

การวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยระหว่างชั่วของลักษณะความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งในข้าวพื้นเมืองพันธุ์ผาลาดำ

Generation mean analysis of bacterial leaf blight resistance in Thai indigenous rice Phaladum variety

ลัทธวิทย์ เมธาสิริปกรณ์¹, สมพงษ์ จันทร์แก้ว¹, เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล¹ และ จิรวัดน์ สนิทชน^{1*}

Sittiwut Mathasiripskorn¹, Sompong Chankaew¹, Petcharat Thammabenjapon¹
and Jirawat Sanitchon^{1*}

บทคัดย่อ: ข้าวพันธุ์ผาลาดำเป็นหนึ่งในพันธุ์ข้าวพื้นเมืองของไทยที่มีความสามารถในการต้านทานโรคขอบใบแห้งได้ดี เหมาะที่จะนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ ความรู้เกี่ยวกับพันธุกรรมที่ควบคุมความต้านทานเป็นข้อมูลที่สำคัญเพื่อใช้ในการวางแผนปรับปรุงพันธุ์ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ วิเคราะห์อิทธิพลของยีน จำนวนยีน และอัตราพันธุกรรมของความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งในข้าวพันธุ์ผาลาดำ โดยการสร้างประชากรจำนวน 6 ประชากร จากการผสมพันธุ์ระหว่างข้าวพันธุ์ขาว 6 และ ผาลาดำ ได้แก่ กข6, ผาลาดำ, F_1 , F_2 , BC_1P_1 และ BC_1P_2 แล้วนำไปทดสอบปฏิกิริยาการเกิดโรคกับเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง ไอโซเลต BB2009-758 พบว่า ระดับคะแนนการเกิดโรค และความยาวแผล มีค่าอัตราพันธุกรรมเท่ากับ 0.52 และ 0.49 ตามลำดับ มีจำนวนยีนควบคุม 2.2 และ 2.3 ยีน ตามลำดับ และมีอิทธิพลของยีนจากการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยระหว่างชั่วเป็นแบบบวกสะสม (additive gene effect) ดังนั้น การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งโดยใช้พันธุ์พันธุ์ผาลาดำเป็นแหล่งของยีนต้นตอ อาจทำได้โดยวิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบบันทึกประวัติหรือวิธีผสมกลับ

คำสำคัญ: ค่าเฉลี่ยระหว่างชั่ว, อิทธิพลของยีน, โรคขอบใบแห้ง, อัตราพันธุกรรม

ABSTRACT: Phaladum is an indigenous Thai rice variety possessing high resistance to bacterial leaf blight. Genetic information is necessary for planning breeding programs. Therefore, this study was aimed to analyze gene action, number of genes and heritability of bacterial leaf blight resistance in Phaladum. Six basic populations were developed from crosses between RD6 (susceptible variety) and Phaladum (resistance variety) including RD6, Phaladum, F_1 , F_2 , BC_1P_1 and BC_1P_2 . The populations were challenged with *Xanthomonas oryzae* isolate BB2009-758 by clipping method to evaluate the disease. Disease score and lesion length were measured and subjected to generation mean analysis. Heritability and numbers of genes estimated for the two traits were 0.52 and 0.49 and 2.2 and 2.3 respectively. Generations mean analysis showed that the disease resistance is controlled by additive gene effect. Thus, based on these results, pedigree selection and backcross methods can be utilized for breeding new rice varieties resistance to bacterial leaf blight using Phaladum as gene source.

Keywords: Generation mean analysis, gene effect, bacterial leaf blight, inheritance

¹ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น 40002
Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen, Thailand 40002

* Corresponding author: Jirawat@kku.ac.th

บทนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวสูงอีกประเทศหนึ่ง พบทั้งข้าวป่า ข้าววัชพืช และข้าวปลูก ในอดีตการปลูกข้าวมีการคัดเลือกและเก็บเป็นข้าวพันธุ์พื้นเมือง ทำให้ยังคงมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง นอกจากนั้นข้าวบางพันธุ์ยังมีศักยภาพทั้งในด้านคุณค่าทางอาหาร เช่น การมีสารในกลุ่มแอนโทไซยานิน ซึ่งสามารถลดความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งได้ หรือความสามารถในการต้านทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ความแห้งแล้งหรือการเข้าทำลายของโรคและแมลง แต่ในปัจจุบันระบบการปลูกข้าวมีการเปลี่ยนแปลงไปเป็นการปลูกพันธุ์เดียวในบริเวณกว้างเพื่อตอบสนองต่อความต้องการของตลาด ทำให้ความหลากหลายของสายพันธุ์ลดลงตามไปด้วย โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยที่ส่วนใหญ่นิยมปลูกข้าว พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ พันธุ์ กข6 ซึ่งทั้งสองพันธุ์นี้มีพันธุกรรมที่ใกล้เคียงกัน นอกจากนั้นยังมีความอ่อนแอต่อโรคและแมลงหลายชนิด (Toojinda et al., 2005) โดยโรคที่มีความสำคัญโรคหนึ่งต่อระบบการผลิตข้าวของไทยคือโรคขอบใบแห้ง (bacterial leaf blight) ซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* อาการของโรคในระยะเริ่มแรกจะเป็นอาการใบฉ่ำน้ำ แล้วต่อมาในบริเวณนั้นจะเกิดอาการแห้งตาย ส่วนใหญ่จะเกิดที่ขอบใบ (Niño-liu et al., 2006) อาการดังกล่าวจะทำให้ข้าวสูญเสียพื้นที่ในการสังเคราะห์แสงส่งผลให้ผลผลิตลดลงถึง 50 % (Ou, 1987)

การใช้พันธุ์ข้าวพื้นเมืองซึ่งมีศักยภาพในการต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง เป็นวิธีการหนึ่งที่สามารถแก้ปัญหาได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังเป็นการลดต้นทุนในการผลิตของเกษตรกรในด้านการใช้สารเคมี อภิชาติ และคณะ (2555) ได้ทำการประเมินความต้านทานโรคขอบใบแห้งในเชื้อพันธุกรรมข้าวนาสวนจำนวน 186 พันธุ์ พบว่า ข้าวพื้นเมือง 4 พันธุ์ คือ ฝาลาดำ เพชรราตรี หอมมะลินิด และ LG6822 ที่มีระดับความต้านทานต่อโรคในระดับที่สูง อีกทั้งยังสามารถต้านทานต่อเชื้อได้หลายไอโซเลต โดยข้าวพันธุ์ฝาลาดำจัดเป็นพันธุ์ที่มีเสถียรภาพในความต้านทาน

มากที่สุด จึงน่าจะมีการใช้ประโยชน์จากข้าวพันธุ์ดังกล่าว อย่างไรก็ตาม การใช้พันธุ์พื้นเมืองมาใช้ปลูกโดยตรง อาจไม่ได้รับการยอมรับโดยเกษตรกรเนื่องจากคุณภาพของผลผลิตที่ไม่ตรงตามความต้องการของผู้บริโภคและของตลาด ดังนั้นจึงควรใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้พันธุ์ข้าวที่มีคุณภาพมากขึ้น

ลักษณะของความต้านทานโรคเป็นลักษณะทางปริมาณ สภาพแวดล้อมมีผลต่อระดับความต้านทานสูง อีกทั้งระดับของความรุนแรงยังมีความแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ของเชื้อ จึงทำให้การคัดเลือกพันธุ์ต้านทานทำได้ยากและมีโอกาสผิดพลาดสูง วิธีการที่จะช่วยลดปัญหา คือ การหาแหล่งพันธุกรรมที่ควบคุมความต้านทานเพื่อนำไปใช้ในการวางแผนการปรับปรุงพันธุ์ สำหรับลักษณะทางปริมาณ วิธีการที่จะสามารถอธิบายพันธุกรรมความต้านทานได้คือการหาอิทธิพลของยีนจากความแปรปรวนของประชากรที่มีการกระจายตัวและการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยระหว่างชั่ว (generation mean analysis, GMA) โดยการสร้างประชากรอย่างน้อย 6 ชั่วรุ่น นอกจากนั้นยังสามารถคำนวณอัตราพันธุกรรมและจำนวนของยีน (Paul et al., 2003) เพื่อใช้เป็นแนวทางในการเลือกวิธีการที่เหมาะสมในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งต่อไป Devika (2002) ทำการศึกษาพันธุกรรมความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งโดยการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยระหว่างชั่วพบว่า อิทธิพลหลักของยีนควบคุมความต้านทานเป็นแบบบวกสะสมและปฏิกิริยาสัมพันธ์ของยีนแบบผลบวก การศึกษาอัตราพันธุกรรมของความต้านทานในข้าวพันธุ์ IRBB5 ที่ได้จากการประเมินระดับความรุนแรงของโรคพบว่ามีค่าอัตราพันธุกรรมในระดับสูง (0.92-0.94) และมีอิทธิพลของยีนแบบข่มเมื่อประชากรเข้าสู่ไฮโมไซกัส (Singh et al., 2015) และจากการศึกษาของ Habarurema et al. (2012) พบว่า พันธุกรรมความต้านทานไม่เป็นแบบอิทธิพลแบบบวกสะสม และมีค่าสัมประสิทธิ์การอธิบายค่าอัตราพันธุกรรมแบบกว้างในระดับปานกลาง แสดงถึงยีนต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งมีความหลากหลาย ขึ้นอยู่กับพันธุ์ต้านทานและชนิดของเชื้อสาเหตุ (Khan et al., 2014) ดังนั้นการทดลองครั้งนี้มี

วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาพันธุกรรมความต้านทานของโรคขอบใบแห้งในข้าวพันธุ์ผลาลาดำ โดยใช้การวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยระหว่างข้าวและคำนวณอัตราพันธุกรรมรวมทั้งจำนวนยีนที่ควบคุมความต้านทานโรค เพื่อเป็นข้อมูลในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งต่อไป

วิธีการศึกษา

ประชากรที่ใช้ในการศึกษา

ในการศึกษานี้ได้สร้างประชากรโดยการผสมระหว่างข้าวพันธุ์อ่อนแอ คือ พันธุ์ข6 (P_1) กับ ผลาลาดำ ซึ่งพันธุ์เป็นต้านทาน (P_2) จำนวน 6 ข้าวรุ่น คือ P_1 , P_2 , F_1 , F_2 , BC_1P_1 และ BC_1P_2 การทดลองเริ่มต้นจากการผสมพันธุ์ในเดือนสิงหาคม 2557 โดยใช้พันธุ์ต้านทานเป็นพันธุ์ให้ (donor) และพันธุ์อ่อนแอเป็นพันธุ์รับ (recipient) จนได้เมล็ด F_1 ในเดือน พฤศจิกายน 2557 จากนั้นปลูกเป็นต้น F_1 แล้วปล่อยให้ผสมตัวเองจนได้เมล็ด F_2 ในเดือนมีนาคม 2558 และในเดือน พฤษภาคม 2558 ทำการปลูกต้น F_1 เพื่อใช้ในการสร้างประชากรผสมกลับ โดยผสมลูก F_1 กลับไปหาพันธุ์ข6 เพื่อสร้างประชากร BC_1P_1 และผสมกลับหาพันธุ์ผลาลาดำ เพื่อสร้างประชากร BC_1P_2 หลังจากได้ประชากรครบทั้ง 6 ประชากรในเดือน ตุลาคม 2558 ทำการปลูกทดสอบปฏิกิริยาของความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งของประชากรทั้ง 6 ในเดือน พฤศจิกายน 2558 โดยวางแผนการทดลองแบบ สุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) 2 ซ้ำ โดยใช้จำนวนประชากร P_1 , P_2 , F_1 และพันธุ์ต้านทานมาตรฐาน IR62266 อย่างละ 20 ต้น ประชากร BC_1P_1 และ BC_1P_2 อย่างละ 60 ต้น และประชากร F_2 จำนวน 200 ต้น โดยปลูกทุกประชากรในถาดหลุมขนาด 28 x 54 ซม. ซึ่งมีขนาดหลุม 4 x 4 ซม. เมื่อดันกล้าอายุได้ 30 วัน จึงทำการปลูกเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง

การปลูกเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง

การทดลองครั้งนี้ใช้เชื้อ *X. oryzae* ไอโซเลต BB2009-758 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี โดยเลี้ยงบนอาหาร NA สำเร็จรูป

(Himedia® Nutrient Agar M001) ปั่นเชื้อภายใต้อุณหภูมิ 25 -30 °C เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำเชื้อที่เลี้ยงได้มาละลายในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ปริมาตร 10 ml เพื่อเตรียมสารแขวนลอยเชื้อ โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 nm แล้วปรับให้ได้ค่า $O.D.600 = 0.6$ จากนั้นทำการปลูกเชื้อโดยวิธีตัดใบ 3 ใบ/ต้น ที่ความยาวประมาณ 5 ซม. จากปลายใบ โดยใช้กรรไกรจุ่มสารแขวนลอยเชื้อก่อนการตัดใบ (Kauffman et al., 1973) ทำการรักษาระดับความชื้นโดยใช้ moist chamber ให้ความชื้นสัมพัทธ์สูงกว่า 70% ติดตามพัฒนาการของเชื้อ ทำการประเมินระดับการเกิดโรคขอบใบแห้งภายหลังการปลูกเชื้อ โดยการวัดความยาวแผลและประเมินค่าคะแนนระดับความรุนแรงการเกิดโรคตามวิธี IRRI (1980) ดังที่แสดงใน Table 1

Table 1 Bacterial leaf blight severity score and rice symptoms.

Score	Lesion area (%)
0	0
1	1-5
3	6-12
5	13-25
7	26-50
9	51-100

Source: IRRI (1980)

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวนตามแผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้ วิธี Least Significant Different (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป Statistix 10 ทำการประมาณจำนวนยีนที่ควบคุมความต้านทานจาก $N = (m_1 - m_2)^2 / 8(V_{F2} - V_{F1})$ (Poehlman, 1987) เมื่อ

N = จำนวนยีนที่ควบคุมความต้านทาน

m_1 = ค่าเฉลี่ยของพันธุ์ข6

m_2 = ค่าเฉลี่ยของพันธุ์ผลาลาดำ

V_{F1} = ความแปรปรวนของประชากร F_1

V_{F2} = ความแปรปรวนของประชากร F_2

คำนวณอิทธิพลของยีนโดยใช้วิธีของ Mather and Jinks (1982) โดยใช้ scaling test เพื่อทดสอบโมเดลที่เหมาะสมในการวิเคราะห์อิทธิพลของยีน ก่อนการทดสอบโดยใช้ พารามิเตอร์จาก generation mean analysis

$$Y = m + \alpha[d] + \beta[h] + \alpha^2[i] + 2\alpha\beta[j] + \beta^2[l]$$

เมื่อ

Y = ค่าเฉลี่ยในหนึ่งชั่วรุ่น

m = ค่าเฉลี่ยทุกชั่วรุ่น

d = ผลรวมอิทธิพลของยีนแบบบวกสะสม

h = ผลรวมอิทธิพลของยีนแบบข่ม

i = ปฏิกริยาสัมพันธ์ระหว่างอิทธิพลของยีนแบบบวกสะสม

l = ปฏิกริยาสัมพันธ์ระหว่างอิทธิพลของยีนแบบข่ม

j = ปฏิกริยาสัมพันธ์ระหว่างอิทธิพลของยีนแบบบวกสะสม และแบบข่ม

และ $\alpha, 2\alpha, \beta, 2\beta$ คือค่า genetic parameters coefficients ซึ่งค่า genetic parameters ต่างๆ (m, d, h, i, j, l) ได้ทดสอบโดยวิธี t-test.

การหาค่าอัตราพันธุกรรมโดยใช้วิธีการหาค่าอัตราพันธุกรรมแบบกว้างตามวิธีของ Warner (1952) ซึ่งมีสูตรดังนี้

$$H_b^2 = \left[V_{F2} - \frac{V_{P1} + V_{P2} + V_{F1}}{3} \right] / V_{F2}$$

เมื่อ

H_b^2 = อัตราพันธุกรรมแบบกว้าง

V = ความแปรปรวนในแต่ละชั่วรุ่น

ผลการศึกษาและวิจารณ์

ในการทดลองนี้ได้ประเมินการเกิดโรคขอบใบแห้งในแต่ละประชากรเมื่อ 24 วัน หลังการปลูก โดยใช้ค่าเฉลี่ยการเกิดโรคทั้ง 3 ใบที่ทำการปลูกเพื่อมาวิเคราะห์เพื่อเป็นตัวแทนของแต่ละต้น ผลการทดลองพบว่าการเกิดโรคแต่ละประชากรมีความรุนแรงแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งในลักษณะความยาวแผลและคะแนนการเกิดโรค (Table 2) โดยลักษณะความยาวแผลนั้น พันธุ์กข6 มีค่าเฉลี่ยความยาวแผล

สูงที่สุด (4.3 cm.) รองลงมาคือ BC₁P₁ (3.3 cm.), F₁ (2.6 cm.), F₂ (2.5 cm.) และ BC₁P₂ (1.7 cm.) ตามลำดับ ในขณะที่พันธุ์มาลาต้า มีค่าเฉลี่ยความยาวแผลต่ำที่สุด (0.5 cm.) สำหรับลักษณะคะแนนการเกิดโรคพบว่า พันธุ์กข6 มีค่าเฉลี่ยคะแนนการเกิดโรคสูงที่สุด (4.9) ตามด้วย BC₁P₁ (3.9), F₁ (3.2), F₂ (3.1), BC₁P₂ (2.2) ตามลำดับ ขณะที่มาลาต้า มีค่าเฉลี่ยการเกิดโรคต่ำที่สุด (0.6) สอดคล้องกับความยาวแผล (Table 2) จากผลการทดลองจะเห็นว่า ค่าเฉลี่ยของความยาวแผลและคะแนนการเกิดโรคมีความแตกต่างกันในแต่ละประชากร แสดงให้เห็นว่าเชื้อสาเหตุมีประสิทธิภาพในการแยกความแตกต่างระหว่างประชากรพันธุ์ต้านทาน (มาลาต้า) และพันธุ์อ่อนแอ (กข6) นอกจากนั้นการสะสมความถี่ยีนต้านทานในประชากรผสมกลับทำให้ระดับของความต้านทานมีการเปลี่ยนแปลงไปเมื่อผสมกลับหาพันธุ์ต้านทาน (มาลาต้า) ทำให้ค่าเฉลี่ยการเกิดโรคลดลง และเพิ่มขึ้นเมื่อผสมกลับหาพันธุ์อ่อนแอ (กข6) และยิ่งพบว่า พันธุ์มาลาต้า มีระดับการเกิดโรคไม่แตกต่างจากพันธุ์ต้านทานมาตรฐาน IR62266 ที่มีรายงานว่ามีความต้านทานต่อเชื้อแบบกว้างในประเทศไทย (Korinsak et al., 2014) แสดงให้เห็นว่าพันธุ์มาลาต้ามีศักยภาพที่สามารถต้านทานต่อเชื้อโอโซเลต BB2009-758 ได้

เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของประชากร F₁ พบว่ามีค่าเฉลี่ยระดับการเกิดโรค (ความยาวแผล = 2.6 cm., คะแนนการเกิดโรค = 3.2) อยู่ระหว่างประชากรของพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่ และมีค่าสูงกว่าค่าเฉลี่ยของพ่อ-แม่ เล็กน้อย (ความยาวแผล = 2.3 cm., คะแนนการเกิดโรค = 2.7) (Table 2) จากผลของค่าเฉลี่ยในประชากร F₁ เป็นไปได้ว่าพันธุกรรมที่ควบคุมความต้านทานโรคขอบใบแห้งในข้าวพันธุ์มาลาต้าถูกควบคุมด้วยยีนด้อย ซึ่งในปัจจุบันมีการรายงานยีนต้านทานที่เป็นยีนด้อยไว้ถึง 13 ยีน ประกอบด้วย xa5, xa8, xa9, xa13, xa15, xa19, xa20, xa24, xa25(t), xa26(t), xa28(t), xa33(t), xa34(t) (Petpisit et al., 1977; Nakai et al., 1988; Ogawa et al., 1988; Khush and Angeles, 1999; Singh et al., 2002; Lee et al., 2003; Kurata and Yamazaki, 2006; Korinsak

et al., 2009; Liu et al., 2011 and Chen et al., 2011) โดยเฉพาะอย่างยิ่งยีน *xa33(t)* ที่พบในข้าวพันธุ์ Ba7 ซึ่งเป็นยีนต้านทานที่มีรายงานไว้แล้วในประเทศไทย (Korinsak et al., 2009)

เมื่อพิจารณาการกระจายตัวของประชากรพบว่า ประชากร F_2 มีการกระจายตัวเป็นแบบต่อเนื่องทิศทางเข้าสู่การกระจายตัวแบบปกติ ในขณะที่ประชากรผสมกลับ มีค่าเฉลี่ยของประชากรที่มีค่าสูงขึ้นเมื่อผสมกลับไปหาพันธุ์อ่อนแอ (BC_1P_1) และต่ำลงเมื่อผสมกลับไปหาพันธุ์ต้านทาน (BC_1P_2) จะเห็นได้ว่า การกระจายตัวเป็นแบบต่อเนื่องมีทิศทางเข้าหาพันธุ์ที่ใช้ผสมกลับ (Figure 1) แสดงให้เห็นว่า ลักษณะการเกิดโรคเป็นลักษณะทางปริมาณที่มีสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง และจากผลการประมาณจำนวนยีนที่ควบคุมความต้านทานพบว่า มีค่าเท่ากับ 2.2 ยีนในลักษณะความยาวแฝง และ 2.3 ยีนในคะแนนการเกิดโรค ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ายีนที่ควบคุมความต้านทานมียีนจำนวนน้อยคู่ สอดคล้องกับการศึกษาของ Kihupi et al. (2001) ที่รายงานว่า ในข้าวพันธุ์ต้านทาน 40 พันธุ์ทุกพันธุ์ถูกควบคุมด้วยยีนต้านทานที่เป็นยีนด้อยอย่างน้อย 2 ยีน

การคำนวณหาอัตราพันธุกรรมที่ควบคุมความต้านทานโรคพบว่าในลักษณะความยาวแฝง มีค่าอัตราพันธุกรรมปานกลางเท่ากับ 0.49 และในลักษณะคะแนนการเกิดโรค มีค่า 0.52 (Table 3) โดยอัตราพันธุกรรมจะเป็นค่าที่นำไปใช้ในการคำนวณเพื่อประเมินการตอบสนองต่อการคัดเลือกสำหรับใช้พิจารณาว่าควรมีการคัดเลือกในช่วงใดของการปรับปรุงพันธุ์ (Nyquist, 1991) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าอัตราพันธุกรรมของยีนต้านทานมีค่าในระดับปานกลางตามการศึกษาของ Robinson et al. (1949) การคัดเลือกจึงสามารถทำได้ตั้งแต่ในช่วงต้นๆ เป็นการลดภาระงานเนื่องจากไม่ต้องเก็บรักษาประชากรขนาดใหญ่ไว้หลายชั่วรุ่น

การวิเคราะห์ scaling test ไม่พบนัยสำคัญของพารามิเตอร์ A, B และ C จึงทำการวิเคราะห์แบบ additive-dominance model และจากการวิเคราะห์อิทธิพลของยีน พบว่า ค่าเฉลี่ยของประชากร (m)

มีความแตกต่างกันและอิทธิพลหลักเป็นอิทธิพลของยีนแบบบวกสะสม และพบอิทธิพลของยีนแบบข่มเล็กน้อยจากข้อมูลระดับการเกิดโรค (Table 4) แสดงให้เห็นว่า การคัดเลือกลักษณะความต้านทานสามารถคัดเลือกได้ตั้งแต่ช่วงต้นๆ (Ramli et al., 2016) วิธีการคัดเลือกที่เป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับข้าวซึ่งเป็นพืชผสมตัวเองคือการคัดเลือกแบบบันทึกประวัติ และการผสมกลับ นอกจากนี้จากการทดลองจะเห็นได้ว่าวิธีการวัดความยาวแฝงและให้คะแนนการเกิดโรคมีความแตกต่างกันเล็กน้อยในลักษณะของข้อมูลแต่มีทิศทางเดียวกัน ดังนั้นการเลือกใช้วิธีการประเมินจึงควรเลือกใช้การให้คะแนนการเกิดโรคซึ่งเป็นวิธีที่สะดวกและรวดเร็วกว่าเมื่อเทียบกับการวัดความยาวแฝง

การคัดเลือกแบบบันทึกประวัติมีข้อดีในด้านการลดจำนวนประชากรตั้งแต่ช่วงแรกๆ แต่การคัดเลือกในหลายๆ ลักษณะไปพร้อมกันจะต้องอาศัยประชากรขนาดใหญ่ จึงอาจเป็นอุปสรรคในการจัดการได้ สำหรับการปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานต่อโรคนั้น ส่วนใหญ่นักปรับปรุงพันธุ์จะเน้นการคัดเลือกในเรื่องความต้านทานเป็นหลัก วิธีผสมกลับหาพันธุ์ที่มีลักษณะที่ดีอยู่แล้ว จึงเป็นแนวทางที่จะทำให้การปรับปรุงพันธุ์ประสบความสำเร็จง่ายขึ้น แต่เนื่องจากยีนที่ควบคุมความต้านทานในพันธุ์มาลาดำเป็นยีนด้อย การปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีผสมกลับจำเป็นต้องมีการผสมตัวเองเพื่อให้ลักษณะความต้านทานแสดงออกมา ทำให้ในแต่ละรอบของการผสมกลับต้องเสียเวลาไป 1 ช่วง ปัจจุบันได้มีการใช้เครื่องหมายโมเลกุลที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะต่าง ๆ เข้ามาช่วยในการคัดเลือก (marker-assisted selection, MAS) ทำให้สามารถลดระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ลงได้ นอกจากนี้ควรมีการทดลองต่อไปเพื่อให้ทราบตำแหน่งของยีน หรือ QTL (Quantitative Trait Loci) ที่ควบคุมความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งในข้าว พันธุ์มาลาดำ ซึ่งจะสามารถนำเครื่องหมายโมเลกุลที่สัมพันธ์กับยีน หรือ QTL ที่ควบคุมความต้านทานมาใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ต้านทาน ทำให้การปรับปรุงพันธุ์มีความรวดเร็วและแม่นยำในอนาคต

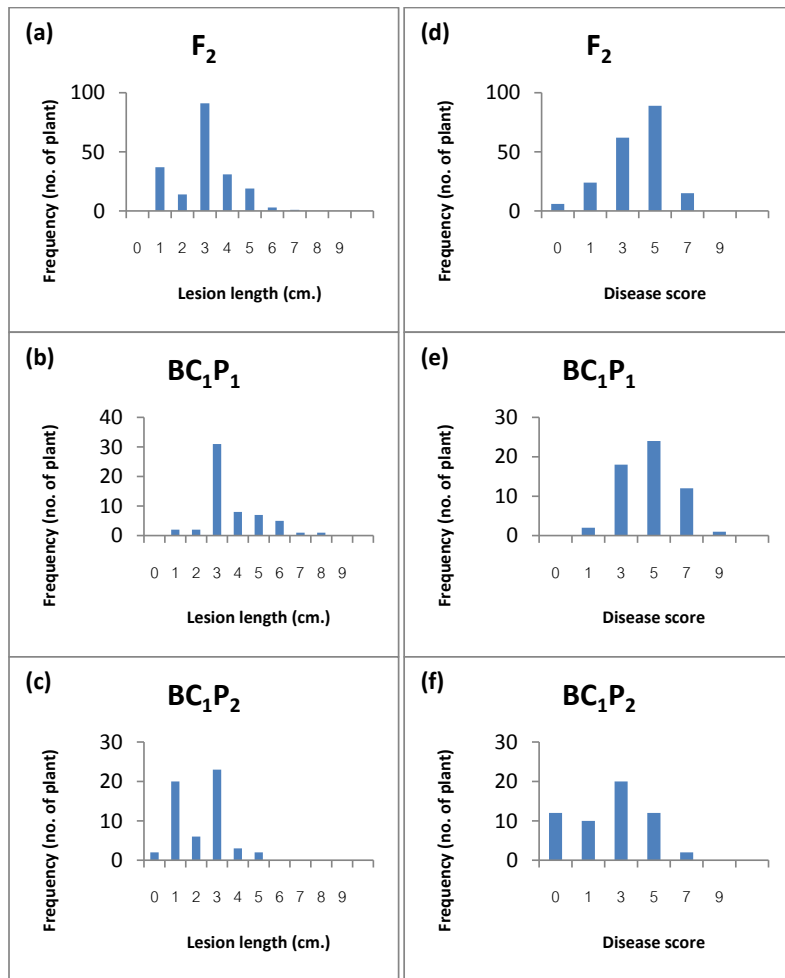


Figure 1 Frequency distribution of lesion length (a-c) and: lesion score 0 = resistance, 9= susceptible (e-f) in BC_1P_1 , BC_1P_2 and F_2 population.

Table 2 Mean of disease severity score of 6 populations Phaladum, RD6, F_1 , BC_1P_1 , BC_1P_2 , F_2 and resistance check IR62266

Population	Lesion length (cm.)	Disease score (0-9) ¹
RD6	4.3 a ²	4.9 a ²
BC_1P_1	3.3 b	3.9 b
F_1	2.6 bc	3.2 b
F_2	2.5 cd	3.1 bc
BC_1P_2	1.7 d	2.2 c
Phaladum	0.5 e	0.6 d
IR62266 (check)	0.8 e	1.2 d
F-test	**	**
C.V. (%)	14.39	15.28

** : significant different at $P < 0.01$

1: 0= no symptom, 9= highly susceptible.

2: A common letter within column show not significant difference at $p \leq 0.05$.

Table 3 Number of gene and heritability for lesion length and disease score of bacterial leaf blight resistance in rice Phaladum variety.

Trait	Number of gene	Heritability
Lesion length	2.2	0.49
Disease score	2.3	0.52

Table 4 Estimation of gene effects base on join scaling test of three parameters and generation mean analysis of BLB resistance in Phaladum.

Parameter	Lesion length	Disease score
	Value±S.E.	Value±S.E.
A	-0.30±0.50 ns	-0.30±0.56 ns
B	0.30±0.46 ns	0.50±0.54 ns
C	0.00±0.69 ns	0.20±0.79 ns
m	2.36±0.13 **	2.69±0.15 **
d	1.82±0.13 **	2.11±0.14 **
h	0.26±0.26 ns	0.59±0.30 **

ns, *, ** = non-significant difference, significant difference and highly significant difference, respectively.

สรุป

พันธุ์กรรมความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งในข้าวพันธุ์ผาลาดำถูกควบคุมด้วยยีนต้านทานจำนวน 2 ยีนจากการประมาณจำนวนยีน โดยอิทธิพลของยีนต้านทานเป็นแบบบวกสะสมและมีอัตราพันธุ์กรรมในระดับปานกลาง การคัดเลือกลักษณะความต้านทานสามารถทำได้ตั้งแต่ช่วงต้นๆ ซึ่งวิธีการที่ควรนำมาใช้ได้แก่ การคัดเลือกแบบบันทึกประวัติและการคัดเลือกแบบผสมกลับ

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน คณะเกษตรศาสตร์ และศูนย์วิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรเพื่อเศรษฐกิจที่ยั่งยืน ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อพันธุ์กรรมข้าวพื้นเมือง และงบประมาณสำหรับการศึกษาในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- อภิชาติ จันละคร, เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล และจิรวัฒน์ สนิทชน. 2555. การประเมินลักษณะความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งของเชื้อพันธุ์กรรมข้าวนาสวน. แก่นเกษตร. 40(ฉบับพิเศษ 4): 48-52
- Acquaah, G. 2012. Principles of Plant Genetics and Breeding. 2nd Edition. John Wiley and Sons Ltd. Oxford, UK.
- Chen, S., Liu, X., Zeng, L., Ouyang, D., Yang, J., and X. Zhu. 2011. Genetic analysis and molecular mapping of a novel recessive gene *xa34(t)* for resistance against *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*. Theoretical and Applied Genetics. p.1331-1338.
- Devika, R. 2002. Genetic analysis of bacterial blight (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Ishiyama) resistance and yield in rice (*Oryza sativa* L.). Ph.D. Thesis. Kerala Agricultural University, Thrissur, India.
- Habarurema, I., G. Asea, J. Lamo, P. Gibson, R. Edema, Y. Séré, and R. O. Onasanya. 2012. Genetic analysis of resistance to rice bacterial blight in Uganda. African Crop Science Journal. 20: 105-112.
- IRRI. 1980. Standard Evaluation System for Rice. The International Rice Research Institute. Los Banos, Laguna, Philippines.

- Kauffman, H. E., A. P. K. Reddy, S. P.Y. Hsieh, and S. D. Merca. 1973. An improved technique for evaluating resistance of rice varieties to *Xanthomonas oryzae*. Plant Disease Reporter. 57: 537-541.
- Khan, M. A., M. Naeem, and M. Iqbal. 2014. Breeding approaches for bacterial leaf blight resistance in rice (*Oryza sativa* L.), current status and future directions. European journal of plant pathology. 139: 27-37.
- Khush, G. S., and E. R. Angeles. 1999. A new gene for resistance to race 6 of bacterial blight in rice, *Oryza sativa*. Rice Genetics Newsletter. 16: 92-93.
- Kihupi, A. N., E. R. Angeles, and G. S. Khush. 2001. Genetic analysis of resistance to bacterial blight, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, in rice, *Oryza sativa* L. Euphytica. 117: 39-46.
- Korinsak, S., K. Sirithunya, and T. Toojinda. 2014. Identifying a source of a bacterial blight resistance gene *xa5* in rice variety 'IR62266' and development of a functional marker 'PXA5', the easy agarose based detection. Thai J. Genet. 7: 164-172.
- Korinsak, S., S. Sriprakhon, P. Sirithanya, J. Jairin, S. Korinsak, A. Vanavichit, and T. Toojinda. 2009. Identification of microsatellite markers (SSR) linked to a new bacterial blight resistance gene *xa33(t)* in rice cultivar 'Ba7'. Maejo International Journal of Science and Technology. 3: 235-247.
- Kurata, N., and Y. Yamazaki. 2006. Oryzabase. An integrated biological and genome information data-base for rice. Plant Physiology. 140: 12-17.
- Lee, K. S., S. Rasabandith, E. R. Angeles, and G. S. Khush. 2003. Inheritance of resistance to bacterial blight in 21 cultivars of rice. Phytopathology. 93: 147-152.
- Liu, Q., M. Yuan, Y. Zhou, X. G. Li, J. Xiao, and S. Wang. 2011. Aparalog of theMtN3/saliva family recessively confers racespecific resistance to *Xanthomonas oryzae* in rice. Plant, Cell and Environment. 34: 1658-69.
- Mather, K., and J. L. Jinks. 1982. In: Biometrical Genetics, 3rd Edition. Chapman and Hall Ltd. London.
- Nakai, H., S. Nakamura, S. Kuwahara, and M. Saito. 1988. Genetic studies of an induced rice mutant resistant to multiple races of bacterial leaf blight. Rice Genetics Newsletter. 5: 101.
- Niño-liu, D. O., P. C. Ronald, and A. J. Bogdanove. 2006. *Xanthomonas oryzae* pathovars: model pathogens of a model crop. Molecular Plant Pathology. 7: 303-324.
- Nyquist, W. E. 1991. Estimation of heritability and prediction of response in plant populations. Critical Reviews in Plant Sciences. 10: 235-322.
- Ogawa, T., T. Yamamoto, G. S. Khush, T.W. Mew, and H. Kaku. 1988. Near-isogenic lines as international differentials for resistance to bacterial blight of rice. Rice Genetics Newsletter. 5: 106-109.
- Ou, S.H. 1987. Rice Diseases. Centre for Agricultural Bioscience International, UK.
- Paul, C. P., N. Q. Ng, and T. A. Ladeinde. 2003. Mode of gene action of inheritance for resistance to rice yellow mottle virus. African Crop Science Journal. 11: 143-150.
- Petpisit, V., G.S. Khush, and H. E. Kauffman. 1977. Inheritance of resistance to bacterial blight in rice. Crop Science. 17: 551-554.
- Poehlman, J. M. 1987. Breeding Field Crops. 3rd Edition. Van Nostrand Reinhold, New York.
- Ramli, A. B., M. Y. Rafii, M. A. Latif, G. B. Saleh, O. B. Omar, and A. B. Puteh. 2016. Generation mean analysis of grain quality traits in selected rice populations derived from different amylose characteristics. J. Sci Food Agr. 96: 1593-1600.
- Robinson, H. F., R. E. Comstock, and P. H. Harney. 1949. Estimates of heritability and degree in corn. Agron J. 41: 353-359.
- Singh, A., R. Singh, S. Kumar, M. Arya, and P. Singh. 2015. Genetic variability to improve yield and resistance to bacterial leaf blight in rice. Bangladesh. Journal of Botany. 44: 581-589.
- Singh, K., Y. Vikal, S. Singh, H. Leung, H. S. Dhaliwal, and G. S. Khush. 2002. Mapping of bacterial blight resistance gene *xa8* using microsatellite markers. Rice Genetics Newsletter. 19: 94-96.
- Toojinda, T., S. Tragoonrungs, A. Vanavichit, J. L. Siangliw, N. Pa-In, J. Jantaboon, and S. Fukai. 2005. Molecular breeding for rainfed lowland rice in the Mekong region. Plant Prod Sci. 8: 330-333.
- Warner, J. N. 1952. A method of estimating heritability. Agronomy Journal. 44: 427-430.