

การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวเจ้าหอมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและ ทนน้ำท่วมจมน้ำโดยการใช้องค์ประกอบดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกพร้อมกับ การคัดเลือกลักษณะฟีโนไทป์

Developing Aromatic Rice Lines Resistance to Brown Planthopper and Tolerance to Submergence using Combined Marker-assisted and Phenotypic Selections

ศักดิ์ดา คงสีลา¹, ลาดารุต ทันที¹, กัญญาวรณ วรสา¹, นันทิยา ทองสิม¹, ฉันทมาศ เชื้อแก้ว¹,
อุไรวรรณ กษสธิตย์² และ สุรีย์พร เกตุงาม^{1*}

Sakda Kongsila¹, Ladarut Tunttee¹, Kanyawan Worasa¹, Nantiya Thongsim¹,
Chantamart Chueakaew¹, Uraiwan Kotchasatit² and Sureeporn Kate-ngam^{1*}

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสายพันธุ์ข้าวเจ้าหอมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ทนน้ำท่วมจมน้ำ และมีคุณภาพการหุงต้มคล้ายข้าวหอมมะลิ โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกร่วมกับการคัดเลือกลักษณะฟีโนไทป์ ปรับปรุงพันธุ์แบบจุดประวัติโดยผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ข้าวเจ้าหอมวาริน (RGDU07343-9-13-26-3B-B-2) ซึ่งมี ยีน *Sub1* ควบคุมลักษณะทนน้ำท่วมจมน้ำและมีคุณภาพการหุงต้มคล้ายข้าวหอมมะลิ กับสายพันธุ์พ่อ UBN03078-101-342-4-141 ซึ่งมียีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Bph3* สร้างประชากร F_1 ได้จำนวน 190 ต้น ยีนยีนลูกผสมด้วย เครื่องหมายดีเอ็นเอ RM586/RM589 ที่เชื่อมโยงกับยีน *Bph3* จากนั้นปล่อยให้ต้น F_1 ผสมตัวเองสร้างประชากร F_2 ได้ จำนวน 1,250 ต้น คัดเลือกลักษณะทางเกษตรที่ดีได้ จำนวน 117 ต้น จากนั้นนำมาคัดเลือกลักษณะเป้าหมายโดยใช้ เครื่องหมายดีเอ็นเอ ได้แก่ ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*: RM589, RM586 และ SSR24), ทนน้ำท่วมจมน้ำ (*Sub1*: R10783indel), ความหอม (*badh2*: Aromarker), ปริมาณอะไมโลสต่ำ (Wx^b : Waxy marker) และอุณหภูมิ แบ่งสุกต่ำ (*SSIIa-TT*: SNP2340-41) สามารถคัดเลือกต้น F_2 ที่มียีนเป้าหมายในรูปแบบโฮโมไซกัสและเฮเทอโรไซกัสได้ จำนวน 47 ต้น ปล่อยให้ผสมตัวเองสร้างประชากร F_3 ได้จำนวน 1,150 ต้น ทำการคัดเลือกลักษณะทางเกษตรที่ดีได้ 127 ต้น จากนั้นนำมาคัดเลือกลักษณะเป้าหมายโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ พบว่าสามารถคัดเลือกต้นที่มียีนควบคุมลักษณะ เป้าหมายทั้ง 5 ลักษณะในรูปแบบโฮโมไซกัส (*Bph3*^{KD/KD}, *Sub1*^{JIR/JIR}, *badh2*^{JIR/JIR}, *Wx*^{bJIR/JIR} และ *SSIIa-TT*^{JIR/JIR}) ได้จำนวน 4 สายพันธุ์ ซึ่งสายพันธุ์ดังกล่าวจะนำไปประเมินประสิทธิภาพการใช้องค์ประกอบดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกในลักษณะต้านทาน เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ทนน้ำท่วมจมน้ำ ความหอม ปริมาณอะไมโลสต่ำ และอุณหภูมิแบ่งสุกต่ำ ต่อไป

คำสำคัญ: การปรับปรุงพันธุ์ข้าว, การใช้องค์ประกอบดีเอ็นเอช่วยคัดเลือก, เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล, น้ำท่วมจมน้ำ

¹ ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี อ.วารินชำราบ จ.อุบลราชธานี 34190
Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Ubon Ratchathani University, Warinchamrap, Ubon Ratchathani, 34190

² ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี อ.เมือง จ.อุบลราชธานี 34000
Ubon Ratchathani Rice Research Center, Muang, Ubon Ratchathani, 34000

* Corresponding author: sureeporn.k@ubu.ac.th

ABSTRACT: The research was aimed to develop aromatic rice lines resistance to brown planthopper (BPH), tolerance to submergence and jasmine-like cooking quality using combined marker-assisted and phenotypic selections. Pedigree breeding method was performed by crossing between Khao Jao Hawm Warin, a female donor parent for submergence tolerance, grain fragrance, low amylose content and low gelatinization temperature, and UBN03078-101-342-4-141, a male donor parent for BPH resistance, low amylose content and low gelatinization temperature. F_1 plants were developed and identified with DNA markers linked to *Bph3* gene (RM586/RM589). The selected 190 F_1 plants were self-pollinated and produced 1,250 F_2 progenies. Good plant type of 117 F_2 progenies were selected and further identified the traits of interest using marker-assisted selection (MAS) including brown planthopper resistance (*Bph3*: RM589, RM586 and SSR24), submergence tolerance (*Sub1*: R10783indel), grain aroma (*badh2*: Aromarker), low amylose content (*Wx^b*: Waxy marker) and low gelatinization temperature (*SSIIa-TT*: SNP2340-41). Forty-seven F_2 progenies carrying homozygous and heterozygous alleles of target traits were selected and self-pollinated to produce 1,150 F_3 progenies. Phenotypic selection was carried out and 127 F_3 progenies with good plant type were selected. Then, MAS was performed and 4 selected plants carrying homozygous alleles of the 5 target genes were identified (*Bph3*^{KD/KD}, *Sub1*^{JIR/JIR}, *badh2*^{JIR/JIR}, *Wx^b*^{JIR/JIR}, *SSIIa-TT*^{JIR/JIR}). These introgression lines will be further validated for brown planthopper resistance, submergence tolerance, grain fragrance and low amylose content and low gelatinization temperature to confirm the efficacy of marker-assisted selection.

Keywords: Rice breeding, marker-assisted selection, brown planthopper, submergence

บทนำ

สภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงไปในปัจจุบันส่งผลให้ฤดูกาลเปลี่ยนแปลง การกระจายตัวของน้ำฝนไม่สม่ำเสมอ เกิดปัญหาน้ำท่วม ภัยแล้ง และมีการระบาดของโรค และแมลงเพิ่มขึ้น ซึ่งส่งผลกระทบต่อการผลิตข้าวทำให้ผลผลิตข้าวลดลง การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพวิกฤติ รวมทั้งต้านทานต่อโรคและแมลง โดยใช้เทคนิคการรวมยีน (pyramiding gene) หลายๆ ยีนเข้าไว้ด้วยกันในข้าวพันธุ์เดียว โดยการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือก (Marker assisted selection: MAS) ถือเป็นวิธีป้องกันที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดในการปรับปรุงพันธุ์เพื่อรองรับการเปลี่ยนแปลงของสภาพอากาศ ในหลายกรณีการคัดเลือกด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอสามารถนำมาใช้ร่วมกับการคัดเลือกลักษณะฟีโนไทป์ (phenotypic screening) ซึ่งมีชื่อเรียกเฉพาะว่า “combined MAS” โดยจะให้ผลตอบแทนทางพันธุกรรม (genetic gain) สูงกว่าการคัดเลือกด้วยลักษณะฟีโนไทป์ (phenotypic screening) หรือการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก (MAS) วิธีใดวิธีหนึ่งเพียงอย่างเดียว (Moreau et al., 2004) โดยเฉพาะในกรณีที่ประชากรที่จะทำการปรับปรุงพันธุ์มีขนาดใหญ่มากและลักษณะเป้าหมายนั้นมีอัตราพันธุกรรม (heritability) ต่ำ (Bohn et al., 2001)

การเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศส่งผลให้โลกร้อนขึ้น เพื่อให้เกิดสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของโรคและแมลง อุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้แมลงหลายชนิดมีระยะพักตัวและวงจรชีวิตสั้นลง รวมไปถึงเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่สามารถเจริญเติบโตและแพร่พันธุ์ได้อย่างมากในเวลาอันรวดเร็ว (Wang et al., 2010) เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (brown planthopper: *Nilaparvata lugens* (Stål)) เป็นแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญต่อระบบการปลูกข้าวในพื้นที่นาชลประทานเขตภาคกลาง ภาคเหนือตอนล่าง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในประเทศไทยพบการระบาดอย่างรุนแรงในภาคกลาง ภาคเหนือตอนล่าง และบางจังหวัดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นประจำทุกๆ ปี เช่น ในปี พ.ศ. 2532 พื้นที่เสียหายเนื่องจากการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเกือบสี่ล้านไร่ ปี พ.ศ. 2552 พบการระบาดครั้งใหญ่ที่ทำให้พื้นที่ปลูกข้าวเสียหายเกือบสองล้านไร่ และในปี พ.ศ. 2554 พบการระบาดที่สร้างความเสียหายต่อพื้นที่ปลูกข้าวกว่า 1.6 ล้านไร่ (กัญเกียรติ, 2554) โดยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลไม่เป็นเพียงแค่ศัตรูข้าวเพียงอย่างเดียวแต่ยังเป็นพาหะนำเชื้อสาเหตุของโรคใบหงิก และโรคเขียวเตี้ยอีกด้วย

การผลิตข้าวในพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนเกษตรกรรมปลูกข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105, กข15 และ กข6ต่อเนื่องกันเป็นเวลาหลายปี ทำให้เกิดความ

เสี่ยงต่อการเข้าทำลายของโรคและแมลง เนื่องจากข้าวพันธุ์ดังกล่าวมีพันธุกรรมใกล้เคียงกัน รวมทั้งได้รับผลกระทบจากการเกิดสภาพแวดล้อมวิกฤติ ได้แก่ น้ำท่วมฉับพลัน และความแห้งแล้ง ที่เพิ่มมากขึ้นในพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝน ซึ่งเป็นผลสืบเนื่องมาจากสภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงไป การเลือกใช้พันธุ์ข้าวที่สามารถทนต่อสภาพเครียดดังกล่าวได้จึงเป็นปัจจัยสำคัญที่จะช่วยลดความเสี่ยงในการผลิตข้าวของเกษตรกรได้ ดังนั้นการพัฒนาสายพันธุ์ข้าวเจ้าหอมคุณภาพการหุงต้มดี ทนทานต่อสภาพเครียดหลายลักษณะ ได้แก่ ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และลักษณะทนน้ำท่วมฉับพลัน จึงเป็นทางเลือกที่ดีให้กับเกษตรกรในพื้นที่ปลูกข้าวโดยอาศัยน้ำฝนในอนาคต

วิธีการศึกษา

สายพันธุ์ข้าวพ่อแม่ (Parental line)

สายพันธุ์แม่ คือ ข้าวเจ้าหอมวาริน หรือ Jasmine IR57514 (RGDU07343-9-13-26-3B-B-2) เป็นสายพันธุ์ข้าวที่มีลักษณะทนน้ำท่วมฉับพลันและมีคุณภาพการหุงต้มคล้ายข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยสายพันธุ์ข้าวเจ้าหอมวารินพัฒนามาจากสายพันธุ์ข้าว IR57514-PMI-5-B-1-2 ซึ่งมีลักษณะดีเด่น ทนแล้ง ทนน้ำท่วมฉับพลัน ให้ผลผลิตสูง และปรับตัวได้ดีในเขตพื้นที่อาศัยน้ำฝน ให้เป็นสายพันธุ์ที่ผสมกับข้าวสายพันธุ์ KD571-77 ซึ่งให้เป็นสายพันธุ์ให้ลักษณะความหอม ปริมาณอะไมโลสต่ำ และอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ และใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกจนได้สายพันธุ์ข้าวเจ้าหอมวาริน (Kate-ngam et al., 2011) ซึ่งใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมของลักษณะทนน้ำท่วมฉับพลัน (*Sub1*), ความหอม (*badh2*), ปริมาณอะไมโลสต่ำ (*Wx^b*) และ อุณหภูมิแป้งสุกต่ำ (*SSIIa-TT*)

สายพันธุ์ UBN03078-101-342-4-141 เป็นสายพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Bph3* ใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมของลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) ปริมาณอะไมโลสต่ำ (*Wx^b*) และ

อุณหภูมิแป้งสุกต่ำ (*SSIIa-TT*) โดยสายพันธุ์ดังกล่าวได้จากการผสมกลับระหว่าง ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นสายพันธุ์รับ และ Rathu Heenati เป็นสายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองจากประเทศศรีลังกาให้ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Bph3* ซึ่งมีตำแหน่งบนโครโมโซมคู่ที่ 6 ทำการปรับปรุงพันธุ์จนได้สายพันธุ์ดีเด่นต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*BC₃F₈*) (จิรพงศ์, 2552)

การพัฒนาประชากร F₁-F₃

ดำเนินการปรับปรุงพันธุ์โดยใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบจุดประวัติ (pedigree breeding method) โดยผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ ข้าวเจ้าหอมวาริน (ต้นแม่) กับข้าวสายพันธุ์ UBN03078-101-342-4-141 (ต้นพ่อ) สร้างประชากร F₁ ยีนยีนลูกผสมโดยใช้เครื่องหมาย RM586 และ RM589 ที่เชื่อมโยงกับยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Bph3* บนโครโมโซมที่ 6 จากนั้นปล่อยให้ต้น F₁ ผสมตัวเองเพื่อสร้างประชากร F₂ และต้น F₂ ที่ได้รับการคัดเลือกจะปล่อยให้ผสมตัวเองเพื่อสร้างประชากร F₃ ต่อไป

การคัดเลือกประชากร F₂ และ F₃

ทำการคัดเลือกลักษณะทรงต้น (plant type selection) และลักษณะทางการเกษตรที่ดีในประชากร F₂ และ F₃ เกณฑ์ในการคัดเลือกได้แก่ ต้นมีความสมบูรณ์ไม่มีโรคและแมลงเข้าทำลาย ทรงต้นตั้งตรงไม่หักล้ม แตกกอดี จำนวนหน่อต่อกอสูง จำนวนรวงต่อกอสูง เป็นต้น จากนั้นนำต้น F₂ และ F₃ ที่ผ่านการคัดเลือกลักษณะทรงต้นแล้วมาคัดเลือกลักษณะเป้าหมาย 5 ลักษณะ โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือก (MAS) ประกอบด้วย ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*), ทนน้ำท่วมฉับพลัน (*Sub1*), ความหอม (*badh2*), ปริมาณอะไมโลสต่ำ (*Wx^b*) และ อุณหภูมิแป้งสุกต่ำ (*SSIIa-TT*) โดยเก็บตัวอย่างใบข้าวอายุประมาณ 2 สัปดาห์ ที่เกิดจากหน่อใหม่หลังคัดเลือกลักษณะทรงต้น มาสกัดดีเอ็นเอ ด้วยวิธีการ CTAB extraction procedure ประยุกต์จาก Doyle

and Doyle (1990) จากนั้นนำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาเพิ่มปริมาณโดยปฏิกิริยาพีซีอาร์ โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่เชื่อมโยงหรือจำเพาะเจาะจงกับยีนเป้าหมาย (ตารางที่ 1) ตาม Protocol ที่กล่าวไว้ใน สุริพร และคณะ (2557)

ผลการศึกษา

สร้างประชากร F_1 จากการผสมระหว่างสายพันธุ์พ่อแม่ ได้ F_1 จำนวน 190 ต้น ยีนยีนลูกผสม F_1 ด้วยเครื่องหมาย RM586 และ RM589 ที่เชื่อมโยงกับลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) แล้วปล่อยให้ต้น F_1 ผสมตัวเอง เพื่อสร้างประชากรลูกผสมชั่วรุ่นที่ 2 (F_2) ได้จำนวน 1,250 ต้น ทำการคัดเลือกลักษณะทางเกษตรที่ดี (phenotypic selection) เมื่อข้าวอยู่ในระยะโน้มรวงได้จำนวน 117 ต้น จากนั้นนำมาคัดเลือกลักษณะเป้าหมาย (genotypic selection) ได้แก่ ลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Bph3*) , ทนน้ำท่วมฉับพลัน (*Sub1*), ความหอม (*badh2*), ปริมาณอะไมโลสต่ำ (*Wx^b*) และอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ (*SSIIa-TT*) โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือก (Table 1) ได้ต้น F_2 ที่มียีนเป้าหมายในรูปโฮโมไซกัสและเฮเทอโรไซกัส จำนวน 47 ต้น ปล่อยให้ต้น F_2 ดังกล่าวผสมตัวเองสร้างประชากร F_3 ได้จำนวน 1,150 ต้น จากนั้นทำการคัดเลือกลักษณะทางเกษตรที่ดี ได้จำนวน 127 ต้น แล้วนำมาคัดเลือกลักษณะเป้าหมายโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ ได้จำนวน 43 ต้น โดยสามารถแบ่งกลุ่มตามจีโนไทป์ได้ทั้งหมด 8 กลุ่ม (Table 2) และสามารถคัดเลือกต้นที่มียีนเป้าหมายในรูปแบบเป็นโฮโมไซกัสทั้ง 5 ลักษณะได้ จำนวน 4 ต้น (*Bph3^{KD/KD}*, *Sub1^{JIR/JIR}*, *badh2^{JIR/JIR}*, *Wx^{bJIR/JIR}*, *SSIIa-TT^{JIR/JIR}*) ซึ่งสายพันธุ์ดังกล่าวจะปล่อยให้ผสมตัวเองเพื่อสร้างประชากร F_4 เพื่อจะนำไปประเมินประสิทธิภาพของเครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกลักษณะเป้าหมาย ได้แก่ ความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ลักษณะทนน้ำท่วมฉับพลัน ลักษณะความหอม ลักษณะอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ และ ลักษณะปริมาณอะไมโลสต่ำต่อไป

นอกจากนี้ประชากร F_3 ในกลุ่มที่ 2 จำนวน 3 สายพันธุ์ และกลุ่มที่ 3 จำนวน 8 สายพันธุ์ ที่มีอัลลีลของลักษณะเป้าหมายเป็นแบบโฮโมไซกัส ยกเว้นลักษณะความหอม (*badh2^{JIR/KD}*) และลักษณะทนน้ำท่วมฉับพลัน (*Sub1^{JIR/KD}*) ที่มีอัลลีลแบบเฮเทอโรไซกัส (Table 2) จะนำไปคัดเลือกยีนเป้าหมายให้อยู่ในรูปโฮโมไซกัสในประชากร F_4 และนำไปประเมินประสิทธิภาพของเครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยในการคัดเลือกเพิ่มเติมต่อไป

วิจารณ์

การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวเจ้าหอมให้ทนต่อสภาพวิกฤติและต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพื่อการเพาะปลูกในพื้นที่ราบลุ่มอาศัยน้ำฝนในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบจุดประวัตินี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาข้าวสายพันธุ์ใหม่ที่มีรวมเอาลักษณะดีเด่นจากสายพันธุ์พ่อแม่ การปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อให้มีลักษณะดีหลายลักษณะนั้นทำได้ยากโดยใช้วิธีการปรับปรุงพันธุ์แบบดั้งเดิม (conventional breeding) ซึ่งจะเป็นการคัดเลือกจากลักษณะที่ปรากฏ (phenotype) ซึ่งมีอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้อง ทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนในการคัดเลือก การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือก (MAS) ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวจัดว่าเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพในการพัฒนาข้าวพันธุ์ใหม่ๆ ได้อย่างรวดเร็วและแม่นยำ เนื่องจากสามารถคัดเลือกที่จีโนไทป์โดยตรง และสามารถคัดเลือกลักษณะเป้าหมายหลายๆ ลักษณะพร้อมกันได้ โดยเครื่องหมายดีเอ็นเออาจพัฒนามาจากยีนที่ควบคุมลักษณะเป้าหมาย (gene specific markers) หรือมีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับยีนที่ควบคุมลักษณะเป้าหมาย (linked markers) ทั้งนี้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่อยู่ใกล้ชิดกับยีนเป้าหมายควรมีระยะห่างจากยีน หรือ QTL เป้าหมายไม่เกิน 5 cM เพราะจะทำให้ความแม่นยำในการคัดเลือกลดลง (Collard and Mackill, 2008) เครื่องหมาย

ดีเอ็นเอที่ใช้ในการติดตามยีน *Bph3* บนโครโมโซมที่ 6 ได้แก่ เครื่องหมาย RM586, RM589 และ SSR24 มีระยะห่างจากยีน *Bph3* ไม่เกิน 0.9 cM โดยอยู่ขนานกับยีน *Bph3* ซึ่งเครื่องหมายดีเอ็นเอดังกล่าวมีการนำไปใช้ในการคัดเลือกยีน *Bph3* เพื่อพัฒนาสายพันธุ์ข้าวให้ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลอย่างกว้างขวาง (จิรพงศ์, 2552; เจตน์ และคณะ, 2558) ส่วนเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้ในการคัดเลือกลักษณะทนน้ำท่วมฉับพลันซึ่งถูกควบคุมด้วยยีน *Sub1* มีตำแหน่งบนโครโมโซมที่ 9 (R10783indel), ลักษณะความหอมซึ่งถูกควบคุมด้วยยีน *badh2* บนโครโมโซมที่ 8 (Aro-marker), ปริมาณอะไมโลสต่ำ และอุณหภูมิแป้งสุกต่ำซึ่งถูกควบคุมด้วยยีน *Wx^b* และ *SSIIa-TT* บนโครโมโซมที่ 6 (Waxy marker และ SNP2340-41 ตามลำดับ) เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่พัฒนามาจากยีนที่ควบคุมลักษณะดังกล่าว (gene specific markers) ดังนั้นการคัดเลือกจึงมีความแม่นยำสูง ในประเทศไทยมีการนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ทนน้ำท่วมฉับพลันและมีคุณภาพการหุงต้มคล้ายข้าวขาวดอกมะลิ 105 อย่างแพร่หลาย ตัวอย่างเช่น ข้าวหอมชลสิทธิ์ (Toojinda et al., 2005), ข้าวเจ้าหอมวาริน (Kate-ngam et al., 2011) เป็นต้น

ปัจจุบันการใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกในขั้นตอนการปรับปรุงพันธุ์ข้าว ถือว่าเป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพ เนื่องจากสามารถคัดเลือกข้าวได้ตั้งแต่ระยะกล้า ซึ่งเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการดูแลรักษา อีกทั้งสามารถคัดเลือกลักษณะเป้าหมายได้หลายลักษณะพร้อมๆ กัน ทำให้ช่วยลดระยะเวลาการปรับปรุงพันธุ์โดยสามารถนำไปใช้ทดแทนการคัดเลือกลักษณะที่มีความยุ่งยากในการทดสอบ ซึ่งต้องใช้แรงงานและค่าใช้จ่ายสูง และต้องอาศัยการจัดการสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในขั้นตอนการพัฒนาและการคัดเลือกสายพันธุ์ใหม่ เช่น การประเมินลักษณะต้านทานแมลง ลักษณะคุณภาพการหุงต้มและรับประทาน เป็นต้น (สุริพร, 2557; Collard and Mackill, 2008; Toojinda et al., 2005) การพัฒนาพันธุ์ข้าวให้สามารถทนทานต่อสภาพภูมิอากาศวิกฤติหลายลักษณะ รวมทั้งต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลซึ่งเป็นศัตรูข้าวที่สำคัญจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของเกษตรกรในพื้นที่ปลูกข้าวอาศัยน้ำฝนในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือในอนาคต

Table 1 DNA markers used for genotypic selection of 5 target traits in F_2 and F_3 population.

Traits	Gene	Markers	Chr.	Parental contributor ^{1/}	Type of marker
1.BPH Resistance	<i>Bph₃</i>	RM586	6	UBN03078	Linked marker
		RM589	6	UBN03078	Linked marker
		SSR24	6	UBN03078	Linked marker
2.Submergence	<i>Sub1</i>	R10783indel	9	Howm Warin	Gene specific marker
3.Fragrance	<i>badh2</i>	Aromarker	8	Howm Warin	Gene specific marker
4.Low amylose content	<i>Wx^b</i>	Waxy	6	Howm Warin	Gene specific marker
5.Low gelatinization temperature	<i>SSIIa-TT</i>	SNP2340-41	6	Howm Warin	Gene specific marker

Note: ^{1/} Howm Warin = RGDU07343-9-13-26-3B-B-2, UBN03078 = UBN03078-101-342-4-141

Table 2 Genotype of selected F_3 progenies identified by DNA markers underlying the 5 target traits including BPH resistance, submergence tolerance (*Sub1*), grain aroma (*badh2*) and low amylose content (*Wx^b*) and low gelatinization temperature (*SSIIa-TT*).

Haplotype	Genotype of F_3 population ^{1/}	Number (plants)
H1	<i>Bph3^{KD/KD}</i> , <i>Sub1^{JIR/JIR}</i> , <i>badh2^{JIR/JIR}</i> , <i>Wx^{bJIR/JIR}</i> , <i>SSIIa-TT^{JIR/JIR}</i>	4
H2	<i>Bph3^{KD/KD}</i> , <i>Sub1^{JIR/JIR}</i> , <i>badh2^{JIR/KD}</i> , <i>Wx^{bJIR/JIR}</i> , <i>SSIIa-TT^{JIR/JIR}</i>	3
H3	<i>Bph3^{KD/KD}</i> , <i>Sub1^{JIR/KD}</i> , <i>badh2^{JIR/JIR}</i> , <i>Wx^{bJIR/JIR}</i> , <i>SSIIa-TT^{JIR/JIR}</i>	8
H4	<i>Bph3^{KD/KD}</i> , <i>Sub1^{JIR/KD}</i> , <i>badh2^{JIR/KD}</i> , <i>Wx^{bJIR/JIR}</i> , <i>SSIIa-TT^{JIR/JIR}</i>	4
H5	<i>Bph3^{KD/JIR}</i> , <i>Sub1^{JIR/JIR}</i> , <i>badh2^{JIR/JIR}</i> , <i>Wx^{bJIR/JIR}</i> , <i>SSIIa-TT^{JIR/JIR}</i>	6
H6	<i>Bph3^{KD/JIR}</i> , <i>Sub1^{JIR/KD}</i> , <i>badh2^{JIR/JIR}</i> , <i>Wx^{bJIR/JIR}</i> , <i>SSIIa-TT^{JIR/JIR}</i>	13
H7	<i>Bph3^{KD/JIR}</i> , <i>Sub1^{JIR/JIR}</i> , <i>badh2^{JIR/KD}</i> , <i>Wx^{bJIR/JIR}</i> , <i>SSIIa-TT^{JIR/JIR}</i>	1
H8	<i>Bph3^{KD/JIR}</i> , <i>Sub1^{JIR/KD}</i> , <i>badh2^{JIR/KD}</i> , <i>Wx^{bJIR/JIR}</i> , <i>SSIIa-TT^{JIR/JIR}</i>	4
H9	Other	84
Total		127

Note: ^{1/} KD = UBN03078-101-342-4-141, JIR = Jasmine IR57514 (Khao Jao Hawm Warin)

สรุป

การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวเจ้าหอมต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและทนน้ำท่วมฉับพลัน โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอช่วยคัดเลือกร่วมกับการคัดเลือกลักษณะทรงต้น สามารถพัฒนาสายพันธุ์ดีเด่น (introgression lines) จำนวน 4 สายพันธุ์ ที่มีลักษณะเป้าหมายลักษณะที่เป็นสายพันธุ์ทั้ง 5 ลักษณะ (*Bph3^{KD/KD}*, *Sub1^{JIR/JIR}*, *badh2^{JIR/JIR}*, *Wx^{bJIR/JIR}*, *SSIIa-TT^{JIR/JIR}*) สายพันธุ์ดังกล่าวจะปล่อยให้ผสมตัวเองเพื่อเพิ่มจำนวนเมล็ด และนำไปประเมินประสิทธิภาพเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใช้เป็นเครื่องมือช่วยในการคัดเลือกลักษณะเป้าหมายครั้งนี้ ได้แก่ ประเมินลักษณะต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ลักษณะทนน้ำท่วมฉับพลัน ลักษณะความหอม ลักษณะอุณหภูมิแป้งสุกต่ำ และลักษณะปริมาณอะไมโลสต่ำต่อไป

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจาก สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (สวก.) และทุนวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

เอกสารอ้างอิง

- กู่เกียรติ สร้อยทอง. 2554. การระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืชในการผลิตข้าวในเขตภาคกลางและภาคเหนือตอนล่าง. กรมการข้าว, กรุงเทพฯ.
- จิรพงศ์ ไจรินทร์. 2552. การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและมีคุณภาพเมล็ดเหมือนข้าวดอกมะลิ 105 โดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย. น.187-207. ใน การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว. กรมวิชาการเกษตร. ชลบุรี: โรงแรมซีพีรัช จอมเทียน รีสอร์ท พัทยา, ชลบุรี.
- เจตน์ ศศุภกษ, ภมร ปัตตาวะตัง, สุรเดช ปาละวิสุทธิ์ และจิรพงศ์ ไจรินทร์. 2558. การพัฒนาพันธุ์ข้าวปทุมธานี 1 ให้ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย. น.17-27. ใน: การสัมมนาวิชาการกลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคเหนือตอนบนและภาคเหนือตอนล่าง ครั้งที่ 8 ประจำปี 2558, 25-27 กุมภาพันธ์. 2558, เชียงราย.
- สุรีพร เกตุงาม. 2557. การปรับปรุงพันธุ์พืชระดับโมเลกุล. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, อุบลราชธานี.
- สุรีพร เกตุงาม, จิรพงศ์ ไจรินทร์, วชิราพรรณ บุญญาพุทธิพงศ์, สุภัฏญา คลังสินศิริกุล และอุไรวรรณ ศษสทิธย์. 2557. การพัฒนาสายพันธุ์ข้าว Jasmine IR57514 ให้ต้านทานโรคไหม้และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก. รายงานความก้าวหน้าฉบับสมบูรณ์ (สวก.). 68 หน้า.

- Bohn, M., S. Groh, M.M. Khairallah, D.A. Hoisington, H.F. Utz and A.E. Melchinger. 2001. Re-evaluation of the prospects of marker-assisted selection for improving insect resistance against *Diatraea* spp. in tropical maize by cross validation and independent validation. *Theor. Appl. Genet.* 103 (6-7): 1059–1067.
- Collard, B.C.Y., and D.J. Mackill. 2008. Marker assisted selection: approach for precision plant breeding in the twenty-first century. *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B.* 363: 557-572.
- Doyle, J.J. and, J. L. Doyle. 1990. Isolation of plant DNA from tissue. *Focus.* 12: 13-15.
- Kate-ngam, S., K. Riabroy, T. Toojinda, and U. Kotchasatit. 2011. Conversion of wide adapted rice cultivar IR57514 into Jasmine-like cooking quality through marker assisted backcrossing. p. 286. In BIT's 2nd World DNA and Genome Day-2011, 25th to 29th April 2011, Dalian World EXPO Center, China.
- Moreau, L., A. Charcosset, and A. Gallais. 2004. Experimental evaluation of several cycles of marker-assisted selection in maize. *Euphytica.* 137(1): 111–118.
- Toojinda, T., S. Tragoonrung, A. Vanavichit, J.L. Siangliw, N. Pa-in, J. Jantaboon, M. Siangliw, and S. Fukai. 2005. Molecular breeding for rainfed lowland rice in the Mekong region. *Plant Prod Sci.* 8: 330-333.
- Wang B.J., H.X. XU, X.S. Zheng, Q. Fu, and Z.X. LU. 2010. High temperature modifies resistance performances of rice varieties to brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål). *Rice Sci.* 17(4): 334-338.