6 ข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ต่าง ๆ อายุ 14 วันก่อนการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลาย



ภาพที่ 7 สภาพของข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ต่าง ๆ หลังการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลง**ทำลาย** 14 วัน



ภาพที่ 8 สภาพของข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ต่าง ๆ หลังการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล**ลงทำลาย** 22 วัน

วิจารณ์ผลการทดลอง

การรวบยอดยีน เป็นวิธีการรวมยีนที่คุณลักษณะสำคัญที่ต้องการซึ่งเป็นอิสระต่อกันในหลากหลายสายพันธุ์ให้ปรากฏแสดงออกในสายพันธุ์เดียว (Xu, 2010) ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้ได้นำหลักการของการรวบยอดยีนนี้เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้นทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น

โดยทำการรวบยอดยีน 3 ชนิดคือ *Qbph6 Qbph12* และ *Bph3* (วีรเทพ และคณะ, 2550; เจตน์ และคณะ, 2552; Jairin et al., 2007) จากข้าวลูกผสมกลับ BC_4F_{3-4} ที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ 2 สายพันธุ์ คือ สายแรกเป็นการพัฒนาข้าวลูกผสมพันธุ์ราตูฮีเนติ/ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นแหล่งผู้ให้ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด *Bph3* กับพันธุ์ชัยนาท 1 และ สายที่สองเป็นข้าวลูกผสมพันธุ์อาบาญ่า/ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นแหล่งผู้ให้ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด *Qbph6* และ*Qbph12* กับพันธุ์ชัยนาท 1 และคัดเลือกลูกผสมกลับรุ่น BC4F3-4 ที่มีคุณสมบัติต้านทานดีที่สุดสายละ 1 สายพันธุ์ คือ R8-24-1-183-84-227 และ A12-26-201-436 ตามลำดับ โดยยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด Bph3 จาก R8-24-1-183-84-227 เป็นยีนที่แสดงออกถึงระดับความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้อย่างเด่นชัดตั้งแต่ในช่วงระยะแรกที่ถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลาย และสามารถแสดงออกในคุณลักษณะต้านทานได้ในข้าวทุกสายพันธุ์ที่มียีนนี้ปรากฏอยู่ ดังเช่น ข้าวพันธุ์ราตูฮีเนติ ข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับราตูฮิเนติ/ขาวดอกมะลิ 105 และ ข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับราตูฮิเนติ/ขาวดอกมะลิ 105/ชัยนาท 1 (R8-24-1-183-84-227) ส่วนยีน *Qbph6* และ*Qbph12* นั้นเป็นยีนที่มีความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ในระดับกลางแต่มีความสามารถในการทำให้ข้าวฟื้นตัวจากการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะกล้าได้ดี (พุฒิพงษ์ และคณะ, 2555)

Heinrichs (1986) และ Bosque-Perez and Buddenhagen (1992) พบว่าการรวมยีนต้านทานในระดับกลางหรือจากการแสดงออกของยีนหลาย ๆ ชนิดร่วมกันมักให้ผลในการต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ยาวนานกว่า คงทนกว่าคุณลักษณะต้านทานที่ได้จากยีนเด่นเพียงชนิดเดียว ซึ่งสอดคล้องกับผลการรวบยีนในครั้งนี้ลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1)ที่ได้รับใน รุ่นที่ 1แสดงปฏิกิริยาต่อการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในภาคเหนือตอนล่าง ได้ในระดับที่ดีกว่าพ่อและแม่ หรืออีกนัยคือมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยได้ดีกว่าสายพันธุ์พ่อและแม่อย่างชัดเจน

และที่สำคัญคือมีความสามารถในการฟื้นตัวจากความเสียหายที่เกิดจากการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะกล้าได้อย่างรวดเร็ว และสามารถแสดงความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ในระดับที่ไม่แตกต่างจากพันธุ์ต้านทานมาตรฐานเปรียบเทียบคือ PTB33 ที่ 29 และ 33 วันหลังปล่อยเพลี้นกระโดดสีน้ำตาลลงลงทำลาย

นอกจากนี้ การรวมยีนต้านทานสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้สูงขึ้น ยาวนานขึ้น และครอบคลุมความหลากหลายทางชีวชนิดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้มากขึ้นได้ เช่น การรวมยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด *Bph1* และ *Bph2* ลงในข้าว japonica ทำให้มีความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้สูงมากกว่าพันธุ์เดิมที่มีเพียงยีนเดียวได้อย่างชัดเจน (Sharma et al., 2004) ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้ ข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ R8-24-1-183-84-227 และ A12-26-201-436 ต่างแสดงคุณลักษณะต้านทานต่อชีวชนิดต่าง ๆ ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่พบในภาคเหนือตอนล่าง ในระดับที่แตกต่างกัน (พุฒิพงษ์และคณะ, 2554) แต่เมื่อรวบยีนทั้ง ที่ปรากฏในข้าวทั้งสองสายพันธุ์เป็น ข้าวลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) การแสดงออกของคุณลักษณะต้านทานและการเปลี่ยนแปลงของระดับความต้านทานในช่วงต่าง ๆ ที่มีต่อประชากรของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้งสองรุ่นที่มีความหลากหลายของแหล่งที่มาแตกต่างทั้งเวลาและสถานที่ แต่ผลการทดสอบเป็นไปในทิศทางเดียวกันได้ อย่างไรก็ตามในส่วนนี้คณะผู้วิจัยกำลังดำเนินการศึกษาแนวทางในการทดสอบข้าวลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) นี้กับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระดับชีวชนิดต่อไป

สรุปผลการทดลอง

ในการศึกษาปฏิกิริยาของข้าวสายพันธุ์ลูกผสม R8-24--1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) ที่มียีนต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Qbph6 Qbph12* และ *Bph3* จากพ่อและแม่ ทำรวบเข้าไว้ด้วยกัน พบว่า ข้าวสายพันธุ์ลูกผสม R8-24--1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) แสดงปฏิกิริยาต่อตอบโต้ต่อการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในภาคเหนือตอนล่าง ได้ในระดับที่ดีกว่าพ่อและแม่ หรืออีกนัยคือมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในภาคเหนือตอนล่างได้ดีกว่า

สายพันธุ์พ่อและแม่อย่างชัดเจน และมีความสามารถในการฟื้นตัวจากความเสียหายที่เกิดจากการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะกล้าได้อย่างรวดเร็ว จนอยู่ในระดับที่ไม่แตกต่างจากพันธุ์ต้านทานมาตรฐานเปรียบเทียบคือ PTB33 ที่ 29 และ 33 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลาย

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชากรเกษตร. 2546. ข้าวและธัญพืชเมืองหนาวพันธุ์ดี 30 ปี กรมวิชาการเกษตร. เอกสารวิชาการ. กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

กุลชนา เกศสุวรรณ์ ปรีดา เสียงใหญ่ พจน์ วัจนะภูมิ พันนิภา ยาใจ สุเทพ วังใน กาญจนา พิบูลย์ บุญรัตน์ จงดี จินตนา ทยาธรรม. 2550. การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล หน้า 134-143. ใน เอกสารประกอบการประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2550. สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร. วันที่ 19-20 กุมภาพันธุ์ 2550. ณ ห้องประชุม พิพิธภัณฑ์การเกษตรเฉลิมพระเกียรติฯ อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี.

จิระพงศ์ ใจรินทร์, กิจติพงษ์ เพ็งรัตน์, สงวน เทียงดีฤทธิ์, กฤษณา สุดทสาร, จรัญจิต เพ็งรัตน์ และอุไรวรรณ คชสถิตย์. 2548. การสืบหาโมเลกุลเครื่องหมายเพื่อการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล. รายงานการประชุมวิชาการ ข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2548. วันที่ 7-8 มีนาคม 2548, ณ โรงแรม รอแยลฮิลส์ รีสอร์ท, จ. นครนายก.

เจตน์ คชฤกษ์ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ สุรเดช ปาละวิสุทธ์ และศิริพร กออินทร์ศักดิ์ 2552 การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวปรับปรุง BC4F1 ด้วยยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Qbph6* และ *Qbph 12*) โดยเทคนิคโมเลกุลเครื่องหมาย วารสารสิ่งแวดล้อมนเรศวร 2(1):37-51

ทัศนีย์ สงวนสัจ. 2540. บทบาทของพันธุกรรมต้านทานโรคและแมลงกับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวไทย. เอกสารวิชาการศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก. สถาบันวิจัยข้าว. กรมวิชาการเกษตร. 173 หน้า

ปรีดา เสียงใหญ่ และพันนิภา ยาใจ. 2552. การวิจัยและพัฒนาการจัดการเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล . หน้า 255-266. ใน เอกสารประกอบการประชุมข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2552. สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร. วันที่ 9-11 มิถุนายน 2552 ณ. โรงแรมซีบรีท จอมเทียน พัทยา.

พันนิภา ยาใจ จินตนา ทยาธรรม ปรีดา เสียงใหญ่ และสุเทพ วังใน. 2548. ปฏิกิริยาของพันธุ์ข้าวต่อการทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ภาคเหนือตอนบนในสภาพโรงเรือนปฏิบัติการ. หน้า 84-86. ใน เอกสารประกอบการประชุมวิชาการ ข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2548. สถาบันวิจัย

ข้าว กรมวิชาการเกษตร. วันที่ 7-8 มีนาคม 2548 ณ โรงแรม รอแยลฮิลส์ รีสอร์ท, จ. นครนายก.

พันนิภา ยาใจ และ นพดล สมนา. 2554. การเพาะเลี้ยงอับละอองเรณูข้าวเพื่อสร้างสายพันธุ์แท้ให้ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล . หน้า 121-132 ใน เอกสารประกอบการประชุมข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2554 สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร. วันที่ 3-4 มิถุนายน 2554 ณ. โรงแรมอมารี แอร์พอร์ต ดอนเมือง กรุงเทพฯ.

พุฒิพงษ์ เพ็งฤกษ์ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ ไสว บูรณพานิชพันธุ์ ราพร กุลสาริน เจตน์ คชฤกษ์ สุรเดชปาละวิสุทธิ์ และภมร ปัตตาวะตัง 2554. ความหลากหลายทางชีวชนิดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย. วารสารเกษตร 27(1): 27-37.

วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ สุรเดช พลวิสุทธ์ ศิริพร กออินทร์ศักดิ์ และธานี ศรีวงศ์ชัย. 2550. การคัดเลือกดีเอ็นเอเครื่องหมายแบบ SSR ของยีนต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens* Stål, Delphacidae, Homoptera) ชนิด Qbph6 และ*Qbph12* จากข้าวสายพันธุ์ปรับปรุง Abhaya และพันธุ์ชัยนาท 1. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 25(1): 47-55.

สำนวน ฉิมพกา และวีรเทพ พงษ์ประเสริฐ. 2548. ปัจจัยที่มีผลต่อการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูข้าวของเกษตรกร อำเภอตะพานหิน จังหวัดพิจิตร. วารสารเกษตรนเรศวร 8(1): 77-94

สุรเดช ปาละวิสุทธิ์, วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ, ศิริพร กออินทร์ศักดิ์, และ ธานี ศรีวงศ์ชัย. 2548. การคัดเลือกดีเอ็นเอเครื่องหมายแบบ SSR ของยีนต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด *Bph3* จากข้าวสายพันธุ์ปรับปรุง และพันธุ์ชัยนาท 1. วารสารเกษตร 21(3): 269-276.

สุวัฒน์ รวยอารีย์. 2544. เรียนรู้การจัดการศัตรูข้าวโดยวิธีผสมผสาน. เอกสารวิชาการ กองกีฏและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

Bosque-Perez, N. A. and Buddenhagen, I. W. 1992. The development of host-plant resistance to insect pests: outlook for the tropics. In: Menken, S. B. J., Visser, J. H., Harrewijin, P. (eds) Proceedings of 8th international symposium insect-plant relationships. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp 235-249.

Frisch, M., M. Bohn and A. E. Melchinger. 1999. Comparison of selection strategies for marker-assisted backcrossing of a gene. Crop Sci. 39:1295-1310.

Heinrich, E. A. and Mochida, O. 1984. From secondary to major pest status: the case of insecticide-induced rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, resurgence. Protection Ecol. 7:201-218.

Heinrichs, E. A. 1979. Control of leafhopper and planthopper vectors of rice viruses. In Moramorosch K, Arris K. F. (eds) Leafhopper vectors and planthopper disease agents. Academic Press, New York, pp 529-558.

Heinrichs, E. A. 1986. Prospectives and directions for the continued development of insect-resistant rice varieties. Agric. Ecosystems Environ. 18: 9-36.

Hirabayashi, H. and T. Ogawa. 1995. RFLP mapping of *Bph-1* (Brown planthopper resistance gene) in rice. Breeding Sci. 45: 369-371.

Huang, N., A. Parco, T. Mew, G. Magpantay, S. McCouch, E. Guiderdoni and J. Xu. 1997. RFLP mapping of isozymes, RAPD and QTLs for grain shape, brown planthopper resistance in a doubled haploid rice population. Mol. Breed 3:105-113.

Jairin, J., K. Phengrat, S. teangdeerith, A. Vanavichit and T. Toojinda. 2007. Mapping of a broad-spectrum brown planthopper resistance gene, *Bph3* , on rice chromosome 6. Mol. Breeding 19: 35-44.

Jairin, J., T. Toojinda, S. Tragoonrung, S. Tayapat and A. Vanavichit. 2005. Multiple genes determining brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) resistance in backcross introgressed lines of Thai jasmine rice 'KDML105'. Sci. Asia 31: 129-135.

Jena, K. K. and D. J. Mackill. 2008. Molecular markers and their use in marker-assisted selection in rice. Crop Sci. 48:1266-1276.

Jenning, P.R., W.R. Coffman, and H.E. Kauffman. 1979. Rice Improvement. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines. 189 p

Jeon, Y. H., S. N. Ahn, H. C. Choi, T. R. Hahn and H. P. Moon. 1999. Identification of a RAPD marker linked to a brown planthopper resistance gene in rice. Euphytica 107: 23-28.

Kawaguchi, M., K. Mulata, T. Ishii, S. Takumi, N. Mori and C. Nakamura. 2001. Assignment of a brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) resistance gene *Qbph6* to the rice chromosome 6. Breeding Sci 51: 13-18.

Khush, G.S. and D.S. Barar. 1991. Genetics of resistance to insects in crop plants. Adv. in Agronomy 45: 224-228

Mei, M., C. Zhuang, R. Wan, J. Wu and G. Kochert. 1996. Genetic analysis and tagging of gene for brown planthopper resistant in *indica* rice. pp 590-595. *In: G. S. khush,*

(ed.) Rice Genetics III. Proceedings of the Third International Rice Genetics Symposium. IRRI, Manila, Philippines.

Morgante, M. and A. M. Olivieri. 1993. PCR-amplified microsatellites as markers in plant genetics. Plant J. 3: 175-182.

Pedigo, L. P. 1996. Entomology & Pest management. Second edition. Prentice Hall, New Jersey.

Renganayaki, K., K.F. Allan, S. Sadasivam, S. Pammi, S.E. Harrington, S.R. McCouch, S.M. Kumar and A.S. Reddy. 2002. Mapping and progress toward map-based cloning of brown planthopper biotype-4 resistance gene introgressed from *Oryza officinalis* into cultivated rice, *O sativa*. Crop Sci. 42: 2112-2117.

Rivera, C. T., Ou S. H. and Lida, T. T. 1966. Grassy stunt disease of rice and its transmission by *Nilaparvata lugens*(Stal). Plant Dis. Rep. 50: 453-456.

Saisamai, K. 2013. Genetic identification of minor quantitative trait loci(QTL) against multiple populations of brown planthopper (*Nilapavata lugens* Stal) using two advance backcross populations in rice (*Oryza sativa* L.). MS thesis, Kasetsart University, Kampang Saen campus, Nakorn Pathom.

Sharma, P. N., Toriia, A.,Takumi, S., Mori, N. and Kakamura, C. 2004. Marker-assisted pyramiding of brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stal) resistance genes Bph1 and Bph2 on rice chromosome 12. Hereditas 140:61-69.

Tanksley, S. D., Young, N. D., Paterson, A. H. and Bonierbale, M. W. 1989. RFLP mapping in plant breeding: new tools for old science. Biotechnology 7: 257-264.

Vanavichit, A., S. Tragoonrung and T. Toojinda. 2003. Biotechnology and rice varieties improvement. pp. 79-121. *In*: S. Lorlowhakarn, (ed.). Science and Technology with Thai Rice. National Science and Technology Development Agency, Bangkok, Thailand.

Xiao, J. H., S. N. Grandillo, S. N. Ahn, S. R. McCouch, S. D. Tanksley, J. M. Li and L. P. Yuan. 1996. Genes from wild rice improve yield. Nature 384: 223-224.

Xu, Yunbi. 2010. Molecular Plant Breeding. CABI international. London. 717pp.