วารสารแก่นเกษตร
THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj

การตรวจหายีนต้านทานโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ ร่วมกับการประเมินระดับความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่ปลูกในบางพื้นที่ของภาคเหนือตอนล่าง ประเทศไทย

Screening of resistance genes using DNA markers and evaluation of resistance level to brown plant hoppers in local rice varieties grown in some areas of lower northern Thailand

สโรชา ทวาทศปกรณ์[1], สิทธิชัย อุดก่ำ[2], เดช วัฒนชัยยิ่งเจริญ[3] และ วันดี วัฒนชัยยิ่งเจริญ[4]*

Sarocha Thawathotsapakorn[1], Sittichai Urtgam[2], Det Wattanachaiyingcharoen[3] and Wandee Wattanachaiyingcharoen[4]*

[1] *สาขาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ตำบลท่าโพธิ์ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000*
[1] *Biological Sciences Program, Department of Biology, Faculty of Science, Naresuan University, Tha Pho, Muang, Phitsanulok 65000*
[2] *สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม จังหวัดพิษณุโลก 65000*
[2] *Biology Program, Faculty of Science and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok, 65000*
[3] *ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร ตำบลท่าโพธิ์ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000*
[3] *Department of Agricultural Sciences, Faculty of Agriculture, Natural Resource and Environment, Naresuan University, Tha Pho, Muang, Phitsanulok 65000*
[4] *ภาควิชาชีววิทยาและสถานวิจัยเพื่อความเป็นเลิศทางวิชาการด้านความหลากหลายทางชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ตำบลท่าโพธิ์ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000*
[4] *Department of Biology and Center of Excellence in Biodiversity, Faculty of Science, Naresuan University, Tha Pho, Muang, Phitsanulok 65000*

บทคัดย่อ: เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (brown planthopper, *Nilaparvata lugens*) เป็นแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญในประเทศไทย สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี ทำให้ยากต่อการควบคุม ประเทศไทยนับเป็นแหล่งความหลากหลายทางพันธุกรรมข้าว โดยเฉพาะข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่เป็นแหล่งของยีนต้านทานแมลงที่สำคัญ สามารถนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะต้านทานต่อแมลงในอนาคต งานวิจัยนี้ทำการตรวจสอบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอที่มีความจำเพาะต่อยีน *Bph3*, *Bph14* และ *Bph18*(t) ร่วมกับการประเมินระดับความต้านทานในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 20 สายพันธุ์ พบว่าข้าวทั้ง 20 สายพันธุ์ มียีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลอย่างน้อย 1 ยีน โดยข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง 2 สายพันธุ์ คือ ข้าวหอมดงและข้าวล้นครก มียีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้ง 3 ยีน (*Bph3*, *Bph14* และ *Bph18*(t)) และเมื่อประเมินระดับความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่าข้าวหอมดงมีระดับความต้านทานเมื่อประเมินในวันที่ 7 และ 14 อยู่ที่ระดับต้านทาน (R) และต้านทานปานกลาง (MR) ตามลำดับ แต่ข้าวล้นครกมีระดับความต้านลดลงไปอยู่ระดับอ่อนแอ (S) ในวันที่ 14 ส่วนข้าวเหลืองเกษตรและข้าวขาวชะลอ มีความต้านทานในระดับเดียวกับข้าวหอมดง แต่มียีนต้านทานเพียง 1 ยีน (*Bph3*) ข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองแต่ละสายพันธุ์มีระดับความต้านทานแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองยังมีความแปรผันทางพันธุกรรมที่เป็นประโยชน์ต่อการนำมาใช้ในการพัฒนาพันธุ์ข้าวให้มีความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ต่อไป

คำสำคัญ: เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล; ข้าวพื้นเมือง; เครื่องหมายดีเอ็นเอ; การประเมินระดับความต้านทาน

* Corresponding author: wandeew@nu.ac.th

Received: date; March 29, 2023 Accepted: date; June 1, 2023 Published: date;

ABSTRACTS: Brown planthopper (*Nilaparvata lugens*) is one of the most destructive insect pests of rice in Thailand. This insect has been adapting to their environment, making it difficult to control. Thailand is considered one of the rice genetic resources, especially local rice varieties, which are the source of important insect resistance genes and can be used in rice breeding programs for insect resistant varieties. This study aimed to determine brown planthopper resistance genes using gene-specific primers (*Bph3*, *Bph14*, and *Bph18*(t)) and evaluate resistance levels in 20 local rice varieties. The results showed that all 20 local rice varieties have at least one brown planthopper resistance gene, and two rice varieties i.e., Hom Dong and Lon Khrok rice carried all three brown planthopper resistance genes (*Bph3*, *Bph14*, and *Bph18*(t)). The evaluation for resistance to brown planthopper infestation showed that Hom Dong rice had the resistance levels (R) and moderately resistant (MR) on the 7th and 14th days after infestation, respectively. But the level of resistance decreased to susceptible level in Lon Khrok rice. Meanwhile, Lueang Kaset and Khao Chalo rice had the same level of resistance as Hom Dong rice but contained only one resistance gene (*Bph3*). Each local rice variety statistically differs in levels of resistance. Therefore, local rice varieties tested here showed the genetic variations that were beneficial for breeding programs on rice resistance varieties against brown plant hoppers.
Keywords: brown planthopper; local rice varieties; DNA marker; evaluation of resistance level

บทนำ

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (brown planthopper (BPH), *Nilaparvata lugens*) เป็นแมลงศัตรูข้าวที่สำคัญ สร้างความเสียหายต่อผลผลิตข้าวถึง 90% พบการระบาดมากที่สุดในพื้นที่เขตอบอุ่น เขตกึ่งร้อน และเขตร้อนของทวีปเอเชีย (Jena and Kim, 2010; Pati et al., 2019) ประเทศไทยมีการรายงานการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลอยู่ทั่วทุกภาค สร้างความเสียหายให้กับเกษตรกรในหลายพื้นที่ โดยในปี 2563 พบมีการระบาดในพื้นที่บริเวณภาคเหนือที่จังหวัดลำปาง ภาคเหนือตอนล่าง บริเวณจังหวัดเพชรบูรณ์ พิษณุโลก สุโขทัย และอุตรดิตถ์ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือในพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา และภาคกลาง นอกจากนี้ยังพบการระบาดเพิ่มขึ้นอยู่ตลอดทุกฤดูกาล ทำให้มีปัญหาต่อการควบคุมการแพร่ระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมาจนถึงในปัจจุบัน (กองวิจัย และพัฒนาข้าว กรมการข้าว, 2563) เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเป็นแมลงปากดูด สามารถเข้าทำลายต้นข้าวได้ทั้งในระยะกล้าถึงระยะออกรวง อาศัยการดูดกินน้ำเลี้ยงจากกาบใบข้าวบริเวณโคนต้นเหนือระดับน้ำเล็กน้อยหรือที่เส้นกลางใบหลังใบข้าว ส่งผลให้ต้นข้าวมีลักษณะใบเหลือง เมื่อมีอาการมากขึ้นต้นข้าวจะเหี่ยวและแห้งตาย เรียกอาการนี้ว่า “hopper burn” ซึ่งพฤติกรรมการเข้าทำลายข้าวดังกล่าวอาจได้รับอิทธิพลจากหลายปัจจัย อาทิ ความชื้นในอากาศสูง (มากกว่า 80%) อุณหภูมิประมาณ 25 ถึง 32 องศาเซลเซียส และพันธุ์ข้าวที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (ฐานัฏ และ วิภา, 2560; Haliru et al., 2020) ปัจจุบันแนวทางหนึ่งในการควบคุมการระบาดของแมลงศัตรูพืช คือการใช้พันธุ์ข้าวที่มีความต้านทานต่อแมลงศัตรูพืช โดยเฉพาะการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่มีความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากสายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่เป็นแหล่งพันธุกรรมสำหรับใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ ประเทศไทยเป็นแหล่งที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมของสายพันธุ์ข้าว โดยเฉพาะข้าวพื้นเมืองซึ่งเป็นสายพันธุ์ข้าวที่เกษตรกรมีการคัดเลือกกันเองในท้องถิ่นและเก็บรักษาสืบทอดต่อมา มีลักษณะเด่นคือ สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมได้ดี ทนต่อความแห้งแล้ง และมีความหลากหลายทางพันธุกรรม รวมทั้งเป็นแหล่งของยีนต้านทานต่อแมลงศัตรูพืช (Pusadee et al., 2014) อย่างไรก็ตามยีนต้านทานที่อยู่ในพืชจะมีกลไกในการต้านทานต่อการเข้าทำลายของแมลง 3 ลักษณะ คือ 1) ความไม่เหมาะสมของพืชในการที่จะเป็นพืชอาหารหรือพืชอาศัย 2) ลักษณะของพืชที่ส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตของแมลง เช่น เมื่อแมลงกินพืชนั้นเป็นอาหารจะทำให้แมลงมีโอกาสตายสูงหรือมีความสามารถในการอยู่รอดต่ำ และ 3) ความทนทานของพืชต่อการเข้าทำลายของแมลง (tolerance) (Hu et al., 2016) ปัจจุบันมีการพบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมข้าวไม่น้อยกว่า 35 ยีน และมีการพัฒนาเครื่องหมายดีเอ็นเอในการคัดเลือก (marker assisted selection) สายพันธุ์ข้าวที่มีลักษณะต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในประเทศไทยมีการนำเครื่องหมายดีเอ็นเอมาใช้ในการตรวจสอบการมียีนหรือไม่มียีนต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองไทย เช่น เช่น ยีน *Bph3*, *Bph11*, *Bph12*, *Bph14* และ *Bph15* เป็นต้น เพื่อใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าว (จิรพงศ์ และคณะ, 2552; Haliru et al., 2020) นอกจากนี้ในประเทศไทยมีการรายงานการนำเครื่องหมายมาใช้ในการพัฒนาพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากยีน *Bph3* เนื่องจากสามารถต้านทานได้ดีต่อประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่พบในหลายจังหวัดของประเทศไทย ในขณะ

ที่ยีน *Bph14* มีการรายงานการนำยีนดังกล่าวไปช่วยในการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวและปรับปรุงข้าวให้ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในหลายประเทศ ส่วนยีน *Bph18*(t) ที่มีการรายงานสามารถต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้บางสายพันธุ์ แต่ยังไม่มีการนำมาศึกษาหรือทดสอบกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในประเทศไทย รวมทั้งยังไม่มีการนำมาใช้ในการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่มีความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (จิรพงศ์ และคณะ, 2552; Jairin et al., 2007a) อย่างไรก็ตามในการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่มีความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอเพียงอย่างเดียวอาจจะไม่เพียงพอ จึงมีการนำมาใช้ร่วมกับการคัดเลือกด้วยลักษณะทางฟีโนไทป์ (phenotype screening) ของสายพันธุ์ข้าว โดยการประเมินจากระดับความต้านทานของต้นข้าวที่มีต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ซึ่งจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการคัดเลือกเพื่อให้ได้สายพันธุ์ข้าวที่มีลักษณะต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (Collard and Markill, 2008) งานวิจัยนี้จะทำการตรวจสอบหายีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในสายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่ปลูกในพื้นที่ภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย บริเวณจังหวัดพิษณุโลก สุโขทัย ตาก และพิจิตร ร่วมกับการประเมินระดับความต้านทานของข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ซึ่งผลการศึกษาที่ได้จะเป็นข้อมูลของแหล่งพันธุกรรมเชื้อพันธุ์ของสายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองในท้องถิ่น สำหรับนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวของไทยให้มีความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล รวมถึงเพื่อการส่งเสริมและอนุรักษ์พันธุ์ข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองของไทยต่อไป

วิธีการศึกษา

การเตรียมตัวอย่างข้าวและการสกัดดีเอ็นเอ

นำข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่มีการปลูกโดยเกษตรกรในจังหวัดพิษณุโลก สุโขทัย ตาก และพิจิตร จำนวน 20 สายพันธุ์ **(Table 1)** ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลกมาเพาะ จนกระทั่งเมล็ดงอกจึงย้ายมาปลูกในกระถาง เมื่อข้าวมีอายุประมาณ 2-3 สัปดาห์ นำใบอ่อนของข้าวประมาณ 50-80 mg มาสกัดดีเอ็นเอด้วยวิธี Cetyltrimethyl ammonium bromide method (CTAB) ซึ่งดัดแปลงจาก Doyle and Doyle (1987) และนำดีเอ็นเอที่ได้มาตรวจสอบโดยการแยกแถบดีเอ็นเอด้วยกระแสไฟฟ้าใน 1% agarose gel แล้วตรวจสอบภายใต้เครื่อง Gel documentation (Bio-Rad, USA) และนำดีเอ็นเอที่สกัดได้ไปใช้ในการตรวจสอบหายีนต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลต่อไป

Table 1 List of local rice varieties used in this study

No.	Varieties name	Source	No.	Varieties name	Source
1	Hom Khrua (ข้าวหอมครัว)	Phitsanulok	12	Lueang Luang (ข้าวเหลืองหลวง)	Tak
2	Lon Khrok (ข้าวล้นครก)	Phitsanulok	13	Phuang Dokmali (ข้าวพวงดอกมะลิ)	Tak
3	Khao Namkhang (ข้าวขาวน้ำค้าง)	Phitsanulok	14	Phuang Kradat (ข้าวพวงกระดาษ)	Tak
4	Saibua (ข้าวสายบัว)	Phitsanulok	15	Sanpa Tong Luang (ข้าวสันป่าตองหลวง)	Tak
5	Kula Lut Ni (ข้าวกุลาหลุดหนี้)	Sukhothai	16	Kluai Pi (ข้าวกล้วยปี)	Tak
6	Ta Khaek (ข้าวตาแขก)	Sukhothai	17	Chet Ruang (ข้าวเจ็ดรวง)	Phichit
7	Khat NaPho (ข้าวคัดนาโพธิ์)	Sukhothai	18	Khao Ko Diao Nak (ข้าวขาวกอเดียวหนัก)	Phichit
8	ThongYoi (ข้าวทองย้อย)	Sukhothai	19	Lueang Kaset (ข้าวเหลืองเกษตร)	Phichit
9	Phut Tam (ข้าวพุดตำ)	Sukhothai	20	Khao Chalo (ข้าวขาวชลอ)	Phichit
10	Hom Dong (ข้าวหอมดง)	Sukhothai	21	Chainat 1 (Resistant check)	-
11	Phichit (ข้าวพิจิตร)	Tak	22	Hom Mali 105 (susceptible check)	-

การตรวจสอบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะ

นำดีเอ็นเอของตัวอย่างข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 20 สายพันธุ์มาเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม โดยกระบวนการ Polymerase Chain Reaction (PCR) (Mullis et al., 1986) ในปฏิกริยาที่มีปริมาตรรวม 25 µl ประกอบด้วยดีเอ็นเอ 20 ng บัฟเฟอร์สำหรับปฏิกิริยา PCR (10X buffer) ปริมาตร 2.5 µl, 2 mM $MgCl_2$, 10 mM dNTP, 1unit *Taq* DNA polymerase ตามวิธีของบริษัท Invitrogen (USA) และ10 µM Forward primer และ Reverse primer ที่จำเพาะต่อยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จำนวน 3 คู่ คือ

- *Bph3* (*Bph3*-F; ATCATGGTCGGTGGCTTAAC และ *Bph*3-R; CAGGTTCCAACCAGACACTG) (Jairin et al., 2007),
- *Bph14* (*Bph14*-F; AGACCAGAAGCTATTCGGACTCC และ *Bph14*-R; TGTGAAGGGTGTGTGTGTGTCAC) (Du et al., 2009),
- *Bph18*(t) (*Bph18*(t)-F;ACGGCGGTGAGCATTGG และ *Bph18*(t) -R; TACAGCGAAAAGCATAAAGAGTC) (Jena et al., 2006)

จากนั้นทำการเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมด้วยสภาวะที่เหมาะสม ดังนี้ pre-denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที ตามด้วยขั้นตอน denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที ขั้นตอน annealing ที่อุณหภูมิที่เหมาะสม (ยีน *Bph3* ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ยีน *Bph14* ที่อุณหภูมิ 58 องศาเซลเซียส และยีน *Bph18(t)* ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส) นาน 30 วินาที ขั้นตอน extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที ทำซ้ำตั้งแต่ขั้นตอน denaturation ถึง extension จำนวน 35 รอบ

และขั้นตอนสุดท้าย final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที และตรวจสอบผลผลิตของยีน *Bph3*, *Bph14* และ *Bph*18(t) ด้วยกระแสไฟฟ้าใน 2% TBE agarose gel แล้วตรวจสอบด้วยเครื่อง Gel documentation

การประเมินลักษณะระดับความต้านทานของข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

ทำการประเมินระดับความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลของข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองจำนวน 20 สายพันธุ์ โดยเปรียบเทียบกับข้าวสายพันธุ์มาตรฐานที่ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล คือ ข้าวชัยนาท 1 และข้าวสายพันธุ์มาตรฐานอ่อนแอ 1 สายพันธุ์ คือ ข้าวหอมมะลิ 105 โดยปลูกข้าวในกระถางที่วางไว้ในกรงตาข่ายถี่ป้องกันแมลง วางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design, RCBD) จำนวน 6 ซ้ำ เมื่อข้าวมีอายุ 21 วัน นำตัวอ่อนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลวัยที่ 2 ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลกมาปล่อยลงในกรงที่มีต้นข้าวที่ต้องการทดสอบ จำนวน 10 ตัว/กระถาง ตามวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Jena et al. (2015) หลังจากนั้นทำการให้คะแนนเพื่อประเมินความต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลด้วยวิธีการ Standard Seedbox Screening Test (SSST) โดยทำการประเมินความเสียหายของต้นข้าวแต่ละสายพันธุ์ ในวันที่ 7, 14 และ 21 หลังจากปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลไว้ในกรง ให้คะแนนระดับความต้านทานเป็นตัวเลขตั้งแต่ 0-9 ดัง **Table 2** ตามวิธีมาตรฐานของสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (Standard Evaluation System, SES) (IRRI, 2013)

Table 2 Standard evaluation system of brown planthopper resistance in rice

Scale	Damage	Resistance level
0	No damage (ต้นข้าวไม่มีการเสียหาย)	HR
1	Very slight damage (ต้นข้าวมีความเสียหายเล็กน้อย)	R
3	Frist and second leave of most plants partially yellowing. (ใบข้าวใบที่ 1-2 ด้านล่างบางส่วนสีเหลือง)	MR
5	Pronounced yellowing and stunting or about 10 to 25% of plants severely stunted or drying (ใบข้าวมีสีเหลืองและแคระแกร็น หรือประมาณ 10 - 25% ของพืชที่เหี่ยวเฉาหรือตาย)	MS
7	More than half of the plants dead (ต้นข้าวตายมากกว่า 50%)	S
9	All plant dead (ต้นข้าวตายทั้งหมด)	HS

ระดับความต้านทาน HR = highly resistant (ต้านทานสูง); R = resistant (ต้านทาน); MR = moderately resistant (ต้านทานปานกลาง); MS = moderately susceptible (อ่อนแอปานกลาง); S = susceptible (อ่อนแอ); HS = highly susceptible (อ่อนแอมาก)

การวิเคราะห์สถิติ

นำค่าเฉลี่ยระดับความต้นทานที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระดับความต้านทานของข้าวแต่ละสายพันธุ์ด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($P < 0.05$) ด้วยโปรแกรม SPSS Statistics 17

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การตรวจสอบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens*)

จากการตรวจสอบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลโดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะต่อยีน *Bph3*, *Bph14* และ *Bph18*(t) ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 20 สายพันธุ์ พบว่า เมื่อตรวจสอบด้วยยีน *Bph3* ปรากฏแถบดีเอ็นเอ ที่มีขนาด 200 bp **(Figure 1A)** ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 19 สายพันธุ์ (95%) ยกเว้น ข้าวหอมครัว ซึ่งจากรายงานของ Zhi-juan et al. (2016) ที่ใช้ยีน *Bph3* ในการตรวจหายีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวเพื่อใช้ในการปรับปรุงพันธ์ จำนวน 5 สายพันธุ์ พบแถบดีเอ็นเอมีขนาดประมาณ

200 bp เช่นเดียวกัน ในขณะที่เมื่อใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีน *Bph14* พบยีนนี้ในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง เพียง 5 สายพันธุ์ (25%) คือ ข้าวล้นครก ข้าวกุลาหลุดหนี้ ข้าวทองย้อย ข้าวพุดตำ และข้าวหอมดง โดยแสดงแถบดีเอ็นเอที่มีขนาด 700 bp **(Figure 1B)** เช่นเดียวกับการรายงานของ Hu et al. (2018) ที่ตรวจสอบพบยีน *Bph14* ในข้าวสายพันธุ์ R106 ส่วนยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Bph18*(t) สามารถพบในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 9 สายพันธุ์ (45%) คือ ข้าวหอมครัว ข้าวล้นครก ข้าวสายบัว ข้าวตาแขก ข้าวคัดนาโพธิ์ ข้าวหอมดง ข้าวพิจิตร ข้าวพวงกระดาษ และข้าวเจ็ดรวง โดยมีขนาดดีเอ็นเอประมาณ 1.1 kb **(Figure 1C)** เช่นเดียวกับ Nogoy et al. (2016) ที่พบในข้าวป่า *Oryza australiensis* รหัส IR65482-7-216-1-2 โดยเป็นแอลลีลต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

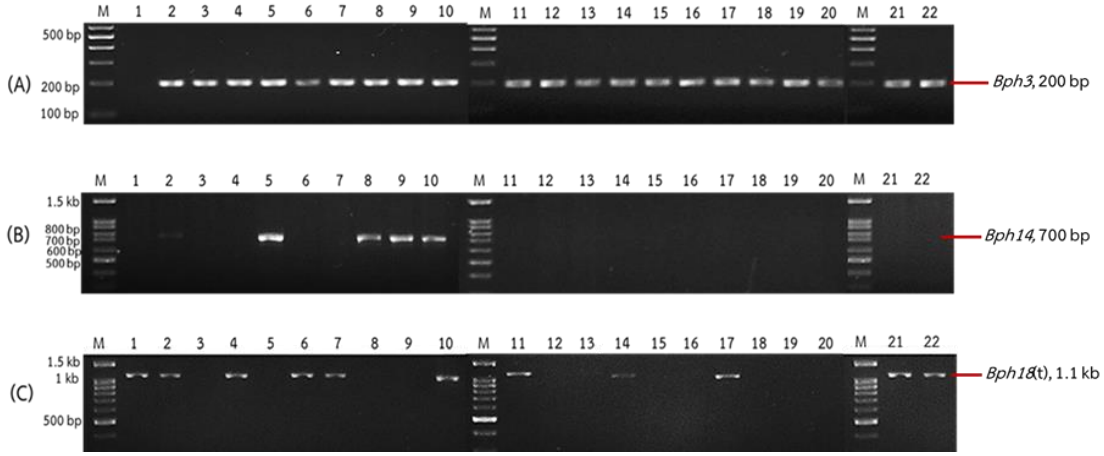

Figure 1 The banding pattern of 20 local rice varieties showed the presence and absence of the brown planthopper gene. (A) *Bph3* gene; (B) *Bph14* gene; (C) *Bph18*(t) gene; (M) 100 bp DNA ladder (1) Hom Khrua (2) Lon Khrok (3) Khao Namkhang (4) Saibua (5) Khao Kula Lut Ni (6) Ta Khaek (7) Khat NaPho (8) ThongYoi (9) Phut Tam (10) Hom Dong (11) Phichit (12) Lueang Luang (13) Phuang Dokmali (14) Phuang Kradat (15) Sanpa Tong Luang (16) Kluai Pi (17) Chet Ruang (18) Khao Ko Diao Nak (19) Lueang Kaset (20) Khao Chalo (21) Chainat 1 and (22) Hom Mali 105

การประเมินระดับความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง

การประเมินระดับความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 20 สายพันธุ์ ในวันที่ 7, 14 และ 21 หลังจากปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเปรียบเทียบกับข้าวชัยนาท 1 (สายพันธุ์ต้านทาน) และข้าวหอมมะลิ 105 (สายพันธุ์อ่อนแอ) ด้วยวิธี standard seedbox screening test (SSST) พบว่าระดับความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมีความแตกต่างทางสถิติระหว่างสายพันธุ์ต่างๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) **(Table 3)** โดยเมื่อประเมินระดับความต้านทานหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 7 วัน ใบข้าวบางส่วนบริเวณด้านล่างของลำต้นจะเริ่มแสดงอาการหลืองให้เห็นชัดเจน สายพันธุ์ข้าวที่มีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลใบข้าวจะมีลักษณะอาการเหี่ยวเฉาหรือตายทั้งต้น

Table 3 The reaction of 20 local rice varieties to an infestation of brown plant hopper (*Nilaparvata lugens*)

No.	Varieties	Brown planthopper resistance genes			Level of resistance to brown planthopper					
					7 days		14 days		21 days	
		Bph 3	*Bph14*	*Bph18*(t)	Rating[1/] (mean ± SD)	Resistance level[2/]	Rating (mean ± SD)	Resistance level	Rating (mean ± SD)	Resistance level
1	Hom Khrua			√	3.40 ± 0.89 bc	MR	5.80 ± 1.10 cd	MS	9.00 ± 0.00 a	HS
2	Lon Khrok	√	√	√	3.40 ± 0.89 bc	MR	7.00 ± 0.00 bc	S	9.00 ± 0.00 a	HS
3	Khao Namkhang	√			7.00 ± 0.00 a	S	7.80 ± 1.10 ab	S	9.00 ± 0.00 a	HS
4	Saibua	√		√	3.80 ± 1.79 b	MR	7.80 ± 1.10 ab	S	9.00 ± 0.00 a	HS
5	Khao Kula Lut Ni	√	√		3.80 ± 1.79 b	MR	7.00 ± 0.00 bc	S	9.00 ± 0.00 a	HS
6	Ta Khaek	√		√	3.40 ± 0.89 bc	MR	7.00 ± 0.00 bc	S	9.00 ± 0.00 a	HS
7	Khat NaPho	√		√	1.40 ± 0.89 c	R	7.00 ± 0.00 bc	S	9.00 ± 0.00 a	HS
8	ThongYoi	√	√		3.40 ± 0.89 bc	MR	7.00 ± 0.00 bc	S	9.00 ± 0.00 a	HS
9	Phut Tam	√	√		1.40 ± 0.89 c	R	5.80 ± 1.10 cd	MS	9.00 ± 0.00 a	HS
10	Hom Dong	√	√	√	1.40 ± 0.89 c	R	4.60 ± 0.89 d	MR	7.40 ± 0.89 b	S
11	Phichit	√		√	6.20 ± 2.68 a	MS	7.00 ± 0.00 bc	S	9.00 ± 0.00a	HS
12	Lueang Luang	√			1.80± 1.79 bc	R	7.80 ± 1.10 ab	S	9.00 ± 0.00 a	HS
13	Phuang Dokmali	√			6.60 ± 2.19 a	MS	7.80 ± 1.10 ab	S	9.00 ± 0.00 a	HS
14	Phuang Kradat	√		√	1.40 ± 0.89 c	R	5.80 ± 1.10 cd	MS	9.00 ± 0.00 a	HS
15	Sanpa Tong Luang	√			6.60 ± 2.19 a	MS	7.80 ± 1.10 ab	MS	9.00 ± 0.00 a	HS
16	Kluai Pi	√			3.40 ± 0.89 bc	MR	7.80 ± 1.10 ab	S	9.00 ± 0.00 a	HS
17	Chet Ruang	√		√	3.00 ± 0.00 bc	MR	7.80 ± 1.10 ab	S	9.00 ± 0.00 a	HS
18	Khao Ko Diao Nak	√			6.60 ± 2.19 a	MS	7.80 ± 1.10 ab	S	9.00 ± 0.00 a	HS
19	Lueang Kaset	√			1.40 ± 0.89 c	R	4.60 ± 0.89 d	MR	7.40 ± 0.89 b	S
20	Khao Chalo	√			1.40 ± 0.89 c	R	4.60 ± 0.89 d	MR	7.40 ± 0.89 b	S
21	Chainat 1	√		√	3.00 ± 0.00 bc	MR	4.60 ± 1.67 d	MR	3.80 ± 1.10 c	MR
22	Hom Mali 105	√		√	7.80 ± 1.79 a	MS	9.00 ± 0.00 a	HS	9.00 ± 0.00 a	HS

1/ Mean that follow the same letters were not statistically different at 95% by DMRT method; [a, b, c, d] Average of six replication; each replication had ten nymphs BPH on 21 day old potted plants.

2/HR = highly resistant (ต้านทานสูง); R = resistant (ต้านทาน); MR = moderately resistant (ต้านทานปานกลาง); MS = moderately susceptible (อ่อนแอปานกลาง); S = susceptible (อ่อนแอ); HS = highly susceptible (อ่อนแอมาก)

ผลการประเมินความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามารถจำแนกสายพันธุ์ข้าวที่มีระดับความต้านทานแตกต่างกันเมื่อประเมินในวันที่ 7 ได้ดังนี้ สายพันธุ์ข้าวที่มีระดับความต้านทาน (R) มีระดับความต้านทานเฉลี่ยของต้นข้าว เท่ากับ 1.46 ± 0.89 จำนวน 7 สายพันธุ์ คือ ข้าวคัดนาโพธิ์ ข้าวพุดตำ ข้าวหอมดง ข้าวเหลืองหลวง ข้าวพวงกระดาษ ข้าวเหลืองเกษตร และข้าวขาวชะลอ สายพันธุ์ข้าวที่มีระดับความต้านทานปานกลาง (MR) มีจำนวน 8 สายพันธุ์ มีระดับความต้านทานเฉลี่ยของต้นข้าวเท่ากับ 3.45 ± 1.01 สายพันธุ์

ข้าวที่มีความอ่อนแอระดับปานกลาง (MS) มีจำนวน 4 สายพันธุ์ และระดับความต้านทานเฉลี่ยของต้นข้าว เท่ากับ 6.5 ± 2.31 และสายพันธุ์ข้าวที่มีความอ่อนแอ (S) ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล มีจำนวน 1 สายพันธุ์ คือ ข้าวขาวน้ำค้าง มีระดับความต้านทานเฉลี่ยของต้นข้าวเท่ากับ 7.00 ± 0.00 **(Figure 2)** เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวชัยนาท 1 ที่เป็นข้าวสายพันธุ์ต้านทานมาตรฐาน พบว่ามีระดับความต้านทานเฉลี่ย เท่ากับ 3.00 ± 0.00 อยู่ในระดับความต้านทาน MR และข้าวหอมมะลิ 105 มีระดับอ่อนแอปานกลาง มีระดับความต้านทานเฉลี่ยของต้นข้าวเท่ากับ 7.80 ± 1.79 ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิต ($p < 0.05$) เมื่อเก็บข้อมูลต่อไปจนถึง 14 วัน พบว่าข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ ข้าวหอมดง ข้าวเหลืองเกษตร และข้าวขาวชลอ มีระดับความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลดลงไปอยู่ที่ระดับปานกลาง (MR) มีระดับความต้านทานเฉลี่ยของต้นข้าวเฉลี่ยเท่ากับ 4.60 ± 0.89 ส่วนสายพันธุ์ข้าวที่เหลือมีระดับความต้านทานเฉลี่ยของต้นข้าวเฉลี่ยเท่ากับ 7.45 ± 1.62 จำนวน 15 สายพันธุ์ ซึ่งมีระดับความต้านทานลดลงจากเดิมไปจนถึงระดับอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในขณะที่ข้าวอีก 2 สายพันธุ์ คือ ข้าวขาวน้ำค้าง และข้าวสันป่าตองหลวง พบมีระดับความต้านทานเท่าเดิมจากวันที่ 7 อยู่ที่ S และ MS ตามลำดับ จากการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลต่อเนื่องจนถึงวันที่ 14 ส่งผลให้ต้นข้าวมีลักษณะเหี่ยวและตาย และเมื่อประเมินระดับความต้านทานที่ 21 วัน หลังจากปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่าข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 20 สายพันธุ์ มีความต้านทานอยู่ในระดับอ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล **(Table 3)** ใบข้าวมีสีเหลืองและต้นข้าวทั้งหมดแห้งตาย หรือที่เรียกว่า อาการไหม้ (hopper burn) (ฐานัฏ และ วิภา, 2560) ดังนั้นผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองมีระดับความต้านทานแตกต่างกันตั้งแต่ระดับต้านทาน (R) จนไปถึงระดับอ่อนแอ (S) เมื่อถูกเข้าทำลายจากเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลไม่เกิน 14 วัน อย่างไรก็ตามข้าวพื้นเมืองเหล่านี้มีลักษณะอาการอ่อนแอและตายทั้งหมดเมื่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลนานขึ้น (21 วัน) ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลซึ่งเป็นแมลงปากดูดเข้าทำลายข้าว จะดูดกินน้ำเลี้ยงจากท่ออาหาร ทำให้ต้นข้าวมีปริมาณน้ำไม่เพียงพอหรืออาจจะเกิดสภาวะขาดน้ำ ทำให้พืชมีการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง มีผลให้การสังเคราะห์น้ำตาลและแป้งในพืชลดลง และเกิดสารประกอบออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยา (Reactive oxygen species; ROS) ซึ่งสารเหล่านี้จะเข้าทำลายองค์ประกอบของเซลล์ เช่น ดีเอ็นเอ โปรตีน เยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เซลล์พืชเกิดความเสียหายจนมีผลต่ออัตราการสังเคราะห์แสง การเจริญเติบโต และการให้ผลผลิตของข้าวลดลง รวมทั้งส่งผลให้ข้าวแสดงอาการแห้งและตายไป (Watanabe and Kitagawa, 2000; Cha-um et al. 2007; Kumar et al., 2021)

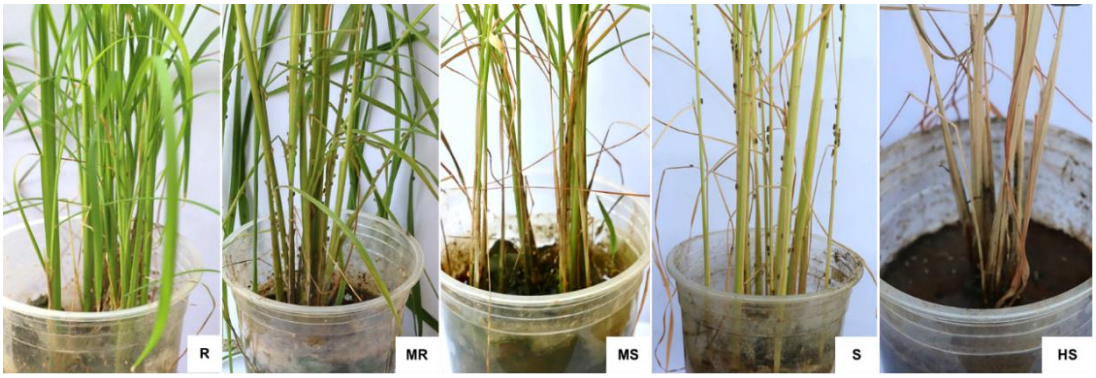

Figure 2 Examples of symptoms characteristic of each resistance level of brown planthopper infestation. Resistance level: R = Resistant; MR = Moderately resistant; MS = Moderately susceptible; S = Susceptible; HS = Highly susceptible.

ความสัมพันธ์ระหว่างยีนต้านทานและระดับความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง

เมื่อเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของการมียีนในข้าวสายพันธุ์ต่าง ๆ และระดับความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่า ข้าวหอมดงมียีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้ง 3 ยีน (*Bph3*, *Bph14* และ *Bph18*(t)) และมีระดับต้านทานอยู่ที่ระดับต้านทาน (R) และต้านทานปานกลาง (MR) ในวันที่ 7 และ 14 ตามลำดับ ในขณะที่ข้าวล้นครก ถึงแม้ว่าจะตรวจพบยีนต้านทาน

ทั้ง 3 ยีน (*Bph3*, *Bph14* และ *Bph18*(t)) เช่นเดียวกับข้าวหอมดง แต่มีระดับความต้านทานอยู่ที่ระดับปานกลาง (MR) ในวันที่ 7 และเมื่อเก็บข้อมูลต่อไปถึงวันที่ 14 ต้นข้าวมีระดับความต้านทานลดลงไปเป็นระดับอ่อนแอ (S) นอกจากนี้ในวันที่ 7 ยังพบข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง 6 สายพันธุ์ ที่มีจำนวนยีนต้านทาน 1-2 ยีน และมีระดับความต้านทานอยู่ที่ระดับต้านทาน (R) ดังนี้ ข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่พบยีนต้านทาน 2 ยีน คือ ข้าวคัดนาโพธิ์ ข้าวพุดตำ และข้าวพวงกระดาษ มีความต้านทานอยู่ที่ระดับต้านทาน (R) ในขณะที่ข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 3 สายพันธุ์ที่พบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพียง 1 ยีน คือ ข้าวเหลืองหลวง ข้าวเหลืองเกษตร และข้าวขาวชลอ ซึ่งมีระดับความต้านทานอยู่ที่ต้านทาน (R) เช่นเดียวกับข้าวที่พบยีนต้านทาน 3 ยีน และ 2 ยีน และข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองที่มีระดับต้านทานปานกลาง (MR) มีจำนวน 8 สายพันธุ์ ระดับอ่อนแอปานกลาง (MS) มีจำนวน 3 สายพันธุ์ และระดับอ่อนแอ (S) มีจำนวน 1 สายพันธุ์ โดยข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองเหล่านี้มียีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพียง 1 ยีน หรือหลายยีน และแสดงระดับความต้านทานต่อการเข้าทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่แตกต่างกัน และเมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์ต้านทานมาตรฐาน คือ ข้าวชัยนาท 1 ที่มีระดับความต้านทานอยู่ที่ปานกลาง (MR) และพบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 2 ยีน คือ *Bph3* และ *Bph18*(t) เช่นเดียวกับข้าวหอมมะลิ 105 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีระดับความต้านทานอยู่ที่อ่อนแอมาก (HS) ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และเมื่อเก็บข้อมูลไปจนถึงวันที่ 14 และในวันที่ 21 พบข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองทุกสายพันธุ์มีระดับความต้านทานลดลงไปอยู่ที่ระดับอ่อนแอ (S) หรืออ่อนแอมาก (HS)

ซึ่งจากการศึกษาโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอตรวจสอบร่วมกับการประเมินระดับความต้านทานอาจสรุปความสัมพันธ์ดังกล่าวว่า การที่ข้าวมียีนต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Bph3, Bph14* หรือ *Bph18*(t) อาจมีผลต่อการแสดงลักษณะความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่แตกต่างกัน จากผลการศึกษาครั้งนี้ พบว่าข้าวสายพันธุ์ที่มีระดับความต้านทานมาก อาจจะมียีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้ง 3 ยีน หรือ 2 ยีน หรือแม้แต่ข้าวบางสายพันธุ์ที่มียีนต้านทานเพียง 1 ยีน ยังสามารถแสดงความต้านทานต่อการเข้าทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ เช่นเดียวกันกับข้าวสายพันธุ์เปรียบเทียบทั้ง 2 สายพันธุ์ คือ ข้าวชัยนาท 1 (พันธุ์ต้านทาน) และข้าวหอมมะลิ 105 (พันธุ์อ่อนแอ) ที่มียีนต้านทาน 2 ยีน คือ *Bph3* และ *Bph18*(t) เช่นเดียวกัน แต่มีระดับความต้านทานที่แตกต่างกัน การที่ข้าวที่มียีนต้านทานเพียงยีนเดียวและยังสามารถแสดงความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้เป็นความสัมพันธ์ในรูปแบบของยีนต่อยีน (gene-for-gene relationship) (Flor, 1942) กล่าวคือ เมื่อแมลงมียีน avirulence (*avr*) หรือ Elicitors ที่สามารถเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างพันธุ์พืช (race-cultivar interaction) โดยหากแมลงมียีน *avr* ที่มีปฏิสัมพันธ์ร่วมกันกับยีน resistance (R) ที่เป็นยีนเด่นของพืช จะเกิดการชักนำให้พืชแสดงปฏิกิริยา hypersensitive response (HR) ภายใน 48 ชั่วโมงหลังจากพืชถูกบุกรุกหรือเข้าทำลายของแมลง เรียกปฏิสัมพันธ์นี้ว่า incompatible interaction ส่งผลให้พืชแสดงปฏิกิริยาอ่อนแอต่อแมลง แต่ถ้าหากแมลงไม่มียีน *avr* หรือมียีน *avr* ที่ไม่เกิดปฏิสัมพันธ์กับยีน R ของพืช จะทำให้พืชไม่สามารถรับรู้หรือจดจำการเข้าทำลายของแมลงได้ แมลงจึงเข้าทำลายพื้นผิวและภายในพืชไม่ได้ เรียกปฏิสัมพันธ์ในลักษณะนี้ว่า compatible interaction พืชจะแสดงลักษณะที่ต้านทานต่อการเข้าทำลายของแมลง (Kobayashi, 2016; Jing et al., 2017) นอกจากนี้เมื่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายต้นข้าว ส่งผลกระทบต่อยีนที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันพืช รวมทั้งการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน (immune response) ของข้าวต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มีการกระตุ้นการส่งสัญญาณของ jasmonic acid (JA) และ salicylic acid (SA) และการควบคุมการผลิต Ethylene (ET) ทำให้มีการปล่อย ET ในพืชเพิ่มขึ้น ภายใน 72 ชั่วโมง ซึ่งจะไปกระตุ้นการทำงานของ callose ทำให้บริเวณท่อน้ำเลี้ยงของพืชสามารถต้านทานต่อการดูดกินของแมลงได้ นอกจากนี้การถอดรหัสของยีนกับวิถีของ JA (JA pathway) จะเกิดการเปลี่ยนแปลงในต้นข้าวหลังจากถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลาย เนื่องจากการทำงานของวิถี JA ส่วนหนึ่งเกิดจากการที่ในต้นข้าวมียีนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่มีโครงสร้างโปรตีนที่ทำหน้าที่กระตุ้นการเพิ่ม/ลด หรือไม่ได้มีผลต่อการทำงานใน pathway นี้ ทำให้ต้นข้าวแสดงอาการต้านทาน และอ่อนแอที่แตกต่างกัน (Hao et al., 2008; Hu et al., 2011) ซึ่งจากการรายงานของ Du et al. (2009) ที่ทำการศึกษายีน *Bph14* ซึ่งเป็นยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเช่นเดียวกับที่ทำการตรวจสอบในการศึกษาครั้งนี้ พบว่ายีน *Bph14* กำกับการสร้างโปรตีน coiled-coil, nucleotide-binding และ leucine-rich repeat (CC-NB-LRR) เมื่อต้นข้าวมียีนนี้จะส่งผลต่อการทำงานของวิถี salicylic acid เพิ่มขึ้น เมื่อพืชมีการหลั่งสาร salicylic acid ซึ่งจะทำหน้าที่เป็นสัญญาณ (SAR Signal) ส่งไปยังเซลล์ต่าง ๆ ทั่วทั้งต้นพืช ทำให้พืชสร้างโปรตีนที่เป็นส่วนหนึ่งในโครงสร้างของผนังเซลล์ ทำให้ผนังเซลล์ของพืชมีความแข็งแรงมากขึ้น จึงช่วยต้านทานต่อการดูดกินของ

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในต้นข้าว ส่งผลให้ต้นข้าวมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายได้ ในขณะที่ถ้าพืชที่ไม่สามารถรับรู้สารชักนำ (Elicitors) ต่อการสร้างโปรตีนต้านทานภายในต้นได้ จะมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของแมลงน้อย นอกจากนั้นการที่พืชมีระดับความต้านทานแตกต่างกัน ส่วนหนึ่งอาจจะมีผลมาจากกลไกของพืชที่มีความต้านทานต่อแมลง อาทิ ความไม่เหมาะสมของลักษณะของพืชในการที่จะเป็นพืชอาหารหรือพืชอาศัย ลักษณะหรือองค์ประกอบภายในของพืชที่ส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตของแมลง เช่น เมื่อแมลงกินพืชนั้นเป็นอาหารอาจจะส่งผลให้มีความสามารถในการอยู่รอดต่ำหรืออาจทำให้แมลงมีโอกาสตายสูง และความทนทานของพืชต่อการเข้าทำลายของแมลง (tolerance) รวมทั้งลักษณะความต้านทานของพืชนั้นอาจจะได้รับอิทธิพลจากปัจจัยทางชีวภาพ (biotic factor) และปัจจัยทางกายภาพ (abiotic factor) ของสิ่งแวดล้อม (Hu et al., 2016)

สรุป

ข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง ทั้ง 20 สายพันธุ์ที่นำมาศึกษา มียีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ทั้ง 20 สายพันธุ์ แต่ละสายพันธุ์มียีนที่แตกต่างกัน และจำนวนยีนที่พบในข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองแต่ละสายพันธุ์มีจำนวนแตกต่างกัน และเมื่อประเมินระดับความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล พบว่ามีข้าวสายพันธุ์พื้นเมือง จำนวน 1 สายพันธุ์ คือ ข้าวหอมดง ที่มีความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลดีกว่าสายพันธุ์อื่น โดยพบยีนต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้ง 3 ยีน (*Bph3*, *Bph14* และ *Bph18*(t)) และเมื่อถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายไปแล้ว 7 วัน ข้าวสายพันธุ์นี้มีระดับความต้านทานอยู่ที่ระดับ R ซึ่งแสดงว่ามีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และเมื่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลยังคงเข้าทำลายต้นข้าวอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 14 ระดับความต้านทานจะลดลงเป็นระดับปานกลาง (MR) ส่วนในข้าวล้นครก ที่พบว่ามียีนต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้ง 3 ยีนเช่นกัน เมื่อประเมินภายใน 7 วัน หลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล มีระดับความต้านทานอยู่ที่ระดับ R เช่นกัน แต่เมื่อประเมินผลหลังจาก 14 วัน ระดับความต้านทานจะลดลงอย่างมากไปอยู่ที่ระดับอ่อนแอ (S) นอกจากนี้ยังพบว่าข้าวเหลืองเกษตร และข้าวขาวชลอ พบยีนต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเพียง 1 ยีน (*Bph3*) มีความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเมื่อประเมินที่ 7 วัน อยู่ที่ระดับต้านทาน (R) และถึงแม้ว่าจะถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเข้าทำลายไปแล้วถึง 14 วัน ระดับความต้านทานลดลงไปอยู่ที่ระดับปานกลาง (MR) ในขณะที่ข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองอื่นมีระดับต้านทานแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวสายพันธุ์มาตรฐาน 2 สายพันธุ์ คือข้าวชัยนาท 1 ที่มีระดับต้านทานปานกลางต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และ ข้าวหอมมะลิ 105 มีระดับต้านทานอยู่ที่อ่อนแอมากต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแต่อย่างไรก็ตามจากงานวิจัยครั้งนี้ ข้าวทุกสายพันธุ์ไม่สามารถทนทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้เลยเมื่อมีการเข้าทำลายอย่างต่อเนื่อง ยกเว้น ข้าวชัยนาท 1 ที่มีการปรับปรุงพันธุ์ให้สามารถต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ ซึ่งจากการทดสอบครั้งนี้ พบว่าถ้ามีการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลไปจนถึง 21 วัน ข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองทุกสายพันธุ์จะอ่อนแอและตายทั้งหมด ดังนั้นเมื่อเกิดการระบาดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในนาข้าวจะต้องมีการควบคุมและกำจัดทันที เพราะถ้าปล่อยให้เกิดการเข้าทำลายอย่างต่อเนื่องจะส่งผลเสียต่อผลผลิตข้าวอย่างมาก นอกจากนี้การคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองเพื่อนำมาใช้เป็นแหล่งเชื้อพันธุ์สำหรับการปรับปรุงพันธุ์มีความสำคัญอย่างยิ่ง โดยจะต้องคัดเลือกจากสายพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่มียีนต้านทานและมีการตอบสนองทางฟีโนไทป์ที่ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลด้วย ซึ่งจากผลการศึกษานี้พบว่าอาจจะนำข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองเหล่านี้ คือ ข้าวหอมดง ข้าวเหลืองเกษตร และข้าวขาวชะลอ พบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้ง 3 ยีน (ข้าวหอมดง) หรือข้าวสายพันธุ์ที่มียีนต้านทานเพียง 1 ยีน (ข้าวเหลืองเกษตร และข้าวขาวชะลอ) ที่สามารถแสดงความต้านทานต่อการเข้าทำลายเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวสายพันธุ์มาตราฐานที่นำมาทดสอบเปรียบเทียบ 2 สายพันธุ์ ข้าวชัยนาท 1 (พันธุ์ต้านทาน) และข้าวหอมมะลิ 105 (พันธุ์อ่อนแอ) ที่มียีนต้านทาน 2 ยีน (*Bph3*, *Bph18*(t)) เพื่อนำมาเป็นแหล่งเชื้อพันธุ์เพื่อการปรับปรุงสายพันธุ์ข้าวเพื่อให้ต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลต่อไป

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร และสาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม สำหรับการสนับสนุนเครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำวิจัย และงานวิจัยนี้ส่วนหนึ่งได้รับการสนับสนุนจาก

สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม ขอขอบคุณศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก ที่ให้ความอนุเคราะห์ข้าวพันธุ์พื้นเมืองและเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพื่อใช้ในการทดสอบครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กองวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว. 2563. สรุปรายงานสถานการณ์ศัตรูข้าว กรมการข้าว. แหล่งข้อมูล: http://brrd.ricethailand.go.th/index.php/2016-07-15-05-32-35/726-17-23-2564. สืบค้นเมื่อ 30 เมษายน 2564.

จิรพงศ์ ใจรินทร์, วราภรณ์ วงศ์บุญ, กิจติพงษ์ เพ็งรัตน์, สงวน เทียงดีฤทธิ์, พิกุล ลีลากุด และกัลยา สานเสน. 2552. การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและมีคุณภาพเมล็ดเหมือนขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย. น.187-207. ใน: การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว วันที่ 9-11 มิถุนายน 2552. ณ โรงแรมซีนรีซ จอมเทียน รีสอร์ท พัทยา จังหวัดชลบุรี.

ฐานัฎ ณ พัทลุง และวิภา ตังคนานนท์. 2560. พฤติกรรมการทำลายข้าวของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ในพื้นที่นาชลประทานภาคกลางของประเทศไทย. Thai Journal of Science and Technology. 6(4): 369-391.

Cha-um, S., S. Roytakul, T. Sathung, A. Maijandang, and C. Kridmanee. 2007. Effect of exogenous glucose and abscisic acid on physiological and morphological performances of in vitro Indica Rice (*Oryza sativa* L. sp. indica.). American Journal of Plant Physiology. 2: 155-166.

Collard, B.C.Y., and D.J. Markill. 2008. Marker-assisted selection: an approach for precision plant breeding in the twenty-first century. Philosophical Transactions of The Royal Society B Biological Sciences. 363(1491): 557–572.

Doyle, J.J., and J.L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. Phytochemical Bulletin. 19(1): 11-15.

Du, B., W. Zhang, B. Liu, J. Hu, Z. Wei, Z. Shi, R. He, L. Zhu, R. Chen, B. Han, and G. He. 2009. Identification and characterization of *Bph14*, a gene conferring resistance to brown planthopper in rice. Proceedings of the National Academy of Sciences. 106(52): 22163–22168.

Flor, H.H. 1942. Inheritance of pathogenicity in *Melampsora lini*. Journal of Phytopathology. 32(8): 653–669.

Haliru, B.S., M.Y. Rafii, N. Mazlan, S.I. Ramlee, I. Muhammad, I.S. Akos, J. Halidu, S. Swaray, and Y.R. Bashir. 2020. Recent Strategies for Detection and Improvement of Brown Planthopper Resistance Genes in Rice: A Review. Plants-Basel. 9(9): 1202.

Hao, P.Y, C.X. Liu, Y.Y. Wang, R.Z. Chen, M. Tang, B. Du, L.L Zhu, and G.C. He. 2008. Herbivore-induced callose deposition on the sieve plates of rice: an important mechanism for host resistance. Plant Physiology. 146: 1810–1820.

Hu, J., J. Zhou, X. Peng, H. Xu, C. Liu, B. Du, H. Yuan, L. Zhu, and G. He. 2011. The Bphi008a gene interacts with the ethylene pathway and transcriptionally regulates MAPK genes in the response of rice to brown planthopper feeding. Plant Physiology. 156(2): 856–872.

Hu, J., C. Xiao, and Y. He. 2016. Recent progress on the genetics and molecular breeding of brown planthopper resistance in rice. Rice. 9: 30.

HU, W., X.Y. Deng, X. Deng, L. Deng, Y. Xiao, X.J. HE, X. FU, and G.Y. Xiao. 2018. Characteristic analysis of tetra-resistant genetically modified rice. Journal of Integrative Agriculture. 17(3): 493–506.

IRRI. 2013. Standard Evaluation System (SES) for Rice. 5th Edition. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.

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

Jena, K.K., J.U. Jeung, J.H. Lee, H.C. Choi, and D.S. Brar. 2006. High resolution mapping of a new brown planthopper (BPH) resistance gene, *Bph18*(t), and marker-assisted selection for BPH resistance in rice (*Oryza sativa* L.). Theoretical and Applied Genetics. 112: 288–297.

Jena, K.K., and S.M. Kim. 2010. Current status of brown planthopper (BPH) resistance and genetics. Rice. 3: 161–171.

Jena, M., R. S. Panda, R. K. Sahu, A. K. Mukherjee, and U. Dhua. 2015. Evaluation of rice genotypes for rice brown plant hopper resistance through phenotypic reaction and genotypic analysis. Crop Protection. 78: 119-126.

Jing, S., Y. Zhao, B. Du, R. Chen, L. Zhu, and G. He. 2017. Genomics of interaction between the brown planthopper and rice. Current Opinion in Insect Science. 19: 82-87.

Kobayashi, T. 2016. Evolving ideas about genetics underlying insect virulence to plant resistance in rice-brown planthopper interactions. Journal of Insect Physiology. 84: 32-39.

Kumar, A.D.V.S.L.P, R.N. Mallikharjuna, and C.V. Rama Rao. 2021. Impact of insecticides on feeding of rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (stal.). Multilogic in Science. 12(40): 106-109.

Muduli, L., S. K. Pradhan, A. Mishra, D. N. Bastia, K. C Samal, P. K. Agrawal, and M. Dash. 2021. Understanding Brown Planthopper Resistance in Rice: Genetics, Biochemical and Molecular Breeding Approaches. Rice Science. 28(6): 532-546.

Mullis, K., F. Faloona, S. Scharf, R. Saiki, G. Horn, and H. Erlich. 1986. Specific enzymatic amplification of DNA in vitro: the polymerase chain reaction. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative. 51(1): 263-273.

Nogoy, F.M., J.Y. Song, S. Ouk, S. Rahimi, S.W. Kwon, K.K. Kang, and Y.G. Cho. 2016. Current Applicable DNA Markers for Marker Assisted Breeding in Abiotic and Biotic Stress Tolerance in Rice (*Oryza sativa* L.). Plant Breeding and Biotechnology. 4(3): 271-284.

Pati, P., M. Jena, S. Bhattacharya, M. Annamalai, S. Raghu, S.K. Behera, P. Sanghamitra, G. Pandi, and S. K. Meena. 2019. Evaluation of red rice genotypes against brown planthopper, BPH (*Nilaparvata lugens* Stal.) by phenotypic analysis and study of mechanism of resistance involved. Journal of Entomology and Zoology Studies. 7(5): 149-155.

Pusadee, T., P. Oupkaew, B. Rerkasem, S. Jamjod, and B.A. Schaal. 2014. Natural and human-mediated selection in a landrace of Thai rice (*Oryza sativa*). Annals of Applied Biology. 165(2): 280-292.

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

Zhi-juan, J., Y. Shu-dong, Z. Yu-xiang, L. Yan, Y. Chang-deng, and Q. Qian. 2016. Pyramiding blast, bacterial blight and brown planthopper resistance genes in rice restorer lines. Journal of Integrative Agriculture. 15(7): 1432–1440.