

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจและค้นหายีนที่ควบคุมลักษณะความต้านทานต่อโรคไหม้ในข้าวพันธุ์พื้นเมืองไทย เพื่อศึกษาปฏิกิริยาการตอบสนองทางโรคพืชของข้าวที่มียีนต้านทานโรคไหม้ *Pi9* ต่อเชื้อราโรคไหม้สายพันธุ์ต่าง ๆ ในประเทศไทย และเพื่อศึกษาปฏิกิริยาการตอบสนองทางโรคพืชของข้าวพื้นเมืองไทยที่มียีนต้านทานโรคไหม้ต่อเชื้อราโรคไหม้สายพันธุ์ต่าง ๆ ในประเทศไทย ดำเนินการตรวจค้นจีโนมข้าวพันธุ์พื้นเมืองไทยเพื่อหายีนต้านทานโรคไหม้จำนวน 10 ยีน ประกอบด้วย ยีน *Pi9*, *Pi-d2*, *Pi36*, *Pi-ta*, *Pib*, *Pi1(t)*, *Pid3*, *Pi2(t)*, *Pi54*, และ *Pigm(t)* ในข้าวพื้นเมืองไทย รวม 201 พันธุ์ ประกอบด้วย พันธุ์ข้าวพื้นเมืองภาคเหนือ จำนวน 19 พันธุ์ พันธุ์ข้าวพื้นเมืองภาคใต้ จำนวน 38 พันธุ์ พันธุ์ข้าวพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 144 พันธุ์ (ข้าวนาสวนพื้นเมือง และข้าวขึ้นน้ำพื้นเมือง จำนวน 99 และ 45 พันธุ์ ตามลำดับ) โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่พัฒนาตรงตำแหน่ง ยีน (gene specific markers) จำนวน 8 เครื่องหมาย ได้แก่ *pB8-Pi9* (*Pi9*), *NBS2-Pi9* (*Pi9*), *Pi-d2*, *Pi-d3Cap1* (*Pid3*), *Pi-d3Cap2* (*Pid3*), *Pi-ta* (*Pita*), *Pibdom* (*Pib*) และ *Pi54indel* (*Pi54*) และ เครื่องหมายดีเอ็นเอที่ใกล้ชิดกับยีนต้านทานโรคไหม้ จำนวน 6 เครื่องหมาย ได้แก่ *R36STS* (*Pi36*), *RM1233* [*Pi1(t)*], *SSR140* [*Pi2(t)*], *Pi54SSR* (*Pi54*), *Pigm(t)C5483* [*Pigm(t)*] และ *Pigm(t)S2974* [*Pigm(t)*] พบว่าข้าวพื้นเมืองไทยส่วนใหญ่มียีนต้านทานโรคไหม้ *Pigm(t)* โดยพบในข้าวพื้นเมือง จำนวน 198 พันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 98.51 ของข้าวพื้นเมืองทั้งหมด รองลงมา ได้แก่ ยีนต้านทานโรคไหม้ *Pid3*, *Pi-d2*, *Pi-2(t)*, *Pi36*, *Pib*, *Pi9*, *Pi-ta*, *Pi-1(t)* และ *Pi54* ในพันธุ์ข้าวพื้นเมือง จำนวน 155, 137, 131, 120, 75, 57, 57, 36 และ 10 พันธุ์ ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละ 77.11, 68.16, 65.17, 59.70, 37.31, 28.36, 28.36, 17.91 และ 4.98 ของข้าวพื้นเมืองที่ทำการศึกษาทั้งหมด ตามลำดับ และจะพบยีนต้านทานโรคไหม้ *Pi1(t)*, *Pi36*, *Pi9* และ *Pi54* ในในข้าวไร่พื้นเมืองภาคเหนือมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 94.74, 84.21, 52.63 และ 52.63 ของข้าวไร่พื้นเมืองภาคเหนือที่ทำการศึกษาตามลำดับ ส่วนข้าวพื้นเมืองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือจะพบยีนต้านทานโรคไหม้ *Pigm(t)*, *Pi2(t)* และ *Pib* มากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 100, 84.72 และ 42.36 ของข้าวพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่ทำการศึกษตามลำดับ และในข้าวพื้นเมืองภาคใต้พบยีนต้านทานโรคไหม้ *Pid3* และ *Pigm(t)* ในทุกพันธุ์ที่ทำการตรวจสอบ และพบยีนต้านทานโรคไหม้ *Pi-d2* และ *Pita* รองลงมา คิดเป็นร้อยละ 97.37 และ 50.00 ของข้าวพื้นเมืองภาคใต้ที่ทำการศึกษา ตามลำดับ จากการตรวจค้นจีโนมยีนต้านทานโรคไหม้ในข้าวพื้นเมืองไทยจำนวน 10 ยีน ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่า ข้าวพื้นเมืองพันธุ์อู๊ปปง (Gs.3372) ซึ่งเป็นข้าวนาสวนพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือมียีนต้านทานโรคไหม้มากที่สุด จำนวน 9 ยีน ได้แก่ *Pi1(t)*, *Pi2(t)*, *Pi9*, *Pi36*, *Pi-d2*, *Pi-d3*, *Pi-ta*, *Pib* และ *Pigm(t)*



การศึกษาปฏิบัติการตอบสนองของข้าวที่มียืนต้นทานโรคไหม้ *Pi9* ต่อเชื้อสาเหตุโรคไหม้ *Magnaporthe grisea* จำนวน 8 ไอโซเลท ที่เก็บรวบรวมมาจากพื้นที่ต่างๆในประเทศไทย ได้แก่ BAG1.4, BAG2.4, BAG3.5, BAG4.4, BAG5.4, BAG7.2, BAG8.5 และ BAG9.2 โดยศึกษาในข้าว 3 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์นิบอบนบารุ พันธุ์นิบอบนบารุที่มียืน *Pi9* และพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พบว่าข้าวพันธุ์นิบอบนบารุที่มียืน *Pi9* สามารถต้านทานต่อเชื้อราโรคไหม้ได้ทั้ง 8 ไอโซเลท จากผลการศึกษาสามารถสรุปได้ว่าเชื้อราโรคไหม้ในประเทศไทยที่ทำการศึกษารังนี้ไม่สามารถเข้าทำลายข้าวข้าวจาปอนิกา พันธุ์นิบอบนบารุที่มียืนต้นทานโรคไหม้ *Pi9* ซึ่งเป็นยืนต้นทานต่อเชื้อราโรคไหม้แบบกว้างได้

การศึกษาปฏิบัติการตอบสนองของข้าวพื้นเมืองที่มียืนต้นทานโรคไหม้ จำนวน 28 พันธุ์ โดยใช้เชื้อ *M. grisea* จำนวน 10 ไอโซเลท ที่เก็บรวบรวมจากท้องที่ปลูกข้าวต่างๆในประเทศไทย พบว่าข้าวพื้นเมืองที่มียืนต้นทานโรคไหม้สามารถต้านทานโรคไหม้ในระดับสูง (R) ได้จำนวน 14 พันธุ์ ประกอบด้วยข้าวพื้นเมืองภาคเหนือ ข้าวพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และข้าวพื้นเมืองภาคใต้ จำนวน 10 พันธุ์ และ 3 พันธุ์ และ 1 พันธุ์ ตามลำดับ และข้าวพื้นเมืองที่มียืนต้นทานโรคไหม้สามารถต้านทานโรคไหม้ในระดับปานกลาง (MR) ได้จำนวน 5 พันธุ์ ซึ่งเป็นข้าวพื้นเมืองภาคเหนือ ทั้งหมด และ ไม่ต้านทาน (S) จำนวน 7 พันธุ์ ประกอบด้วยข้าวพื้นเมืองภาคใต้และข้าวพื้นเมืองภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 5 พันธุ์ และ 2 พันธุ์ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์การถดถอยเชิงเส้นพหุคูณ (multiple regression analysis) ของข้าวพื้นเมืองที่มียืนต้นทานโรคไหม้และปฏิบัติการตอบสนองต่อเชื้อ *M. grisea* พบว่า ลักษณะต้านทานโรคไหม้ที่เกิดขึ้นเป็นผลมาจากการทำงานเสริมกันของยืนต้นทานโรคไหม้หลายๆยืน โดยยืน *Pi9* และ *Pi54* มีอิทธิพลต่อลักษณะการต้านทานโรคไหม้มากที่สุด และเครื่องหมายดีเอ็นเอ Pi54SSR และ NBS2Pi9 มีความสัมพันธ์กับลักษณะต้านทานโรคไหม้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่า R^2 เท่ากับ 20.86 และ 20.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลมาจัดกลุ่มความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของยืนต้นทานโรคไหม้โดยอาศัยค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนทางพันธุกรรมของ Dice พบว่าสามารถจัดกลุ่มพันธุกรรมได้ 6 กลุ่ม โดยกลุ่มพันธุ์ข้าวที่ต้านทานโรคไหม้ส่วนใหญ่จะมียืน *Pi9* และ *Pi54*

ผลการศึกษารังนี้แสดงให้เห็นว่า ข้าวพื้นเมืองไทยเป็นแหล่งพันธุกรรมของยืนต้นทานโรคไหม้ที่สำคัญ เหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานโรคไหม้ต่อไป ดังนั้นจึงควรอนุรักษ์ข้าวพื้นเมืองเหล่านี้เอาไว้เพื่อไม่ให้สูญหายไปจากประเทศไทย

คำสำคัญ: ยืนต้นทานโรคไหม้ ข้าวพื้นเมือง การตรวจค้นจีโนมข้าว เครื่องหมายดีเอ็นเอ



Abstract

The objectives of this research were to investigate and to identify rice blast resistant genes in landrace Thai rice varieties as well as to evaluate disease spectrum of rice varieties containing *Pi9* resistant gene to rice blast fungus, *Magnaporthe grisea*, isolates in Thailand and also to evaluate the disease spectrum of landrace Thai rice varieties containing blast resistant genes to rice blast fungus isolates in Thailand. Ten rice blast resistant genes including *Pi9*, *Pi-d2*, *Pi36*, *Pi-ta*, *Pib*, *Pi(t)*, *Pid3*, *Pi2(t)*, *Pi54*, and *Pigm(t)* were screened in 201 landrace Thai rice varieties: 19 from the North, 38 from the South and 144 from the Northeast regions of Thailand (consisted 99 rainfed lowland and 45 floating rice varieties) using 8 gene specific markers (pB8-Pi9, NBS2-Pi9, Pi54indel, Pi-d2, Pi-d3Cap1, Pi-d3Cap2, Pi-ta and Pibdom) and 6 linked DNA markers (R36STS [*Pi36*], RM1233 [*Pi1(t)*], SSR140 [*Pi2(t)*], Pi54SSR [*Pi54*], Pigm(t)C5483 [*Pigm(t)*] และ Pigm(t)S2974 [*Pigm(t)*]).

The results showed that the majority of landrace Thai rice varieties, 198 from 201 (98.51%), contain rice blast resistant gene, *Pigm(t)*. Besides that 155 (77.11%), 137 (68.16%), 131 (65.17%), 120 (59.70%), 75 (37.31%), 57 (28.36%), 57 (28.36%), 36 (17.91%) and 10 (4.98%) varieties contain rice blast resistant gene *Pid3*, *Pi-d2*, *Pi-2(t)*, *Pi36*, *Pib*, *Pi9*, *Pi-ta*, *Pi-1(t)* and *Pi54* respectively. Our results also showed that 94.74%, 84.21%, 52.63%, and 52.63% of landrace Thai rice varieties from the North contain rice blast resistant genes, *Pi1(t)*, *Pi36*, *Pi9*, and *Pi54*, respectively. 100%, 84.72% and 42.36% of landrace Thai rice varieties from the Northeast contain rice blast resistant genes, *Pigm(t)*, *Pi2*, and *Pib*, respectively. *Pid3* and *Pigm(t)* were found in all of landrace rice varieties from the South in this study and *Pi-d2* and *Pita* were found accounted for 97.37% and 50% respectively. Our screening showed that E-pong rice variety (Gs.3372) from the Northeast is the landrace Thai rice variety containing the most rice blast resistant genes (9 genes) including *Pi1(t)*, *Pi2(t)*, *Pi9*, *Pi36*, *Pi-d2*, *Pi-d3*, *Pi-ta*, *Pib* and *Pigm(t)* in this study.

Three rice varieties: Nipponbare, Nipponbare with rice blast resistant gene, *Pi9*, and KDML105 were screened for rice blast disease reaction using 8 blast isolates collected from Thailand (BAG1.4, BAG2.4, BAG3.5, BAG4.4, BAG5.4, BAG7.2, BAG8.5 and



BAG9.2). Nipponbare with *Pi9* gene showed resistant reaction to all 8 blast isolates tested. From the results, it is suggested that rice blast resistant gene, *Pi9*, has a broad spectrum resistant to Thai blast isolates and is appropriated for rice blast resistant breeding program in Thailand.

Twenty-eight landrace Thai rice varieties containing several blast resistant genes (identified from DNA marker screening) were used for blast disease reaction rating with mixed 10 blast isolates collected in Thailand. The results revealed that 14 landrace Thai rice varieties showed resistant reaction (R). Ten, three and one varieties from the total of 14 varieties are from the North, the Northeast and the South respectively. Five landrace Thai rice varieties showed moderate resistant reaction (MR) which all comes from the North and 7 landrace Thai rice varieties showed susceptible reaction (S), 5 varieties from the South and 2 varieties from the Northeast. Multiple regression analysis between the rice blast resistant genes containing and the blast disease reaction revealed that the resistant reaction was the additive effect of several resistant genes which *Pi9* and *Pi54* have the most effect on blast resistant phenotype. DNA markers, *Pi54SSR* and *NBS2Pi9*, were statistically significant correlate with the disease reaction with R^2 equal to 20.86 and 20.33 percent respectively. The phylogenetic tree, constructed using genetic similarity calculated by DICE, showed 6 groups of landrace rice varieties which the resistant groups contain blast resistant genes, *Pi9* and *Pi54*.

The results from this study showed that landrace Thai rice varieties are an important source of blast resistant genes and they can be used in blast resistant breeding program. We should protect and preserve these valuable landrace Thai rice varieties for our sustainable rice production in Thailand.

Key words: blast resistant gene; landrace rice; rice genome screening;

DNA markers

