# การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและมีคุณภาพ เมล็ดเหมือนขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย

# Development of Rice Introgression Lines with Brown Planthopper Resistance and KDML105 Grain Quality Characteristics through Marker-assisted Selection

จิรพงศ์ ใจรินทร์[1)] วราภรณ์ วงศ์บุญ[1)] กิจติพงษ์ เพ็งรัตน์[2)] สงวน เทียงดีฤทธิ์[1)]
พิกุล ลีลากุด[1)] กัลยา สานเสน[1)]

Jirapong Jairin[1)] Waraporn Wongboon[1)] Kittiphong phengrat[2)] Sa-nguan Teangdeerith[1)]
Phikul Leelagud[1)] Kalaya Sansen[1)]

Bureau of Rice Research and Development

## Abstract

In this study, a simple sequence repeat (SSR) analysis was performed to identify and localize the *Bph3* gene derived from cv. Rathu Heenati. For mapping of the *Bph3* locus, we developed the backcross population, $BC_3F_2$, from a cross of Rathu Heenati×KDML105 and evaluated this for BPH resistance. Thirty-six polymorphic SSR markers on chromosomes 4, 6 and 10 were used to survey 15 resistant and 15 susceptible individuals from the backcross population. One SSR marker, RM190, on chromosome 6 was associated with resistance and susceptibility in the backcross population. Additional SSR markers surrounding the RM190 locus were examined to define the location of *Bph3*. Based on the linkage analysis of 333 $BC_3F_2$ individuals, we were able to map the *Bph3* locus between two flanking SSR markers, RM588 and RM589, on the short arm of chromosome 6. The tightly linked SSR markers were further used to develop introgression lines (ILs) with essential grain quality traits and BPH resistance. The linkage drag between *Bph3* and $Wx^a$ alleles was successfully broken by phenotypic selection integrated with marker-assisted selection. All fifty-one selected ILs developed in this study showed a broad spectrum resistance against BPH populations in Thailand and had KDML105 grain quality standards. Finally this study was revealed that the ILs can be directly developed into BPH resistance varieties or can be used as genetic resources of BPH resistance to improve rice varieties with the $Wx^b$ allele in rice breeding programs.

**Keywords** : Brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, marker-assisted selection, SSR, allele

1) ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี ตู้ ปณ. 65 อ.เมือง จ.อุบลราชธานี 34000 โทรศัพท์ 0-4534-4103-4 ต่อ 122
Ubon Ratchathani Rice Research Center, P.O. Box 65, Mueang, Ubon Ratchathani 34000 Tel. 0-4534-4103-4 ต่อ 122

2) ศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์ อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000 โทรศัพท์ 0-4451-1394
Surin Rice Research Center, Mueang, Ubon Ratchathani 32000 Tel. 0-4451-1394

## บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้ใช้โมเลกุลเครื่องหมาย simple sequence repeats (SSR) วิเคราะห์หาตำแหน่งยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Bph3* จากพันธุ์ข้าว Rathu Heenati โดยการพัฒนาประชากรข้าวผสมกลับ $BC_3F_2$ จากคู่ผสม Rathu Heenati×ขาวดอกมะลิ 105 เพื่อใช้ทดสอบความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและสร้างแผนที่พันธุกรรม คัดเลือกโมเลกุลเครื่องหมาย SSR ที่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างพ่อ-แม่ จำนวน 36 ไพร์เมอร์ บนโครโมโซม 4, 6 และ 10 วิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างกลุ่มสายพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอจำนวนกลุ่มละ 15 สายพันธุ์ พบว่ามีเพียงโมเลกุลเครื่องหมาย RM190 ที่สัมพันธ์กับลักษณะต้านทานและอ่อนแอ คัดเลือกโมเ ลกุลเครื่องหมายเพิ่มเติมที่มีตำแหน่งใกล้กับ RM190 เพื่อวิเคราะห์หาตำแหน่งยีนต้านทานที่แน่นอนบนโครโมโซม จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างฟีโนไทป์และจีโนไทป์ของประชากรผสมกลับ $BC_3F_2$ จำนวน 333 สายพันธุ์ พบว่ายีนต้านทาน *Bph3* มีตำแหน่งอยู่ระหว่างโมเลกุลเครื่องหมาย RM588 และ RM589 บนโครโมโซม 6 นำโมเลกุลเครื่องหมายที่มีตำแหน่งใกล้กับยีนต้านทานไปใช้พัฒนาสายพันธุ์ข้าวต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและมีคุณภาพเมล็ดดี สามารถแยก linkage drag ระหว่างอัลลีล *Bph3* และ $Wx^a$ ออกจากกันโดยการคัดเลือกฟีโนไทป์และการใช้โมเลกุลเครื่องหมายร่วมกัน สายพันธุ์ข้าวที่พัฒนาจากการวิจัยครั้งนี้แสดงความต้านทานต่อความหลากหลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่พบในประเทศไทยและมีคุณภาพเมล็ดเหมือนพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 สายพันธุ์ข้าวดังกล่าวสามารถจะพัฒนาเป็นพันธุ์ต้านทานหรือใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมเพื่อพัฒนาพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มี $Wx^b$ อัลลีล ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต่อไป

**คำสำคัญ** : เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Nilaparvata lugens* การคัดเลือกโดยโมเลกุลเครื่องหมาย SSR อัลลีล

## คำนำ

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (Brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål) เป็นแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญในพื้นที่ปลูกข้าวภาคกลางและภาคเหนือตอนล่าง ปัจจุบันพบความเสียหายจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลระบาดทำลายข้าวร่วมกับเพลี้ยกระโดดหลังขาว โนพื้นที่นาน้ำฝนภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นประจำทุกปี เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามารถทำลายข้าวได้ทุก ระยะการเจริญเติบโตโดยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นข้าว ทำให้ปริมาณคลอโรฟิล โปรตีน และคาร์โบไฮเดรทในต้นข้าวลดลง ส่งผลให้อัตราการสังเคราะห์แสง การเจริญเติบโต และการให้ผลผลิตของข้าวลดลงตามไปด้วย (Ramesh and Murugan, 1996; Sogawa, 1982; Watanabe and Kitagawa, 2000) ถ้าเกิดการระบาดรุนแรงข้าวจะแห้งตายในลักษณะที่เรียกว่า "hopperburn" (Dyck and Thomas, 1979; Pathak and Khan, 1994) นอกจากนั้นยังเป็นพาหะนำเชื้อที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดโรคใบหงิก (ragged stunt) และโรคเขียวเตี้ย (grassy stunt) ในข้าว มีรายงานการระบาดทำลายข้าวของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประเทศไทย ตั้งแต่ปี

Bureau of Rice Research and Development

พ.ศ. 2518 ในระหว่างปี พ.ศ. 2533-2534 พื้นที่ปลูกข้าวภาคกลางและภาคเหนือมากกว่าหนึ่งล้านไร่ได้รับความเสียหายจากการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและโรคใบหงิก ในช่วงปี พ.ศ. 2541-2544 เกิดการระบาดรุนแรงอีกครั้งในพื้นที่ภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

การใช้พันธุ์ข้าวต้านทานสามารถลดความเสียหายจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ลดการใช้สารฆ่าแมลง และลดต้นทุนการผลิตของเกษตรกร ดังนั้นในสภาวะปัจจุบันการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อให้ได้พันธุ์ต้านทานจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง สิ่งสำคั ญของการพัฒนาพันธุ์ /สายพันธุ์ต้านทานคือการเลือกใช้แหล่งพันธุกรรมหรือยีนต้านทานที่ดี ที่สามารถต้านทานครอบคลุมความหลากหลายของประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่พบในประเทศไทย มีความคงทนของลักษณะความต้านทาน (durable resistance) ต่อการเปลี่ยนแปลงประชากรของแมลง และสาม ารถต้านทานได้ทุกระยะการเจริญเติบโตของต้นข้าว เนื่องจากความต้านทานของข้าวบางพันธุ์ไม่สามารถที่จะต้านทานได้ทุกระยะการเจริญเติบโต ในประเทศไทยได้เริ่มศึกษาพันธุกรรมความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในพันธุ์ข้าว W1252, W1259 และ W1263 ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2518 โดยการผสมกับพันธุ์ข้าวของไทย พบว่าพันธุ์ข้าวทั้งสามมียีนเด่น (single dominant gene) ควบคุมลักษณะการต้านทาน และต่อมาพันธุ์ W1252 ได้ถูกนำมาใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมต้านทานต่อแมลงบั่วและเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในพันธุ์ กข 4 (Pongprasert and Weerapat, 1979) พันธุ์ กข 9 ได้รับยีนต้านทานจากพันธุ์ W1256 ถูกแนะนำและส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกในปี พ.ศ. 2518 และในปี พ.ศ. 2524 พันธุ์ข้าว กข21 ถูกแนะนำและส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกเพื่อแก้ปัญหาการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในภาคกลาง พันธุ์ข้าว กข21 มียีนต้านทาน *Bph1* จากพันธุ์ IR26 (TKM6) ต่อมาในปี พ.ศ. 2524พันธุ์ กข23 ซึ่งมียีนต้านทาน *bph2* จากพันธุ์ IR32 (PTB18 และ PTB21) ถูกรับรองพันธุ์และส่งเสริมให้เกษตรกร พันธุ์สุพรรณบุรี 60 ซึ่งต้านทานระดับปานกลางมียีนต้านทาน *bph2* จาก IR48 รับรองพันธุ์ปี พ.ศ.2530 เนื่องจากเป็นพันธุ์ที่มีคุณภาพค่อนข้างดี เกษตรกรจึงนิยมปลูกกันอย่างแพร่หลาย และในปี พ.ศ.2532 พันธุ์สุพรรณบุรี 60 ก็ถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลาย ทำให้พันธุ์สุพรรณบุรี 90 ถูกแนะนำทดแทนเพื่อแก้ปัญหา นอกจากนั้นยังมีพันธุ์ข้าวต้านทานอื่นๆ ถูกแนะนำเพื่อแก้ไขปัญหาและลดความเสียหายจากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เช่นชัยนาท 1 สุพรรณบุรี 1 และ สุพรรณบุรี 2 เป็นต้น ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2518 จนถึงปัจจุบัน กรมการข้าวได้ผลิตพันธุ์ข้าวต้านทานและส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกไม่น้อยกว่า 10 พันธุ์ แต่มีพันธุ์ข้าวเพียงไม่กี่พันธุ์ที่ยังคงต้านทานต่อประชากรเพลี้ยกระโดดสี น้ำตาลส่วนใหญ่ที่พบในประเทศไทย เช่น ปทุมธานี 1 และพิษณุโลก 2 ซึ่งคาดว่าจะได้รับยีนต้านทานมาจาก IR36 และ IR56 ตามลำดับ เนื่องจากประชากรแมลงที่พบมีการอพยพเคลื่อนย้ายและปรับเปลี่ยนประชากรอยู่ตลอดเวลา จึงมีความจำเป็นที่ต้องพัฒนาพันธุ์ข้าวให้ต้านทานควบคู่ไปกับก ารปรับปรุงพันธุ์ข้าวคุณภาพเมล็ดดีและให้ผลผลิตสูงขึ้น การใช้เทคโนโลยีชีวภาพโดยเฉพาะการใช้โมเลกุลเครื่องหมายเพื่อช่วยในการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่นำพายีนที่ควบคุมลักษณะความต้านทาน เป็นอีกแนวทางที่จะช่วยลดระยะเวลาและเพิ่มความแม่นยำในการพัฒนาพันธุ์ข้าว

Bureau of Rice Research and Development

ปัจจุบันมีรายงานการค้นพบตำแหน่งของยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลบนโครโมโซมข้าวไม่น้อยกว่า 20 ยีน (Zhang, 2007) ในจำนวนนี้มียีนต้านทาน *Bph1*, *bph2*, *bph5*, *bph7*, *bph8* และ *Bph9* ที่แมลงส่วนใหญ่ที่พบในประเทศไทยสามารถเข้าทำลายได้ พันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทาน *bph4*, *Bph6* และ *Bph10* สามารถต้านทานต่อแมลงบางประชากร มีเพียงไม่กี่ยีนที่ต้านทานต่อแมลงส่วนใหญ่ ได้แก่ *Bph3*, *Bph11*, *bph12*, *Bph14* และ *Bph15* และยังมีพันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทานบางยีน เช่น *Bph13*, *bph16*, *Bph17*, *Bph18* และ *bph19* ที่ยังไม่ได้นำมาศึกษาและทดสอบกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประเทศไทย นอกจากนั้นยังมีรายงานการค้นพบลักษณะที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานที่ควบคุมโดย QTL (Quantitative Trait Loci) กระจายทั่วทั้ง 12 โครโมโซมของข้าว (Alam and Cohen, 1998; Jairin *et al*., 2005; Soundararajan *et al*., 2004; Su *et al*., 2002; Xu *et al*., 2002)

การปรับปรุงพันธุ์ต้านทานในประเทศไทยได้มีการพัฒนาพันธุ์ข้าวต้านทานจากยีน *Bph1*, *bph2*, *Bph3* และ *bph4* ต่อมาพบว่าเพลี้ยกระโดดส่วนใหญ่สามารถเข้าทำลายพันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทาน *Bph1* และ *bph2* แต่ยังพบว่าพันธุ์ข้าวที่มียีน *bph4* ยังคงต้านทานต่อแมลงบางประชากร และพบว่าพันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทาน *Bph3* ยังสามารถต้านทานได้ดีต่อประชากรแมลงส่วนใหญ่ อย่างไรก็ตามเริ่มพบว่าระดับความต้านทานของพันธุ์ข้าวดังกล่าวลดลงเมื่อทดสอบกับแมลงบางประชากร

จากการศึกษาพบว่าพันธุ์ข้าว Rathu Heenati ที่มียีนต้านทาน *Bph3* (Angeles *et al*., 1986; Lakshminarayana and Khush, 1977) แสดงลักษณะต้านทานต่อประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เก็บจากจังหวัดกาญจนบุรี กาฬสินธุ์ ฉะเชิงเทรา ชัยนาท ชัยภูมิ เชียงราย นครนายก นครปฐม นครพนม นครราชสีมา นครศรีธรรมราช นครสวรรค์ น่าน บุรีรัมย์ ปทุมธานี พิษณุโลก แพร่ มุกดาหาร ยโสธร ร้อยเอ็ด ราชบุรี ลพบุรี ลำปาง ศรีสะเกษ สระแก้ว สุพรรณบุรี สุรินทร์ หนองคาย อ่างทอง อุดรธานี และอุบลราชธานี (Jairin *et al*., 2007a) จากการทดสอบการปรับตัวของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เลี้ยงบนพันธุ์ต้านทาน Rathu Heenati พบว่าประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เก็บจากจังหวัดอุบลราชธานี และขอนแก่น ไม่สามารถปรับตัวบนข้าวทั้งสองพันธุ์ได้ (Jairin, 2008)

พันธุ์/สายพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่พัฒนาขึ้นมาทั้งในและต่างประเทศที่ได้รับยีนต้านทาน *Bph3* พบว่าปริมาณอมิโลสในเมล็ดของพันธุ์/สายพันธุ์เหล่านั้นค่อนข้างสูง ทั้งนี้เนื่องจากยีนต้านทานในพันธุ์ข้าวดังกล่าววางตัวอยู่ใกล้กับยีนควบคุมการสร้างอมิโลสบนโครโมโซม 6 (Jairin *et al*., 2009) การพัฒนาพันธุ์ข้าวต้านทานและมีปริมาณอมิโลสต่ำจึงทำได้ไม่ง่ายนักโดยใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบปกติ การใช้โมเลกุลเครื่องหมายจึงเพิ่มโอกาสให้นักปรับปรุงพันธุ์สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ที่ต้องการได้ วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อสืบหาโมเลกุลเครื่องหมายที่อยู่ใกล้กับยีนต้านทาน *Bph3* และเพื่อถ่ายทอดลักษณะต้านทานดังกล่าวเข้าสู่พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพัฒนาเป็นสายพันธุ์ข้าวต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มีคุณภาพเมล็ดทางกายภาพและการหุงต้มดีโดยการใช้โมเลกุลเครื่องหมาย

Bureau of Rice Research and Development

# อุปกรณ์และวิธีการ

## 1. การพัฒนาประชากรข้าว

สร้างประชากรผสมกลับ $BC_3F_2$ ระหว่างพันธุ์ต้านทาน Rathu Heenati (acc. no. 11730) กับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เพื่อใช้ในการสืบหายีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล กำจัด linkage drag และพัฒนาสายพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและมีคุณภาพทางกายภาพและการหุงต้มดีโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมายช่วยในการคัดเลือกในแต่ละชั่วอายุดังที่แสดงไว้ใน Fig. 1 คัดเลือกได้ $BC_3F_3$ จำนวน 2 ต้น จาก $BC_3F_2$ จำนวน 2,343 ต้น ที่ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแ ละแยกอัลลีลควบคุมการสร้างอมิโลสในเมล็ดจาก donor ออกจากยีนต้านทาน *Bph3* คัดเลือกสายพันธุ์จากประชากร $BC_3F_4$ เพื่อใช้วิเคราะห์พื้นฐานทางพันธุกรรม (genetic background) และปลูกประเมินลักษณะทางการเกษตร ผลผลิต และลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของเมล็ดจนได้ประชากร $BC_3F_6$ จำนวน 51 สายพันธุ์

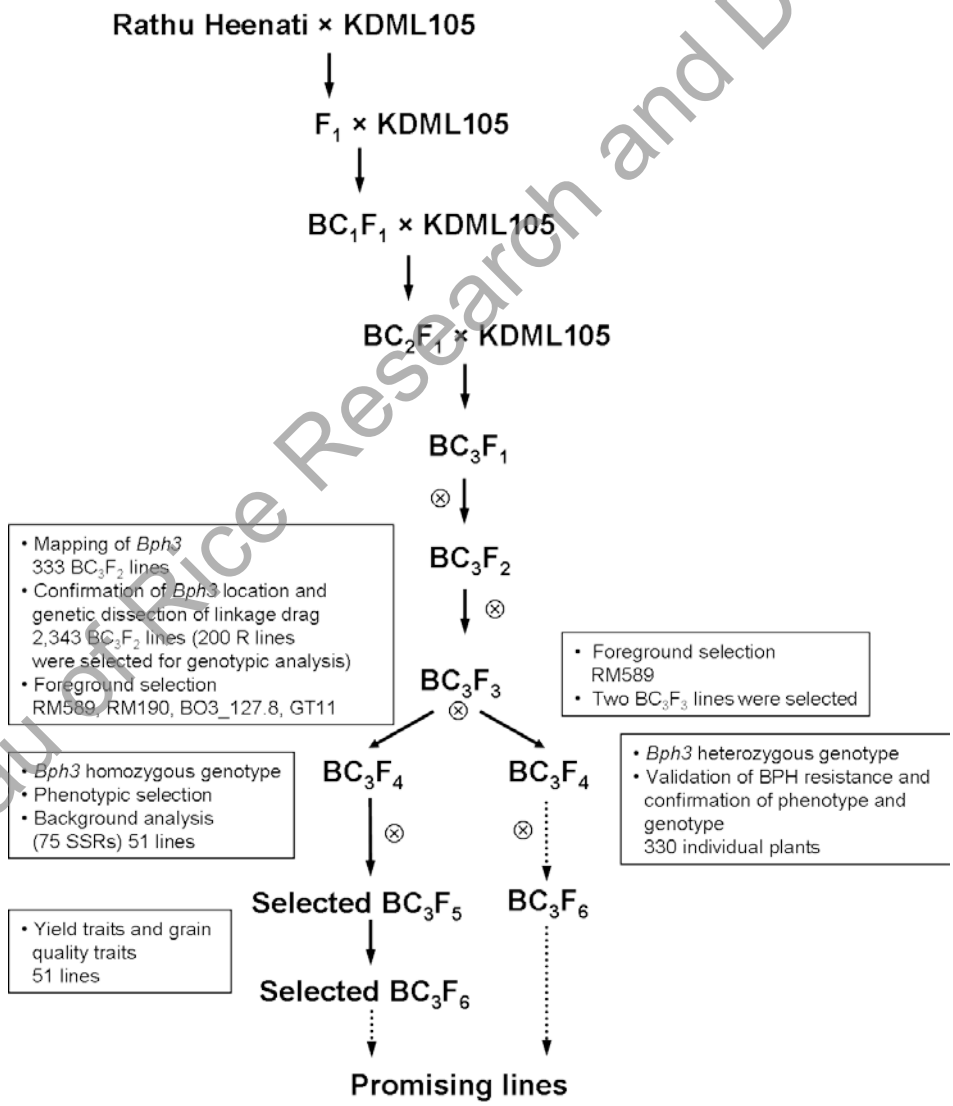


Fig. 1 Scheme for the development of BPH resistance introgression lines with details of markers used for foreground and background selection.

Bureau of Rice Research and Development

**2. การประเมินความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล**

ประเมินความต้านทานเ พลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของพันธุ์ข้าวในระยะกล้า (standard seedbox screening, SSBS) และในระยะข้าวแตกกอ (modified mass tillers screening, MMTS) และทดสอบความชอบของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลต่อพันธุ์ข้าว ดำเนินการทดสอบตามวิธีการของ Jairin *et al*. (2007b) ทดสอบความต้านทานของพ่อ-แม่ และประชากร $BC_3F_2$ จากคู่ผสม Rathu Heenati × ขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้พันธุ์ข้าว TN1 เป็นพันธุ์เปรียบเทียบอ่อนแอ ดำเนินการที่โรงเรือนทดสอบแมลงของศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี

**3. การสกัดดีเอ็นเอจากใบข้าวและการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่**

สกัดดีเอ็นเอจากใบข้าวโดยวิธี CTAB (cetyltrimethyl ammonium bromide) ตามวิธีการของ Chen and Ronald (1999) เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาลูกโซ่ (polymerase chain reaction, PCR) (10 µl) องค์ประกอบของพีซีอาร์ ดังนี้ Taq master mix 5 µl, $dH_2O$ 3.5 µl, Primer F (10 µM) 0.25 µl, Primer R (10 µM) 0.25 µl และ Template DNA (25 ng) 1 µl ขั้นตอนการเพิ่มจำนวนชิ้นส่วนดีเอ็นเอโดยเครื่องพีซีอาร์ ประกอบด้วย Initial denaturation 94°C นาน 3 นาที, denaturation 94°C นาน 30 วินาที, annealing 55°C นาน 30 วินาที, extension 72°C นาน 2 นาที, Final extension 72°C นาน 10 นาที, จำนวน 35 รอบ และแยกความแตกต่างขนาดของชิ้นส่วนดีเอ็นเอโดย polyacrylamide gel ความเข้มข้น 6% และย้อมด้วย silver nitrate

**4. การสืบหาตำแหน่งยีนต้านทาน *Bph3* บนจีโนมข้าว**

สืบหาโมเลกุลเครื่องหมายที่มีตำแหน่งใกล้กับยีนต้านทาน โดยใ ช้โมเลกุลเครื่องหมายชนิด SSR คัดเลือกสายพันธุ์ข้าวกลุ่มที่ต้านทานและอ่อนแอจากประชากรข้าว $BC_3F_2$ จำนวนกลุ่มละ 15 ต้น สำรวจหาตำแหน่งของยีนต้านทานโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมายชนิด SSR (McCouch *et al*., 2002) จำนวน 36 คู่ไพร์เมอร์ ซึ่งเป็นบริเวณตำแหน่งที่มีความเป็นได้ ว่าอยู่ใกล้กับยีนต้านทาน *Bph3* จากการรายงานก่อนหน้านี้ (Ikeda and Kaneda, 1981; Kawaguchi *et al*., 2001; Sun *et al*., 2005; Yan *et al*., 2002) ประกอบด้วย 13 คู่ไพร์เมอร์ ครอบคลุมระยะทางบนโครโมโซม 4 ตั้งแต่ 5.4-151.1 cM, 14 คู่ไพร์เมอร์ ครอบคลุมระยะทางบนโครโมโ ซม 6 ตั้งแต่ 2.3-105.1 cM และ 9 คู่ไพร์เมอร์ ครอบคลุมระยะทางบนโครโมโซม 10 ตั้งแต่ 17.6-113.0 cM

**5. การสร้างแผนที่โมเลกุลเครื่องหมายและการวิเคราะห์หาตำแหน่งยีนต้านทาน *Bph3***

หลังจากที่ทราบตำแหน่งของยีนต้านทาน *Bph3* พอสังเขปจากการสืบหาโดย SSR ดำเนินการสืบหาโมเลกุลเครื่องหมายที่อยู่ใกล้กับตำแหน่งที่พบเพิ่มเติม เพื่อวิเคราะห์หาตำแหน่งยีนต้านทานที่แน่นอนบนโครโมโซม วิเคราะห์ค่าความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลจีโนไทป์ที่ได้จากการวิเคราะห์โดยโมเลกุลเครื่องหมาย SSR และข้อมูลของลักษณะความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากร ข้าว $BC_3F_2$ จำนวน 333 ต้น โดยใช้โปรแกรม JoinMap 3.0 (Van Ooijen and Voorrips, 2001) และ MapQTL 5

Bureau of Rice Research and Development

(Van Ooijen, 2004) พิจารณาความน่าเชื่อถือของการจัดกลุ่มโดยดูจากค่า LOD ที่มีค่ามากกว่า 3.0 และระยะห่างบนแผนที่โมเลกุลเครื่องหมายวิเคราะห์โดยใช้ฟังก์ชันของ Kosambi (1944)

**6. การแยก Linkage drag และการคัดเลือกลักษณะความหอมและคุณภาพการหุงต้ม**

แยกอัลลีล *Wx*$^{a}$ ที่ติดมากับยีนต้านทาน *Bph3* จากพันธุ์ข้าว Rathu Heenati โดยทดสอบปฏิกิริยาความต้านทานของสายพันธุ์ข้าว จำนวน 2,343 ต้น ในสภาพโรงเรือน คัดเลือกเฉพาะต้นที่ต้านทานนำมาวิเคราะห์เพื่อคัดเลือกหาต้นที่มียีนต้านทานและยีน *Wx* ที่เป็นอัลลีลของขาวดอกมะลิ 105 (*Wx*$^{b}$) โดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย RM190 และ RM589 และคัดเลือกลักษณะความหอมและอุณหภูมิแป้งสุกโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย BO3_127.8 และ GT11 ตามลำดับ (Table 1)

Table 1 Target molecular markers for marker-assisted selection

| Marker | Type | Chr | Trait | Primer sequence | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | | Forward primer | Reverse primer |
| RM190 | SSR | 6 | AC, GC | gctacaaatagccacccacacc | caacacaagcagagaagtgaagc |
| BO3_127.8 | SSR | 8 | FR | cgtggctcgacctttttaat | tcaaaccctggttacagcaa |
| GT11 | STS | 6 | GT | cgagcgagggtttactgttc | ggaggaaacagcagcaactc |
| RM589 | SSR | 6 | BPH | atcatggtcggtggcttaac | caggttccaaccagacactg |

AC = amylose content; FR = fragrance; GC = Gel consistency, GT = Gelatinization temperature; BPH = brown planthopper resistance

**7. การประเมินพื้นฐานทางพันธุกรรม (genetic background) ของสายพันธุ์คัดเลือก**

คัดเลือกโมเลกุลเครื่องหมาย SSR ที่กระจายทั่วทั้งจีโนมข้าว (McCouch *et al*., 1997; 2002) จำนวน 120 คู่ไพร์เมอร์ คัดเลือกเฉพาะโมเลกุลเครื่องหมายที่แสดงความแตกต่างระหว่างพ่อ -แม่ จำนวน 75 คู่ไพร์เมอร์ เฉลี่ย 5-7 คู่ไพร์เมอร์ต่อโครโมโซม ทดสอบโมเลกุลเครื่องหมายกับดีเอ็นเอของสายพันธุ์คัดเลือกจำนวน 51 สายพันธุ์ จากประชากรรุ่น $BC_3F_4$ ของคู่ผสม Rathu Heenati×ขาวดอกมะลิ 105 วิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์อัลลีลหรือพันธุกรรมของพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ Rathu Heenati ในสายพันธุ์คัดเลือก

**8. การประเมินลักษณะทางการเกษตรและผลผลิตของสายพันธุ์คัดเลือก**

ประเมินลักษณะทางการเกษตรและผลผลิตในแปลงทดลองนาปี พ .ศ. 2550 ที่ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี เก็บข้อมูลวันออกดอก ความสูง จำนวนรวงต่อกอ จำนวน 5 กอ ต่อสายพันธุ์ และเก็บเกี่ยวผลผลิตแต่ละสายพันธุ์ จำนวน 48 กอ บันทึกข้อมูลองค์ประกอบผลผลิตและผลผลิตเฉลี่ยต่อกอที่ความชื้น 14%

**9. การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและเคมีของเมล็ดสายพันธุ์คัดเลือก**

วิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพ เช่น สีเปลือก ความกว้าง ความยาวของเมล็ดข้าวเปลือกและข้าวกล้อง ลักษณะท้องไข่ เปอร์เซ็นต์ท้องไข่คำนวณจากเมล็ดที่เกิดท้องไข่จากการสุ่มตรวจเมล็ดจำนวน 100

Bureau of Rice Research and Development

เมล็ด วิเคราะห์ปริมาณอมิโลส (amylose content, AC) อุณหภูมิแป้งสุก (gelatinization temperature, GT) และความคงตัวของแป้งสุก (gel consistency, GC) ตามวิธีการของ Lanceras *et al.* (2000) และให้คะแนนความหอมโดยการดมตามวิธีการของ Wanchana *et al.* (2005)

## ผลการทดลองและวิจารณ์

### 1. การสืบหาตำแหน่งของยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลบนจีโนมข้าว

#### 1.1 ความต้านทานของพันธุ์/สายพันธุ์ข้าวต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

จากการประเมินความต้านทานของพันธุ์ข้าว Rathu Heenati และขาวดอกมะลิ 105 ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่าพันธุ์ Rathu Heenati ต้านทานได้ดีทั้งในระยะกล้าและระยะแตกกอ ในขณะที่พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 อ่อนแอทั้งสองระยะ (Table 2) จากการศึกษากลไกความต้านทานพบว่าพันธุ์ Rathu Heenati ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจ ากการทดสอบความชอบและอัตราการกินอาหาร (Jairin, 2008) ซึ่งคาดว่าลักษณะความต้านทานน่าจะเกี่ยวข้องกับอินทรีย์เคมีภายในต้นข้าวที่ยับยั้งการกินอาหารของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

การทดสอบความต้านทานของประชากรข้าว $BC_3F_2$ จำนวน 333 สายพันธุ์ ในระยะแตกกอ ผลการทดสอบพบว่ามีก ารกระจายตัวของลักษณะต้านทานและอ่อนแอในอัตรา 3:1 ($\chi^2 = 0.03$, $P < 0.86$) ซึ่งบ่งชี้ถึงยีนที่ควบคุมลักษณะต้านทานเป็นยีนเด่นเพียงยีนเดียว แต่พบลักษณะการข่มแบบไม่สมบูรณ์ เนื่องจากพบสายพันธุ์ส่วนใหญ่ในกลุ่มต้านทานแสดงลักษณะต้านทานในระดับปานกลาง (Fig. 2)

Table 2 Average damage score of the parents to brown planthopper at vegetative stage (seedling and tillering stages) of rice plants.

| Cultivar | Seedling stage by SSBS | | | Tillering stage by MMTS | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 7 DAI | 10 DAI | 14 DAI | 7 DAI | 15 DAI | 23 DAI |
| Rathu Heenati | 1.0 | 2.2 | 2.4 | 1.0 | 1.0 | 1.0 |
| KDML105 | 6.5 | 8.9 | 9.0 | 5.0 | 9.0 | 9.0 |
| TN1 | 7.0 | 9.0 | 9.0 | 5.0 | 9.0 | 9.0 |

DAI=Days after infestation

Damage score: 1 = very slight damage, 9 = all plants dead

#### 1.2 ตำแหน่งของยีนต้านทาน *Bph3* บนจีโนมข้าว

สืบหาตำแหน่งของยีนต้านทาน *Bph3* โดยคัดเลือกและจัดกลุ่มสายพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จากประชากรข้าว $BC_3F_2$ กลุ่มละ 15 สายพันธุ์ วิเคราะห์หาตำแหน่งยีนต้านทานโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย SSR จำนวน 36 คู่ไพร์เมอร์ บนโครโมโซม 4, 6 และ 10 บริเวณที่คาดว่าน่าจะเป็นตำแหน่งของยีนต้านทานจากการรายงานของ Kawaguchi *et al.* (2001), Sun *et al.* (2005) และ Yan

Bureau of Rice Research and Development

*et al.* (2002) ทดสอบโมเลกุลเครื่องหมายกับกลุ่มต้านทานและอ่อนแอ ผลการทดสอบพบว่ามีเพียงโมเลกุลเครื่องหมาย RM190 บนโครโมโซม 6 ที่สามารถแยกดีเอ็นเอของข้าวในกลุ่มต้านทานและอ่อนแอออกจากกันได้อย่างชัดเจน แสดงว่ายีนที่เกี่ยวข้องกับลักษณะต้านทานมีตำแหน่งอยู่ใกล้กับโมเลกุลเครื่องหมาย RM190 เราได้พยายามหาโมเลกุลเครื่องหมายบริเวณรอบๆ ตำแหน่ง RM190 เพิ่มเติมเพื่อหาโมเลกุลเครื่องหมายที่ วางชิดกับ *Bph3* มากยิ่งขึ้นและนำไปวิเคราะห์กับดีเอ็นเอที่ได้จากประชากรข้าว $BC_3F_2$ จำนวน 333 สายพันธุ์ จากนั้นวิเคราะห์หา linkage group และตำแหน่งยีนต้านทานโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ JoinMap 3.0 และ MapQTL 5 จากผลการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของข้อมูลฟีโนไทป์กับจีโนไทป์ ของประชากร $BC_3F_2$ สามารถยืนยันตำแหน่งของยีนต้านทาน *Bph3* บนโครโมโซม 6 อยู่ห่างจากตำแหน่งของ *bph4* ไปทางปลายด้าน short arm ระหว่างโมเลกุลเครื่องหมาย RM588 และ RM589 โดยมีตำแหน่งอยู่ใกล้กับโมเลกุลเครื่องหมายRM589 (Fig. 3) ซึ่งสามารถอธิบายลักษณะต้านทานได้ร้อยละ 60.7

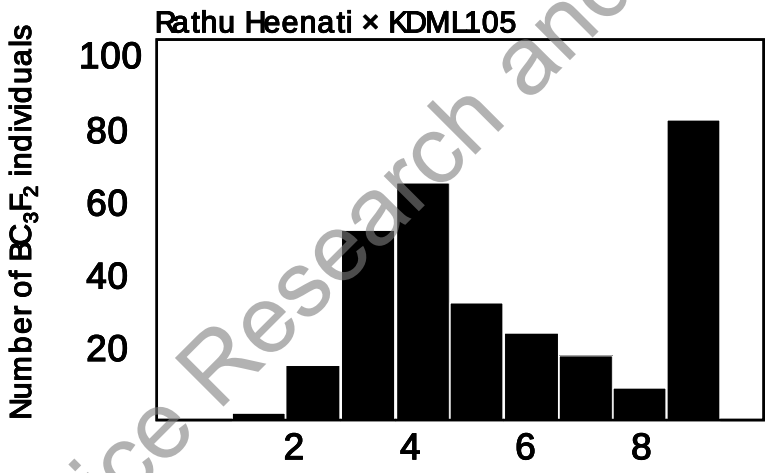


Fig. 2 Frequency distribution of BPH damage rating of a mapping population by the MMTS.

เนื่องจากพันธุ์ข้าว Rathuu Heenati ที่มียีน *Bph3* (Lakshminarayana and Khush, 1977) สามารถต้านทานได้ครอบคลุมความหลากหลายของประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ไม่เฉพาะในประเทศไทยแต่ยังต้านทานต่อประชากรที่พบในประเทศลาว เวียดนาม จีน ญี่ปุ่น เกาหลี ฟิลิปปินส์ บังคลาเทศ และบางประชากรในอินเดีย (Angeles, *et al*., 1986; Jairin *et al*., 2005; Khush, 1984; Li *et al*., 2002; Soundararajan *et al*., 2004; Velusamy *et al*., 1995) ดังนั้นจึงมีความพยายามที่จะศึกษาและวิเคราะห์หาตำแหน่งของยีนต้านทานบนโครโมโซมในพันธุ์ข้าวดังกล่าว ในระยะแรกของการศึกษา พบว่า *Bph3* และ *bph4* มีตำแหน่งใกล้กันบนโครโมโซม 7 โดยใช้ trisomic analysis (Ikeda and Kaneda, 1981) ต่อมานักวิจัยเชื่อว่า *Bph3* วางตัวอยู่บนโครโมโซม 4 (Yan *et al*., 2002) แต่ก็ยังไม่มีการยืนยันตำแหน่งของยีน *Bph3* ในพันธุ์ข้าว Rathu Heenati แต่เมื่อไม่นานมานี้ได้มีรายงานการค้นพบตำแหน่งของยีนต้านทานหลัก

Bureau of Rice Research and Development

ในพันธุ์ข้าว Rathu Heenati บนโครโมโซม 4 (Sun *et al*., 2005) เราพยายามที่จะใช้โมเลกุลเครื่องหมายในตำแหน่งที่มีการค้นพบมาทดสอบกับประชากรข้าวที่ใช้ศึกษาในครั้งนี้ แต่ไม่พบโมเลกุลเครื่องหมายใดที่จะมีความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานในกลุ่มต้านทานและอ่อนแอ ความแตกต่างตำแหน่งของยีนต้านทานที่พบในการทดลองนี้กับของ Sun *et al*. (2005) อาจเนื่องมาจากความแตกต่าง ของพันธุ์ข้าวที่ใช้หรือประชากรแมลงที่ใช้ทดสอบ อย่างไรก็ตามมีการรายงานตำแหน่งยีนต้านทาน *bph4* ในพันธุ์ข้าว Babawee บนโครโมโซม 6 (Kawaguchi *et al*., 2001) ซึ่งมีรายงานก่อนหน้านี้แล้วว่ายีน *bph4* มีตำแหน่งใกล้ (allelic หรือ closely linked) กับยีน *Bph3* (Sidhu and Khush, 1979) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาครั้งนี้ที่พบตำแหน่งของยีน *Bph3* บนโครโมโซม 6 ใกล้กับยีน *bph4* (Fig. 3)

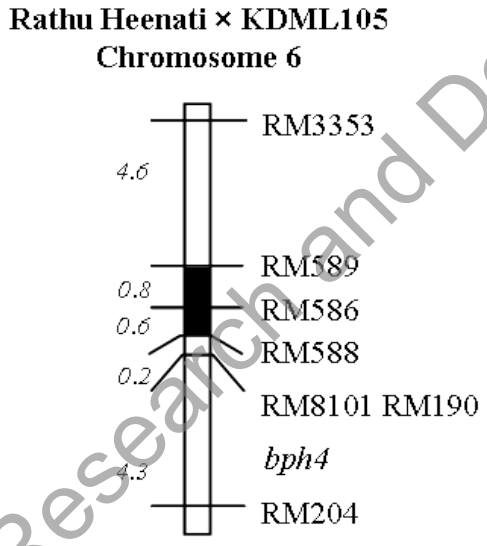


Fig. 3 Linkage maps of the BPH resistance gene *Bph3* on short arm of chromosome 6. The distance between markers is in centiMogans (cM). The solid bars indicate the location of the BPH resistance gene *Bph3*.

**1.3 ความแม่นยำของโมเลกุลเครื่องหมาย**

ยืนยันความแม่นยำของโมเลกุลเครื่องหมาย RM589 ที่มีตำแหน่งใกล้ยีนต้านทาน *Bph3* ดำเนินการโดยทดสอบความต้านทานของประชากรข้าว $BC_3F_4$ จำนวน 330 สายพันธุ์ที่ได้จากสาย พันธุ์ที่เกิด heterozygous บริเวณตำแหน่งยีนต้านทาน *Bph3* ผลการทดสอบพบว่าการกระจายตัวของความต้านทานในประชากรข้าว มีจำนวนต้นต้านทาน : ต้านทานปานกลาง : อ่อนแอ สอดคล้องกับอัตรา 1:2:1 ($\chi^2$ = 1.09, *P* = 0.58) (Fig. 4) บ่งบอกว่าลักษณะต้านทานถูกควบคุมโดยยีนเด่นเพียงยีนเดียวในลักษณะข่มแบบไม่สมบูรณ์ การกระจายตัวของอัลลีลที่ตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมาย RM589 ของประชากร $BC_3F_4$ พบว่ามีจำนวนต้นที่มีอัลลีลของพันธุ์ Rathu Heenati ที่เป็น homozygous, ต้นที่เป็น heterozygous และ

Bureau of Rice Research and Development

ต้นที่มีอัลลีลของพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่เป็น homozygous สอดคล้องกับอัตรา1:2:1 ($\chi^2$ = 1.04, $P$ = 0.59) เช่นเดียวกับลักษณะต้านทาน และจากการวิเคราะห์ข้อมูลลักษณะทางฟีโนไทป์ร่วมกับจีโนไทป์ โมเลกุลเครื่องหมาย RM589 บนโครโมโซม 6 สามารถอธิบายลักษณะต้านทานได้ถึงร้อยละ 80.6 ตัวอย่างของแถบดีเอ็นเอที่ได้จากการวิเคราะห์โดยโมเลกุลเครื่องหมาย RM589 และข้อมูลความต้านทานของบางสายพันธุ์แสดงไว้ใน Fig. 5

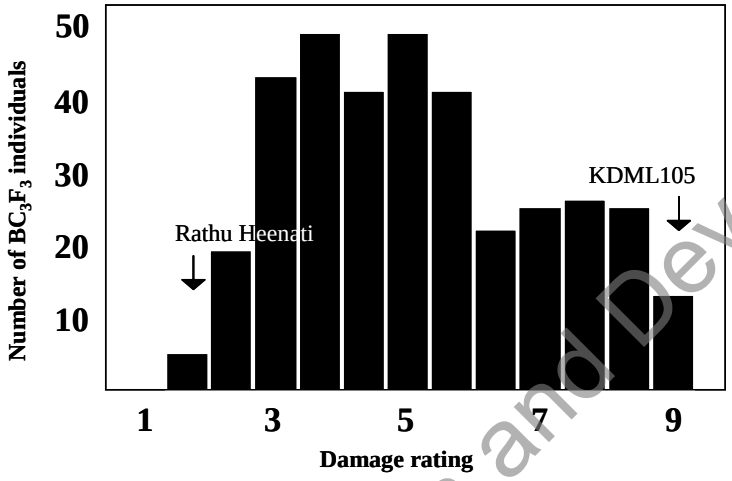


Fig. 4 Frequency distribution of BPH resistance scores of $BC_3F_4$ based on the MMTS method at the tillering stage of the rice plants.

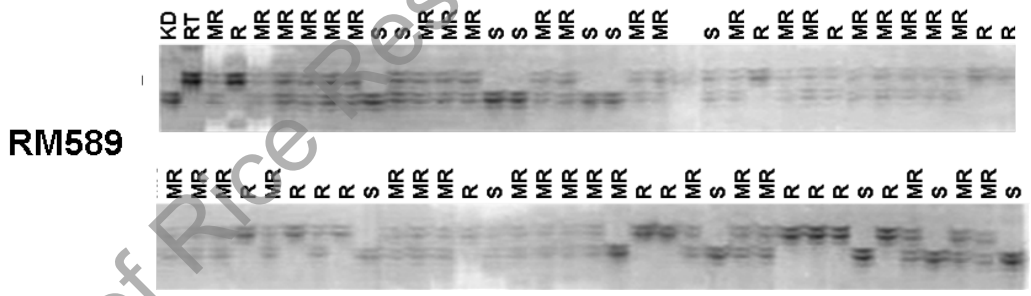


Fig. 5 PCR amplification of $BC_3F_4$ plants with the marker RM589 linked to *Bph3*. KD = KDML105, RT = Rathu Heenati, R = resistant, MR = moderately resistant, S = susceptible

**1.4 การแยก linkage drag ระหว่าง *Bph3* และ *Wx*$^a$ อัลลีล**

จากการศึกษาพบว่ายีนต้านทาน *Bph3* ในพันธุ์ข้าว Rathu Heenati มีตำแหน่งใกล้กับยีน waxy (*Wx*) ที่สร้าง granule-bound starch synthase (GBSS) ซึ่งจำเป็นสำหรับการสังเคราะห์อมิโลส (Wang *et al*., 1995) บนโครโมโซม 6 ซึ่งมีระยะห่างระหว่างทั้งสองยีนประมาณ 380 kb ยีน *Wx* ในพันธุ์ Rathu Heenati มีอัลลีลเป็น *Wx*$^a$ ซึ่งทำให้เมล็ดมี ปริมาณอมิโลสค่อนข้างสูง (Isshiki *et al*., 1998; Sano *et al*., 1986) และเป็นสิ่งที่เราไม่ต้องการหรือที่เรียกว่า “linkage drag” จึงจำเป็นที่จะต้องแยกยีนทั้งสองโดยการ

Bureau of Rice Research and Development

คัดเลือกลักษณะต้านทานในโรงเรือนทดลอง ร่วมกับการใช้โมเลกุลเครื่องหมาย ขั้นแรกทดสอบความต้านทานต่อ เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของประชากรข้าว $BC_3F_2$ จำนวนทั้งหมด 2,343 ต้น คัดเลือกต้นที่ต้านทานจำนวน 200 ต้น จากนั้นแยก linkage drag ระหว่างยีนต้านทานและยีนควบคุมการสร้างอมิโลสออกจากกัน ใช้โมเลกุลเครื่องหมาย RM589 และ RM190 คัดเลือกต้นที่ต้านทานและมีอัลลีลตรงตำแหน่งยีน *Wx* เหมือนพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ($Wx^b$) และคัดเลือกต้นข้าวโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย (Table 1) ที่เกี่ยวข้องกับลักษณะความหอม ค่าการสลายตัวในด่าง และปริมาณอมิโลสไปพร้อมกัน คัดเลือกได้ต้นที่ต้องการ 1 ต้น (#101) (Fig. 6) เพื่อพัฒนาเป็นสายพันธุ์ต้านทานในชั่วต่อไ ป ผลการทดลองชี้ให้เห็นถึงประสิทธิภาพของการใช้โมเลกุลเครื่องหมายในกรณีที่เกิด linkage drag ที่เราไม่คาดคิดมาก่อน วิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม (conventional breeding) อาจต้องใช้ระยะเวลาและปริมาณของประชากรข้าวค่อนข้างมากเพื่อจะขจัดยีนที่ไม่ต้องการออกจากยีนที่ควบคุมลักษณะที่เราสนใจ โอกาสที่จะได้สายพันธุ์ที่ต้องการก็น้อยลง ดังจะเห็นได้จากพันธุ์ข้าวหรือสายพันธุ์ข้าวที่คาดว่าจะได้รับยีนต้านทาน *Bph3* เป็นพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณอมิโลสค่อนข้างสูง เช่น IR72, IR56, IR13540-56-3-2-1 และพิษณุโลก 2 เป็นต้น ในกรณีนี้การคัดเลือกโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมายมีข้อได้เปรียบและเพิ่มโอกาสที่จะได้สายพันธุ์ที่ต้องการ อีกทั้งยังลดระยะเวลาเนื่องจากสามารถคัดเลือกลักษณะที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพของเมล็ดในระยะกล้า

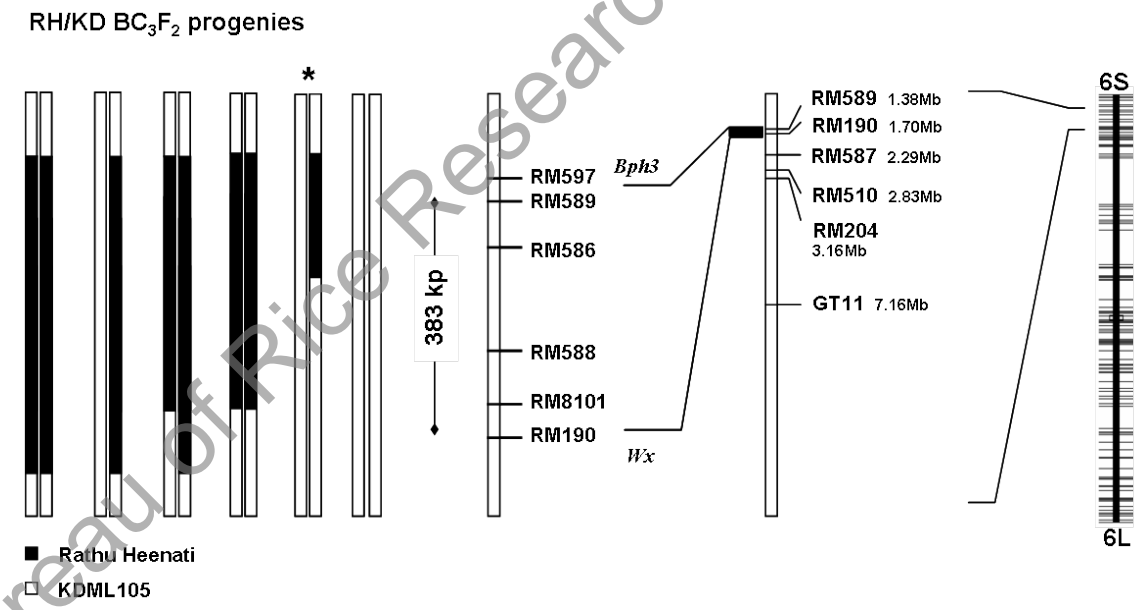


Fig. 6 Fine-scale mapping of two loci, *Bph3* and $Wx^a$, controlling BPH resistance and amylose content, respectively. The locations of two genes, *Bph3* and *Wx* are shown in the linkage map. Graphical genotypes of the region in six $BC_3F_2$ plants are shown on the left; white blocks regions derived from KDML105 and black blocks regions derived from Rathu Heenati. The progeny with an asterisk (#101) was selected to develop the $BC_3F_3$.

Bureau of Rice Research and Development

**2. การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและมีคุณภาพการหุงต้มดีโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล**

ปลูกประชากรข้าว $BC_3F_3$ ที่ได้เมล็ดจากต้น (#101) ที่ขจัด linkage drag ออกไปแล้ว เพื่อคัดเลือกให้ได้สายพันธุ์ต้านทานและมีลักษณะต่างๆ ใกล้เคียงกับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยการคัดเลือกโดยโมเลกุลเครื่องหมาย ได้สายพันธุ์ $BC_3F_4$ ที่ต้องการ 2 ต้น (Fig. 1) เพื่อพัฒนาเป็นสายพันธุ์รุ่นต่อไปจนได้สายพันธุ์ $BC_3F_6$ จำนวน 51 สายพันธุ์ ใช้สำหรับประเมินลักษณะทางการเกษตรและผลผลิตในแปลงทดลอง ความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และประเมินคุณภาพทางกายภาพและการหุงต้ม

**2.1 ความต้านทานของสายพันธุ์คัดเลือกต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล**

ผลจากการทดสอบความต้านทานของสายพันธุ์คัดเลือกในระยะกล้าโดยวิธี SSBS กับประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มีความแตกต่างของชีวชนิดจำนวน 6 ประชากร พบว่าสายพันธุ์คัดเลือกต้านทานได้ดีต่อทุกประชากรแมลง (Table 3) แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์คัดเลือกได้รับยีนต้านทานจาก Rathu Heenati ซึ่งต้านทานได้ครอบคลุมประชากรแมลงที่เก็บในประเทศไทย (Jairin *et al*., 2007a) อย่างไรก็ตามพบว่ามีความแตกต่างของระดับความต้านทานในบางสายพันธุ์ต่อแมลงบางประชากร ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากยังมียีนต้านทานอื่นที่เราไม่สามารถค้นพบในการศึกษาครั้งนี้ ซึ่งทำให้ระดับความต้านทานในบางสายพันธุ์ไม่เท่ากัน

Table 3 The reaction to BPH populations collected in Thailand in 2004 and 2007, of some selected introgression lines. The SSBS was used to evaluate the resistance

| Designation | Reaction to BPH populations* | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | UBN | DUD | NAN | KPP | WTG | PSL |
| UBN03078-101-342-6-56 | R | R | R | R | R | R |
| UBN03078-101-342-6-58 | R | R | R | R | R | R |
| UBN03078-101-342-4-106 | R | R | MR | MR | R | MR |
| UBN03078-101-342-4-143 | R | R | R | R | R | R |
| KDML105 | S | S | S | S | S | S |
| Rathu Heenati | R | R | R | R | R | R |

R = resistant; MR = moderately resistant; S = susceptible

* Four different biotypes of BPH populations (Jairin et al., 2007a) were collected from four provinces, Ubon Ratchathani (UBN), Nan (NAN), Kamphaeng Phet (KPP) and Phitsanulok (PSL), in 2004. Two BPH populations were collected from the outbreak fields from Det Udom (DUD), Ubon Ratchathani province and Wang Thong (WTG), Phitsanulok province in 2007.

Bureau of Rice Research and Development

ผลของการทดสอบความต้านทานในระยะแตกกอของข้าวสายพันธุ์คัดเลือกบางสายพันธุ์ เมื่อประเมินด้วยวิธีการทดสอบปฏิกิริยาความต้านทาน (MMTS) พบว่าสายพันธุ์ทดสอบแสดงความต้านทานได้ดี (Fig. 7) และจากการท ดสอบความชอบของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลต่อพันธุ์ข้าว แมลงส่วนใหญ่ไม่ชอบเกาะบนสายพันธุ์ต้านทานหลังจากปล่อยแมลง 72 ชั่วโมง (Fig. 8)

Fig. 7 The levels of resistance to BPH at tillering stage in some introgressed lines, KDML105, a susceptible recurrent cultivar, and TN1, a susceptible cultivar. The plants have been exposed to BPH feeding for two generations of the insects.

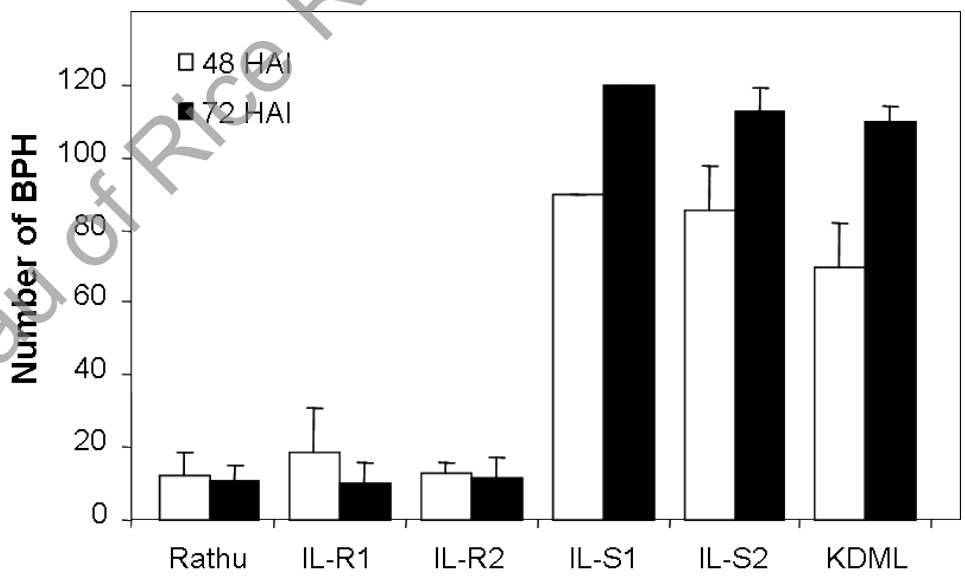


Fig. 8 Number of BPH nymphs (means ± SE) settled on rice cultivars and some introgressed plants in a choice test during 48 and 72 h after infestation.

Bureau of Rice Research and Development

**2.2 ลักษณะทางการเกษตรและผลผลิต**

ปลูกทดสอบสายพันธุ์คัดเลือก $BC_3F_6$ 51 สายพันธุ์ ในแปลงนาศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี พบว่าลักษณะทางการเกษตร เช่น ลักษณะทรงต้น วันออกดอก ลักษณะรวง และลักษณะเมล็ดของสายพันธุ์ข้าวส่วนใหญ่คล้ายกับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 แต่ยังพบการกระจายตัวของลักษณะต่างๆ ระหว่างสายพันธุ์คัดเลือกบ้าง (Table 4, Fig. 9) ค่าเฉลี่ยความสูงของสายพันธุ์อยู่ระหว่าง 122.2-164.6 ซม. ในขณะที่ค่าเฉลี่ยขาวดอกมะลิ 105 สูง 139.0 ซม. วันออกดอกของสายพันธุ์ส่วนใหญ่เหมือนกับขาวดอกมะลิ 105 มีเพียงบางสายพันธุ์ ที่ออกดอกล่าช้ากว่า 3-7 วัน ค่าเฉลี่ยของจำนวนรวงต่อกอและผลผลิตของสายพันธุ์คัดเลือกสูงกว่าขาวดอกมะลิ 105 ร้อยละ 18.4 และ 18.1 ตามลำดับ

ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางการเกษตรแสดงไว้ใน Table 5 ผลการวิเคราะห์พบว่าผลผลิตมีความสัมพันธ์ด้านบวกจำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดต่อรวง และความสูง ($r = 0.37$, $P < 0.01$; $r = 0.40$, $P < 0.01$; $r = 0.42$, $P < 0.01$ ตามลำดับ) แต่ไม่พบความสัมพันธ์ด้านบวกระหว่างผลผลิตกับน้ำหนัก 1000 เมล็ด วันออกดอกมีความสัมพันธ์ด้านลบกับผลผลิตและจำนวนเมล็ดต่อรวง ($r = -0.37$, $P < 0.01$; $r = 0.39$, $P < 0.01$ ตามลำดับ) จากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าจำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดต่อรวง และความสูงส่งผลต่อการให้ผลผลิตของสายพันธุ์ข้าวคัดเลือก ซึ่งให้ผลผลิตสูงกว่าขาวดอกมะลิ 105 ร้อยละ 18.1

**2.3 คุณภาพทางกายภาพและการหุงต้มของเมล็ดข้าว**

ผลการวิเคราะห์คุณภาพเมล็ดของสายพันธุ์คัดเลือกจำนวน 51 สายพันธุ์ ที่เก็บจากแปลงนาศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี นาปี พ.ศ. 2550 แสดงไว้ใน Table 6 และ 7 การกระจายตัวของลักษณะคุณภาพทางกายภาพและการหุงต้มของสายพันธุ์คัดเลือกแสดงไว้ที่ Fig. 9 สีเปลือกของเมล็ดข้าวสายพันธุ์คัดเลือกมีสีเหลืองฟางเหมือนกับขาวดอกมะลิ 105 เปอร์เซ็นต์ท้องไข่ของสายพันธุ์คัดเลือกอยู่ระหว่างร้อยละ 0.4-1.9 ซึ่งใกล้เคียงกับขาวดอกมะลิ 105 (0.8) ในขณะที่ปริมาณท้องในพันธุ์ Rathu Heenati สูงถึงร้อยละ 46.8 ความยาวของเมล็ดข้าวกล้องของสายพันธุ์ข้าวเฉลี่ยระหว่าง 6.9-7.9 มม. ปริมาณอมิโลสอยู่ระหว่าง 14.1-16.1 ค่าสลายตัวในด่างเหมือนกับขาวดอกมะลิ 105 คือ อยู่ระหว่าง 6.9-7.0 และลักษณะความคงตัวของแป้งสุกค่อนข้างจะมีการกระจายตัวมากกว่าลักษณะทางคุณภาพอื่น คืออยู่ระหว่าง 83.8-115.0 ซม. ทั้งนี้เนื่องจากลักษณะดังกล่าวถูกควบคุมโดย QTL ซึ่งเป็นตำแหน่งที่เราไม่ได้คัดเลือก และยีน *Wx* นอกจากจะเป็นยีนหลักที่ควบคุมการสร้างอมิโลส ยังเกี่ยวข้องกับลักษณะความคงตัวของแป้งสุกอีกด้วย (He *et al*., 2006)

ความหอมเป็นอีกลักษณะหนึ่งที่ต้องการในข้าวคุณภาพดี สายพันธุ์ข้าวเกือบทั้งหมดมีความหอม แต่เป็นที่สังเกตว่ามีการกระจายตัวของระดับความหอมในสายพันธุ์ข้าว ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเราคัดเลือกความหอมของสายพันธุ์ข้าวโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมายบนโครโมโซม 8 เพียงแห่งเดียว แต่ลักษณะความหอมไม่ได้ถูกควบคุมโดยยีนหลักบนโครโมโซม 8 เพียงยีนเดียว ปัจจุบันมีการค้นพบ QTL ที่เกี่ยวข้องกับความหอมบนโครโมโซม 3 และ 4 (Amarawathi *et al*., 2008) ซึ่งอาจส่งผลต่อระดับความหอมในสายพันธุ์คัดเลือก อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาครั้งนี้พิสูจน์ให้เห็นว่าการใช้โมเลกุลเครื่องหมาย มีประสิทธิภาพใน

Bureau of Rice Research and Development

การคัดเลือกลักษณะทางคุณภาพทางกายภาพและการหุงต้มของเมล็ดข้าวโดยเฉพาะปริมาณอมิโลส ความคงตัวของแป้งสุก การสลายตัวในด่าง และความหอม

Table 4 Performance of principal agronomic traits of some selected introgressed line

| Designation | DH | PN | GP | NP | PH | GY | GW |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| UBN03078-101-342-6-56 | 127 | 13.0 | 4.07 | 122.4 | 139.6 | 24.5 | 32.7 |
| UBN03078-101-342-6-58 | 127 | 13.2 | 3.03 | 93.4 | 143.4 | 25.4 | 33.4 |
| UBN03078-101-342-4-106 | 127 | 11.8 | 3.80 | 130.0 | 152.8 | 27.1 | 27.8 |
| UBN03078-101-342-4-143 | 127 | 19.2 | 3.72 | 96.2 | 143.8 | 23.3 | 27.1 |
| KDML105 | 127 | 13.8 | 2.91 | 102.6 | 139.0 | 22.0 | 29.4 |

DH = Days to heading; PN = Panicle number; GP = grain weight per panicle; NP = Number of grain per panicle; PH = Plant height; GY = Grain yield per plant; GW = 1000-grain weight

Table 5 Correlation coefficients between panicle number (PN), plant height (PH), grain yield per plant (GY), grain weight per panicle (GP), number of grain per panicle (NP), flowering date (FD), 1000-grain weight (GW)

| Traits | PN | PH | GY | GP | NP | FD |
|---|---|---|---|---|---|---|
| PH | 0.54*** | | | | | |
| GY | 0.37** | 0.42** | | | | |
| GP | 0.40** | 0.41** | 0.31* | | | |
| NP | 0.42** | 0.40** | 0.40** | 0.88*** | | |
| FD | -0.31* | -0.34* | -0.37** | -0.33* | -0.39** | |
| GW | 0.07 | 0.04 | -0.02 | 0.13 | -0.05 | 0.13 |

Significant differences at ***P < 0.001, **0.01, *0.05, respectively

Table 6 General appearance quality traits of rice grains of some selected introgressed lines

| Designation | HC | MB | ML | ML/MB | CK |
|---|---|---|---|---|---|
| UBN03078-101-342-6-56 | ST | 2.4 | 7.8 | 3.3 | 1.9 |
| UBN03078-101-342-6-58 | ST | 2.5 | 7.8 | 3.2 | 1.3 |
| UBN03078-101-342-4-106 | ST | 2.2 | 7.2 | 3.2 | 1.1 |
| UBN03078-101-342-4-143 | ST | 2.1 | 7.7 | 3.7 | 1.4 |
| KDML105 | ST | 2.2 | 7.8 | 3.6 | 0.8 |

HC = Hull color (ST= straw colored); MB = Milled rice kernel breadth (mm); ML = Milled rice kernel length (mm); ML/MB = Milled rice kernel breadth/Milled rice kernel; CK = Chalkiness (%)

Bureau of Rice Research and Development

Table 7 The grain quality traits of some selected introgression lines and the percentage of parental genome recovery of the selections using 75 SSR markers. RH and KD stand for Rathu Heenati and KDML105 alleles, respectively.

| Designation | AC | GT | FR | GC | % KD genome | % RH genome | % Residual heterozygosity |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| UBN03078-101-342-6-56 | 15.39 | 7.0 | 1 | 60.0 | 83.8 | 13.2 | 2.9 |
| UBN03078-101-342-6-58 | 15.22 | 7.0 | 1 | 70.0 | 85.1 | 10.5 | 4.5 |
| UBN03078-101-342-4-106 | 14.96 | 7.0 | 1 | 110.0 | 86.8 | 13.2 | 0.0 |
| UBN03078-101-342-4-143 | 14.19 | 7.0 | 2 | 77.5 | 86.8 | 10.3 | 2.9 |
| KDML105 | 15.28 | 7.0 | 2 | 75.0 | 100.0 | - | - |
| Mean* | 15.03 | 7.0 | | 81.2 | 86.9 | 9.9 | 3.2 |

AC = Amylose content (%); GT = Gelatinization temperature (1-2 = high and 6-7 = low); FR = Fragrance (1 = mild; 2 = strong); GC = Gel consistency (mm)

* Mean value from all 51 selected introgression lines

### 2.4 พื้นฐานทางพันธุกรรมของสายพันธุ์คัดเลือก

วิเคราะห์พื้นฐานทางพันธุกรรมของสายพันธุ์คัดเลือก $BC_3F_4$ จำนวน 51 สายพันธุ์ โดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย SSR ที่แสดงความแตกต่างระหว่างพ่อ -แม่ (ขาวดอกมะลิ 105 และ Rahu Heenati) จำนวน 75 คู่ไพร์เมอร์ ที่กระจายทั่วทั้งจีโนม ค่าเฉลี่ยระยะห่างระหว่างโมเลกุลเครื่องหมายเริ่มตั้งแต่ 11.4 cM (โครโมโซม 5) จนถึง 30.2 cM (โครโมโซม 3) เปอร์เซ็นต์ของ homozygous ของอัลลีลพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 อยู่ระหว่างร้อยละ 60-100 โดยมีค่าเฉลี่ยร้อยละ 86.9 ซึ่งหมายความว่าสายพันธุ์คัดเลือกมีเปอร์เซ็นต์ค่าเฉลี่ยของพันธุกรรมที่เหมือนกับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ร้อยละ 86.9 นับว่าค่อนข้างต่ำถ้าเปรียบเทียบกับค่าที่ควรจะเป็นตามทฤษฎีการผสมกลับครั้งที่ 3 คือ ร้อยละ 93.8 อย่างไรก็ตามพบว่าบางสายพันธุ์มีอัลลีลเหมือนขาวดอกมะลิ 105 ถึงร้อยละ 91.2 และถึงแม้ว่าประชากรข้าวที่ใช้ทดสอบจะเป็นชั่วที่ 6 ($BC_3F_6$) แต่ก็ยังพบว่าค่าเฉลี่ยของ heterozygous ของสายพันธุ์คัดเลือกเฉลี่ยอยู่ที่ร้อยละ 3.2 (Table 7)

## สรุปผลการทดลอง

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและมีคุณภาพทางกายภาพและการหุงต้มดีเป็นเป้าหมายสำคัญของโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าว การศึกษาครั้งนี้ได้ค้นพบตำแหน่งของยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Bph3* ซึ่งอยู่ระหว่างโมเลกุลเครื่องหมา ย RM588 และ RM589 บนโครโมโซม 6 นอกจากนั้นยังได้พัฒนาสายพันธุ์ข้าวที่มีคุณภาพการหุงต้มดีและต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดย

Bureau of Rice Research and Development

การผสมผสานระหว่างการคัดเลือกลักษณะความต้านทานในโรงเรือนและการใช้โมเลกุลเครื่องหมาย คัดเลือกได้สายพันธุ์ข้าวจำนวน 51 สายพันธุ์ที่มีคุ ณภาพทางกายภาพและการหุงต้มคล้ายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และต้านทานต่อประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่พบในประเทศไทย สายพันธุ์ดังกล่าวสามารถนำไปใช้เป็นแหล่งพันธุ์กรรมความต้านทาน และคุณภาพเมล็ดดีในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าว และสามารถพัฒนาเป็นพันธุ์ต้านทานปลูกในพื้นที่ปลูกข้าวขาวดอกมะลิ 105 ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ที่เสี่ยงต่อการระบาดทำลายข้าวของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและเพลี้ยกระโดดหลังขาว

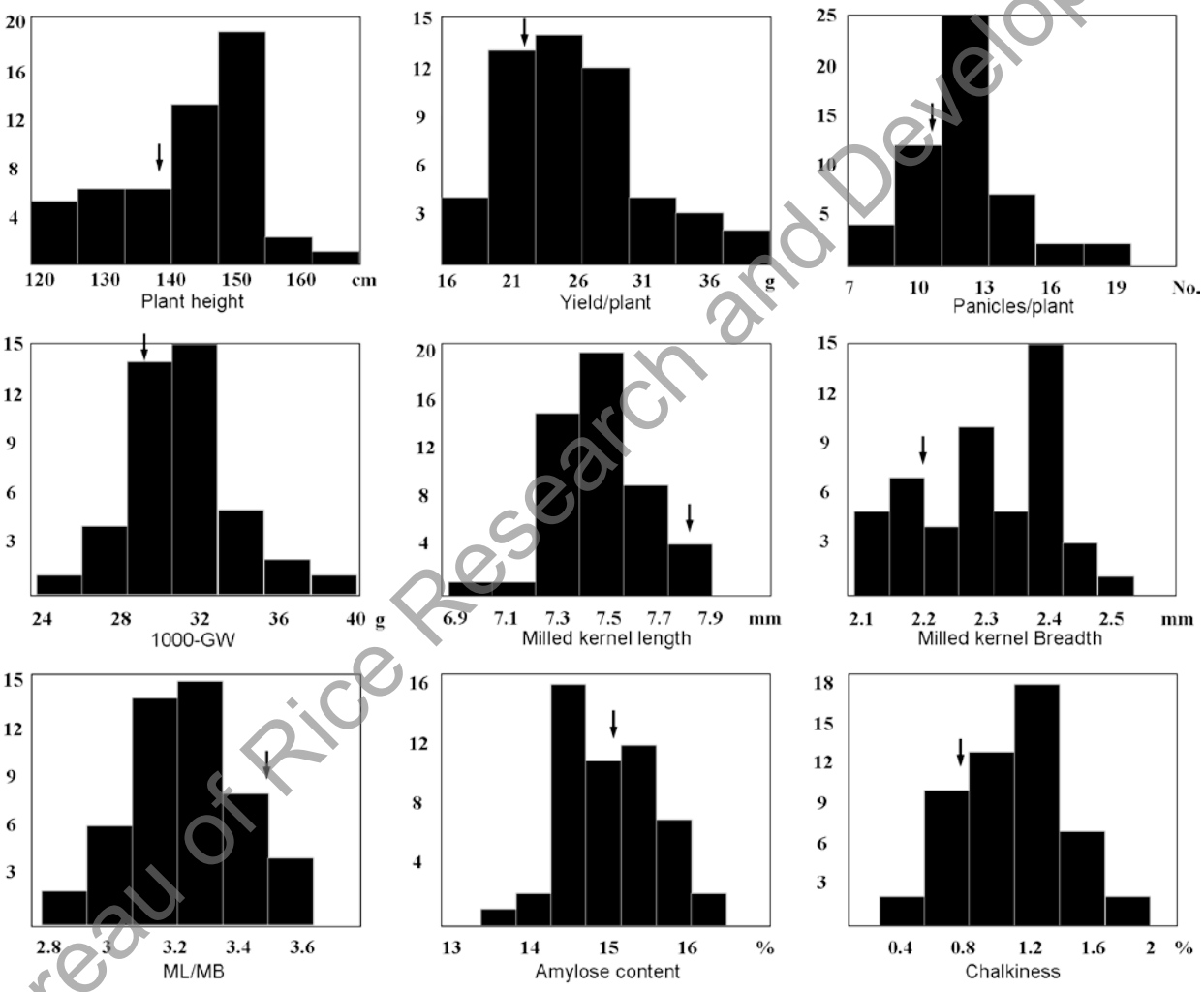


Fig. 9 Frequency distribution of plant height (cm), grain yield per plant (g/plant), panicle per plant, 1000-grain weight (g), milled rice kernel length (mm), milled rice kernel breadth (mm), milled rice kernel length/breadth, amylose content (%) and chalkiness of rice grain (%) in $BC_3F_6$ progenies. Arrows show the mean of KDML105.

Bureau of Rice Research and Development

## คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้อยู่ภายใต้โครงการ การพัฒนาโมเล กุลเครื่องหมายเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว ซึ่งได้รับงบประมาณจากรัฐบาลไทย และมูลนิธิร็อคกี้เฟลเลอร์ ขอขอบคุณ คุณเจตน์ คชฤกษ์ ที่มีส่วนช่วย ในการทดสอบความต้านทา นของสายพันธุ์ข้าวต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล คุณ Myint Yi ที่ช่วยวิเคราะห์ GC และขอขอบคุณ ดร.ธีรยุทธ ตู้จินดา ดร.พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ ดร.วราพงษ์ ชมาฤกษ์ และดร.พยอม โคเบลลี่ ที่ให้คำแนะนำในการดำเนินงานวิจัย

## เอกสารอ้างอิง

Alam, S.N. and M.B. Cohen. 1998. Detection and analysis of QTLs for resistance to the brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, in a doubled-haploid rice population. Theor. Appl. Genet. 97 : 1370-1379.

Amarawathi, Y., R. Singh, A.K. Singh, V.P. Singh, T. Mohapatra, T.R. Sharma and N.K. Singh. 2008. Mapping of quantitative trait loci for basmati quality traits in rice (*Oryza sativa* L.). Mol. Breed. 21 : 49-65.

Angeles, E.R., G.S. Khush and E.A. Heinrichs. 1986. Inheritance of resistance to planthoppers and leafhopper in rice. pp. 537-549. In : International Rice Research Institute, (ed.) Rice Genetics. Los Baños, Philippines.

Chen, D.H., and P.C. Ronald. 1999. A rapid DNA minipreparation method suitable for AFLP and other PCR applications. Plant Mol. Biol. Rep. 17 : 53-57.

Dyck, V.A. and B. Thomus. 1979. The brown planthopper problem, pp. 3-17. In International Rice Research Institute, ed. Brown Planthopper: Threat to Rice Production in Asia. IRRI, Los Baños, Philippines.

He, Y., Y. Han, L. Jiang, C. Xu, J. Lu, M. Xu. 2006. Functional analysis of starch-synthesis genes in determining rice eating and cooking qualities. Mol. Breed. 18 : 277-290.

Ikeda, R. and C. Kaneda. 1981. Genetic analysis of resistance to brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stål, in rice. Jpn. J. Breed. 31 : 279-285.

Isshiki, M., K. Morino, M. Nakajima, R.J. Okagaki, S.R. Wessler, T. Izawa and K. Shimamoto. 1998. A naturally occurring functional allele of the rice waxy locus has a GT to TT mutation at the 5' splice site of the first intron. The Plant J. 15 : 133-138.

Jairin, J. 2008. High-resolution Mapping of a Brown Planthopper (BPH) Resistance Gene, *Bph3*, and Marker-assisted Selection for BPH Resistance in Rice. Ph.D. thesis, Kasetsart University.

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

Jairin, J., S. Teangdeerith, P. Leelagud, J. Kothcharerk, K. Sansen, M. Yi, A. Vanavichit and T. Toojinda. 2009. Development of rice introgression lines with brown planthopper resistance and KDML105 grain quality characteristics through marker-assisted selection. Field Crop Res. 110 : 263-271.

Jairin, J., S. Teangdeerith, P. Leelagud, K. Phengrat, A. Vanavichit and T. Toojinda. 2007b. Physical mapping of *Bph3*, a brown planthopper resistance locus in rice. Mj. Int. J. Sci. Tech. 1 : 166-177.

Bureau of Rice Research and Development

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.

Kawaguchi, M., K. Mulata, T. Ishii, S. Takumi, N. Mori and C. Nakamura. 2001. Assigment of a brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) resistance gene *bph4* to the rice chromosome 6. Breed. Sci. 51 : 13-18.

Kosambi, D.D. 1944. The estimation of map distance from recombination values. Ann. Eugen. 12 : 172-175.

Khush, G.S. 1984. Breeding rice for resistance to insects. Protect. Eco. 7: 147-165.

Lakshminarayana, A. and G.S. Khush. 1977. New genes for resistance to the brown planthopper in rice. Crop Sci. 17 : 96-100.

Lanceras, J.C., Z.L. Huang, O. Naivikul, A. Vanavichit, V. Ruanjaichon and S. Tragoonrung. 2000. Mapping of genes for cooking and eating qualities in Thai jasmine rice (KDML105). DNA Res. 7 : 93-101.

Li, R.B., X.Y. Qin, S.M. Wei, F.K. Huang, Q. Li and S.Y. Luo. 2002. Identification and genetics of resistance against brown planthopper in a derivative of wild rice, *Oryza rufipogon* Griff. J. Genet. Breed. 56 : 29-36.

McCouch, S.R., L. Teytelman, Y. Xu, K.B. Lobos, K. Clare, M. Walton, B. Fu, R. Maghirang, Z. Li, Y. Xing, Q. Zhang, I. Kono, M. Yano, R. Fjellstrom, G. DeClerck, D. Schneider, S. Cartinhour, D. Ware and L. Stein. 2002. Development and mapping of 2,240 new SSR markers for rice (*Oryza sativa* L.). DNA Res. 9 : 199-207.

McCouch, S.R., X. Chen, O. Panaid, S. Temnykh, Y. Xu, Y.G. Cho, N. Huang, T. Ishii and M. Blair. 1997. Microsatellite marker development, mapping and application in rice genetics and breeding. Plant Mol. Biol. 35: 89-99.

Pathak, M.D. and Z.R. Khan. 1994. Insect pests of rice. Inter. Rice Res. Ins. and Inter. Cen. Insect Phys. Eco. pp. 22-24.

Ramesh, M., and K. Murugan. 1996. Biochemical changes in paddy plants infested with *Nilaparvata lugens*. Insect Envi. 2 : 91-92.

Pongprasert, S. and P. Weerapat. 1979. Varietal resistance to the brown planthopper in Thailand. pp. 273-283. In : International Rice Research Institute (ed.). Brown planthopper : Threat to rice production in Asia. IRRI, Los Baños, Philippines.

Sano, Y., M. Katsumata and K. Okuno. 1986. Genetic studies of speciation in cultivated rice. 5. Inter-and intra-specific differentiation in the wx gene expression of rice, Euphytica 35 : 1–9.

Sidhu, G.S. and G.S. Khush. 1979. Linkage relationships of some genes for disease and insect resistance and semidwarf stature in rice. Euphytica. 28 : 233-237.

Sogawa, K. 1982. The rice brown planthopper: feeding physiology and host plant interactions. Ann. Rev. Entomol. 27 : 49-73.

Bureau of Rice Research and Development

Soundararajan, R.P., P. Kadirvel, K. Gunathilagaraj and M. Maheswaran. 2004. Mapping of quantitative trait loci associated with resistance to brown planthopper in rice by means of a doubled haploid population. Crop Sci. 44 : 2214-2220.

Su, C., H. Zhai, X. Cheng and J. Wan. 2002. Detection and analysis of QTLs for resistance to brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål), in rice (*Oryza sativa* L.), using backcross inbred lines. Acta Gentica Sinica. 29 : 332-338.

Sun, L., C. Su, C. Wang, H. Zhai and J. Wan. 2005. Mapping of a major resistance gene to the brown planthopper in the rice cultivar Rathu Heenati. Breed. Sci. 55 : 391-396.

Van Ooijen, J.W. 2004. MapQTL®5, Software for the Mapping of Quantitative Trait Loci in Experimental Populations. Kyazma B.V., Wageningen, Netherlands.

Van Ooijen, J.W. and R.E. Voorrips. 2001. JoinMap®3.0, Software for the Calculation of Genetic Linkage Maps. Plant Research International, Wageningen, the Netherlands.

Velusamy, R., M. Ganesh Kumar and Y.S. Johnson Thangaraj Edward. 1995. Mechanisms of resistance to brown planthopper *Nilaparvata lugens* in wild rice (*Oryza* spp.) cultivars. Entomol. Exp. Appl. 74 : 245-251.

Wanchana, S., W. Kamolsukyunyong, S. Ruengphayak, T. Toojinda, S. Tragoonrung and A. Vanavichita. 2005. A Rapid construction of a physical contig across a 4.5 cM region for rice grain aroma facilitates marker enrichment for positional cloning. Sci. Asia 31 : 299-306.

Wang, Z.Y., F.Q. Zheng, G.Z. Shen, J.P. Gao, D.P. Snustad, M.G. Li, J.L. Zhang, M.M. Hong. 1995. The amylose content in rice endosperm is related to the post-transcriptional regulation of the *waxy* gene. Plant J. 7 : 613-622.

Watanabe, T. and H. Kitagawa. 2000. Photosynthesis and translocation of assimilates in rice plants following phloem feeding by the planthopper *Nilaparvata lugens* (Homoptera: Delphacidae). J. Econ. Entomol. 93 : 1192-1198.

Xu, X.F, H.W. Mei, L.J. Luo, X.N. Cheng and Z.K. Li. 2002. RFLP-facilitated investigation of the quantitative resistance of rice to brown planthopper (*Nilaparvata lugens*). Theor. Appl. Genet. 104 : 248-253.

Yan, H.M., R. Qin, W.W. Jin, G.C. He and Y.C. Song. 2002. Comparative physical mapping of *Bph3* with BAC-FISH in *Oryza officinalis* and *O. sativa*. Acta Botanica Sinica. 44 : 583-587.

Zhang, Q. 2007. Strategies for developing green super rice. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 104 : 16402-16409.

Bureau of Rice Research and Development

# ความหลากหลายของ pathotype ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าว ในปี2550/51 และยีนต้านทานกว้างขวางที่เป็นประโยชน์ในภาคเหนือตอนล่าง

# Diversity of Rice Blast Pathotype in 2007/2008 and Broad-spectrum resistant Genes for the Lower North

อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ[1)] พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์[2)]

Acharaporn Na Lampang Noenplab[1)] Poonsak Mekwatanakarn[2)]

Bureau of Rice Research and Development

## Abstract

Breeding strategy for the Lower North of Thailand has set a goal for cultivars with durable resistance to rice blast since the causal agent (*Pyricularia grisea* Sacc.) possesses a great diversity for both genetic and pathotype. Pathotype is the pattern of response of different resistant genes to the tested pathogen in terms of compatible (susceptible) and incompatible (resistant) reactions using a differential set. Effective blast resistant genes for the Lower North of Thailand was continuously evaluated since 2003 through the IRRI' s 18 near isogenic lines (NILs) having 1 gene in each line. In 2007/2008, eighty isolates of *P. grisea* were collected from rice varieties having diverse genetic background from irrigated, rainfed, local to upland origins grown in the blast nursery and farmers' fields in Phitsanulok and the other Lower North provinces nearby. Pure cultures of the pathogen were obtained through the single spore isolation method and pathotyping was performed by testing all 80 isolates against NILs. There were 13 pathotypes characterized at 80% similarity. The pathogenic isolates tested were very aggressive since the most effective resistant genes showed only 25-33% degree of resistance. These genes were *Pi 4a(t)* (33.33%), *Pi ta*$^2$ (31.15%), *Pi 1* from IRBL1-CL (29.03%) and *Pi k*, *Pi k-p*, *Pi k-h* (25.00%). Among these, *Pi k-p* was the most stable broad resistant gene during 2003 -2008.

**Keywords** : pathotype, diversity,durable resistance, *Pyricularia grisea,* IRRI, near isogenic lines (NILs), blast nursery, single spore isolation, broad resistant gene

---

1) ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก ต.วังทอง อ.วังทอง จ.พิษณุโลก 65130 โทรศัพท์ 0-5531-1184
Phitsanulok Rice Research Center, Wang Thong, Phitsanulok 65130 Tel. 0-5531-1184

2) ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี ตู้ ป.ณ.65 อ.เมือง จ.อุบลราชธานี 34000 โทรศัพท์ 0-4534-4103-4
Ubon Ratchathani Rice Research Center, P.O.Box 65, Mueang, Ubon Ratchathani 34000 Tel. 0-4534-4103-4

## บทคัดย่อ

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อโรคไหม้ (*Pyricularia grisea* Sacc.) ในภาคเหนือตอนล่าง ต้องการให้ได้พันธุ์ข้าวที่สามารถต้านทานเชื้อสาเหตุได้อย่างกว้างขวางและคงทน เนื่องจากเชื้อสาเหตุมีความหลากหลายและแปรปรวนมากทั้งทางพันธุกรรมและรูปแบบปฏิกิริยาการทำให้เกิดโรค (pathotype) เนื่องจาก pathotype คือรูปแบบการตอบสนองของยีนต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคที่มีทั้งแบบอ่อนแอและต้านทาน ดังนั้น กลุ่มของ pathotype จึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่จะบอกถึงความหลากหลายของเชื้อสาเหตุที่สัมพันธ์กับยีนต้านทานโดยตรง เมื่อจำแนกกลุ่ม Pathotype ได้ ผลพลอยได้ก็คือประสิทธิภาพของยีนต้านทานโรคไหม้ ว่ามียีนใดต้านทานเชื้อสาเหตุได้เป็นจำนวนมากและหลากหลายในเวลาหลายปีและหลายฤดูปลูก ในภาคเหนือตอนล่างได้เริ่มทำการจำแนกกลุ่มของ pathotype ตั้งแต่ปี 2546 เป็นต้นมา ในปี 2550/51 นี้ ทำการเก็บเชื้อสาเหตุโรคไหม้ที่ทำให้เกิดอาการบนข้าวต่างพันธุ์ใน blast nursery ในศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลกและแปลงนาเกษตรกรในเขตภาคเหนือตอนล่างได้ทั้งสิ้น 80 isolates โดยเก็บจากอาการบนข้าวที่มีฐานพันธุกรรมหลากหลายทั้งจากนิเวศนาชลประทาน นาน้ำฝน ข้าวพื้นเมือง และข้าวไร่ ทำให้เชื้อบริสุทธิ์โดยวิธี single spore isolation จากนั้นจำแนก pathotype โดยการนำมาทดสอบกับชุดข้าว Near Isogenic Lines (NILs) ของสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) ที่พัฒนาจากข้าวพันธุ์เดียวกัน จึงมีฐานพันธุกรรมคล้ายกัน เว้นแต่การมียีนต้านทานโรคไหม้ที่แตกต่างกันสายพันธุ์ละ 1 ยีน รวมทั้งหมด 18 สายพันธุ์ จากการทดสอบ พบว่า จำแนกเชื้อสาเหตุที่ความคล้ายคลึงกัน 80% ได้ 13 pathotypes ในส่วนของยีนต้านทาน พบว่ายีนที่ต้านทานเชื้อสาเหตุที่ทดสอบมากที่สุดอยู่ในระดับ 25-33% ของจำนวนเชื้อสาเหตุที่ทดสอบ ได้แก่ *Pi 4a(t)* (33.33%), *Pi ta*$^2$ (31.15%), *Pi 1* จาก IRBL1-CL (29.03%) และ *Pi k*, *Pi k-p*, *Pi k-h* (25.00%) ในจำนวนนี้ *Pi k-p* นับเป็นยีนต้านทานที่สม่ำเสมอที่สุดในช่วงของการทดสอบระหว่างปี 2546-2551

**คำสำคัญ**: ยีนต้านทานโรคไหม้ *Pyricularia grisea,* pathotype, IRRI, isolate, Near Isogenic Lines (NILs), Blast Nursery, major gene, single spore isolation

## คำนำ

โรคไหม้นับเป็นโรคที่สำคัญที่สุดโรคหนึ่งของข้าว การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานโรคไหม้จึงเป็นวัตถุประสงค์หลักของการปรับปรุงพันธุ์ข้าวในนิเวศต่างๆ แต่อุปสรรคที่สำคัญที่สุดในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานโรคไหม้ คือ พันธุ์ข้าวที่ต้านทานต่อโรคไหม้ที่พัฒนาขึ้นใหม่คงความต้านทานอยู่ได้ไม่นานเนื่องจากเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวมีความหลากหลายมาก ในประเทศไทยมีรายงานว่า เมื่อนำเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวที่พบเข้าทำลายข้าวทั่วทุกภาคระหว่างปี 2536-2541 จำนวน 654 isolates มาตรวจลายพิมพ์เอกลักษณ์ดีเอ็นเอ (DNA Fingerprinting) พบว่า เชื้อสาเหตุโรคไหม้ในประเทศไทย มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากถึง 51

Bureau of Rice Research and Development

กลุ่มสายพันธุ์ (lineage) และเมื่อคัดเลือกมา 534 isolates ที่เป็นตัวแทนของทุก lineage แล้วทดสอบโดยการปลูกเชื้อลงบนข้าวชุดทดสอบ Near Isogenic Lines (NILs) ที่มียีนต้านทานเดียวในแต่ละสายพันธุ์ และพันธุ์ข้าวไทย พบว่า จำแนกตามรูปแบบของการทำให้เกิดโรคได้ 208 pathotype (พูนศักดิ์ และคณะ, 2541) ในเรื่องของพันธุกรรมเชื้อสาเหตุนี้ พบว่า สูงกว่าที่พบในประเทศอื่นๆ มาก โดยมีรายงานว่า ในประเทศฟิลิปปินส์ พบ 10 lineage (Chen *et al*., 1995) ในสหรัฐอเมริกาและโคลัมเบีย พบ 8 และ 6 lineage ตามลำดับ (Levy *et al*.,1991a; Levy *et al*., 1991b; Levy *et al*., 1993) ส่วน ในยุโรปพบ 6 lineage (Roumen *et al*., 1997) นอกจากนี้ ยังมีรายงานว่า ในการจำแนกรูปแบบการทำให้เกิดโรค (pathotype) โดยการทดสอบเชื้อสาเหตุที่เก็บจากภาคต่างๆในประเทศไทย ระหว่างปี 2542 และ 2545 จำนวน 1,502 isolates กับข้าว NILs 18 สายพันธุ์ พบว่า เชื้อสาเหตุมีความหลากหลายและผันแปรไปตามฤดูปลูกและพื้นที่ปลูก สามารถจำแนกเชื้อเรียงตามจำนวน pathotype ที่มากที่สุด คือ 379 (ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ) 202 (ใต้) 45 (เหนือ) และ 15 (กลาง) ในการทดสอบครั้งนี้ พบว่า ยีนที่มีแนวโน้มต้านทานดี มี 5 ยีน คือ *Pi k, Pi k-p, Pi k-h, Pi 1* และ *Pi 5* และคู่ของยีนที่ต้านทานต่อเชื้อได้ดี คือ *Pi 1* ร่วมกับยีนต่อไปนี้ คือ *Pi k-h, Pi 1, Pi 5, Pi k* และ *Pi k-p* (พูนศักดิ์ และคณะ, 2546) ต่อมา มีข้อมูล ที่เพิ่มเติมและสนับสนุนงานวิจัยนี้ เมื่อมีการเก็บเชื้อสาเหตุโรคไหม้จากภาคต่าง ๆในประเทศไทยระหว่างปี 2543-2546 รวม 4 ปี จำนวน 1,883 isolates ตรวจสอบสายพันธุ์โดยปลูกเชื้อบน NILs 18 สายพันธุ์ พบว่า ยีนต้านทาน ในข้าวบางพันธุ์ต้านทานเฉพาะพื้นที่และฤดูปลูกข้าว พบสายพันธุ์เชื้อที่พบประจำ 131 isolates หายาก 242 isolates เชื้อหลากหลายและผันแ ปรไปตามฤดูปลูกและพื้นที่ปลูก สายพันธุ์ที่พบประจำรุนแรงน้อยกว่าสายพันธุ์หายาก ยีนต้านทานที่ดี 4 ยีนเหมือนกับที่ได้รายงานมาแล้ว คือ *Pi k, Pi k-p, Pi k-h, Pi 1* ส่วนยีนที่ต่างไป คือ *Pi 7* ส่วนคู่ของยีนที่ต้านทานได้ดี คือ คู่ของ *Pi ta*$^2$ กับยีนต่อไปนี้ คือ *Pi k-h, Pi 1* และ *Pi k-p* และพบว่า เชื้อสาเหตุโรคไหม้มีการเปลี่ยนแปลงสายพันธุ์ของเชื้ออยู่เสมอจากการกลายพันธุ์ และการเคลื่อนย้ายประชากรของเชื้อโรคไหม้ (พูนศักดิ์ และคณะ , 2547) นอกจากนี้ ยังมีนักวิจัยอีกคณะหนึ่ง ที่ดำเนินงานในแนวทางเดียวกัน แต่เก็บตัวอย่างจากพืชอา ศัยของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ทุกชนิด คือ จากข้าว ข้าวบาร์เลย์ และหญ้าจากภาคต่างๆ ในประเทศไทย ระหว่างปี 2540-2543 เป็นเวลา 4 ปีได้ 1,000 isolates นำมาทดสอบกับข้าว NILs และพันธุ์ข้าวพื้นเมืองไทย พบความสัมพันธ์ระหว่างยีนต้านทานกับความรุนแรงของเชื้อแบบเฉพาะเจาะจง (specific gene for gene) โดยพบว่า ยีนต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคไหม้ทางภาคเหนือที่ดี คือ *Pi 1, Pi 2, Pi ta* และ *Pi k-s* ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือ *Pi 1, Pi 2, Pi ta2, Pi zt* และ *Pi k* ภาคกลาง คือ *Pi 1, Pi 2* และ *Pi k-s* ส่วนภาคตะวันออก คือ *Pi 1, Pi 2* และ *Pi a* ซึ่งเมื่อมองในภาพรวมแล้ว ยีนที่ดีสำหรับทุกภาค คือ *Pi 1* และ *Pi 2* (ปัทมา และคณะ, 2544)

ด้วยความหลากหลายทางพันธุกรรมและ pathotype ความแปรปรวนตามฤดูปลูกและพื้นที่ปลูก รวมทั้งการกลายพันธุ์ และการเคลื่อนย้ายประชากรของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ เป็นอุปสรรคสำคัญของการปรับปรุง

Bureau of Rice Research and Development

พันธุ์ข้าวให้มีความคงทนในความต้านทานต่อโรคไหม้ ดังนั้น เพื่อทำให้การวางแผนปรับปรุงพันธุ์ข้าวประสบผลสำเร็จ ได้ข้าวสายพันธุ์ดีที่ต้านทานต่อโรคอย่างยั่งยืน แนวทางหนึ่งของการแก้ไขปัญหา คือ การปรับปรุงพันธุ์ให้มียีนต้านทานที่เป็น broad resistance สามารถต้านทานต่อสายพันธุ์เชื้อสาเหตุโรคไหม้ที่พบในพื้นที่ได้เป็นจำนวนมากและหลากหลาย วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ คือ การประเมินประสิทธิภาพของยีนต้านทานโรคไหม้ที่เป็น major gene และต้านทานเชื้อสาเหตุโรคไหม้ได้หลากหลายและคงทนในภาคเหนือตอนล่าง งานวิจัยเริ่มจากการตรวจสอบความ หลากหลายในรูปแบบปฏิกิริยาการทำให้เกิดโรคของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าว (Pathotyping) โดยการทดสอบกับชุดข้าว Near Isogenic Lines (NILs) ของสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) ที่พัฒนาจากข้าวพันธุ์เดียวกันและมีฐานพันธุกรรมคล้ายกัน เว้นแต่การมียีนต้านทานโรคไหม้ที่แตกต่างกันสายพันธุ์ละ 1 ยีน (Mackill and Bonman, 1992) จากนั้นจึงเลือกยีนต้านทานที่ให้ผลดีในทุกปี ซึ่งจะเป็นประโยชน์สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อโรคไหม้ในภาคเหนือตอนล่างต่อไป

## อุปกรณ์และวิธีการ

**อุปกรณ์การทดลอง**

1. เชื้อสาเหตุโรคไหม้ที่เก็บได้จากข้าวที่มีพันธุกรรมหลากหลายทั้งจากนิเวศนาชลประทาน นาน้ำฝน ข้าวพื้นเมือง และข้าวไร่ ในเขตจังหวัดพิษณุโลก และจังหวัดใกล้เคียงในภาคเหนือตอนล่าง ระหว่างปี 2550/51 จำนวน 80 isolates
2. อุปกรณ์หลักของห้องปฏิบัติการโรคพืช
3. ตู้ควบคุมอุณหภูมิ
4. อาหาร Rice Polished Agar (RPA)
5. ใบข้าวอายุ 30-45 วัน
6. สารละลายน้ำตาล sucrose 10%
7. Haemacytometer
8. เจลาติน 1%
9. Paint brush และมอเตอร์
10. ข้าวชุด NILs 18 สายพันธุ์จาก สถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI)
11. กระบะพลาสติก ขนาด 30x45x12 ซม.
12. ดินร่วน
13. ผ้าพลาสติก
14. ห้องควบคุมอุณหภูมิ ที่ติดตั้ง Misty sprayer และตั้งแสงไว้ 12 ชม.

Bureau of Rice Research and Development

**วิธีการทดลอง**

เก็บเชื้อสาเหตุโรคไหม้จากข้าวที่มี พันธุกรรมหลากหลายทั้งจากนิเวศ นาชลประทาน นาน้ำฝน ข้าวพื้นเมือง และข้าวไร่ ในเขตจังหวัดพิษณุโลก และจังหวัดใกล้เคียงในภาคเหนือตอนล่าง ระหว่างปี 2550/51 มาแยกเชื้อสาเหตุบริสุ ทธิ์ โดยวิธี single spore isolation เพาะข้าวทดสอบชุด NILS ในดินที่บรรจุในกระบะพลาสติก เป็นเวลา 21 วัน ระหว่างนี้ขยายเชื้อสาเหตุที่เก็บได้ บนอาหาร RPA เป็นเวลา 14 วัน ระหว่างรอเชื้อเจริญเติบโต เตรียมใบข้าวนึ่งเพื่อกระตุ้นการสร้างสปอร์ โดยตัดใบข้าวเป็นชิ้นเ ล็กๆ ใส่ใน conical flask แล้วเติมสารละลายน้ำตาลลงไปก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ (สุขพระวรรณ์ , 2546) เมื่อเชื้อสาเหตุโรคไหม้ที่เตรียมไว้บนจานเพาะเชื้อเจริญครบตามกำหนด ตัดชิ้นวุ้นที่มีเชื้อสาเหตุใส่ลงใน flask ที่มีใบข้าวนึ่ง เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ เมื่อได้เวลาจึงนำใบข้าวนึ่งมาคั้นเอาแต่น้ำ กรองเอากากทิ้งไป นำน้ำคั้นสปอร์ที่ได้มานับจำนวนสปอร์ใต้กล้องจุลทรรศน์ ปรับจำนวนสปอร์ให้ได้ 50,000 สปอร์/มล. ผสมสารละลายเจลาตินที่เตรียมไว้ แล้วนำไปปลูกเชื้อสาเหตุลงบนข้าว NILs อายุ 21 วัน โดยใช้ paint brush ที่ทำงานโดยมอเตอร์ จากนั้น คลุมกระบะด้วยผ้าพลาสติก แล้วนำไปเก็บไว้ในห้องควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส เมื่อครบ 48 ชั่วโมง เปิดพลาสติกที่คลุมออก เก็บไว้ในห้องต่อไปจนครบสัปดาห์ ระหว่างนี้ ตั้งเวลาให้ misty sprayer พ่นน้ำเป็นละอองทุกชั่วโมง ครั้งละ 5 วินาที เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำออกมาให้คะแนนความเป็นโรคไหม้ scale 0, 1, 3 ,5, 7, 9 ตามแบบ standard evaluation system ของ IRRI (IRRI, 1996)

โดย 0 = ไม่มีแผล

1 = พบจุดสีน้ำตาลเล็กๆขนาดเท่าหัวเข็มหมุดหรือใหญ่กว่านั้น แต่ไม่มีวงตรงกลางที่สร้างสปอร์

3 = แผลเล็กกลม ถึงค่อนข้างรี ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1-2 มม. มีขอบแผลสีน้ำตาลชัดเจนหรือมีวงสีเหลืองล้อมรอบ

5 = แผลเป็นรูปตาแคบๆ หรือออกรี กว้างประมาณ 1-2 มม. ยาวมากกว่า 3 มม. มีขอบแผลสีน้ำตาล

7 = แผลเป็นรูปตาหรือกระสวย มีขนาดกว้าง ขอบแผลสีเหลือง หรือน้ำตาล หรือม่วง

9 = แผลขนาดเล็ก สีขาว เทา หรือ ออกสีฟ้าปนเทา แผลมาเชื่อมกันโดยมองไม่เห็นขอบแผลที่ชัดเจน

หมายเหตุ : 0, 1, 3 = Resistance (R) 5, 7, 9 = Susceptible (S)

เมื่อได้ข้อมูลแล้ว นำมาวิเคราะห์ความเหมือนที่ 80%ของกลุ่ม pathotype โดย simple matching (SM) coefficient และ SIMQUAL program of NTSYS-pc version 2.10x แล้วทำการจัดกลุ่ม แบบ cluster analysis ด้วยวิธี UPGMA โดย SAHN program จากนั้นแล้วจัดลำดับยีนต้านทานโดยดูจากปฏิกิริยา

**การบันทึกผลการทดลอง**

1. ข้อมูล scale โรคไหม้
2. Dendrogram ของ pathotype เชื้อสาเหตุในแต่ละปี

Bureau of Rice Research and Development

**ระยะเวลาการดำเนินงาน** ปี 2550/51

**สถานที่ทำการทดลอง** ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก ต.วังทอง อ.วังทอง จ.พิษณุโลก

## ผลการทดลองและวิจารณ์

**ปี** 2550/51

เมื่อทดสอบเชื้อสาเหตุที่เก็บได้ 80 isolates กับข้าวชุดทดสอบ NILs 18 สายพันธุ์ พบว่า จำแนก pathotype หรือรูปแบบการทำให้เกิดโรคที่ความเหมือน 80% ได้ 13 pathotypes (Fig. 1) และยีนแต่ละยีนให้ปฏิกิริยาตอบสนองต่อเชื้อสาเหตุ 80 isolates ระหว่าง 6.67 – 33.33% (Table 1) โดยยีนต้านทานที่ดีที่สุด 4 ลำดับแรก เรียงตามลำดับเปอร์เซ็นต์เชื้อสาเหตุที่อ่อนแอต่อยีนแต่ละตัว ได้แก่ *Pi 4a(t)* (33.33%), *Pi ta*$^2$ (31.15%), *Pi 1* จาก IRBL1-CL (29.03%) และ *Pi k*, *Pi k-p*, *Pi k-h* (25.00%) (Table 2)

ผลทดสอบในปีนี้ แสดงให้เห็นว่า กลุ่มเชื้อสาเหตุที่เข้าทำลายข้าวไม่ค่อยหลากหลายมากนัก มีสัดส่วนระหว่าง isolate : pathotype เป็น 6.2 : 1 แต่เชื้อสาเหตุมีความรุนแรงมาก ดูได้จากเปอร์เซ็นต์ความต้านทานที่ดีที่สุด คือ 33.33% ซึ่งเท่ากับว่ายีนต้านทานที่ดีที่สุด ต้านทานได้เพียง 1 ใน 3 ของจำนวนเชื้อสาเหตุที่เข้าทำลายในปีนี้เท่านั้น

เมื่อพิจารณายีนต้านทานที่ดีจากผลงานวิจัยที่ดำเนินการอย่างต่อเนื่องในภาคเหนือตอนล่างระหว่างปี 2546-2549 รวมทั้งสิ้น 4 ปี (Table 3) จะเห็นได้ว่า ยีนต้านทานที่สม่ำเสมออยู่ในระดับ 5 อันดับแรกของทุกปีตั้งแต่ ปี 2546 ถึง2551 ได้แก่ *Pi k-p* ซึ่งมีความต้านทานต่อเชื้อสา เหตุ 25-72% แต่ก็เห็นได้ชัดเจนอีกเช่นกันว่าเปอร์เซ็นต์ความต้านทานลดลงเรื่อยๆ และความต้านทานเดี่ยวๆนั้นคงจะไม่เพียงพอที่จะทำให้เกิดความยั่งยืนในความต้านทานได้ ดังนั้น หากต้องการให้พันธุ์ข้าวมีความต้านทานต่อโรคไหม้อย่างยั่งยืน จึงควรที่จะมียีนต้านทานอย่างน้อยตั้งแต่ 2 ยีนขึ้นไป ดังนั้น แนวทางของการปรับปรุงพันธุ์ข้าวสำหรับภาคเหนือตอนล่าง จึงสอดคล้องกับผลงานวิจัยที่ได้รายงานไว้ก่อนหน้านี้ คือ การใช้ยีน *Pi 1* ร่วมกับยีนต่อไปนี้ คือ *Pi k-h, Pi 1, Pi 5, Pi k* และ *Pi k-p* (พูนศักดิ์ และคณะ, 2546) หรือ คู่ของ *Pi ta*$^2$ กับยีนต่อไปนี้ คือ *Pi k-h, Pi 1* และ *Pi k* (พูนศักดิ์ และคณะ, 2547) โดยอาจจะเน้นคู่ของยีน *Pi 1* กับ *Pi k-p* และ *Pi ta*$^2$ กับ *Pi k-h*

อย่างไรก็ดี ชุดข้าว NILs ที่ทดสอบ ประกอบไปด้วย ยีนเพียง 18 ยีนเท่านั้น หากมียีนอื่นมากกว่านี้จะได้ข้อมูลเพิ่มเติมมากขึ้น

Bureau of Rice Research and Development

## สรุปผลการทดลอง

ระหว่างฤดูปลูก 2550/51 เก็บเชื้อสาเหตุโรคไหม้ที่มีฐานพันธุกรรมต่างๆกัน ในเขตจังหวัดพิษณุโลกและจังหวัดใกล้เคียง ได้ 80 isolates จำแนก Pathotype ได้ 13 pathotypes โดยมีสัดส่วน isolate : pathotype เป็น 6.2 : 1 แสดงว่ามีความหลากหลายของเชื้อสาเหตุไม่ มากนัก แต่เชื้อสาเหตุมีความรุนแรงมาก เพราะยีนต้านทานที่ดีที่สุด ต้านทานเชื้อสาเหตุที่ทดสอบเพียง 20 ใน 80 isolates หรือ 1 ใน 3 เท่านั้น ในปีนี้ ยีนต้านทานที่ดีที่สุด 4 ลำดับแรก ได้แก่ *Pi 4a(t), Pi ta*$^2$ (31.15%), *Pi 1* จาก IRBL1-CL (29.03%) และ *Pi k*, *Pi k-p*, *Pi k-h* (25.00%) จากการวิจัยอย่างต่อเนื่อง พบว่าเปอร์เซ็นต์ความต้านทานที่ดีที่สุดในแต่ละปี ลดลงเรื่อยๆ แสดงว่ายีนต้านทานเดี่ยวยีนใดยีนหนึ่งยังไม่เพียงพอที่จะทำให้พันธุ์ข้าวต้านทานต่อโรคไหม้อย่างยั่งยืนได้ จึงควรผนวกยีนต้านทานต่อโรคไหม้ตั้งแต่ 2 ยีน ขึ้นไป โดยเน้นคู่ของยีน *Pi 1* กับ *Pi k-p* และ *Pi ta*$^2$ กับ *Pi k-h*

สำหรับการดำเนินงานวิจัยขั้นตอนต่อไป คือการคัดเลือกพันธุ์ข้าวที่จะนำมาเป็นแหล่งความต้านทานที่ดีต่อโรคไหม้สำหรับภาคเหนือตอนล่าง สำหรับพันธุ์ข้าวที่น่าสนใจของ IRRI คือ IR64 ซึ่งมียีนต้านทานที่สำคัญตัวหนึ่ง คือ *Pi ta* (link ใกล้ชิดกับ Pi ta$^2$ หรือ ปัจจุบัน คือ *Pi 20* ซึ่งเป็นยีนต้านทานที่ดีในพื้นที่นี้ ) นอกจากนั้น ข้าวพันธุ์นี้ยังมียีนอื่นๆอีก เช่น *Pi z-t, Pi b และ Pi k-s* (Imbe *et al*., 1998; ปัทมา และคณะ, 2544) ส่วนข้าวของ IRRI อีกพันธุ์หนึ่งที่น่าสนใจ คือ IR 56 ซึ่งมียีนคล้ายกัน ได้แก่ *Pi ta* และ *Pi k** (อาจเป็นยีนใดยีนหนึ่งในกลุ่ม *Pi k, Pi k-m, Pi k-p, Pi k-h และ Pi 1*, *Pi k-s, Piz-t* และ *Pi b* (Imbe *et al*., 1998) แต่โอกาสที่ดีกว่า คือ ปัจจุบันมีข้าวพันธุ์รับรองที่เป็นข้าวหอมคุณภาพดี ได้รับยีนต้านทานจาก IR58 และยังคงมีความต้านทานที่ค่อนข้างดีสม่ำเสมออยู่จนถึงขณะนี้ นั่นคือ พันธุ์ข้าวเจ้าหอมพิษณุโลก 1 ซึ่งปัจจุบันอยู่ระหว่างการผนวกยีนต้านทานต่อโรคไหม้สำหรับข้าวนาสวนนาน้ำฝน ภายใต้โครงการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีชีวภาพและสมควรจะนำมาพัฒนาต่อไป ในด้านของความต้านทานต่อแมลง ศัตรูข้าวที่สำคัญ และการเพิ่มผลผลิต เพื่อให้ได้พันธุ์ข้าวทางเลือกที่ดียิ่งๆขึ้น และยังเป็นการอนุรักษ์สภาพแวดล้อม ตลอดจนลดต้นทุนการผลิตที่จะเกิดขึ้นจากการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูข้าวอีกด้วย

## คำขอบคุณ

ผู้เขียนขอขอบคุณสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) สำหรับข้าวชุดทดสอบ Near Isogenic Lines ขอบคุณรัฐบาลไทยสำหรับงบประมาณสนับสนุนงานวิจัย ขอบคุณผู้อำนวยการศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลกที่กรุณาสนับสนุนให้การดำเนินงานเป็นไปด้วยดี และ ท้ายที่สุดนี้ ขอขอบคุณ ดร. จิรพงษ์ ใจรินทร์ เป็นอย่างยิ่ง ที่กรุณาวิเคราะห์ข้อมูลให้ในช่วงเวลาอันจำกัด

Bureau of Rice Research and Development

# เอกสารอ้างอิง

ปัทมา ศิริธัญญา, ธีรยุทธ์ ตู้จินดา, สุชาดา พิมพ์พิสิฐถาวร และแสงชัย ศรีประโคน. 2544. ความสัมพันธ์ระหว่างยีนต้านทานโรคไหม้ของข้าวกับความหลากหลายของเชื้อโรคไหม้ในประเทศไทย. หน้า 36-37. *ใน* : บทคัดย่อ การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2544. 20-22 มีนาคม 2544. ณ โรงแรมลายทอง. จังหวัดอุบลราชธานี. สถาบันวิจัยข้าว. กรมวิชาการเกษตร.

พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ , ธวัชชัย พรหมรักษา , สมาน คำมา , พยอม พินยพงศ์ , Zeigler, R.S. และ S. Sarkarung. 2541. การจำแนกประชากรโรคไหม้ของข้าวโดยใช้ลายพิมพ์เอกลักษณ์ดีเอ็นเอในประเทศไทย. หน้า 22-37. *ใน*: การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2541. 17-19 มีนาคม 2541. ณ ห้องประชุมกรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพมหานคร. สถาบันวิจัยข้าว. กรมวิชาการเกษตร.

พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ และคณะ. 2546. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวกับการปรับปรุงพันธุ์ข้าว. หน้า 9. *ใน* : บทคัดย่อ การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2546. 7-8 มีนาคม 2546. ณ โรงแรมแอมบาสเดอร์ซิตี้ จอมเทียน. จังหวัดชลบุรี. สถาบันวิจัยข้าว. กรมวิชาการเกษตร.

พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์, ธวัชชัย พรหมรักษา, ลือชัย อารยะรังสฤษฎ์, สุภาพร จันทร์บัวทอง, อัจฉราพร เนินพลับ, ภมร ปัตตาวะตัง, สุจินต์ แก้วฉีด , พัชรี เซ่งซิ้ม , เสาวนีย์ ศรีบัว และ โสพนา วรฉัตรวิทยา . 2547. ศึกษากลไกและแหล่งพันธุกรรม ความต้านทานต่อโรคข้าวที่สำคัญ. หน้า 80-81. *ใน* : บทคัดย่อ การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2547. 2-4 มีนาคม 2547. ณ โรงแรมริเวอร์วิวเพลส. จังหวัดพระนครศรีอยุธยา. สถาบันวิจัยข้าว. กรมวิชาการเกษตร.

สุขพระวรรณ์ นาคโควงษ์. 2542. ความหลากหลายของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ในข้าวและวัชพืชในเขตจังหวัดพิษณุโลก สุโขทัย และกำแพงเพชร. ปัญหาพิเศษทางชีววิทยา. ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต. สาขาชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยนเรศวร. 59 หน้า.

Chen, D., R.S. Zeigler, H. Leung and R. J. Nelson. 1995. Population structure of *Pyricularia grisea* at two screening sites in the Philipines. Phytopathology 85 : 1011-1020.

Imbe, T., H. Tsunematsu, H. Kato and G.S. Khush. 1998. Genetic analysis of blast resistance in IR varieties and resistant breeding strategy. Pages 1-8. *In* :Tharreau, D., M.H. Lebrun, N.J. Talbot and J.L. Notteghem (eds.) Advances in Rice Blast Research. Proceedings of the 2nd International Rice Blast Conference. 4-8 August 1998, Montpellier, France. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht/Boston/London.

IRRI, 1996. Standard Evaluation System for Rice. 4th edition, July1996. INGER Genetic Resources Center. International Rice Research Institute. P.O.Box 933, 1099 Manila, Phillipines.

Kiyosawa, S. 1989. Breakdown of blast resistance in rice in relation to general strategies of resistance gene deployment to prolong effectiveness of disease resistance in plants. Pages 251-283. *In* : Leonard, K.J. and W.E. Fry (eds.) Plant Disease Epidemiology, Genetics, Resistance and Management. Macmillan, New York.

Bureau of Rice Research and Development

Levy, M., J. Romao, M.A. Marchetti and J.E. Hamer. 1991a. DNA fingerprinting with a dispersed repeated sequence resolves pathotype diversity in the rice blast fungus. Plant Cell 3 : 95-102.

Levy, M., F.J. Correa-Victoria, R.S. Zeigler, S. Xu and J.E. Hamer. 1991b. Organization of genetic and pathotype variation in the rice blast fungus at a Colombian “hot spot”. Phytopathology 81 : 1236-1237.

Levy, M., F.J. Correa-Victoria, R.S. Zeigler, S. Xu and J.E. Hamer. 1993. Genetic diversity of the rice blast fungus in a disease nursery in Colombia. Phytopathology 83 : 1427-1433.

Mackill, D.J. and J.M. Bonman. 1992. Inheritance of blast resistance in near-isogenic lines of rice. Phytopathology 82 : 746-749.

McCough, S.R., R.J. Nelson, J. Tohme and R. S. Zeigler. 1994. II: Host Plant Resistance. Mapping of blast resistance genes in rice. Pages 167-186. *In* : Zeigler, R.S. S.A. Leong and P.S. Teng (eds.) Rice Blast Disease. CAB International in association with International Rice Research Institute.

Na lampang Noenplab, A. and P. Mekwatanakarn. 2007. Diversity of Rice Blast Pathotype and Ideal Resistance Genes for the Lower North of Thailand. Pages 15-22. *In* : Supplement Papers, *BIOasia* 2007, The 6th Asian crop Science Association Conference and The 2nd International Conference on Rice for the Future, 5-9 November 2007, Queen Sirikit National Convention Center, Bangkok, Thailand.

Roumen, E. 1997. Characterisation of the European pathogen population of *Magnaporthe grisea* by DNA fingerprinting and pathotype analysis. European Journal of Plant Pathology 103 : 363-371.

Bureau of Rice Research and Development

Table 1 Percentage of resistance and rank of resistance genes against 80 blast isolates collected from Phitsanulok and nearby provinces in 2007/2008

| No. | Designation | Major gene | R | S | % Resistance | Rank |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | C101A51 | *Pi z5* | 14 | 66 | 21.21 | 6 |
| 2 | C101LAC | *Pi 1* | 10 | 70 | 14.29 | 9.1 |
| 3 | C104LAC | *Pi 1 (t)* $^{lac}$ | 11 | 69 | 15.94 | 8.1 |
| 4 | C101PKT | *Pi 4a(t)* | 20 | 60 | 33.33 | 1 |
| 5 | C102PKT | *Pi 4a (t)*$^{pkt}$ | 8 | 72 | 11.11 | 10 |
| 6 | C104PKT | *Pi 3* | 5 | 75 | 6.67 | 12 |
| 7 | C101TTP | *Pi 4a (t)*$^{ttp}$ | 7 | 73 | 9.59 | 11 |
| 8 | C103TTP | *Pi 1 (t)*$^{ttp}$ | 10 | 70 | 14.29 | 9.2 |
| 9 | C105TTP-4-L23 | *Pi 4b(t)* | 11 | 69 | 15.94 | 8.2 |
| 10 | CO39 | *Pi a* | 13 | 67 | 19.40 | 7.1 |
| 11 | F128-1 | *Pi ta*$^{2}$ | 19 | 61 | 31.15 | 2 |
| 12 | F145-2 | *Pi b* | 15 | 65 | 23.08 | 5 |
| 13 | IRBLk-ka | *Pi k* | 16 | 64 | 25.00 | 4.1 |
| 14 | IRBLkp-K60 | *Pi k-p* | 16 | 64 | 25.00 | 4.2 |
| 15 | IRBLkh-K3 | *Pi k-h* | 16 | 64 | 25.00 | 4.3 |
| 16 | IRBL1-CL | *Pi 1* | 18 | 62 | 29.03 | 3 |
| 17 | IRBL5 - M | *Pi 5(t)* | 11 | 69 | 15.94 | 8.3 |
| 18 | IRBL9-W | *Pi 9(t)* | 13 | 67 | 19.40 | 7.2 |

Bureau of Rice Research and Development

Table 2 Ranking of effective blast resistant genes for 80 isolates collected in 2007/2008

| Gene | % |
|---|---|
| 1. *Pi 4a(t)* | 33.33 |
| 2. *Pi ta*$^{2}$ (%) | 31.15 |
| 3. *Pi 1* from IRBL1-CL | 29.03 |
| 4. *Pi k*, *Pi k-p*, *Pi k-h* | 25.00 |
| 5. *Pi b* | 23.08 |
| 6. *Pi z5* | 21.21 |
| 7. *Pi a*, *Pi 9 (t)* | 19.40 |
| 8. *Pi 4b(t)*, *Pi 5 (t)*, *Pi 1 (t)*$^{lac}$ | 15.94 |
| 9. *Pi 1 (t)*$^{tt}$ , *Pi 1* from (C101LAC) | 14.29 |
| 10. *Pi 4a (t)*$^{pkt}$ | 11.11 |
| 11. *Pi 4a (t)*$^{ttp}$ | 9.59 |
| 12. *Pi 3* | 6.67 |

Table 3 Ten ranking of effective blast resistant genes each year from 2003-2006

| 2003 | 2004 | 2005 | 2006 |
|---|---|---|---|
| 1. *Pi 5 (t)* (76%) | 1. *Pi k-p* (71%) | 1. *Pi k-p* (69%) | 1. *Pi 5 (t)* (55%) |
| 2. *Pi k-p* (72%) | 2. *Pi 5(t)* (70%) | 2. *Pi 5 (t)* (65%) | 2. *Pi k-h* (53%) |
| 3. *Pi k-h* (66%) | 3. *Pi 9(t)* (63%) | 3. *Pi k-h* (63%) | 3. *Pi k-p* (50%) |
| 4. *Pi ta*$^{2}$ (59%) | 4. *Pi ta*$^{2}$ (61%) | 4. *Pi k* (53%) | 4. *Pi k* (47%) |
| 5. *Pi 9 (t)* (56%) | 5. *Pi k* (58%) | 5. *Pi a*, *Pi 1* from IRBL1-CL (52%) | 5. *Pi 1*from IRBL1-CL, *Pi ta*$^{2}$ (43%) |
| 6. *Pi k* (50%) | 6. *Pi b* (57%) | 6. *Pi 1 (t)*$^{lac}$, *Pi ta*$^{2}$ *Pi 4a(t)*$^{ttp}$ (42%) | 6. *Pi 9 (t)* (41%) |
| 7. *Pi 1* from IRBL1-CL (49%) | 7. *Pi k-h* (55%) | 7. *Pi 1 (t)*$^{ttp}$ (40%) | 7. *Pi z5* (38%) |
| 8. *Pi Z5* (47%) | 8. *Pi 1* from IRBL1-CL (50%) | 8. *Pi 4a (t)*, *Pi 4a (t)*$^{pkt}$ (35%) | 8. *Pi b* (36%) |
| 9. *Pi b* (44%) | 9. *Pi 4a (t)* (38%) | 9. *Pi 4b (t)* (31%) | 9. *Pi a*, *Pi 4a (t)*$^{pkt}$ (34%) |
| 10. *Pi 1(t)*$^{lac}$ (26%) | 10. *Pi z5* and *Pi 3* (36%) | 10. *Pi 1* from C101LAC (27%) | 10. *Pi 1 (t)*$^{lac}$ *Pi 4a (t)* (33%) |

Bureau of Rice Research and Development

Bureau of Rice Research and Development

Fig. 1 Dendrogram of pathotype for 80 blast isolates collected in 2007/08

# เสถียรภาพผลผลิตของข้าวเหนียวต้านทานโรคไหม้

## Yield Stability of Some Blast Resistant Glutinous Rice Varieties

สมใจ สาลีโท[1)] ณราวุฒิ ปิยโชติสกุลชัย[1)] อัฒพล สุวรรณวงศ์[2)] สุขวิทยา ภาโสภะ[2)]
ชนะ ศรีสมภาร[2)] รณชัย ช่างศรี[3)] วีระศักดิ์ หอมสมบัติ[4)]
ดวงใจ สุริยาอรุณโรจน์[5)] เอกสิทธิ์ สกุลคู[5)]

Somjai Saleeto[1)] Narawoot Piyachoatskulchai[1)] Attapol Suwannavong[2)]
Sukkawittaya Pasopa[2)] Chana Srisompan[2)] Ronnachai Changsri[3)]
Weerasak Hormsombut[4)] Duangjai Suriyaarunroj[5)]
Eakkasit Sakulkhu[5)]

### Abstract

Genotype and environment usually interact in growing rice in different circumstance and cause in difficulty and unprecision for rice lines selection. Therefore, an analysis of yield stability was being conducted to help the breeder for more decision making in rice lines selection. The objective of this study is to determine well adapted rice lines with yield stability. An experiment was conducted with randomized complete block design with 4 replications. Six non-photosensitive glutinous rice lines which resistant to rice blast disease were compared with 2 check varieties; SPT1 and RD10 at Chum Phae, Khon Kaen, Sakon Nakorn, Udon Thani, and Surin Rice Research Center during 2005–2008 as total 17 environments. 25-30 days seedling of tested rice lines were transplanted with 20x20 cm spacing. Fertilizer was applied as basal at the rate of 6-6-6 kg N-$P_2O_5$-$K_2O$/rai and 6-0-0 kg N-$P_2O_5$-$K_2O$/rai as topdressing. Grain yield was then harvested in 4.6 $m^2$ area. Analysis of total variation showed that grain yield, harvesting age, plant height and panicle per hill of each tested line was significantly different. Interaction between genotype and environment

1) ศูนย์วิจัยข้าวหนองคาย ตู้ ป.ณ. 6 อ.โพนพิสัย จ.หนองคาย 43120 โทรศัพท์ 0-4242-2082
Nong Khai Rice Research Center, P.O. Box 6, Phonphisai, Nong Khai 43120 Tel. 0-4242-2082
2) ศูนย์วิจัยข้าวอุดรธานี ตู้ ป.ณ. 285 อ.เมือง จ.อุดรธานี 41000 โทรศัพท์ 0-4224-7485
Udon Thani Rice Research Center, P.O. Box 285, Mueang, Udon Thani 41000 Tel. 0-4224-7485
3) ศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์ อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000 โทรศัพท์ 0-4451-1394
Surin Rice Research Center, Mueang, Surin 32000 Tel.0-4451-1394
4) ศูนย์วิจัยข้าวสกลนคร อ.เมือง จ.สกลนคร 47000 โทรศัพท์ 0-4271-1471
Sakon Nakhon Rice Research Center, Mueang, Sakon Nakhon 47000 Tel. 0-4271-1471
5) ศูนย์วิจัยข้าวชุมแพ อ.ชุมแพ จ.ขอนแก่น 40130 โทรศัพท์ 0-4331-1155
Chum Phae Rice Research Center, Chum Phae, Khon Kaen 40130 Tel. 0-4331-1155

Bureau of Rice Research and Development

of 4 characteristic was also occurred. Thus, yield stability have been analyzed with regression analysis program. Finally, we were able to select 7 stable lines as IR72738-36-2-B-B, IR72739-2-11-B-8-4-B-B, KKN98018-43-1-2-3, PTT97100-B-116-3-1, PTT97100-B-116-3-3, SPT1 and RD10. IR72739-2-11-B-8-4-B-B line was well adapted to every environment and had the best yield stability. In addition, KKN97031-NKI-B-B-122-1-1 was found to be specific to environment.

**Keywords** : stability, yield, rice, glutinous rice, blast resistant

## บทคัดย่อ

การปลูกข้าวในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันมักเกิดปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์กับสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะลักษณะผลผลิต ทำให้การคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวเกิดความยุ่งยากและขาดความแม่นยำ ดังนั้นจึงใช้การวิเคราะห์เสถียรภาพผลผลิตมาช่วยในการตัดสินใจคัดเลือกข้าวเพื่อหาสายพันธุ์ที่ปรับตัวได้ดีและผลผลิตมีเสถียรภาพ โดยปลูกข้าวเหนียวไม่ไวต่อช่วงแสงที่มีความต้านทานต่อโรคไหม้จำนวน 6 สายพันธุ์ เปรียบเทียบกับพันธุ์สันป่าตอง 1 และกข 10 ในศูนย์วิจัยข้าวชุมแพ ขอนแก่น สกลนคร อุดรธานี และสุรินทร์ ตั้งแต่ พ.ศ. 2548 ถึง 2551 รวม 17 สภาพแวดล้อม วางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block จำนวน 4 ซ้ำ ปลูกข้าวทดสอบด้วยวิธีการปักดำระยะ 20x20 เซนติเมตร ใช้ต้นกล้าอายุ 25-30 วัน ใส่ปุ๋ยรองพื้นอัตรา 6-6-6 (N-$P_2O_5$-$K_2O$) กิโลกรัมต่อไร่ ใส่ปุ๋ยแต่งหน้าอัตรา 6-0-0 (N-$P_2O_5$-$K_2O$) กิโลกรัมต่อไร่ หลังปักดำ 35-40 วัน เก็บเกี่ยวผลผลิตในพื้นที่ 4.6 ตารางเมตร เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนรวมพบว่าผลผลิต อายุเก็บเกี่ยว ความสูง และจำนวนรวงต่อกอของข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ นอกจากนั้นยังพบปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์กับสภาพแวดล้อมของทั้ง 4 ลักษณะ จึงได้วิเคราะห์เสถียรภาพของผลผลิตด้วยวิธีการวิเคราะห์รีเกรสชั่น สามารถคัดเลือกข้าวที่มีเสถียรภาพในการให้ผลผลิต จำนวน 7 พันธุ์/สายพันธุ์ ได้แก่ IR72738-36-2-B-B IR72739-2-11-B-8-4-B-B KKN98018-43-1-2-3 PTT97100-B-116-3-1 PTT97100-B-116-3-3 สันป่าตอง 1 และกข 10 โดยสายพันธุ์ IR72739-2-11-B-8-4-B-B เป็นข้าวที่มีความสามารถในการปรับตัวได้ดีหลายสภาพแวดล้อมและมีเสถียรภาพในการให้ผลผลิตดีที่สุด นอกจากนั้นยังพบข้าวที่สามารถปรับตัวได้ดีกับสภาพแวดล้อมที่เฉพาะเจาะจง จำนวน 1 สายพันธุ์คือ KKN97031-NKI-B-B-122-1-1

**คำสำคัญ** : เสถียรภาพ ผลผลิต ข้าว ข้าวเหนียว ต้านทานโรคไหม้

Bureau of Rice Research and Development

## คำนำ

การเพิ่มผลผลิตของข้าวอาจทำได้โดยการเพิ่มผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่และการเพิ่มพื้นที่ปลูก แต่ปัจจุบันการเพิ่มพื้นที่ปลูกอาจทำได้ยาก เนื่องจากพื้นที่ที่เหมาะสมในการปลูกข้าวจริงๆ มีจำกัด ดังนั้นนักปรับปรุงพันธุ์จึงพยายามเพิ่มความสามารถในการให้ผลผลิตของข้าวโดยปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ดินเค็ม น้ำท่วม แล้ง ฯลฯ หรือต้านทานต่อโรคและแมลง เช่น โรคไหม้ โรคขอบใบแห้ง เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ฯลฯ ทั้งนี้เพื่อให้ ได้พันธุ์ข้าวที่สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปและต้านทานต่อศัตรูข้าวต่างๆ ซึ่งการปรับปรุงพันธุ์เพื่อเพิ่มความสามารถในการให้ผลผลิตของข้าวจำเป็นต้องทำควบคู่ไปกับการเพิ่มเสถียรภาพของผลผลิต เพื่อให้ได้พันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงและปรับตัวได้ดีกับสภาพแวดล้อม หรือมีเสถียรภาพดีในการให้ผลผลิต

โครงการวิจัยและพัฒนาพันธุ์ข้าวนาสวนนาชลประทานได้พยายามปรับปรุงพันธุ์ข้าวเหนียวไม่ไวต่อช่วงแสงเพื่อให้ผลผลิตสูงและมีความต้านทานต่อโรคแมลง โดยเฉพาะโรคไหม้ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญที่สุดของข้าว (กองโรคพืชและจุลชีววิทยา , 2545; สมศักดิ์, 2543; Ou, 1984) เนื่องจากเชื้อราสามารถเข้าทำลายต้นข้าวได้ทุกระยะการเจริญเติบโต คือตั้งแต่ระยะกล้า ระยะแตกกอ จนถึงระยะออกรวง (Kahn and Libby, 1958) จึงทำให้เกิดความเสียหายอย่างรุนแรง และผลผลิตลดลงอย่างมาก จากการดำเนินงานที่ผ่านมาได้ข้าวหลายสายพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อโรคนี้ จึงนำสายพันธุ์ดังกล่าวไปปลูกทดสอบในศูนย์วิจัยข้าวต่างๆ ของภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เพื่อศึกษาการปรับตัวและการให้ผลผลิตในสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน ตลอดจนศึกษาปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์ข้าวกับสภาพแวดล้อม (GxE interaction) ของลักษณะผลผลิต อายุเก็บเกี่ยว ความสูง และจำนวนรวงต่อกอ ดังนั้นจึงได้เปรียบเทียบเสถียรภาพผลผลิตของข้าว เพื่อหาสายพันธุ์ที่ปรับตัวได้ดีและให้ผลผลิตสูง

## อุปกรณ์และวิธีการ

### อุปกรณ์

1. สายพันธุ์ข้าวเหนียวไม่ไวต่อช่วงแสงที่ต้านทานโรคไหม้ จำนวน 6 สายพันธุ์ (Table 1)
2. ข้าวไม่ไวต่อช่วงแสงพันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐานจำนวน 2 พันธุ์ คือสันป่าตอง 1 (SPT1) และกข10 (RD10)
3. ปุ๋ยเคมี
4. วัสดุอุปกรณ์อื่นๆ ตามความจำเป็น

Bureau of Rice Research and Development

**วิธีดำเนินการทดลอง**

วางแผนการทดลองแบบ Randomized complete block จำนวน 4 ซ้ำ ปลูกข้าวทดสอบในสภาพนาชลประทาน ด้วยวิธีการปักดำ ใช้ต้นกล้าอายุ 25-30 วัน ปักดำพันธุ์ /สายพันธุ์ละ 7 แถวๆ ยาว 5 เมตร จำนวน 3 ต้นต่อกอ ระยะห่างระหว่างแถว 20 เซนติเมตร ระยะห่างระหว่างกอ 20 เซนติเมตร ใส่ปุ๋ยรองพื้นอัตรา 6-6-6 ($N$-$P_2O_5$-$K_2O$) กิโลกรัมต่อไร่ และใส่ปุ๋ยแต่งหน้าอัตรา 6-0-0 ($N$-$P_2O_5$-$K_2O$) กิโลกรัมต่อไร่ หลังปักดำ 35-40 วัน ใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูข้าวตามความจำเป็น เก็บเกี่ยวผลผลิตข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์หลังออกรวง 30 วัน จาก 5 แถวกลาง แถวละ 23 กอ โดยเว้นกอหัวและท้ายข้างละ 1 แถว (พื้นที่เก็บเกี่ยว 4.6 ตารางเมตร)

บันทึกข้อมูลอายุเก็บเกี่ยว ความสูง จำนวนรวงต่อกอ และน้ำหนักผลผลิตที่ระดับความชื้น 14 เปอร์เซ็นต์

วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ของข้อมูลผลผลิต อายุเก็บเกี่ยว ความสูง และจำนวนรวงต่อกอ อาศัยโปรแกรม CropStat 7.2 (IRRI, 2007) ช่วยในการวิเคราะห์ตาม model ดังนี้

Single model: $Y_{ijk} = M + R_i + G_j + e_{ijk}$ ..... .....[1]

G x E model: $Y_{ijkl} = M + E_i + R(E)_{j(i)} + G_k + GE_{ik} + e_{ijkl}$ .....[2]

เมื่อ

$Y_{ijkl}$ = ผลผลิตของแปลงที่ $l$ ในสภาพแวดล้อม $i$ ซ้ำที่ $j$ พันธุ์ที่ $k$

$M$ = ค่าเฉลี่ยของพันธุ์ในทุกสภาพแวดล้อม

$E_i$ = อิทธิพลของสภาพแวดล้อม $i$

$R(E)_{j(i)}$ = อิทธิพลของซ้ำ $j$ ภายในสภาพแวดล้อม $i$

$G_k$ = อิทธิพลของพันธุ์ที่ $k$

$GE_{ik}$ = ปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์ที่ $k$ กับสภาพแวดล้อม $i$

$e_{ijkl}$ = ความคลาดเคลื่อนที่เกิดจากสภาพแวดล้อม $i$ ซ้ำที่ $j$ พันธุ์ที่ $k$

การวิเคราะห์ความแปรปรวน สำหรับงานทดลองแต่ละแห่ง (single analysis) มีแหล่งความแปรปรวนตาม model ที่ [1] ส่วนการวิเคราะห์ความแปรปรวนรวม (combine analysis) มีแหล่งความแปรปรวนตาม model ที่ [2]

วิเคราะห์เสถียรภาพผลผลิตข้าวตามวิธีการของ Finlay และ Wilkinson (1963) โดยใช้โปแกรม CropStat 7.2 ซึ่งวิเคราะห์ความแปรปรวนเพื่อตรวจสอบเสถียรภาพของผลผลิตตาม model

$Y_{ij} = M + a_i + b_i + I_j + d_{ij}$

เมื่อ

$Y_{ij}$ = ผลผลิตของพันธุ์ที่ $i$ ในสภาพแวดล้อมที่ $j$

$M$ = ค่าเฉลี่ยของพันธุ์ในทุกสภาพแวดล้อม

Bureau of Rice Research and Development

$a_i$ = ค่าเบี่ยงเบนของผลผลิตเฉลี่ยของพันธุ์ที่ *i* ไปจาก *M*

$b_i$ = สัมประสิทธิ์รีเกรสชันของพันธุ์ที่ *i* บนดัชนีสภาพแวดล้อมที่ $I_j$

$I_j$ = ดัชนีสภาพแวดล้อมที่ *j*

$d_{ij}$ = ส่วนเบี่ยงเบนจากเส้นรีเกรสชันของพันธุ์ที่ *i* ในสภาพแวดล้มที่ *j*

ดัชนีสภาพแวดล้อม (environmental index) คำนวณได้จากผลผลิตเฉลี่ยของข้าวทุกพันธุ์ในแต่ละสภาพแวดล้อมลบด้วยผลผลิตเฉลี่ยของข้าวทุกพันธุ์ในทุกสภาพแวดล้อม

สัมประสิทธิ์รีเกรสชันเส้นตรง ($b_i$) ของข้าวแต่ละพันธุ์ที่คำนวณได้เป็นสัมประสิทธิ์รีเกรสชันของผลผลิตเฉลี่ยของข้าวแต่ละพันธุ์บนค่าเฉลี่ยผลผลิตของข้าวทุกพันธุ์ในแต่ละสภาพแวดล้อม ข้าวพันธุ์ใดให้ค่า $b_i$ เท่ากับ 1 หรือไม่แตกต่างจาก 1 ถือว่าพันธุ์นั้นมีเสถียรภาพ (stable variety) หรือเป็นพันธุ์ที่สามารถปรับตัวได้ดีหลายสภาพแวดล้อม (wide adaptation) ถ้า $b_i$ มีค่ามากกว่า 1 แสดงว่าพันธุ์นั้นให้ผลผลิตสูงกว่าเฉลี่ยในสภาพแวดล้อมที่ดี แต่ให้ผลผลิตต่ำกว่าเฉลี่ยในสภาพแวดล้อมที่เลว จึงถือได้ว่าเป็นพันธุ์ที่ตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมสูง จัดเป็นพันธุ์ที่สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมแบบเฉพาะเจาะจง (specific adaptation) และหาก $b_i$ มีค่าน้อยกว่า 1 แสดงว่าพันธุ์นั้นให้ผลผลิตสูงกว่าเฉลี่ยในสภาพแวดล้อมที่เลว แต่ให้ผลผลิตต่ำกว่าเฉลี่ยในสภาพแวดล้อมที่ดี ถือว่าเป็นพันธุ์ที่ปรับตัวได้ดีกับสภาพแวดล้อมแบบเฉพาะเจาะจงเช่นกัน แต่พันธุ์ที่ $b_i$ มีค่าน้อยกว่า 1 แล้วยังให้ผลผลิตเฉลี่ยต่ำนี้มักไม่เป็นที่ต้องการของนักปรับปรุงพันธุ์ อย่างไรก็ตาม พันธุ์ที่มีเสถียรภาพดีตามวิธีของ Finlay และ Wilkinson (1963) ต้องเป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตเฉลี่ยสูง และมีค่า $b_i$ เท่ากับ 1 หรือใกล้เคียง 1

**ระยะเวลาและสถานที่ดำเนินการ**

ปลูกข้าวทดสอบในศูนย์วิจัยข้าวต่างๆ จำนวน 5 ศูนย์ ประกอบด้วยศูนย์วิจัยข้าวสกลนคร ศูนย์วิจัยข้าวอุดรธานี ศูนย์วิจัยข้าวชุมแพ ศูนย์วิจัยข้าวขอนแก่น และศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์ ในฤดูนาปี ตั้งแต่ พ.ศ. 2548 ถึง 2551 รวม 17 สภาพแวดล้อม

## ผลการทดลองและวิจารณ์

เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนรวมทั้ง 17 สภาพแวดล้อม (Table 2) พบดังนี้

**ผลผลิต** ผลผลิตของข้าว เหนียวที่ทดสอบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง สายพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงได้แก่ IR72738- 36- 2-B-B IR72739- 2-11- B-8-4-B-B PTT97100- B-116- 3-1 และ PTT97100-B-116-3-3 โดยให้ผลผลิต 721 730 708 และ 711 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ ซึ่งให้ ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์กข10 (652 กิโลกรัมต่อไร่) ที่เป็นพันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐาน

**อายุเก็บเกี่ยว** อายุเก็บเกี่ยวของข้าวเหนียวที่ทดสอบมีค วามแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง สายพันธุ์ที่มีอายุหนักกว่าพันธุ์กข10 (132 วัน) ซึ่งเป็นพันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐาน ได้แก่ IR72738-36-2-B-B IR72739-2-11-B-8-4-B-B PTT97100-B-116-3-1 และ PTT97100-B-116-3-3 โดยมีอายุเก็บ

Bureau of Rice Research and Development

เกี่ยว 133-134 วัน ในขณะที่สายพันธุ์ KKN97031-NKI-B-B-122-1-1 และ KKN98018-43-1-2-3 มีอายุเบากว่าพันธุ์กข10 โดยมีอายุเก็บเกี่ยวเพียง 129 วัน

**ความสูง** ความสูงของข้าวเหนียวที่ทดสอบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง สายพันธุ์ที่มีลำต้นสูงกว่าพันธุ์กข10 (119 เซนติเมตร) ซึ่งเป็นพันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐาน คือ IR72739-2-11-B-8-4-B-B โดยมีความสูง 134 เซนติเมตร ส่วนสาย พันธุ์ IR72738-36-2-B-B KKN97031-NKI-B-B-122-1-1 KKN98018-43-1-2-3 PTT97100-B-116-3-1 และ PTT97100-B-116-3-3 มีลำต้นเตี้ยกว่าพันธุ์กข10

**จำนวนรวงต่อกอ** จำนวนรวงต่อกอของข้าวเหนียวที่ทดสอบมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง สายพันธุ์ที่มีจำนวนรวงต่อกอมากกว่าพันธุ์กข 10 (8 รวง) ซึ่งเป็นพันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐาน ได้แก่ IR72738-36-2-B-B PTT97100-B-116-3-1 และ PTT97100-B-116-3-3 โดยมี 9-10 รวงต่อกอ

นอกจากนั้นยังพบว่าผลผลิต อายุเก็บเกี่ยว ความสูง และจำนวนรวงต่อกอ ของข้าวเหนียวที่ทดสอบมีปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์กับสภาพแวดล้อม (Table 2) แสดงว่าพันธุ์ที่นำมาทดสอบนั้นเปลี่ยนแปลงลำดับความดีเด่นไปตามสภ าพแวดล้อม (ประวิตร, 2548) เนื่องจากปฏิกิริยาร่วมระหว่างพันธุกรรมกับสภาพแวดล้อม (genotype by environment interaction หรือ GxE) เป็นปัจจัยที่ทำให้การแสดงออกของข้าวไม่ตรงตามพันธุกรรมที่มีอยู่ เมื่อปลูกภายใต้สภาพแวดล้อมที่แตกต่างกันจึงเป็นอุปสรรคในการคัดเลือ ก หาก GxE มีค่ามากยิ่งทำให้ความแม่นยำในการคัดเลือกลดลง ดังนั้นจึงต้องวิเคราะห์หาเสถียรภาพผลผลิต เนื่องจากพันธุ์ที่ดีควรมีเสถียรภาพ หรือไม่เปลี่ยนแปลงลำดับมากนัก เมื่อสภาพแวดล้อมเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งจากการประเมินเสถียรภาพผลผลิตของข้าวเหนียวที่ทดสอบด้วยวิธีการวิเคราะห์รีเกรสชัน (regression analysis) ของพันธุ์บนดัชนีสภาพแวดล้อม ในครั้งนี้แล้วพิจารณาผลผลิตเฉลี่ยร่วมกับค่าสัมประสิทธิ์รีเกรสชันสามารถแบ่งข้าวได้ 2 กลุ่ม ดังนี้

1. กลุ่มที่มีค่าสัมประสิทธิ์รีเกรสชันเท่ากับ 1 หรือไม่แตกต่างจาก 1 ได้แก่ สายพันธุ์ IR72738-36-2-B-B IR72739-2-11-B-8-4-B-B KKN98018-43-1-2-3 PTT97100-B-116-3-1 PTT97100-B-116-3-3 สันป่าตอง 1 และกข 10 (Table 3 และ Fig. 1) พันธุ์/สายพันธุ์เหล่านี้ มีเสถียรภาพในการให้ผลผลิตดี สามารถปรับตัวได้ดีหลายสภาพแวดล้อม โดยสายพันธุ์ IR72739-2-11-B-8-4-B-B เป็นข้าวที่มีเสถียรภาพในการให้ผลผลิตดีที่สุด เนื่องจากให้ผลผลิตเฉลี่ยสูงที่สุดคือ 730 กิโลกรัมต่อไร่ มีค่าสัมประสิทธิ์รีเกรสชัน 1.23 ซึ่งไม่แตกต่างจาก 1

2. กลุ่มที่มีค่าสัมประสิทธิ์รีเกรสชันต่ำกว่า 1 มีเพียงสายพันธุ์เดียวคือ KKN97031-NKI-B-B-122-1-1 โดยมีค่าสัมประสิทธิ์รีเกรสชัน 0.67 และให้ผลผลิตเฉลี่ยเพียง 637 กิโลกรัมต่อไร่ (Table 3 และ Fig. 1) ข้าวสายพันธุ์นี้ตอบสนองต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมได้ต่ำกว่าค่าเฉลี่ย แม้จะนำไปปลูกในสภาพแวดล้อมที่ดีเพียงใดก็ไม่สามารถให้ผลผลิตสูงกว่าค่าเฉลี่ยได้

Bureau of Rice Research and Development

## สรุปผลการทดลอง

การประเมินเสถียรภาพผลผลิตข้าวเหนียวต้านทานโรคไหม้เมื่อปลูกข้าวทดสอบ 17 สภาพแวดล้อม สามารถคัดเลือกข้าวเหนียวที่มีเสถียรภาพในการให้ผลผลิต ดี ปรับตัวได้ดีหลายสภาพแวดล้อมจำนวน 7 พันธุ์/สายพันธุ์ ได้แก่ IR72738-36-2-B-B IR72739-2-11-B-8-4-B-B KKN98018-43-1-2-3 PTT97100-B-116-3-1 PTT97100-B-116-3-3 สันป่าตอง 1 และ กข 10 โดยสายพันธุ์ IR72739-2-11-B-8-4-B-B เป็นข้าวที่มีเสถียรภาพในการให้ผลผลิตดีที่สุด นอกจากนั้นยังพบข้าวที่สามารถปรับตัวได้ดีกับสภาพแวดล้อมที่เฉพาะเจาะจงจำนวน 1 สายพันธุ์คือ KKN97031-NKI-B-B-122-1-1

## เอกสารอ้างอิง


กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. 2545. คู่มือโรคข้าว. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. 40หน้า.

ประวิตร พุทธานนท์. 2548. ไบโอเมตริกส์เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าว. ภาควิชาพืชไร่ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

สมศักดิ์ ทองดีแท้. 2543. โรค แมลง และสัตว์ศัตรูข้าวและการป้องกันกำจัด. กลุ่มอารักขาข้าว ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี อำเภอธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี. 110 หน้า

Finlay, K.W. and G.N. Wilkinson. 1963. The analysis of adaptation in a plant-breeding programme. Australia Journal of Agricultural Research. 14 : 742-754.

IRRI. 2007. CropStat: Tutorial Manual. Biometrics Unit. IRRI (International Rice Research Institute). Los Banos. Philippines.

Kahn, R.P. and J.L. Libby. 1958. The effect of environmental factors and plant age on the infection of rice by the blast fungus *Pyricularia oryzae*. Phytopathology. 48:25-30.

Ou, S.H. 1984. Rice diseases. 2nd ed. Commonweath Mycological Institute. Kew Surrey. England. 380 pp.


Bureau of Rice Research and Development

Table 1 Photoperiod insensitive glutinous lines tested for blast reactions in Rice Research Centers during 2005-2008.

| No | Crosses | Designations | Blast reactions | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | Nongkai | Khonkaen | Sakolnakorn |
| 1 | SPTLR80146-PRE-7-1-2-2/IR43070-UBN-501-2-2-2-1//KKNLR75051-PMI-65-3-1-1 | IR72738-36-2-B-B | MR | MR | HR |
| 2 | SPTLR80146-PRE-7-1-2-2/IR43070-UBN-501-2-2-2-1//PRE1 | IR72739-2-11-B-8-4-B-B | R | HR | HR |
| 3 | SKN/SPTLR82022-PRE-12-3-1-GM-7 | KKN97031-NKI-B-B-122-1-1 | R | HR | HR |
| 4 | IR43069-UBN-507-3-1-2-2/IR70224-9-1-B-1-3 | KKN98018-43-1-2-3 | R | MR | MR |
| 5 | RD6/PTT1 | PTT97100-B-116-3-1 | R | MR | R |
| 6 | RD6/PTT1 | PTT97100-B-116-3-3 | MR | MR | R |
| 7 | BKNLR75001-$B_3$-CNT-$B_4$-RST-36-2/RD2 | SPT1 (ck) | MS | MR | MR |
| 8 | RD1'69-NF1U | RD10 (ck) | HS | S | HS |

Blast reactions : HR = Highly resistant R = Resistant MR = Moderately resistant MS = Moderately susceptible S = Susceptible HS = Highly susceptible

Bureau of Rice Research and Development

Table 2 Grain yield, maturity, plant height, number of panicle per hill and grain quality of photoperiod insensitive glutinous lines grown in 17 environments during 2005-2008.

| No | Designations | Yield (kg/rai) | rank | Maturity (days) | Height (cm.) | Panicle Per hill | Grain yield | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | | Hull color | Grain length (mm) | Shape | Alkali spreading value 1.7% | Alkali spreading value 1.4% | Gel Temp. | Aroma |
| 1 | IR72738-36-2-B-B | 721 | 3 | 134 | 116 | 9 | Straw | 7.21 | Slender | 6.7 | 5.4 | Low | 0 |
| 2 | IR72739-2-11-B-8-4-B-B | 730 | 1 | 133 | 131 | 8 | Straw | 8.02 | Slender | 6.1 | 5.3 | Low | 0 |
| 3 | KKN97031-NKI-B-B-122-1-1 | 637 | 8 | 129 | 110 | 8 | Dark brown | 7.58 | Slender | 6.5 | 5.6 | Low | 2 |
| 4 | KKN98018-43-1-2-3 | 678 | 6 | 129 | 112 | 8 | Brown | 7.35 | Slender | 6.7 | 5.6 | Low | 0 |
| 5 | PTT97100-B-116-3-1 | 708 | 5 | 134 | 102 | 10 | Straw | 7.28 | Slender | 6.8 | 5.5 | Low | 0 |
| 6 | PTT97100-B-116-3-3 | 711 | 4 | 133 | 101 | 10 | Straw | 7.26 | Slender | 6.6 | 5.4 | Low | 0 |
| 7 | SPT1 (ck) | 722 | 2 | 137 | 120 | 8 | Straw | 7.37 | Slender | 6.8 | 5.8 | Low | 0 |
| 8 | RD10 (ck) | 652 | 7 | 132 | 119 | 8 | Straw | 7.71 | Slender | 6.2 | 5.2 | Low | 0 |
| | Average | 695 | | 132 | 114 | 9 | | | | | | | |
| | F-test (genotype) | ** | | ** | ** | ** | | | | | | | |
| | F-test (G x E) | ** | | * | ** | * | | | | | | | |
| | LSD (0.05) | 36 | | 1 | 3 | 1 | | | | | | | |
| | CV (%) | 9.5 | | 1.2 | 4.2 | 12.9 | | | | | | | |

Bureau of Rice Research and Development

Table 3 Yield stability parameters of photoperiod insensitive glutinous lines grown in 17 environments during 2005-2008.

| No | Designations | 2005 | | | | 2006 | | | | 2007 | | | | | 2008 | | | | means | $b_1$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | CPA | SKN | SRN | UDN | CPA | SKN | SRN | UDN | CPA | KKN | SKN | SRN | UDN | CPA | SKN | SRN | UDN | | |
| 1 | IR72738-36-2-B-B | 618 | 774 | 623 | 725 | 820 | 712 | 693 | 604 | 629 | 750 | 734 | 801 | 776 | 742 | 788 | 681 | 804 | 722 | 0.77 ns |
| 2 | IR72739-2-11-B-8-4-B-B | 635 | 882 | 544 | 744 | 764 | 696 | 642 | 675 | 546 | 630 | 801 | 856 | 869 | 834 | 739 | 679 | 872 | 730 | 1.23 ns |
| 3 | KKN97031-NKI-B-B-122-1-1 | 607 | 622 | 526 | 698 | 758 | 618 | 642 | 586 | 526 | 627 | 685 | 715 | 663 | 705 | 722 | 607 | 529 | 637 | 0.67 * |
| 4 | KKN98018-43-1-2-3 | 484 | 698 | 528 | 759 | 768 | 667 | 659 | 644 | 565 | 677 | 787 | 861 | 712 | 748 | 716 | 580 | 667 | 678 | 1.04 ns |
| 5 | PTT97100-B-116-3-1 | 698 | 792 | 604 | 722 | 789 | 618 | 599 | 581 | 630 | 709 | 737 | 813 | 886 | 746 | 763 | 625 | 723 | 708 | 1.00 ns |
| 6 | PTT97100-B-116-3-3 | 727 | 765 | 602 | 768 | 798 | 668 | 646 | 474 | 639 | 805 | 695 | 816 | 898 | 803 | 648 | 647 | 677 | 710 | 1.02 ns |
| 7 | SPT1 (ck) | 679 | 758 | 500 | 891 | 769 | 675 | 634 | 576 | 640 | 684 | 888 | 835 | 846 | 734 | 710 | 713 | 737 | 722 | 1.19 ns |
| 8 | RD10 (ck) | 585 | 690 | 506 | 651 | 741 | 597 | 569 | 570 | 514 | 599 | 807 | 711 | 819 | 710 | 661 | 624 | 732 | 652 | 1.08 ns |
| | Environmental means | 629 | 748 | 554 | 745 | 776 | 656 | 635 | 589 | 586 | 685 | 766 | 801 | 809 | 753 | 718 | 644 | 717 | 695 | |
| | Environmental index | -66 | 53 | -141 | 50 | 81 | -39 | -60 | -106 | -109 | -10 | 71 | 106 | 114 | 58 | 23 | -51 | 22 | | |

* different from 1 at 95 % level of confidence

Bureau of Rice Research and Development

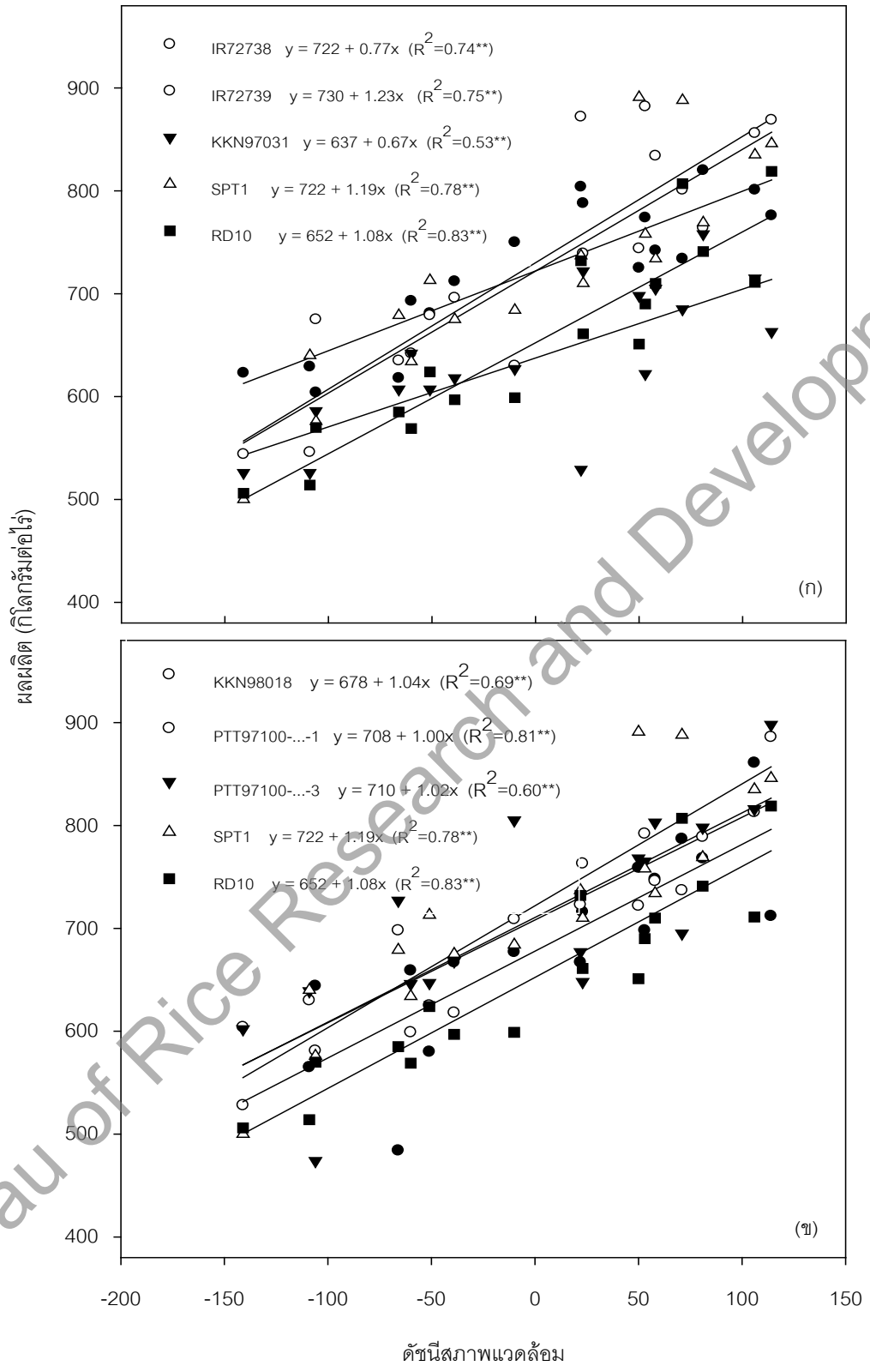


Fig. 1 Yield stability parameters of photoperiod insensitive glutinous lines grown in various 17 environments

Bureau of Rice Research and Development

# การศึกษาประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงในการป้องกันกำจัดแมลงหล่า *Scotinophara coarctata* (Fabricious)

# Determining on Insecticide Efficacy for Controlling Rice Black Bug, *Scotinophara coarctata* (Fabricious)

วันทนา ศรีรัตนศักดิ์[1)] สุกัญญา เทพันดุง[1)]

Wantana Sriratanasak[1)] Sukanya Tepandung[1)]

## Abstract

Rice black bug (RBB); *Scotinophara coarctata* (Fabricious) has been known as a serious rice pest at Narathiwat province in 1995/96s. It has attacked rice plants in irrigated and rainfed wetland rice cultivation in the Central Plain since 2003. Infestation was observed recently during wet season 2008 in Ang Thong, Sing Buri and Suphan Buri provinces. Damage caused by the sap-feeding RBB was similar to hopper burn that caused by brown planthopper. Most farmers in the outbreak areas had to apply insecticides to prevent their yield loss. Only one insecticide; carbosulfan (Posse 20% EC) is recommended to control RBB so far, therefore the farmers' practice are often sprayed hazardous insecticide to control RBB. The purpose of this study was to investigate the application rates and the active ingredients of some insecticides of which are effective to the rice brown planthopper. The efficacy tests of insecticides for controlling the RBB were determined in both of laboratory and paddy field in 2008. Results showed that the application rate of 40 milliliters per 20 liters of water of ethiprole (Curbix 10% SC) and 6 grams per 20 liters of water of clothianidin (Dantosu 16% WG) were most effective under lower than economic threshold of RBB densities condition. Means of insect densities obtained from those two spray treatments were not significantly different from the recommended; carbosulfan (Posse 20% EC) at the rate of 80 milliliters per 20 liters of water with percentage of the efficacy of 53.5 and 51.5% and were higher than those of recommended one (44.7%). In the other hand, efficacy of dinotefuran (Starkle 10% WP) with application rate of 10 grams per 20 liters of water and thiamithoxam (Actara 25% WG) at the rate of 2 grams per 20 liters of water were 36.0 and 25.3% respectively and indicated of less effective than the recommended insecticide.

**Keywords** : rice black bug, *Scotinophara coarctata* (Fabricious), chemical control

---

1) สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว เขตจตุจักร กทม. 10900 โทรศัพท์ 0-2579-8140

Bureau of Rice Research and Development, Rice Department, Chatuchak, Bangkok 10900 Tel. 0-2579-8140

Bureau of Rice Research and Development

## บทคัดย่อ

แมลงหล่า *Scotinophara coarctata* (Fabricius) พบระบาด ทำความเสียหายแก่ ผลผลิตข้าวของชาวนาครั้งแรกที่จังหวัดนราธิวาส เมื่อปี 2538/39 และเป็นแมลงประจำท้องถิ่นภาคใต้ ต่อมาพบทำลายผลผลิตข้าวใน ภาคกลางเมื่อปี 2546 ต่อเนื่องมาจนถึงปัจจุบัน โดยฤดูนาปี 2551 พบมีการระบาดที่ อำเภอแสวงหา จังหวัดอ่างทอง สิงห์บุรี และสุพรรณบุรี ซึ่งเกษตรกรในภาคกลางส่วนใหญ่ใช้สารฆ่าแมลงในการแก้ปัญหา ในขณะที่สารฆ่าแมลงที่ทางราชการแนะนำ ให้ใช้ในการป้องกันกำจัดมีเพียงชนิด เดียว คือ carbosulfan (Posse 20% EC) ทำให้เกษตรกรใช้สารฆ่าแมลงกันอย่างไม่มีประสิทธิภาพทั้งชนิดของสารและวิธีก ารใช้ การทดสอบหาสารฆ่าแมลงที่แนะนำ ให้ใช้ในการป้องกันกำจัด แมลงศัตรูข้าวชนิดอื่ นจึงมีความจำเป็นสำหรับแนะนำให้กับเกษตรกรใช้เมื่อมีการระบาดเกินระดับเศรษฐกิจ

การทดสอบประสิทธิภาพของสาร ในการป้องกันกำจัดแมลงหล่า ในสภาพห้องปฏิบัติการ โดยใช้เครื่อง revolving table และในสภาพนาข้าวของเกษตรกร อำเภอบางปะหัน จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ฤดูนาปี 2551 ให้ผลสอดคล้องกันว่า ภายใต้สภาพที่ประชากรแมลงหล่าในนาข้าวมีจำนวนต่ำกว่าระดับเศรษฐกิจ สาร ethiprole (Curbix 10% SC) อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และสาร clothianidin (Dantosu 16% SG) อัตรา 6 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันกำจัดแมลงหล่า โดยมีค่าประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเท่ากับ 53.5 และ 51.5 เปอร์เซ็นต์ และสูงกว่าประสิทธิภาพของ สารแนะนำป้องกันกำจัด แมลงหล่า carbosulfan (Posse 20% EC) อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ซึ่งมีค่าเท่ากับ 44.7 เปอร์เซ็นต์ ส่วนสาร dinotefuran (Starkle 10% WP) อัตรา 10 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร และสาร thiamithoxam (Actara 25% WG) อัตรา 2 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงหล่าต่ำกว่า สารแนะนำป้องกันกำจัดแมลงหล่า carbosulfan (Posse 20% EC) โดยค่าประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดเท่ากับ 36.0 และ 25.3 เปอร์เซ็นต์

**คำสำคัญ** : แมลงหล่า สารฆ่าแมลง การป้องกันกำจัด

## คำนำ

แมลงหล่า *Scotinophara coarctata* (Fabricius) เป็นมวนชนิดหนึ่ง มีลักษณะค่อนข้างกลมคล้ายโล่ห์ ด้านหัวและอกเป็นรูปสามเหลี่ยม ลำตัวมีสีน้ำตาลหรือดำเป็นมันวาว ยาว 7-8 มิลลิเมตร กว้าง 4-5 มิลลิเมตร (Fig. 1)เพศผู้มีขนาดเล็กกว่าเพศเมีย ชอบอาศัยรวมกลุ่มที่โคนต้นข้าวเหนือระดับน้ำ ในตอนกลางวัน ส่วนกลางคืนจะเคลื่อนย้ายขึ้นบนต้นข้าว เพศเมียวางไข่ประมาณ 200 ฟอง โดยวางไข่เป็นกลุ่มจำนวน 20-26 ฟองต่อกลุ่ม เรียงเป็นแถวขนานกัน (Fig. 2) วางไข่ที่กาบใบข้าวบริเวณโคนต้นข้าวใกล้ระดับผิวน้ำ หรือบางครั้งอาจจะวางบนพื้นดิน ไข่มีสีชมพูแกมเขียว ระยะไข่ 4-6 วัน ตัวอ่อนมี 6 ระยะ ตัวอ่อนมีสีน้ำตาลและสีเหลืองกับจุดสีดำ (Fig. 3) ระยะตัวอ่อน 20-30 วัน ตัวอ่อนมีพฤติกรรมเหมือนตัวเต็มวัย คือหลบซ่อนอยู่ที่โคนต้นข้าวหรือตามรอยแตกของพื้นดินในตอนกลางวันและหากินในตอนกลางคืน ตัวเต็มวัย

Bureau of Rice Research and Development

มีอายุนานถึง 214 วัน อยู่ข้ามฤดูหนาวหรือฤดูแล้ง โดยพักตัวอยู่ในร่องระแหงดินในที่มีหญ้าขึ้น เมื่อสภาพภูมิอากาศเหมาะสมจะบินเข้าแปลงนา และขยายพันธุ์หลายรุ่น มีการพักตัวตามตอซัง ห ลังจากเก็บเกี่ยวข้าวแล้ว ตัวเต็มวัยสามารถอพยพได้ระยะทางไกลๆ (สุวัฒน์, 2544)

Fig. 1 Adults of RBB, *S. coarctata* (Fabricius)

Fig. 2 RBB eggs mass

Fig. 3 Newly hatching of RBB nymphs

แมลงหล่ามักพบระบาดในข้าวนาสวน นาชลประทานพบมากกว่านาน้ำฝน พบในนาหว่านมากกว่านาดำ เนื่องจากความหนาแน่นของต้นข้าวนาหว่านมีมากกว่านาดำ ซึ่งเป็นสภาพที่เหมาะแก่การอยู่อาศัย โดยทั่วไปแมลงหล่าชอบสภาพที่ร่มและเย็น ในฤดูนาปีการระบาดมีมากกว่านาปรัง พบระบาดเป็นครั้งคราวในบางท้องที่ แต่การระบาดแต่ละครั้งมักทำความเสียหายรุนแรง ดังเช่น ที่ จังหวัดนราธิวาส ปี 2538/39 มีพื้นที่ทำนา 1.6 แสนไร่ นาข้าวถูกแมลงหล่าระบาดทำลายข้าว 3.6 หมื่นไร่ (23 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ทำนา ) และปี 2542 นาข้าวถูกแมลงหล่าระบาดทำลายข้าวเนื้อที่ 2.2 หมื่นไร่ (14 เปอร์เซ็นต์ พื้นที่ทำนา ) อำเภอเมือง อำเภอตากใบ อำเภอระแงะ และ กิ่งอำเภอบาเจาะ จังหวัดนราธิวาส (สุวัฒน์, 2543) ปี 2546 ระบาดที่อำเภอหนองเสือ และอำเภอธัญบุรี จังหวัดปทุมธานี อำเภอบางน้ำเปรี้ยว จังหวัดฉะเชิงเทรา อำเภอองครักษ์ จังหวัดนครนายก และ ปี 2551 ที่อำเภอมโนรมย์ จังหวัดชัยนาท และอำเภอ แสวงหา จังหวัดอ่างทอง (จากการสัมภาษณ์เกษตรกร) สาเหตุการระบาดไม่สามารถชี้ชัดว่ามาจากสาเหตุใด แต่มีข้อสังเกต

Bureau of Rice Research and Development

ว่าพบการระบาดในพื้นที่ที่เกิดน้ำท่วม และในข้าวระยะแตกกอเต็มที่จนถึงระยะออกรวง ทำให้ต้ นข้าวแห้งตาย (Fig. 4) ผลผลิตเสียหาย คาดว่าแมลงชนิดนี้จะเริ่มมีความสำคัญในข้าวนาสวนมากขึ้น

Fig. 4 Severely RBB outbreak of paddy rice fields in Southern part

เพชรี (2551) รายงานว่าจากการสำรวจติดตามการระบาดในนาเกษตรกรในพื้นที่ป ลูกข้าว ฤดูนาปีของภาคใต้ ที่จังหวัดพัทลุง ระหว่างเดือนสิงหาคม 2550 ถึงเดือนกุมภาพันธ์ 2551 พบการระ บาดในพื้นที่นาเกษตรกรปลูกข้าวพันธุ์เล็บนกปัตตานี ที่ตำบลสมหวัง อำเภอกงหรา และพื้นที่การปลูกข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง ที่ตำบลแหลมโตนด อำ เภอควนขนุน พบการระบาด ในระยะข้าวแตกกอจนถึงระยะออกรว ง และเดือนพฤศจิกายน 2551 พบระบาดที่ตำบลลำภู อำเภอเมือง จังหวัดนราธิวาส ประมาณ 36 ไร่ (ศูนย์วิจัยข้าวปัตตานี, 2551)

เนื่องจากแมลงหล่าเริ่มพบระบาดทำความเสียหายแก่ผลผลิตข้าวของชาวนาในภาคกลางตั้งแต่ปี 2546 ต่อเนื่องมาจนถึงปัจจุบันและพบมีการระบาดที่จังหวัดอ่างทอง สิงห์บุรี และสุพรรณบุรี ปี 2552 (จากการสัมภาษณ์เกษตรกร) และเกษตรกรในภาคกลางส่วนใหญ่ใช้สารฆ่าแมลงในการแก้ปัญหา ในขณะที่สารฆ่าแมลงที่ทางกรมวิชาการเกษตร โดยส่วนกีฏวิทยา สำนักวิจัยอารักขาพืช แนะนำใช้ในการป้องกันกำจัดมีเพียงชนิดเดียว คือ carbosulfan (Posse 20% EC) (สำนักอารักขาพืช , 2551) ทำให้เกษตรกรใช้สารฆ่ า แมลงกันอย่างไม่มีประสิทธิภาพทั้งชนิดของสารและวิธีการใช้

สารกลุ่มนีโอนิโคตินอยด์ (neonicotinoids) เป็นสารฆ่าแมลงกลุ่มใหม่ที่ มีกลไกการทำลายระบบประสาทส่วนรอยเชื่อมของเซลล์ประสาทในแมลง ซึ่งถ่ายทอดสัญญานกระแสประสาทจากเซลล์ประสาทหนึ่ง (ก่อนรอยเชื่อม ) ไปยังอีกเซลล์หนึ่ง (ส่วนหลังรอยเชื่อม ) สารในกลุ่มนี้ได้แก่ สาร imidaclprid, acetameprid, thiacloprid, thiamitoxam, clothianidin และ dinotefuran (นิรนาม, 2547) ซึ่งได้รับการขึ้นทะเบียนวัตถุอันตรายทางการเกษตรให้ใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูพืช (สำนักอารักขาพืช, 2551) จึงมีความจำเป็นที่จะต้องศึกษาและทดสอบหาสารฆ่าแมลงที่แนะนำใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงศัต รูข้าวอื่นเพื่อแนะนำให้เกษตรกรได้ใช้สำหรับควบคุมแมลงหล่าอย่างมีประสิทธิภาพ และปลอดภัยต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม เมื่อมีการระบาดเกินระดับเศรษฐกิจ

Bureau of Rice Research and Development

# อุปกรณ์และวิธีการ

**การทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ**

**1. อุปกรณ์ที่ใช้**

1.1 เครื่องพ่นสารแบบโต๊ะหมุน (resolving table)

1.2 สารฆ่าแมลง

| | | |
|---|---|---|
| 1.2.1 | dinotefuran (Starkle 10% WP) | ความเข้มข้น 500 ppm |
| 1.2.2 | dinotefuran (Starkle 10% SL) | ความเข้มข้น 500 ppm |
| 1.2.3 | thiametoxam (Actara 25 % WG) | ความเข้มข้น 100 ppm |
| 1.2.4 | clothianidin (Dantaosu 16 % SG) | ความเข้มข้น 300 ppm |
| 1.2.5 | ethiprole (Curbix 10% SC) | ความเข้มข้น 2,000 ppm |
| 1.2.6 | fipronil (Ascend 10% SC) | ความเข้มข้น 2,500 ppm |
| 1.2.7 | carbosulfan (Posse 20% EC) | ความเข้มข้น 4,000 ppm |
| 1.2.8 | etofenprox (Trebon 10% EC) | ความเข้มข้น 1,000 ppm |
| 1.2.9 | สารสกัดสะเดาไทย (นีมบอนด์-เอ) | ความเข้มข้น 2,000 ppm |
| 1.2.10 | สารสกัดบอระเพ็ด | ความเข้มข้น 2,000 ppm |

1.3 หลอดแก้วทดลอง (test tubes) , Pipettes, pipette controller, Erlenmeyer flaks, Beakers และ Funnels

1.4 ต้นข้าว กข7 อายุ 35-45 วัน ที่ปลูกไว้ในกระถางจำนวน 5 ต้นต่อกระถาง

1.5 ผ้าขาวบาง ยางรัด และพู่กันสำหรับเขี่ยแมลง

1.6 ตัวเต็มวัยแมลงหล่า

1.7 น้ำกลั่น

วางแผนการทดลอง CRD มี 10 กรรมวิธี (สารฆ่าแมลง) แต่ละกรรมวิธีมี จำนวน 5 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้แมลง 5 ตัว

**2. วิธีทดสอบ**

2.1 เลี้ยงขยายปริมาณแมลงหล่าที่เก็บจากนาข้าวของเกษตรกร ในกระบะซีเมนต์ที่ปลูกข้าวพันธุ์ กข 7 อายุประมาณ 60 วันขึ้นไป ปิดครอบด้วยกรงตาข่าย ในสภาพโรงเรือนเลี้ยงแมลง

2.2 เตรียมสารละลายสารฆ่าแมลง โดยใช้ น้ำกลั่น เป็นตัวทำละลาย

2.3 นำกระถางต้นข้าวที่เตรียมไว้ในข้อ 1.4 ไปพ่นสารละลาย สารฆ่าแมลงด้วยเครื่อง revolving table ให้ทั่วด้วยปริมาณสารละลายสารฆ่าแมลง 12.5 มิลลิลิตร ต่อ 4 กระถาง (Fig. 5) จากนี้นำต้นข้าวที่พ่นสารแล้วมาผึ่งให้แห้ง และนำต้นข้าวที่ได้รับสารใส่ไว้ในหลอดแก้วทดลอง และปล่อยตัวเต็มวัยแมลงหล่าจำนวน 5 ตัวต่อหลอด (Fig. 6) สำหรับกระถางเปรียบเทียบ (untreated check) พ่นด้วยน้ำเปล่า

2.4 ตรวจนับจำนวนแมลงที่ตายหลังจากได้รับสารนาน 24 และ 48 ชั่วโมง

Bureau of Rice Research and Development

2.5 ข้อมูลจำนวนแมลงที่ตายนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ

Fig. 5 Insecticides application in laboratory by revolving table

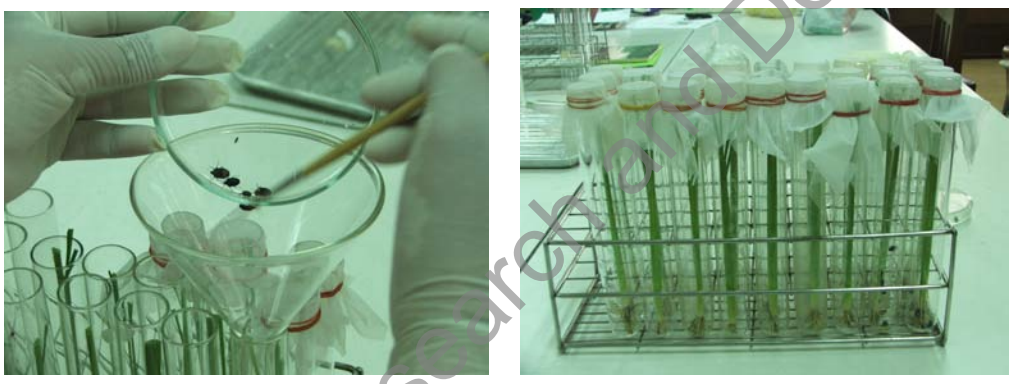

Fig. 6 RBB adults were released on treated rice plants and kept in test tube

**การทดสอบในสภาพแปลงนา**

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 6 กรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 พ่นสาร ethiprole (Curbix 100% SC) อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20ลิตร

กรรมวิธีที่ 2 พ่นสาร thiamithoxam (Actara 25% WG) อัตรา 2 กรัม ต่อน้ำ 20ลิตร

กรรมวิธีที่ 3 พ่นสาร clothianidin (Dantosu 16% SG) อัตรา 6 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 4 พ่นสาร dinotefuran (Starkle 10% WP) อัตรา 10 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 5 พ่นสาร carbosulfan (Posse 20% EC) อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร

กรรมวิธีที่ 6 พ่นด้วยน้ำ

**วิธีการ**

ปลูกข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 โดยวิธีหว่านน้ำตม ในแปลงย่อยขนาด 7x9 เมตร ระยะ ห่างระหว่างแปลงย่อย 0.5 เมตร ระยะห่างระหว่างซ้ำ 1 เมตร ใส่ปุ๋ยและกำจัดวัชพืชตามคำแนะนำ ตรวจนับแมลง ก่อนและหลังพ่นสาร โดยการสุ่มนับด้วยตาเปล่าตามแนวเส้นทะแยงมุมๆละ 10 จุด(ข้าวอยู่ชิดติดกัน 10 ต้น) จำนวน 20 จุดต่อแปลงย่อย ตรวจนับแมลงทุกสัปดาห์ในข้าวระยะตั้งแต่ 15 วันหลังหว่าน เมื่อพบจำนวน

Bureau of Rice Research and Development

แมลงหล่าใกล้ถึงระดับเศรษฐกิจ (5 ตัวต่อจุดสำรวจ) ทำการพ่นสารตามกรรมวิธีด้วยเครื่องพ่นสารแบบสูบโยกสะพายหลัง พ่นสารแต่ละครั้งห่างกัน 15 วัน ข้อมูลจำนวนแมลงที่พบในแปลงทดสอบนำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติ และเปรียบเทียบประสิทธิภาพของสาร แต่ละชนิด โดยใช้ Abbott formula (CIBA-GEIGY,1992) ดังนี้

กรณีที่จำนวนประชากรแมลงก่อนพ่นสารไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (homogeneous)

ประสิทธิภาพสาร(%) = $\frac{(Ca-Ta)}{Ca} \times 100$

Ca = จำนวนแมลงหลังพ่นสารในแปลงควบคุม (untreated check)

Ta = จำนวนแมลงหลังพ่นสารในแปลงพ่นสาร (treatment plot)

**สถานที่ทดสอบ** ห้องปฏิบัติการสารเคมี นาเกษตรกรอำเภอนครหลวง จังหวัดพระนครศรีอยุธยา

## ผลการทดลองและวิจารณ์

**การทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ (Table 1)**

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงพบว่าหลังได้รับสารนาน 24 ชั่วโมง สารที่ทางราชการขึ้นทะเบียนใช้ในการป้องกันกำจัด แมลงศัตรูข้าว ได้แก่ สาร ethiprole (Curbix10% SC) ความเข้มข้น 2,000 ppm สาร thiamithoxam (Actara 25% WG) ความเข้มข้น 100 ppm สาร clothianidin (Dantosu 16% SG) ความเข้มข้น 300 ppm สาร etofenprox (Trebon 10% EC) ความเข้มข้น 1,000 ppm และ สาร dinotefuran (Starkle 10% WP) ความเข้มข้น 500 ppm มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างทางสถิติ กับสารแนะนำป้องกันกำจัดแมลงหล่า carbosulfan (Posse 20% EC) ความเข้มข้น 4,000 ppm โดยเปอร์เซ็นต์ตายของแมลงเท่ากับ 95 85 85 65 60 และ 80 ตามลำดับ

สำหรับสาร fipronil (Ascend 10% SC) ความเข้มข้น 2,500 ppm และสาร dinotefuran (Starkle 10% SL) ความเข้มข้น500 ppm มีประสิทธิภาพต่ำกว่าและแตกต่างทางสถิติกับสารแนะนำ carbosulfan (Posse 20% EC) โดยเปอร์เซ็นต์ตายเท่ากับ 50 45 และ 80 ตามลำดับ

ส่วนสารสกัดจากสะเดา (สารนีมบอนด์อี) และสารสกัดจากบอระเพ็ดอัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ไม่มีผลทำให้แมลงหล่าตายและไม่แตกต่างทางสถิติกับการไม่พ่นสารฆ่าแมลง

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสาร พบว่าหลังจากแมลงหล่า ได้รับสารนาน 48 ชั่วโมง สารเคมีสังเคราะห์ทุกชนิด มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแ มลงหล่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดย สาร thiamithoxam (Actara 25% WG) สาร fipronil (Ascend 5% SC) สาร etofenprox (Trebon 10% EC) สาร dinotefuran (Starkle 10% WP) และ สาร dinotefuran (Starkle 10% SL) ประสิทธิภาพ การตายเพิ่มขึ้นเป็น 100 75 75 65 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และแตกต่างทางสถิติกับแมลงที่พ่นด้วยสารสกัดจากสะเดา(สารนีมบอนด์อี) และสารสกัดจากบอระเพ็ดและกรรมวิธีที่ไม่ได้พ่นสารฆ่าแมลง

Bureau of Rice Research and Development

Table 1 Efficacy of insecticides for controlling rice black bug, *S. coarctata* (Fabricius) by revolving table under laboratory test in 2008.

| Treatment | Concentration (ppm) | Mortality after application (%) | |
|---|---|---|---|
| | | 24 hours | 48 hours |
| carbosulfan (Posse 20% EC) | 4,000 | 80abc | 80 a |
| thiamethoxam (Actara 25% WG) | 100 | 85 ab | 100 a |
| etofenprox (Trebon 10% EC) | 1,000 | 65 abc | 75 a |
| clothianidin (Dantosu 16% SG) | 300 | 85 ab | 85 a |
| fipronil (Ascend 10% SC) | 2,500 | 50 bc | 75 a |
| ethiprole (Curbix10% SC) | 2,000 | 95 a | 95 a |
| dinotefuran (Starkle 10% SL) | 500 | 45 c | 60 a |
| dinotefuran (Starkle 10% WP) | 500 | 60 abc | 65 a |
| Neem extract | 2,000 | 0 d | 0 b |
| *Tinospora* extract | 2,000 | 0 d | 0 b |
| Distil water | - | 0 d | 0 b |
| CV (%) | - | 34.07 | 32.61 |

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at 5% level by DMRT

ppm = parts per million

**การทดสอบในสภาพนาข้าว** (Table 2)

ผลการพ่นสารจำนวน 2 ครั้งในข้าวอายุ 83 และ 95 วัน ในฤดูนาปี 2551 พบว่าหลังพ่นสารครั้งที่ 1 เมื่อข้าวอายุ 83 วัน พบจำนวนแมลงหล่าในแปลงพ่นสารทั้ง 5 กรรมวิธี แตกต่างทางสถิติ กับแปลงไม่พ่นสาร แต่ไม่แตกต่างกันในแต่ละกรรมวิธีพ่นสาร โดยจำนวนแมลงหล่าที่พบในแปลงพ่นสารอยู่ระหว่าง 18-25 ตัวต่อแปลง ในขณะที่แปลงไม่พ่นสารพบ 37 ตัวต่อแปลง สำหรับประสิทธิภาพการป้องกันกำจัดของสารฆ่าแมลงแต่ละชนิดพบว่าสาร ethiprole (Curbix 10% SC)อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20ลิตร สาร dinotefuran (Starkle 10% WP) อัตรา 10 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร สาร clothianidin (Dantosu 16% SG) อัตรา6 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร สารแนะนำ carbosulfan (Posse 20% EC) อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ สาร thiamithoxam (Actara 25% WG) อัตรา 2 กรัม ต่อน้ำ 20ลิตร มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัด เท่ากับ -11.6 -11.6 -19.8 -25.2 และ -30.6 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

หลังพ่นสารครั้งที่2 ในข้าวอายุ 83 วัน พบว่าแปลงที่พ่นสาร ethiprole (Curbix 10% SC) สาร clothianidin (Dantosu 16% SG) สาร dinotefuran (Starkle 10% WP) สาร carbosulfan (Posse 20% EC) สาร thiamithoxam (Actara 25% WG) จำนวนแมลงหล่าในแปลง มีจำนวนแตกต่างทางสถิติกับแปลงที่ไม่พ่นสาร โดยแปลงที่พ่นสาร ethiprole (Curbix 10% SC) และสาร clothianidin (Dantosu 16% SG) จำนวนแมลงหล่าที่พบมีจำนวนน้อยและแตกต่างทางสถิติกับแปลงที่พ่นสาร thiamithoxam (Actara 25% WG) ซึ่งจำนวน

Bureau of Rice Research and Development

แมลงหล่าที่พบเท่ากับ 51 53 และ 80 ตัวต่อแปลง ตามลำดับ แปลงที่พ่นสาร dinotefuran (Starkle 10% WP) และ สารแนะนำ carbosulfan (Posse 20% EC) มีจำนวนแมลงหล่าไม่แตกต่างกันทางสถิติกับแปลงที่พ่นสาร thiamithoxam (Actara 25% WG) ซึ่งจำนวนแมลงหล่าที่พบเท่ากับ 69 60 และ 80 ตัวต่อแปลง ตามลำดับ ในขณะที่แปลงไม่พ่นสารพบแมลงหล่า 103 ตัวต่อแปลง

สำหรับประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดของสารแต่ละชนิดพบว่า สาร ethiprole (Curbix 10% SC) และสาร clothianidin (Dantosu 16% SG) มีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันกำจัด โดยค่าประสิทธิภาพของสาร(% efficacy) เท่ากับ53.5 และ51.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ สาร dinotefuran (Starkle 10% WP) และสาร thiamithoxam (Actara 25% WG) มีประสิทธิภาพต่ำกว่าสารแนะนำ carbosulfan (Posse 20% EC) คือ มีค่าเท่ากับ 36.0 25.3 และ 44.7 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Table 2 Efficacy of insecticides for controlling rice black bug *S. coarctata* (Fabricius) in farmer's field at Nakhon Luang district, Phra Na Khon Si Ayutthaya province during wet season 2008.

| Treatment | Before appication | After 1st application (15 DAA) | % Efficacy | After 2nd application ( 12 DAA) | % Efficacy |
|---|---|---|---|---|---|
| Ethiprole (Curbix 10%SC) | 30 | 18 a | -11.6 | 51 a | 53.5 |
| Thiamithoxam (Actara 25%WG) | 25 | 25 a | -30.6 | 80 b | 25.3 |
| Clothianidin (Dantosu16% SG) | 30 | 21 a | -19.8 | 53 a | 51.5 |
| Dinotefuran (Starkle 10%WP) | 25 | 18 a | -11.6 | 69 ab | 36.0 |
| Carbosulfan (Posse 20%EC) | 26 | 23 a | -25.2 | 60 ab | 44.7 |
| Untreated check | 22 | 37 b | - | 103 c | - |
| CV (%) | 21.0 | 27.9 | - | 20.5 | - |

Means in the same column followed by a common letter are not significantly different at 5% level by DMRT

DAA = Days after application

% Efficacy = $\frac{(Ca-Ta)}{Ca} \times 100$ ( Abbott ,1925 )

Ca = No. of insects in the check plot after application

Ta = No. of insects in the treated plot after application

Bureau of Rice Research and Development

# สรุปผลการทดลอง

**การทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการ**

ผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีสังเคราะห์ และสารสกัดจากพืช ในการป้องกันกำจัดแมลงหล่า ในสภาพห้องปฏิบัติการ พบว่า สารเคมีสังเคราะห์ ที่ทางราชการขึ้นทะเบียนให้ใช้ ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูข้าว ได้แก่ สาร thiamithoxam (Actara 25% WG) อัตรา 2 กรัม ต่อน้ำ 20ลิตร สาร ethiprole (Curbix10% SC) อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร สาร clothianidin (Dantosu 16% SG) อัตรา 6 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร สาร etofenprox (Trebon 10% EC) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร สาร fipronil (Ascend 5% SC)อัตรา 50 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร สาร etofenprox (Trebon 10% EC) อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และสาร dinotefuran อัตรา 10 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพไม่แตกต่างทางสถิติ กับสารแนะนำป้องกันกำจัดแมลงหล่า carbosulfan (Posse 20% EC) อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร หลังจากแมลงได้รับสารนาน 48 ชั่วโมง โดยเปอร์เซ็นต์ ตายของแมลงเท่ากับ 100 95 85 75 75 65 60 และ 80 ตามลำดับ

สำหรับสารสกัดจากสะเดา(สารนีมบอนด์-อี) และสารสกัดจากบอระเพ็ดอัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ไม่มีผลทำให้แมลงหล่าตายหลังแมลงได้รับสารนาน 48 ชั่วโมง

**การทดสอบในสภาพนาข้าว**

ประสิทธิภาพของสารเคมีสังเคราะห์ที่แนะนำใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูข้าว ในสภาพนาข้าว ที่ อำเภอนครหลวง จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ฤดูนาปี 2551 พบว่าหลังพ่นสารจำนวน 2 ครั้ง สาร ethiprole (Curbix10% SC) อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และ สาร clothianidin (Dantosu 16% SG) อัตรา 6 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร อัตรา 10 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร มีประสิทธิภาพสูง ในการป้องกันกำจัดแมลงหล่า แต่ ไม่แตกต่างทางสถิติ กับสารแนะนำป้องกันกำจัดแมลงหล่าสารแนะนำ carbosulfan (Posse 20% EC) อัตรา 80 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร ส่วนสาร dinotefuran (Starkle 10% WP) และสาร thiamithoxam (Actara 25% WG) อัตรา2 กรัมต่อน้ำ 20ลิตร มีประสิทธิภาพต่ำกว่าสารแนะนำcarbosulfan (Posse 20%EC)

ผลการทดสอบในสภาพห้องปฏิบัติการและสภาพนาข้าวพบว่าสารที่ มีประสิทธิภาพในกา รป้องกันกำจัดแมลงหล่า ได้แก่ สาร ethiprole (Curbix10% SC) อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และสาร clothianidin (Dantosu 16% SG) อัตรา 6 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร สำหรับสาร dinotefuran (Starkle 10% WP) อัตรา 10 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร และ สาร thiamithoxam (Actara 25% WG) อัตรา 2 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร ประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงหล่าในสภาพนาข้าวไม่ดีเท่าสารแนะนำcarbosulfan (Posse 20% EC)

จากผลการทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีสังเคราะห์ที่แนะนำใช้ในการป้องกันกำจัดแมลงศัตรูข้าว พบว่าสารที่อาจแนะนำ เพิ่มในการป้องกันกำจัดแมลงหล่ าเมื่อมีการระบาดไม่รุนแรงหรือประชากรแมลงหล่าต่ำกว่าระดับเศรษฐกิจ (ประมาณ 2-5 ตัวต่อจุดสำรวจ) ได้แก่ ethiprole (Curbix10% SC) อัตรา 40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร และสาร clothianidin (Dantosu 16% WG) อัตรา 6 กรัม ต่อน้ำ 20 ลิตร ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความคุ้มค่าต่อการลงทุนและความปลอดภัยต่อผู้ ใช้และสภาพแวดล้อม โดยพิจารณา จากข้อมูล

Bureau of Rice Research and Development

ใน Table 3 พบว่า สารทั้งสองชนิดมีต้นทุนเท่ากัน คือเท่ากับ 102.6 บาทต่อไร่ โดยต้นทุนสูงกว่าสารแนะนำ carbosulfan (Posse 20% EC) ซึ่งต้นทุนเท่ากับ 84 บาทต่อไร่ แต่หากพิจารณาถึงค่าความเป็นพิษแล้วนั้น สารแนะนำ carbosulfan (Posse 20% EC) จัดอยู่ในกลุ่มสารที่มีพิษปานกลาง (moderately hazardous) ส่วนสาร ethiprole (Curbix10% SC) และสาร clothianidin (Dantosu 16% WG) จัดอยู่ในกลุ่ม สารที่มีพิษน้อย (slightly hazardous) (Table 4)

สำหรับสารสกัดจากพืชนั้นยังไม่สามารถสรุปได้ว่าไม่มีประสิทธิภาพในการป้องกันกำจัดแมลงหล่า จะต้องมีการทดสอบโดยวิธีอื่นเช่น การเป็นสารยับยั้งการกินอาหาร หรือสารไล่

Table 3 Cost of insecticide for controlling rice black bug

| Insecticide | Oral $LD_{50}$ for rat (mg/kg) | Safety period after spray (day) | Cost (baht/rai) |
|---|---|---|---|
| carbosulfan(Posse 20%SC) | 250 | 14 | 84.00 |
| thiamithoxam(Actara 25%WG) | 1,563 | 14 | 31.20 |
| clothianin(Dantosu16% SG) | 5,000 | 14 | 102.60 |
| ethipode(Curbix 10%SC) | 2,000 | 14 | 102.00 |
| dinotefuran(Starkle 10%WP) | 2,000 | 14 | 46.50 |

Lethal Dose 50 ($LD_{50}$) = is a statistical estimate of a chemical dose that will kill 50 per cent of the test animal (rat) under stated conditions (milligrams of active ingredient per kilograms of body weight)

Table 4 Acute oral toxicity values of pesticides divided into various of hazard according to their $LD_{50}$

| Classification | Oral $LD_{50}$ (mg/kg) | |
|---|---|---|
| | Solids | Liquids |
| Extremely hazardous | $\leq$ 5 | $\leq$ 20 |
| Highly hazardous | 5-50 | 20-200 |
| Moderately hazardous | 2-500 | 200-2,000 |
| Slightly hazardous | $\geq$ 500 | $\geq$ 2,000 |

Resource: The WHO Recommended Classification of Pesticides by Hazard and Guidelines to Classification 1988-1989

Bureau of Rice Research and Development

# เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2542. แมลงหล่า และการป้องกันกำจัด. เอกสารแผ่นพับ. กลุ่มงานวิจัยแมลงศัตรูข้าวธัญพืชเมืองหนาว. กองกีฏและสัตววิทยา.

นิรนาม. 2547. แอคทารา: สารกำจัดแมลงที่วิจัยมาสำหรับทุกพันธุ์พืช. ซินเจนทา คอร์ป โปรเทคชั่น จำกัด. 52 หน้า

เพชรี เซ่งซิ้ม. 2551. การศึกษาความเสียหายของผลผลิตข้าวพันธุ์ต่างๆ เนื่องจากการทำลายของแมลงหล่า.รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2551. 2 หน้า

ศูนย์วิจัยข้าวปัตตานี. 2551. รายงานสถานการณ์การระบาดของศัตรูข้าวประจำสัปดาห์ที่ 26 ระหว่างวันที่ 20-26 พฤศจิกายน 2551. 1 หน้า (เอกสารอัดสำเนา)

สุวัฒน์ รวยอารีย์. 2544. เรียนรู้การจัดการแมลงศัตรูข้าวโดยวิธีผสมผสาน . โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด กรุงเทพฯ. 262 หน้า.

สำนักวิจัยอารักขาพืช. 2551. คำแนะนำการป้องกันกำจัดแมลงและสัตว์ศัตรูพืช ปี 2551. ส่วนกีฏและสัตววิทยา. กรมวิชาการเกษตร. 279 หน้า.

Abbott, W.S. 1925. A method of computing effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entom. 18:265-267.

CIBA-GEIGY. 1992. Manual for Field Trails in Plant Protection. Third Edition Revised and Enlarged. Plant Protection Division, Ciba-Geigy Limited. Printed in Switzerland. 271p.

Bureau of Rice Research and Development

# ความรุนแรงในการทำลายข้าวพันธุ์ต้านทานมาตรฐานและข้าวพันธุ์รับรอง ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

# Virulence of Brown Planthopper (*Nilaparvata lugen*, Stål) on Differential Resistant Varieties and Certified Rice Varieties

พัชนี ชัยวัฒน์[1)] วันทนา ศรีรัตนศักดิ์[2)] นลินี เจียงวรรธนะ[3)]
อภิชาติ ลาวัลย์ประเสริฐ[4)] วรรณพรรณ จันลาภา[5)] สาธิต ทยาพัชร[6)]
ชัยรัตน์ จันทร์หนู[3)] ภมร ปัตตาวะตัง[7)]

Patchanee Chaiyawat[1)] Wantana Sriratanasak[2)] Nalinee Chiengwattana[3)]
Apichart Lawanprasert[4)] Wannaphan Jaqnlapa[5)] Satit Tayapatchara[6)]
Chairat Channoo[3)] Phamorn Pattawatang[7)]

Bureau of Rice Research and Development

## Abstract

Virulence of brown planthopper (BPH), *Nilaparvata lugen* Stål) on rice varieties in Thailand was studied. The objectives were to detect differences in damaging differential BPH resistant rice varieties and a set of certified rice varieties in major irrigated rice growing areas of Thailand. Thirty-four BPH populations were collected from 17 provinces of the upper central, central, lower northern, western and eastern regions. Mass rearing was conducted to obtain $F_3$ and $F_4$ generations. The differential set of BPH resistant rice varieties carrying different resistant gene were Mudgo (*Bph1*), ASD7 (*bph2*), Rathu Heenati (*bph3*), Babawee (*bph4*), ARC 10550 (*bph5*),

1) ศูนย์วิจัยข้าวพระนครศรีอยุธยา ต.หันตรา อ.พระนครศรีอยุธยา จ.พระนครศรีอยุธยา 13000 โทรศัพท์ 0-3524-1680
Phra Nakhon Si Ayutthaya Rice Research Center, Phra Nakhon Si Ayutthaya 13000, Tel. 0-3524-1680
2) สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900 โทรศัพท์ 0-2579-8140
Bureau of Rice Research and Development, Rice Department, Chatuchak, Bangkok 10900 Tel. 0-2579-8140
3) ศูนย์วิจัยข้าวชัยนาท อ.เมือง จ.ชัยนาท 17000 โทรศัพท์ 0-5641-1733
Chai Nat Rice Research Center, Mueang, Chai Nat 17000 Tel. 03741-1733
4) ศูนย์วิจัยข้าวปราจีนบุรี ต.บ้านสร้าง อ.บ้านสร้าง จ.ปราจีนบุรี 25150 โทรศัพท์ 0-3727-1385
Prachin Buri Rice Research Center, Ban Sang, Prachin Buri 25150 Tel. 0-3727-1385
5) ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี ต.รังสิต อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี 12110 โทรศัพท์ 0-2577-1588-9
Pathum Thani Rice Research Center, Thanyaburi, Pathum Thani 12110 Tel. 0-2577-1688/9
6) ศูนย์วิจัยข้าวราชบุรี อ.เมือง จ.ราชบุรี 70000 โทรศัพท์ 0-3233-7404
Ratchaburi Rice Research Center. Mueang, Ratchaburi 70000 Tel. 0-323-7404
7) ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก อ.วังทอง จ.พิษณุโลก 65130 โทรศัพท์ 0-5531-1184
Phitsanulok Rice Research Center, Wangthong, Phitsanulok 65130 Tel. 0-5531-1184

Swarnalata (*Bph6*), T12 (*bph7*), Chin Saba (*bph8*), Pokkali-white (*Bph9*), Pokkali-black (*Bph9*) and IR65482-4-136-2-2 (*Bph10*). The set of certified rice varieties were PTT1, CNT1, SPR1, SPR3, SPR90, PSL2, RD31, RD23 and RD7, with a susceptible standard variety TN1. Seedling box screening techniques and Standard Evaluation System for Rice were used to detect the reaction. Only 32 BPH populations were grouped by cluster analysis according to virulence reaction. Results indicated that when testing with the differential set of resistant varieties, at 0.16 coefficient, BPH populations could be identified into 9 different virulence BPH groups, and the differential set of BPH resistant varieties could be identified into 4 groups. Similarly, when testing with the set of certified rice varieties, at 0.175 coefficient, 6 groups of BPH and 3 groups of certified rice varieties could be classified according to the virulence reaction.

**Keywords** : brown planhopper *Nilaparvata lugen* (Stål), virulence, certified rice variety, resistant gene

## บทคัดย่อ

ความรุนแรงในการทำลายข้าวพันธุ์ข้าวต้านทานมาตรฐานและข้าวพันธุ์รับรองของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประเทศไทย เพื่อศึกษาถึงความแตกต่างของความรุนแรงในการทำลายพันธุ์ข้าวต้านทานมาตรฐานและข้าวพันธุ์รับรองของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลกลุ่มต่างๆ จำนวน 34 กลุ่มประชา กร จาก 17 จังหวัด ที่มีความสำคัญในการปลูกข้าวชลประทานในเขตภาคกลาง ภาคตะวันออก ภาคตะวันตก ภาคเหนือตอนล่าง และภาคกลางตอนบน ของประเทศ โดยเลี้ยงขยายแต่ละกลุ่มแมลง มีตัวอ่อนรุ่น $F_3$-$F_4$ นำมาทดสอบกับข้าวพันธุ์ต้านทานมาตรฐานใน จำนวน10 พันธุ์ และ 1 สายพันธุ์ที่มียีนต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตั้งแต่ยีนที่ 1-9 ซึ่งได้แก่ Mudgo (*Bph1*) ASD7 (*bph2*) Rathu Heenati (*Bph3*) Babawee (*bph4*) ARC 10550 (*bph5*) Swarnalata (*Bph6*) T12 (*bph7*), Chin Saba (*bph8*) Pokkali-white (*Bph9*) Poklali-black (*Bph9*) และ IR65482-4-136-2 (*Bph10*) และทดสอบกับชุดข้าวพันธุ์รับรองจำนวน 9 พันธุ์ คือ ปทุมธานี 1 ชัยนาท 1 สุพรรณบุรี 1 สุพรรณบุรี 3 สุพรรณบุรี 90 พิษณุโลก 2 กข31 กข23 และ กข7 และพันธุ์ออนแอมาตรฐาน TN1 วิธีการทดสอบใช้เทคนิคของ seedling box screening และประเมินความรุนแรงในการทำลายของแมลงโดยใช้ระบบ Standard Evaluation System for Rice (SES) ของ IRRI และวิเคราะห์ข้อมูล แบบ cluster analysis ผลการวิเคราะห์ พบว่า เมื่อทดสอบพันธุ์ข้าวต้านทานมาตรฐาน 10 พันธุ์และ 1 สายพันธุ์ กับกลุ่มแมลง 32 กลุ่ม พบว่าที่ coefficient 0.16 สามารถแบ่งกลุ่มเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลออกเป็น 9 กลุ่ม และแบ่งกลุ่มของพันธุ์ข้าวต้านทานมาตรฐานออกเป็น 4 กลุ่ม ตามปฏิกิริยาความรุนแรงในการทำลายพันธุ์ข้าว เมื่อทดสอบกับกลุ่มแมลง 32 กลุ่ม ข้าวพันธุ์รับรอง 9 พันธุ์ พบว่าที่

Bureau of Rice Research and Development

coefficient 0.175 สามารถแบ่งกลุ่มเพลี้ยกระโดดสีน้ำ ตาลเป็น 6 กลุ่ม และแบ่งกลุ่มของข้าวพันธุ์รับรองได้เป็น 3 กลุ่ม ตามปฏิกิริยาความรุนแรงของพันธุ์ข้าวที่ถูกทำลาย

**คำสำคัญ** : เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ความรุนแรงในการทำลาย ข้าวพันธุ์รับรอง ยีนต้านทาน

## คำนำ

การระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลนอกจากมีสาเหตุเกิดจากพันธุ์ ข้าวที่ชาวนาปลูก การใช้สารเคมีกำจัดแมลงและวิธีเขตกรรมของชาวนาแล้วยังมีสาเหตุสำคัญที่เกิดจากลักษณะ เฉพาะของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็นแมลงที่สามารถปรับเปลี่ยนชีวชนิดต่อพันธุกรรมต้านทานของข้าวพันธุ์ใหม่ได้รวดเร็ว (Denno and Roderich,1990) ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามารถปรับตัวและเพิ่มจำนวนประชากรในข้าวพันธุ์ที่ชาวนาปลูกได้ในระยะเวลาสั้น ทำให้พันธุ์ข้าวที่ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทำลายได้ในเวลาที่รวดเร็ว จากการศึกษาของSogawa พบว่าในปี 2528 ที่ประเทศอินโดนีเซีย เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเริ่มสามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์ต้านทาน Cisadane ในพื้นที่ Central Java และในปี 2531 เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเกิด การระบาด จากการที่ชาวนาได้ปลูกข้าวพันธุ์ใหม่ในลักษณะเดียวกันกับประเทศอินโดนีเซีย โดยในปี 2531 มีการแนะนำส่งเสริมให้ชาวนาปลูกข้าวสุพรรณบุรี 60 และอีก 2 ปีต่อมาพบว่า เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามารถทำลายพันธุ์ข้าวสุพรรณบุรี 60 และเกิดการระบาดอย่างรุนแรงในฤดูนาปรังปี 2532/2533 ถึงฤดูนาปี 2533/2534 ฉะนั้น พันธุ์ข้าวที่ชาวนาปลูกซึ่งเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีบทบาทสำคัญยิ่งต่อการเกิดการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พัชนี (2539) ได้ประมวลเอกสารในบทความมุมมองเรื่องชีวชนิดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสรุปได้ว่า เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็นแมลงที่มีพันธุกรรมแตกต่างอย่างชัดเจนระหว่าง กลุ่มประชากรที่อยู่ตามภูมิภาคต่างๆ และเมื่อแมลงชนิดนี้มีการผสมพันธุ์ภายในกลุ่มประชากรชีวชนิดเดียวกันประมาณ 10 รุ่น ลักษณะความรุนแรง (virulence) ในการทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ก็จะมีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมภายในชีวชนิดเดียวกัน เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็นแมลงที่มีความสามารถในการปรับตัวให้เข้ากับพันธุกรรมของข้าวพันธุ์ใหม่ได้ในเวลาระยะสั้น (Claridge 1990; Claridge and Hollander, 1980; Claridge and Hollander, 1982; Claridge *et al*., 1985; Denno and Roderick, 1990; Gallun snd Khush, 1980) Sogawa *et al.,* 1987 ได้ศึกษาความรุนแรงในการทำลายพันธุ์ข้าวของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นในนาข้าวประเทศศรีลังกา พบว่ากลุ่มประชากรของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลพื้นที่ที่มาจากนาข้าวแต่ละแห่งที่มีระยะทางห่างกันไม่เกิน 200 กิโลเมตร มีความรุนแรงในการทำลายพันธุ์ข้าวที่แตกต่างกันอย่างชัดเจนClaridge *et al.,* (1985) พบว่าเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ที่มาจากสภาพภูมิศาสตร์ที่แตกต่างกันหรือมาจากต่างพื้นที่ จะมีความรุนแรงในการทำลายข้าวที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน พันธุ์ข้าวที่ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในพื้นที่หนึ่งอาจจะอ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในเขตพื้นที่อื่นได้ เนื่องจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในแต่ละเขตพื้นที่

Bureau of Rice Research and Development

ลักษณะความรุนแรงในการเข้าทำลายพันธุ์ข้าวที่ไม่เหมือนกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการปรับตัวของแมลงและพันธุ์ข้าวที่เกษตรกรปลูกในเขตที่พื้นที่นั้น

กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัยนี้ ตั้งอยู่ในสมมติฐาน กลุ่มประชากรของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในแต่ละเขตพื้นที่หรือในพื้นที่ที่มีความแตกต่างกันทางภูมิศาสตร์ จะมีลักษณะ ความรุนแรง (vilurence) ในการทำลายพันธุ์ข้าวแตกต่างจากกลุ่มประชาชนของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากอีกพื้นที่หนึ่ง โดยแต่ละกลุ่มประชากรของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจะมีการปรับตัวในการทำลายพันธุ์ข้าวที่ปลูกอยู่ในเขตพื้นที่นั้น ๆ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความ แตกต่างของความรุนแรงในการทำลายพันธุ์ข้าวต้านทานมาตรฐาน และข้าวพันธุ์รับรองในแต่เขตพื้นที่ที่มีความสำคัญในการปลูกข้าวนาชลประทาน

## อุปกรณ์และวิธีการ

**อุปกรณ์**

1. เมล็ดพันธุ์ข้าวต้านทานมาตรฐาน 10 พันธุ์ และ 1 สายพันธุ์
2. เมล็ดพันธุ์ข้าวพันธุ์รับรอง 9 พันธุ์ และเมล็ดพันธุ์ TN1
3. กรงเลี้ยงแมลงขนาด 40x40x70 เซนติเมตร จำนวน 300 กรง และหลอดดูดแมลง
4. กระถางดินเผา ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 นิ้ว จำนวน 2,000 ใบ
5. ถาดสังกะสีขนาด 100x250x15 เซนติเมตร จำนวน 16 ใบ
6. โต๊ะไม้ขนาด 105x250x100 เซนติเมตร จำนวน 16 ตัว
7. กระบะพลาสติก ขนาด 8x12x5 เซนติเมตร จำนวน 3,000 ใบ
8. กระบะไม้ขนาด 45x60x10 เซนติเมตร จำนวน 100 ใบ
9. เชือกฟาง กระดาษเพาะชำ กล่องเพาะชำ แผ่นโฟมแข็ง และพลาสติก mylar

**วิธีการ** งานวิจัยนี้มีวิธีการดำเนินการ 3 ขั้นตอน ดังนี้

1. **การรวบรวมและปลูกขยายข้าวพันธุ์ต้านทานมาตรฐาน**

ได้รวบรวมพันธุ์ข้าวต้านทานมาตรฐานจากศูนย์วิจัยข้าวลพบุรี จำนวน 10 พันธุ์ ซึ่งมียีนต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ดังนี้ Mudgo (*Bph1*) ASD7 (*bph2*) Rathu Heenati (*Bph3*) Babawee (*bph4*) ARC 10550 (*bph5*) Swarnalata (*Bph6*) T12 (*bph7*) Chin Saba (*bph8*) Pokkali-w (*Bph9*) Poklali-B (*Bph9*) และ IR 65482-4-136-2-2 (*Bph10*) ปลูกขยายด้วยวิธีปักดำในบ่อซีเมนต์ขนาด 40 นิ้ว จำนวน 20 บ่อ ๆ ละ 30-57 กอ และปลูกในกระถาง ๆ ละ 5 กอ และได้เก็บเกี่ยวข้าวแต่ละพันธุ์ พร้อมทั้งได้รวบรวมพันธุ์ข้าวรับรองจำนวน 9 พันธุ์ จากศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี คือ ปทุมธานี 1 ชัยนาท 1 สุพรรณบุรี 1 สุพรรณบุรี 3 สุพรรณบุรี 90 พิษณุโลก 2 กข31 กข23 และ กข 7 จำนวนพันธุ์ละ 5 กิโลกรัม ทั้งนี้ได้ปลูกข้าว กข 7 ในกระถางและในกระบะพลาสติกอย่างต่อเนื่อง เพื่อใช้เลี้ยงขยายจำนวนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ได้สุ่มจับมาจากแต่ละเขตพื้นที่ ให้ได้ตัวอ่อนแมลงรุ่น $F_3$-$F_4$ เพื่อใช้ทดสอบกับพันธุ์ข้าวต้านทานมาตรฐานต่อไป

Bureau of Rice Research and Development

**2. การเลี้ยงขยายกลุ่มเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแต่ละเขตพื้นที่**

เก็บตัวอย่างเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากแปลงนาเกษตรกรในเขตพื้นที่ จำนวน 17 จังหวัด ที่เป็นแหล่งปลูกข้าวที่สำคัญของประเทศในภาคเหนือตอนล่าง ภาคกลางตอนบน ภาคกลาง ภาคตะวันออก และตะวันตก ซึ่งได้แก่จังหวัด พิษณุโลก พิจิตร นครสวรรค์ ชัยนาท ลพบุรี สิงห์บุรี สุพรรณบุรี อ่างทอง พระนครศรีอยุธยา ปทุมธานี นครนายก ปราจีนบุรี ฉะเชิงเทรา สระแก้ว ราชบุรี เพชรบุรี และนครปฐม จำนวน 34 กลุ่ม นำแต่ละกลุ่มแมลงจากแต่ละเขตพื้นที่มาเลี้ยงในข้าวพันธุ์ กข7 ในแต่ละกรง จนแมลงมีตัวอ่อน รุ่น $F_4$

**3. การทดสอบพันธุ์ข้าวต้นทานมาตรฐานและข้าวพันธุ์รับรอง**

นำตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลวัยที่ 2-3 มาทดสอบกับข้าวพันธุ์ต้านทานมาตรฐาน จำนวน 10+1 พันธุ์ และข้าวพันธุ์รับรอง 9 พันธุ์ และข้าวพันธุ์อ่อนแอมาตรฐาน TN1 จำนวน 3 ซ้ำ ตามวิธี Genetic Evaluation for Insect Resistance in Rice ของ IRRI (1985) โดยวิธี seedbox screening โดยเริ่มด้วยการเลี้ยงตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและเพลี้ยจักจั่นสีเขียววันที่ 2-3 ให้ได้จำนวนมาก อายุของแมลงที่ใช้ทดสอบต้องสอดคล้องกับอายุของต้นกล้าข้าวที่ศึกษา โดยตัวอ่อนของแมลงทั้งสองชนิดต้องเป็นวัยที่ 2 และ 3 และต้นกล้าข้าวต้องมีอายุ 7 วัน โดยวิธีการทดลองของ Heinrichs *et al.* (1985) ปลูกต้นกล้าข้าวที่จะทดสอบให้มีอายุ 7 วัน โดยเตรียมกระบะไม้พร้อมดินปลูก (กระบะไม้ขนาด 45x60x10 เซนติเมตร) ใส่ดินที่ป่นละเอียดในกระบะสูงประมาณ 5 เซนติเมตร ทำร่องบนดินปลูกตามแนวขวางของกระบะ ห่างกันร่องละ 5 เซนติเมตร ซึ่งจะได้ร่องตามแนวขวาง 13 แถว แบ่งกระบะออกเป็น 2 ส่วน โดยแบ่งครึ่งตรงกึ่งกลางของกระบะตามแนวความยาว ได้จำนวนร่อง 26 แถวต่อกระบะ (ตอนบนของกระบะมี 13 แถว และตอนล่างของกระบะมี 13 แถว) เมื่อเก็บต้นข้าวที่มีไข่ของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พักไว้เป็นเวลา 6 วัน จึงแช่เมล็ดข้าวที่จะทำการทดสอบเป็นเวลา 24 เซนติเมตร (เมื่อต้นข้าวอายุได้ 7 วัน ตัวอ่อนของแมลงที่ฟักออกมาจะเป็นวัยที่ 2 และวัยที่ 3 พอดี) แล้วหุ้มเมล็ดข้าวไว้ 48 ชั่วโมง เมื่อเมล็ดข้าวเริ่มงอกจึงนำเมล็ดข้าวของแต่ละพันธุ์มาเรียงในแถวที่ทำเป็นร่องไว้ พันธุ์ 1 แถว ปลูก 20 เมล็ดต่อพันธุ์ ใช้พันธุ์ต้านทานมาตรฐาน กข 23 และพันธุ์อ่อนแอมาตรฐาน TN1 ปลูกปิดด้านหัวและท้ายของกระบะตอนบน และใช้พันธุ์อ่อนแอมาตรฐาน กข7 และพันธุ์ต้านทานมาตรฐานสุพรรณบุรี 90 ปลูกปิดด้านหัวและด้านท้ายของกระบะตอนล่าง นำกระบะที่ปลูกข้าวทั้งหมดมาใส่ไว้ในถาดสังกะสีที่มีขนาด 100x250x15 เซนติเมตร แล้วใส่น้ำในถานสังกะสีสูง 8 เซนติเมตร เพื่อป้องกันมดมารบกวน (วางถาดสังกะสีไว้บน โต๊ะไม้ที่มีขนาด 105x250x100 เซนติเมตร) เมื่อต้นกล้ามีอายุได้ 7 วัน ใส่ตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลวัยที่ 2-3 จำนวน 8-10 ตัวต่อต้น ตรวจเช็คให้คะแนนระดับความต้านทานเมื่อพันธุ์อ่อนแอมาตรฐาน TN1 และ กข 7 ตายประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ หรือประมาณ 7-9 วัน หลังจากปล่อยแ มลง และให้คะแนนตามระบบ Standard Evaluation System for Rice (IRRI, 1988) และจำแนกกลุ่มเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 34 กลุ่ม ด้วย cluster analysis

Bureau of Rice Research and Development

## ผลการทดลองและวิจารณ์

กลุ่มเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลรุ่น $F_3$-$F_4$ จำนวน 34 กลุ่ม จากจำนวน 34 เขตพื้นที่ใน 17 จังหวัด ได้นำแมลงแต่ละกลุ่มมาทดสอบกับพันธุ์ข้าวต้านทานมาตรฐาน 10 พันธุ์ และ 1 สายพันธุ์ และข้าวพันธุ์รับรอง 9 พันธุ์ และข้าวพันธุ์อ่อนแอมาตรฐาน TN1 ผลการทดสอบกับกลุ่มเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จากพื้นที่ในจังหวัดแต่ละเขตพื้นที่ (Table 1) ดังนี้ (1) จังหวัดพระนครศรีอยุธยา ข้าวต้านทานมาตรฐาน Rathu Heenati (*Bph3*) แสดงปฏิกิริยาต้านทาน (R) ต่อกลุ่มเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจาก อ.ท่าเรือ อ.อุทัย อ.บางปะอิน อ.บางไทร อ.ภาชี และ อ.ลาดบัวหลวง และข้าว IR65482-4-136-2-2 (*Bph10*) ต้านทานต่อกลุ่มแมลงจาก อ.ท่าเรือ และ อ.อุทัย และข้าวพันธุ์รับรองพิษณุโลก 2 ต้านทานต่อกลุ่มแมลงจาก อ.ท่าเรือ และ อ.บางไทร และข้าวสุพรรณบุรี 3 ต้านทานกลุ่มแมลงจากท่าเรือ และบางปะอิน (2) จังหวัดสุพรรณบุรี และนครปฐม ข้าวปทุมธานี 1 ต้านทานต่อกลุ่มเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล อ.ศรีประจันต์ จ.สุพรรณบุรี และกลุ่มแมลงจาก อ.บางเลน ส่วนข้าว พิษณุโลก 2 และสุพรรณบุรี 3 ต้านทานกลุ่มเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจาก อ.บางเลน (3) จังหวัดปทุมธานี นครนายก เพชรบุรี และชัยนาท ไม่มีข้าวต้านทานมาตรฐาน และข้าวพันธุ์รับรองแสดงปฏิกิริยาต้านทานต่อกลุ่มเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จาก อเมืองปทุมธานี อเมืองนครนายก อองครักษ์ อ.หันคา และ อ.ปากพลี และ จาก อ.เมืองเพชรบุรี และ อ.เขาย้อย (4) จังหวัดปราจีนบุรี ข้าว Rathu Heenati (*Bph3*) แสดงปฏิกิริยาต้านทานสูง (HR) ต่อกลุ่มแมลงจาก ศรีมหาโพธิ ศรีมโหสถ ประจันตคาม กบินทร์บุรี และ อ.นาดี ส่วนข้าวพิษณุโลก 2 ต้านทานต่อกลุ่มแมลงจาก อ.ศรีมหาโพธิ อ.ศรีมโหสถ อ.ประจันตคาม และ อ.นาดี และ ข้าวสุพรรณบุรี 3 ต้านทานต่อกลุ่มแมลงจาก อ.ศรีมหาโพธิ์, อ.ศรีมโหสถ และ อนาดี (5) จังหวัดพิษณุโลก และพิจิตร ข้าว Rathu Heenati (*Bph3*) ต้านทานต่อกลุ่มแมลงจาก อเมืองพิษณุโลก (ต.วัดพริก) และ อ.วังทอง (ต.หนองพระ) และ อ.โพทะเล และ อ.โพธิ์ประทับช้าง ส่วนข้าว สุพรรณบุรี 3 พิษณุโลก 2 และชัยนาท 1 ต้านทานต่อกลุ่มแมลงจาก อเมืองพิษณุโลก (ต.วัดพริก) และ อวังทอง (ต.หนองพระ) และ สุพรรณบุรี 1 ต้านทานกลุ่มแมลงจาก อ.พรหมพิราม (ต.หนองแขม) ส่วนในจังหวัดพิจิตร ข้าวสุพรรณบุรี 3 และ พิษณุโลก 2 ต้านทานกลุ่มแมลงจาก อ.เมืองพิจิตร และ อ.โพทะเล ตามลำดับ (6) จังหวัดลพบุรี ข้าว Rathu Heenati (*Bph3*) แสดงปฏิกิริยาต้านทานสูง (HR) ต่อกลุ่มแมลงจาก อท่าวุ้ง และจาก อบ้านหมี่ (ต.สายห้วยแก้ว) และต้านทาน (R) ต่อกลุ่มแมลงจาก อ.บ้านหมี่ (ต.มหาสอน)

ผลของ cluster analysis พบว่า เมื่อทดสอบพันธุ์ข้าวต้านทานมาตรฐาน 10 พันธุ์และ 1 สายพันธุ์ กับกลุ่มแมลง 34 กลุ่ม พบว่าที่ coefficient 0.16 สามารถแบ่งกลุ่มเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลออกเป็น 9 กลุ่ม (Fig. 1) และแบ่งกลุ่มของพันธุ์ข้าวต้านทานมาตรฐานออกเป็น 4 กลุ่ม (Fig. 2) ตามปฏิกิริยาความรุนแรง ในการทำลายพันธุ์ข้าวของข้าวของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลพันธุ์รับรอง 9 พันธุ์ และพันธุ์อ่อนแอมาตรฐาน TNT พันธุ์รับรอง 9 พันธุ์ และเมื่อทดสอบกับข้าว พบว่าที่ coefficient 0.175 สามารถแบ่งกลุ่มเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็น 6 กลุ่ม (Fig. 3) และแบ่งกลุ่มของข้าวพันธุ์รับรองได้เป็น 3 กลุ่ม (Fig. 4) ตามปฏิกิริยาความรุนแรงของพันธุ์ข้าวที่ถูกทำลาย

Bureau of Rice Research and Development

## สรุปผลการทดลอง

กลุ่มประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 32 กลุ่ม จาก 17 จังหวัด ในเขตพื้นที่ปลูกข้าวนาชลประทานที่สำคัญในภาคกลาง ภาคกลางตอนบ น ภาคเหนือตอนล่าง ภาคตะวันออก และตะวันตก มีความแตกต่างของความรุนแรงในการทำลายพันธุ์ข้าวต้านทานจำนวน 10 พันธุ์และ 1 สายพันธุ์ที่มียีนต้านทาน ตั้งแต่ยีนที่ 1-10 และมีความแตกต่างในความรุนแรงของการทำลายพันธุ์ข้าวพันธุ์รับรอง จำนวน 9 พันธุ์ ผลของ cluster analysis สามารถแบ่งกลุ่มของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลตามระดับความรุนแรงในการทำลายข้าวต้านทานมาตรฐานเป็น 9 กลุ่ม และกลุ่มของข้าวพันธุ์ต้านทานมาตรฐานเป็น 4 กลุ่ม ตามระดับความรุนแรงในการทำลายพันธุ์ข้าวของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และสามารถแบ่งกลุ่มของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในการทำลายข้าวพันธุ์รับรองเป็น 6 กลุ่ม และกลุ่มของข้าวพันธุ์รับรองเป็น 3 กลุ่ม ตามระดับความรุนแรงในการทำลายพันธุ์ข้าวของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

## คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ ดร.จิรพงศ์ ใจรินทร์ ในส่วนของการวิเคราะห์ Cluster

## เอกสารอ้างอิง

พัชนี ชัยวัฒน์. 2539. มุมมอง เรื่อง ชีวชนิดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล. วารสารวิชาการเกษตร 14 (1) : หน้า 56-30.

Claridge, M.F. 1990. Variation in pest and natural enemy popolations relevance to brown planthopper control strategies. Pp. 14-154 *In* : Pest Management in Rice. Eds. Grayson, B.T., M.B. Green and L.G. Copping. Elsevier Applied 3Science Publishers Ltd. UK..

Claridge, M.F. and J. Den Hollander. 1980. The “biotypes” of the rice brown planthopper,*Nilaparvata lugens. Entomol. Exp. Appl.* 27 : 23-30.

Claridge, M.F., and J. Den Hollander. 1982. Virulence to rice cultivars and selection for Virulence in populations of brown planthopper, *Nilaparvata lugens. Entomol. Exp. Appl.* 32 :13-221.

Claridge, M.F., J. Den Hollander, and J.C. Morgan. 1985. Variation in courtship signals and Hybridization between geographically definable populations of the rice Brown Planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stal).*Biol. J. Linnean Soc.*24:35-49 Denno, R.F., and G.K. Roderick. 1990. Population biology of planthopper. *Annu. Rev. Entomol.*35 : 489-520.

Gallun, R.L., and G.S. Khush. 1980. Genetic factors affecting expression and stability of resistance. Pp. 63-85. *In* : Breeding Plants Resistant to Insects. Eds. Maxwell and P.R. Jennings. John Waley, New York.

IRRI. 1988. Standard Evaluation System for Rice. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines. 54 pp.

Sogawa, K. Soekirno and Y. Raksadinata. 1987. New genetic makeup of brown planthopper (BPH) Populations in Central Java, Indonesia. *Int. Rice Res. News*. IRRN. 12 : 29-30.

Bureau of Rice Research and Development

Bureau of Rice Research and Development

Bureau of Rice Research and Development

Bureau of Rice Research and Development

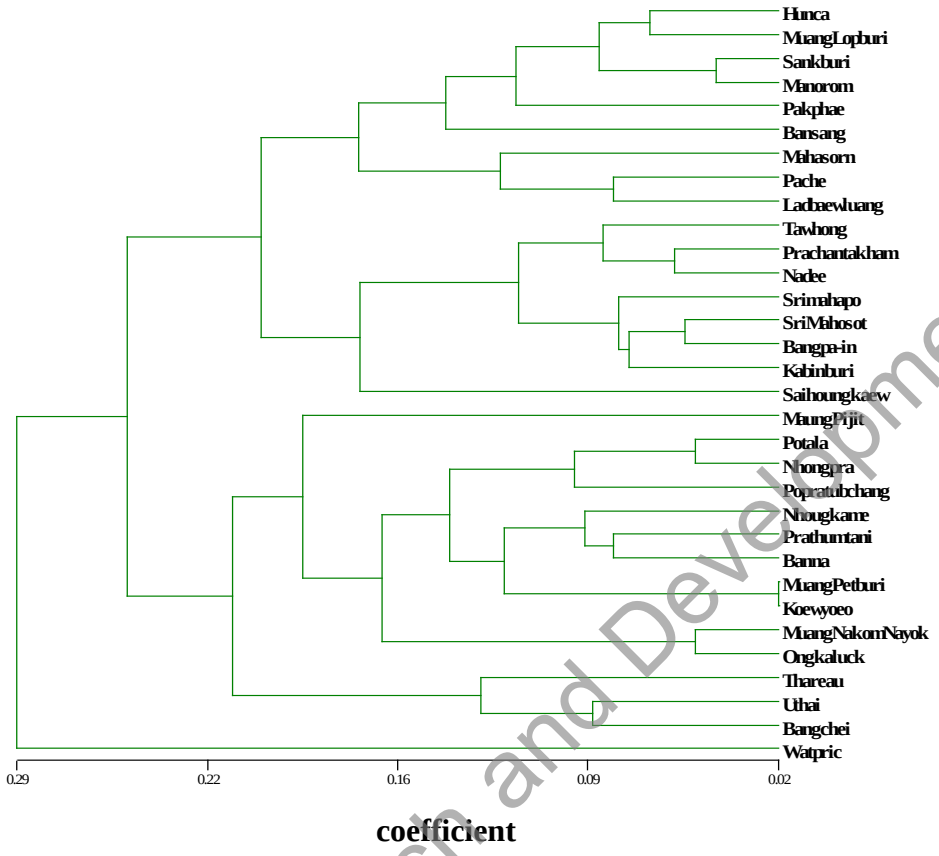


Fig. 1 Cluster analysis of 32 BPH populations on data obtained from reaction of a differential set of BPH resistant varieties carrying different BPH resistance genes.

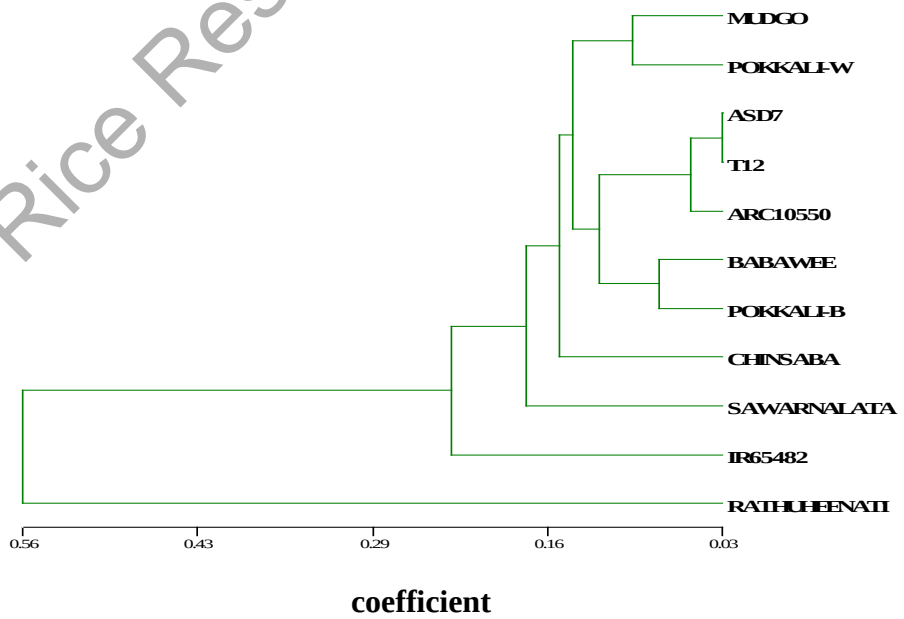


Fig. 2 Cluster analysis of a differential set of BPH resistant varieties on data obtained from reaction of 32 BPH populations.

Bureau of Rice Research and Development

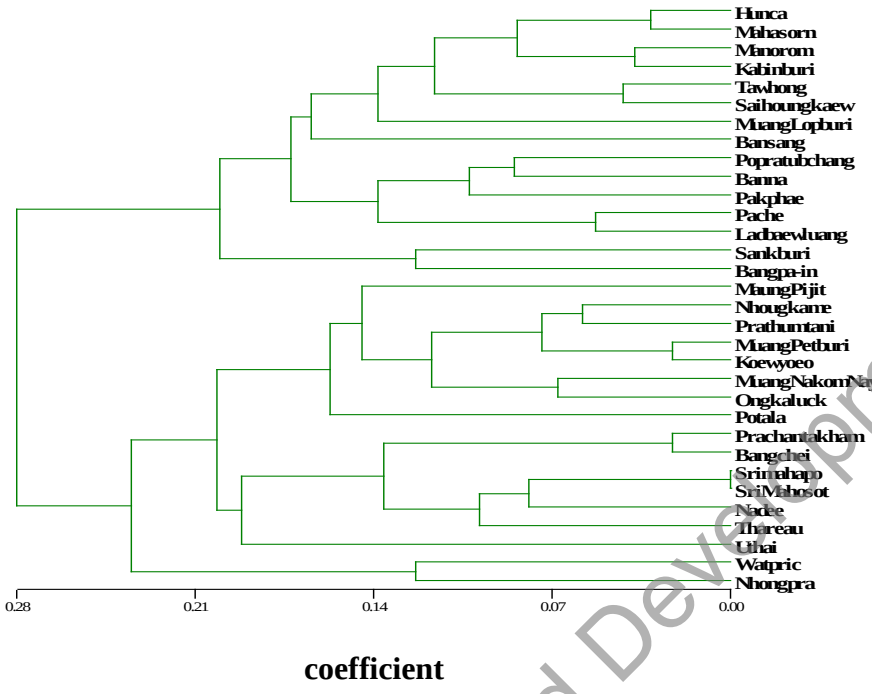


Fig. 3 Cluster analysis of 32 BPH populations on data obtained from reaction of a set of 9 Thai certified rice varieties.

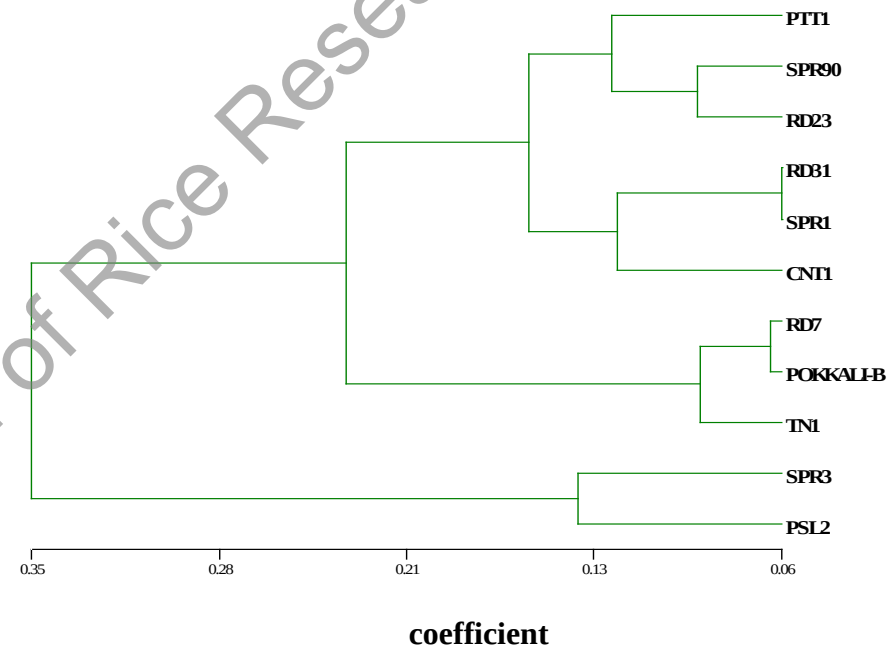


Fig. 4 Cluster analysis of a set of 9 Thai certified rice varieties on data obtained from reaction of 32 BPH populations

Bureau of Rice Research and Development

Table 1 Reaction of the differential set of BPH resistant and certified rice varieties tesed with 32 BPH popatations

| No. | Resistant rice variety | Brown Planthapper Populations from different locations | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Hunca | Sangkaburi | Manorom | Maung Pijit | Potala | Popratubchang | Watpric | Nongpra | Nougkame | Mahasorn | Tawhong |
| | BPH resistant variety | | | | | | | | | | | |
| 1 | MUDGO (BPH1) | HS | HS | S | MS | MS | MS | MS | S | MS | HS | MS |
| 2 | ASD7 (BPH2) | HS | HS | HS | MS | S | S | MS | S | HS | HS | HS |
| 3 | Rathu Heemati (BPH3) | S | S | MS | MR | R | R | HR | R | MR | R | HR |
| 4 | BABAWEE (BPH4) | HS | HS | HS | MS | MS | MS | MS | MS | MS | MR | 4 |
| 5 | ARC 10550 (BPH5) | HS | HS | HS | S | S | MR | S | MS | S | HS | HS |
| 6 | SWARNALATA (BPH6) | S | MR | MR | MS | MS | MS | HR | MS | MS | HS | HS |
| 7 | T12 (BPH7) | HS | HS | HS | S | MS | MS | MS | S | S | HS | HS |
| 8 | CHIN SABA (BPH8) | S | HS | HS | MS | MS | MR | MS | MS | MR | 8 | 4 |
| 9 | POKKALI (BPH9/1) white | S | S | S | HR | MS | MS | MS | MS | MS | 8 | MS |
| 10 | IR65482-4-136-2-2 (BPH10) | S | HS | S | MR | MS | MR | MS | MS | MS | S | MR |
| 11 | POKKALI (BPH9/2) back | HS | HS | HS | MS | MS | MS | MS | MS | MS | - | - |
| | Certified rice variety | | | | | | | | | | | |
| 1 | PTT1 | MS | MS | S | MS | MS | S | S | MS | MS | MS | HS |
| 2 | RD31 | HS | S | S | MR | MR | MS | MS | MR | MS | - | - |
| 3 | SPR1 | HS | MS | HS | MR | MR | MS | MR | R | MS | HS | MS |
| 4 | SPR3 | MS | R | MS | R | MS | MS | R | R | MR | MR | 6 |
| 5 | CNT1 | HS | S | S | MR | MS | MS | R | R | MR | HS | HS |
| 6 | PSL2 | MR | R | MS | MR | R | MR | R | R | MR | MR | MR |
| 7 | SPR90 | HS | HS | HS | MS | MS | MS | MS | MS | MS | HS | HS |
| 8 | RD23 | HS | HS | HS | MR | MR | MR | S | MS | MS | HS | HS |
| 9 | RD7 | HS | HS | HS | MR | MS | MS | MS | MS | MS | - | - |
| 10 | TN1 | HS | HS | HS | S | HS | HS | MS | HS | S | HS | HS |

HR = highly resistant, R = resistant, MR = moderately resistant, MS = moderately susceptible, S = susceptiles, HS = highly susceptible

Bureau of Rice Research and Development

Table 1 Cont. Reaction of the differential set of BPH resistant and certified rice varieties tesed with 32 BPH popatations

| No. | Resistant Rice Variety | Brown Planthapper Populations from different locations | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Saihoungkaew | Muang Lopburi | Bansang | Srimahapo | Sri Mahosot | Prachantakham | Kabinburi | Nadee | MuangPetburi | Koewyoeo | Prathumtani |
| | BPH resistant variety | | | | | | | | | | | |
| 1 | MUDGO (BPH1) | HS | HS | S | HS | S | MS | HS | MS | MS | MS | MS |
| 2 | ASD7 (BPH2) | HS | HS | HS | HS | HS | HS | HS | HS | S | S | S |
| 3 | Rathu Heemati (BPH3) | MR | HS | MR | MR | HR | HR | HR | HR | MS | MS | MR |
| 4 | BABAWEE (BPH4) | MR | HS | HS | HS | HS | S | HS | MS | S | S | MS |
| 5 | ARC 10550 (BPH5) | HS | HS | HS | HS | HS | HS | HS | HS | S | MS | MS |
| 6 | SWARNALATA (BPH6) | MR | HS | HS | S | MS | S | HS | MS | S | S | MS |
| 7 | T12 (BPH7) | MS | HS | HS | HS | HS | HS | HS | HS | S | S | S |
| 8 | CHIN SABA (BPH8) | MS | HS | S | MR | S | S | HS | S | S | S | S |
| 9 | POKKALI (BPH9/1) สีขาว | S | HS | MS | S | HS | MS | S | MS | MS | MS | MS |
| 10 | IR65482-4-136-2-2 (BPH10) | MS | HS | MR | MR | MR | MR | MS | MS | S | S | MR |
| 11 | POKKALI (BPH9/2) สีดำ | - | - | HS | HS | HS | S | HS | S | MS | MS | MS |
| | Certified rice variety | | | | | | | | | | | |
| 1 | PTT1 | HS | HS | S | MR | MR | MR | MS | MS | MS | MS | - |
| 2 | RD31 | - | - | HS | MR | MR | MS | S | MR | MR | MS | MS |
| 3 | SPR1 | MR | HS | HS | MR | MR | MS | S | MR | MR | MR | MR |
| 4 | SPR3 | MS | HS | MR | R | R | MR | MS | R | MR | MR | MR |
| 5 | CNT1 | HS | HS | HS | MR | MR | MR | S | MR | MS | MS | MR |
| 6 | PSL2 | MR | HS | MR | R | R | R | MS | R | MR | MR | MR |
| 7 | SPR90 | HS | HS | MR | MR | MR | MS | S | MS | MS | MS | MS |
| 8 | RD23 | HS | HS | MS | MR | MR | MR | HS | MS | MS | MS | MS |
| 9 | RD7 | - | - | HS | HS | HS | HS | HS | HS | S | S | S |
| 10 | TN1 | HS | HS | HS | HS | HS | HS | HS | HS | HS | HS | MS |

Bureau of Rice Research and Development

Table 1 Cont. Reaction of the differential set of BPH resistant and certified rice varieties tesed with 32 BPH popatations

| No. | Resistant Rice Variety | Brown Planthapper Populations from different locations | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Muang Nakom Nayok | Ongkaluck | Banna | Pakphae | Thareau | Uthai | Bangpa-in | Bangchei | Pache | Ladbaew luang | Sri-prachan | Banglane |
| | BPH resistant variety | | | | | | | | | | | | |
| 1 | MUDGO (BPH1) | MS | MS | MS | HS | MR | MR | S | MR | HS | S | - | - |
| 2 | ASD7 (BPH2) | MS | MS | S | HS | S | HS | HS | HS | HS | HS | - | - |
| 3 | Rathu Heemati (BPH3) | MR | MR | MR | MR | R | R | HR | S | R | R | - | - |
| 4 | BABAWEE (BPH4) | MR | MR | MR | MS | MR | MS | S | S | MS | S | - | - |
| 5 | ARC 10550 (BPH5) | MS | MS | MS | HS | HS | HS | HS | HS | HS | HS | - | - |
| 6 | SAWARNALATA (BPH6) | MR | MR | MS | MS | MS | MS | S | MS | S | S | - | - |
| 7 | T12 (BPH7) | MS | MS | S | HS | S | HS | HS | HS | HS | HS | - | - |
| 8 | CHIN SABA (BPH8) | MS | MR | MS | S | MR | MS | HS | MR | MR | MS | - | - |
| 9 | POKKALI (BPH9/1) สีขาว | MS | MS | S | HS | MR | MS | S | MS | S | MS | - | - |
| 10 | IR65482-4-136-2-2 (BPH10) | MR | MR | MS | S | R | R | MR | MR | MS | MS | - | - |
| 11 | POKKALI (BPH9/2) สีดำ | MR | MS | MS | HS | MS | S | HS | S | HS | S | - | - |
| | Certified rice variety | | | | | | | | | | | | |
| 1 | PTT1 | MR | MS | S | S | MR | MR | MR | MR | MS | MS | R | R |
| 2 | RD31 | MR | MR | MS | MS | MR | MR | S | MS | S | MS | HS | S |
| 3 | SPR1 | MR | MR | MS | MS | MR | MR | S | MS | S | S | HS | HS |
| 4 | SPR3 | MR | MR | MS | MS | R | MR | R | MR | MS | MS | MR | R |
| 5 | CNT1 | MR | MR | MS | MS | MR | MR | MS | MR | MR | MR | HS | MR |
| 6 | PSL2 | MR | MR | MS | MS | R | MR | MR | R | MR | MR | HS | R |
| 7 | SPR90 | MR | MR | MS | - | MR | R | MS | MR | S | MS | HS | HS |
| 8 | RD23 | MR | MS | S | - | R | R | HS | MR | S | S | HS | S |
| 9 | RD7 | MS | MS | S | HS | R | HS | HS | HS | HS | S | HS | HS |
| 10 | TN1 | MS | MS | S | HS | HS | HS | HS | HS | HS | HS | - | - |

Bureau of Rice Research and Development