ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิจัยและพัฒนาการเกษตร)

ปริญญา

วิจัยและพัฒนาการเกษตร — **สาขา**

โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา — **ภาควิชา**

เรื่อง การจำแนกและจัดกลุ่มเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) และการบ่งชี้ตำแหน่งยีนต้านทานในข้าวพื้นเมืองพันธุ์เชียงรุ้ง (*Oryza sativa* L.)

Identification and Geographical Distribution of Bacterial Leaf Blight Isolates (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) and Tagging Resistance Genes in a Landrace Rice cv. Chiang Rung (*Oryza sativa* L.)

นามผู้วิจัย นายแสงชัย ศรีประโคน

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก .....

(อาจารย์พัชรินทร์ ตัญญะ, ปร.ด.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(อาจารย์ปัทมา ศิริธัญญา, วท.ด.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม .....

(อาจารย์ธีรยุทธ ตู้จินดา, Ph.D.)

ประธานสาขาวิชา .....

(รองศาสตราจารย์วรวิทย์ สิริพลวัฒน์, D.Agr.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์กัญจนา ธีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ ..... **เดือน** ..... **พ.ศ.** .....

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การจำแนกและจัดกลุ่มเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) และการบ่งชี้ตำแหน่งยีนต้านทานในข้าวพื้นเมืองพันธุ์เชียงรุ้ง (*Oryza sativa* L.)

Identification and Geographical Distribution of Bacterial Leaf Blight Isolates (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) and Tagging Resistance Genes in a Landrace Rice cv. Chiang Rung (*Oryza sativa* L.)

โดย

นายแสงชัย ศรีประโคน

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิจัยและพัฒนาการเกษตร)
พ.ศ. 2552

แสงชัย ศรีประโคน 2552: การจำแนกและจัดกลุ่มเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) และการบ่งชี้ตำแหน่งยีนต้านทานในข้าวพื้นเมืองพันธุ์เชียงรุ้ง (*Oryza sativa* L.) ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิจัยและพัฒนาการเกษตร) สาขาวิชาวิจัยและพัฒนาการเกษตร โครงการสหวิทยาการระดับบัณฑิตศึกษา
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: อาจารย์พัชรินทร์ ตัญญะ, ปร.ด. 127 หน้า

รวบรวมและจำแนกเชื้อพันธุ์แบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* สาเหตุโรคขอบใบแห้งจากพื้นที่ปลูกข้าวในภาคกลาง เหนือและอิสานจำนวน 150 สายพันธุ์ (isolate) โดยคัดเลือกเชื้อสาเหตุจำนวน 90 สายพันธุ์ เพื่อประเมินความรุนแรงของการเกิดโรคในข้าวสายพันธุ์คู่แฝด (near isogenic lines-NILs) จำนวน 9 สายพันธุ์ที่มียีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง *Xa3 Xa4 xa5 Xa7 xa8 Xa10 xa13 Xa14* และ *Xa21* พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มเชื้อได้ 25 กลุ่ม ตามปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างยีนต้านทานต่อกลุ่มเชื้อสาเหตุ ผลการทดลองพบว่ายีนต้านทาน *xa5* ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีความต้านทานแบบกว้าง (broad spectrum resistance, BSR) เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ สามารถแสดงความต้านทานกับทุกกลุ่มเชื้อในการทดสอบ และยีนต้านทาน *Xa4 Xa7* และ *Xa21* ให้ค่า BSR เท่ากับ 65.6, 66.7, 44.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ทำการคัดเลือก 13 สายพันธุ์ของเชื้อสาเหตุที่เป็นตัวแทนของกลุ่มเพื่อนำมาใช้ในการประเมินความต้านทานโรคขอบใบแห้งในข้าวพื้นเมืองจำนวน 182 สายพันธุ์ พบว่าข้าวพื้นเมืองส่วนใหญ่อ่อนแอต่อเชื้อสาเหตุ อย่างไรก็ตามมีข้าวพื้นเมืองจำนวน 13 สายพันธุ์ให้ค่า BSR สูงระหว่าง 53.8 ถึง 83.3 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ ข้าวพันธุ์ บือเปรอมือ เบือนอมู เชียงรุ้ง 502 ยากู่ เชียงรุ้ง นาปรัง พวงนาค 16 เหลือง 52 กข.6 (เมล็ดยาว) ดอกพะยอม น้ำสะกุย 19 เก้ารวง 88 และเสมอใจ โดยมีระดับความต้านทานใกล้เคียงกับข้าวสายพันธุ์คู่แฝดซึ่งมียีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง ข้าวพื้นเมืองพันธุ์เชียงรุ้ง 502 ให้ค่าดัชนีความต้านทานโรคขอบใบแห้งสูงสุดเท่ากับ 83.3 เปอร์เซ็นต์ เมื่อตรวจสอบการถ่ายทอดลักษณะต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งของข้าวสายพันธุ์ดังกล่าวจากคู่ผสมระหว่างเชียงรุ้ง 502/กข.6*Blast โดย chi-square test ในประชากรชั่วที่ 2 พบว่ามีการกระจายตัวของลักษณะต้านทานต่ออ่อนแอ เท่ากับ 3 ต่อ 1 บ่งชี้ว่าลักษณะต้านทานโรคขอบใบแห้งในข้าวพันธุ์เชียงรุ้ง 502 ควบคุมด้วยยีนเด่นจำนวน 1 คู่ เมื่อใช้เครื่องหมายโมเลกุล microsattelite จำนวน 96 ตำแหน่ง ตรวจสอบเพื่อสืบหาตำแหน่งของยีน โดยวิธีการรวมดีเอ็นเอ (pool DNA) 2 กลุ่ม ที่ต้านทานและอ่อนแอจากประชากรชั่วที่ 2 พบว่าเครื่องหมายโมเลกุล RM144 และ RM254 สามารถแยกความแตกต่างระหว่างกลุ่มต้านทานและอ่อนแอได้ โดยเครื่องหมายดีเอ็นเอทั้งสองสามารถอธิบายความแปรปรวนในลักษณะความต้านทานได้ 53.3 และ 60.5 เปอร์เซ็นต์ และแสดงความสัมพันธ์กับลักษณะดังกล่าวอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เครื่องหมายโมเลกุลทั้งสองวางตัวอยู่บนโครโมโซม 11 และอยู่ใกล้กับตำแหน่งยีนต้านทาน *Xa3 Xa4 Xa(t)* และ *Xa22*

_____ _____ __ / __ / __

ลายมือชื่อนิสิต ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Saengchai Sriprakhon 2009: Identification and Geographical Distribution of Bacterial Leaf Blight Isolates (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) and Tagging Resistance Genes in a Landrace Rice cv. Chiang Rung (*Oryza sativa* L.). Master of Science (Agricultural Research and Development), Major Field: Agricultural Research and Development, Interdisciplinary Graduate Program. Thesis Advisor: Ms. Patcharin Tanya, Ph.D. 127 pages.

Ninety isolates of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) were collected from three major rice growing regions of Thailand and used for the genetic diversity and their distribution studies. Twenty-five pathogenic groups were classified based on pathogenicity against 9 near-isogenic lines that carried a series of known resistance gene: *Xa3*, *Xa4*, *xa5*, *Xa7*, *xa8*, *Xa10*, *xa13*, *Xa14* and *Xa21*. The recessive resistance gene *xa5* showed the broadest spectrum of BB resistance. Resistant genes *Xa4*, *Xa7* and *Xa21* were shown 65.6, 66.7 and 44.4 % BSR respectively. Thirteen BLB isolates were used to evaluate BB resistance in 182 landrace rice cultivars. Thirteen landrace cultivars, Beu Reu Meu, Beun Umeu, Chiang Rung 502, Yaa Gou, Chiang Rung, Na Prang, Puang Nak 16, Leung 52, KorKoh 6 (Maled Yaw), Dok Payom, Nam Sugui 19, Gao Ruang 88 and Sameu Gai, shown high level of BB resistance against broad spectrum of isolates. BSR percentage of these cultivars ranged from 53.8 to 83.3 % in which their resistance levels are similar to some of from the near-isogenic lines. Chiang Rung 502 (CR502) showed the highest BB resistance. The inheritance of BB resistance of CR502 was determined using a F_2 population derived from a cross between CR502 and RD6-blast. Phenotypic ratio of resistant : susceptible plants were 3 : 1 indicated a single dominant gene underlying the BB resistance in CR502. Ninety-six polymorphic microsattelite markers were screened two DNA pools (resistant and susceptible) to identify genomic location of BB resistant gene. Two markers, RM144 and RM254 clearly discriminated the resistant and susceptible phenotypes and explained 53.3 and 60.5 % of BB resistance reaction in the F_2 population. These markers were located on chromosome 11 where *Xa3*, *Xa4*, *Xa(t)* and *Xa22* were previously reported.

_____ _____ ___ / ___ / ___

Student's signature Thesis Advisor's signature

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอน้อมนอบเทิดทูนต่อคุณของพ่อแม่และบุรพาจารย์ทั้งหลายที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชา ขอขอบพระคุณท่านอาจารย์ปัทมา ศิริธัญญา อาจารย์ธีรยุทธ ตู้จินดา อาจารย์พัชรินทร์ ตัญญะ ที่ท่านทั้งสามเป็นเสมือนเทียนส่องทางที่คอยช่วยเหลือและแนะนำชี้ทางสว่างในการทำวิทยานิพนธ์ตลอดจนเป็นขวัญและกำลังใจจนงานวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงผ่านอุปสรรคต่างๆได้ด้วยดี และขอขอบพระคุณ รศ.ดร.อภิชาติ วรรณวิจิตร ประธานการสอบปากเปล่าขั้นสุดท้ายและ ผศ.ดร.ธนาพร ชื่นอิ่ม ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก ที่ได้กรุณาแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณนักวิชาการทุกท่านที่ผู้วิจัยได้อ้างอิงในวิทยานิพนธ์นี้และขอคารวะน้ำใจอันงดงามของมิตรสหายทั้งหลายตลอดจนพี่ๆ และน้องๆ ทุกคน แห่งหน่วยค้นหาและใช้ประโยชน์จากยีนข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่คอยช่วยเหลือตลอดมา ทั้งท่านที่ช่วยเหลือแบบปิดทองหน้าองค์พระและปิดทองหลังพระ ขอน้อมอนุโมทนาในกุศลจิตอันเปี่ยมเมตตาธรรมของทุกท่าน

แสงชัย ศรีประโคน

กุมภาพันธ์ 2552

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(4)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	22
ผลและวิจารณ์	43
สรุป	74
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	76
ภาคผนวก	90
ประวัติการศึกษา และการทำงาน	127

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	รายชื่อยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งและรายชื่อข้าวที่เป็นแหล่งยีนต้านทานและโครโมโซมที่ยีนวางตำแหน่ง	18
2	ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง ตำแหน่งบน linkage map และประชากรที่ใช้ศึกษา	20
3	ข้าว NILs ที่ใช้ในการทดสอบซึ่งมียีนต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งที่มียีนต้านทานที่ต่างกัน	22
4	เมล็ดพันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษาระหว่างปฏิกิริยาของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค	31
5	เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งที่ใช้ในการทดสอบจำนวน 90 ไอโซเลท	32
6	แสดงจำนวนเครื่องหมายโมเลกุล microsattelite marker จำนวน 96 maker ที่ใช้หาความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอ	37
7	การจัดกลุ่มเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) ที่ได้จากการวิเคราะห์ pathotype group	50
8	แสดงค่าดัชนีความต้านทานโรคของข้าวพื้นเมืองจำนวน 182 สายพันธุ์และข้าวปลูกจำนวน 26 สายพันธุ์ต่อเชื้อแบคทีเรียสาเหตุจำนวน 13 ไอโซเลท	55
9	แสดงเปอร์เซ็นต์ค่าดัชนีความต้านทานแบบกว้าง (%BSR) ของข้าวพื้นเมืองจำนวน 13 สายพันธุ์ ที่ทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียสาเหตุจำนวน 13 ไอโซเลท	61
10	แสดงเปอร์เซ็นต์ค่าดัชนีความต้านทานแบบกว้าง (%BSR) ของข้าวพันธุ์การค้าจำนวน 11 สายพันธุ์ ที่ทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียสาเหตุจำนวน 13 ไอโซเลท	62
11	วิเคราะห์ Chi-square ของลักษณะต้านทานกับอ่อนแอในประชากร F_2 ของคู่ผสม	64
12	การวิเคราะห์ค่า heritability ของลักษณะต้านทานโรคขอบใบแห้งของข้าวเชียงรุ้ง 502 ในประชากร F_2	65
13	จำนวน 17 เครื่องหมายโมเลกุล microsattelite marker (SSR marker) ที่แสดงความแตกต่างระหว่างพันธุ์เชียงรุ้ง 502 (ต้านทาน) และพันธุ์ กข.6*Blast (อ่อนแอ)	66

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
14	ลำดับเบสของเครื่องหมายโมเลกุล RM144 และ RM254 ที่วางตำแหน่งบนโครโมโซมที่ 11 ที่แสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ต้านทาน (pool R)และอ่อนแอ (pool S)	66
15	การวิเคราะห์ Chi-square ของการกระจายตัวประเภทของแถบ DNA ของ SSR marker ในประชากร F_2	67
16	แสดงค่าการวิเคราะห์ multiple regression analysis และ ANOVA ของ marker RM254 กับลักษณะต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง	71
17	แสดงค่าการวิเคราะห์ multiple regression analysis และ ANOVA ของ marker RM144 กับลักษณะต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง	71

ตารางผนวกที่

1	แสดงข้อมูลของเชื้อแบคทีเรียโรคขอบใบแห้งจำนวน 150 ไอโซเลท	92
2	การจัดกลุ่มสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรีย *Xoo* ที่ได้จากการวิเคราะห์ pathotype group	97
3	แสดงค่าความยาวแผล (cm) ของสายพันธุ์ข้าวจำนวน 35 สายพันธุ์ทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* จำนวน 90 ไอโซเลท	101
4	แสดงค่าความยาวแผล (cm) และค่าดัชนีความต้านทานโรคของข้าวพื้นเมืองจำนวน 182 สายพันธุ์และข้าวปลูกจำนวน 28 สายพันธุ์ ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* จำนวน 13 ไอโซเลท	113
5	แสดงรายละเอียดของค่า phenotype และ genotype ของประชากรลูกผสมระหว่างข้าว CR502/RD6*Blast	122

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะของเซลล์แบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน: A. รูปร่างเป็นท่อนตรงและมีหาง (flagellum) B. เซลล์แบคทีเรียสาเหตุโรคที่เจริญเติบโตบริเวณท่อน้ำ (xylem vessels) ของพืช	8
2	แสดงลักษณะของโรคขอบใบแห้งในแปลงนาข้าวของเกษตรกร: A. แสดลักษณะของใบข้าวที่ถูกทำลายจากโรคขอบใบแห้ง B. แสดง bacterial ooze ของแบคทีเรียสาเหตุที่เป็นลักษณะหยดน้ำสีครีมคล้ายยางสนกลม ๆ ขนาดเล็กเท่าหัวเข็มหมุด	9
3	แสดงขั้นตอนการแยกเชื้อวิธี ooze suspension และการเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง	25
4	แสดงขั้นตอนการแยกเชื้อวิธี ooze picking และการเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง	26
5	แสดง colony เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งที่นำไป streak plate ให้ได้โคโลนีเดี่ยว (single colony) เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์โดยเลือกโคโลนีเดี่ยวที่มีสีเหลืองกลมนูนขอบเรียบเยิ้มเล็กน้อย	26
6	แสดงวิธีการปลูกเชื้อ (inoculation) ในข้าวทดสอบด้วยวิธี clipping method และการประเมินความรุนแรงของโรค โดยวัดจากความยาวของแผล(เซนติเมตร)	30
7	แสดงวิธี cliping method ในการผสมพันธุ์ข้าวระหว่างพันธุ์ข้าวเหนียว กข.6*Blast (ต้านทานโรคไหม้) กับพันธุ์ข้าวพื้นเมือง (ต้านทานโรคขอบใบแห้ง)	33
8	แสดงหลักการสืบหาเครื่องหมายโมเลกุลที่อยู่ใกล้ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งอย่างรวดเร็ว (gene tagging)	41
9	แสดงจำนวนของเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งจำนวน 150 ไอโซเลทที่รวบรวมและจำแนกตามภูมิภาค	44
10	แสดงจำนวนของเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งจำนวน 150 ไอโซเลทที่รวบรวมและจำแนกตามประเภทของข้าว	44

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
11	แผนภาพแสดงการจัดกลุ่มความรุนแรงในการเกิดโรคขอบใบแห้งของเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* จำนวน 90 ไอโซเลทในข้าว NILs จำนวน 9 สายพันธุ์ ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc version 2.01 ด้วยค่า Canberra 's coefficient	51
12	แผนภาพแสดงการจัดกลุ่มพันธุ์ข้าวจำนวน 35 สายพันธุ์ ตามจากความรุนแรงในการเกิดโรคขอบใบแห้งของเชื้อ Xoo จำนวน 90 ไอโซเลท	53
13	กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ค่าดัชนีความต้านทาน (%BSR) ของข้าวพื้นเมืองจำนวน 182 สายพันธุ์ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* จำนวน13 ไอโซเลทพบว่าข้าวพื้นเมืองจำนวน 13 สายพันธุ์ที่มีค่า %BSR มากกว่า 50 %	57
14	แสดง drodrogram การจัดกลุ่มความรุนแรงในการเกิดโรคขอบใบแห้งของเชื้อ *Xoo* จำนวน 13 ไอโซเลทในพันธุ์ข้าวจำนวน 22 สายพันธุ์ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc version 2.01 ด้วยค่า Canberra's coefficient ที่ 0.65 สามารถแบ่งกลุ่มพันธุ์ข้าวได้ 4 กลุ่ม	59
15	แสดงระดับความรุนแรงของโรคขอบใบแห้งไอโซเลท TXO136 กับข้าวพันธุ์ทดสอบ1. KDML105 2. ข้าวเชียงรุ้ง 502 3. ข้าวกข.6*Blast 4. ข้าวอีน้อย 5. ข้าว IRBB21 (*Xa21*) 6. ข้าว IRBB5 (*xa5*) 7. ข้าว IRBB4 (*Xa4*)	60
16	การกระจายตัวของประชากรต่อค่าความรุนแรงในการเกิดโรคขอบใบแห้งตามความยาว(cm) ของโรคที่เกิดจากการปลูกเชื้อ TXO136 ในประชากร ชั่วที่ 2 (F_2) ของคู่ผสม CR502/RD.6 *Blast เปรียบเทียบกับการเกิดโรคในพันธุ์พ่อแม่	63
17	การตรวจหาแถบ DNA marker ที่ปรากฏในพันธุ์เชียงรุ้ง 502 ที่ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งในประชากร F_2 โดยใช้ เครื่องหมายโมเลกุล SSR marker โดยการรวมดีเอ็นเอ (pool DNA) 2 กลุ่ม pool R (resistant) และ pool S (susceptible) จากประชากร F_2 ที่ต้านทานและอ่อนแออย่างละ 10 ต้น พบว่ามี 2 marker คือ RM144 และ RM254 ที่แสดงความแตกต่างระหว่างทั้ง 2 กลุ่ม	67

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
18	การตรวจหาแถบ DNA marker ที่ปรากฏในพันธุ์เชียงรุ้ง 502 ที่ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งในประชากร F_2 โดยใช้ เครื่องหมายโมเลกุล SSR marker คือ RM144 และ RM254 ที่แสดงความแตกต่างระหว่างทั้ง 2 กลุ่ม	68
19	แสดงความยาวของแผลในประชากร F_2 ของคู่ผสม CR502/RD6*Blast (RGDU 334-3-11-1-1-179) เมื่อปลูกเชื้อ TXO136 โดยกำหนดให้สีแดง เหลือง และน้ำเงินแสดงการจำแนกประชากร F_2 ตามเครื่องหมายโมเลกุล RM254	69
20	แสดงความยาวของแผลในประชากร F_2 ของคู่ผสม CR502/RD6*Blast (RGDU 334-3-11-1-1-179) เมื่อปลูกเชื้อ TXO136 โดยกำหนดให้สีแดง เหลือง และน้ำเงินแสดงการจำแนกประชากร F_2 ตามเครื่องหมายโมเลกุล RM254	69
21	แผนภาพแสดงตำแหน่งของโมเลกุลเครื่องหมายดีเอ็นเอและยีนต้านทานโรคขอบใบที่มีรายงานบนโครโมโซมที่ 11	73

คำอธิบายสัญลักษณ์และคำย่อ

ANOVA	=	analysis of variance
BSR	=	broad spectrum resistance
cm	=	centimeter
^{o}C	=	degree Celsius
DFH	=	differential host set
DNA	=	deoxyribonucleic acid
EtOH	=	ethyl alcohol
μl	=	microliter
μM	=	micromolar
μg	=	microgram
μm	=	micron
mg	=	milligram
ml	=	milliliter
NGA	=	nutrient glucose agar
NGB	=	nutrient glucose broth
NILs	=	near-isogenic lines
PCR	=	polymerase chain reaction
PSA	=	peptone sucrose agar
R^2	=	coefficient of determination
RM	=	rice microsattelite
rpm	=	round per minute
SES	=	standard evaluation system
SSR	=	Simple Sequence Repeat
STS	=	Sequence Tagged Site
UV	=	ultra violet
Xoo	=	*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

การจำแนกและจัดกลุ่มเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) และการบ่งชี้ตำแหน่งยีนต้านทานในข้าวพื้นเมืองพันธุ์เชียงรุ้ง (*Oryza sativa* L.)

Identification and Geographical Distribution of Bacterial Leaf Blight Isolates (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) and Tagging Resistance Genes in a Landrace Rice cv. Chiang Rung (*Oryza sativa* L.)

คำนำ

โรคขอบใบแห้งของข้าว (bacterial leaf blight) เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) (Swing *et al*., 1990) เป็นโรคข้าวที่พบการระบาดมากในเขตชลประทานของไทย และพบทั่วไปในประเทศที่ปลูกข้าวในแถบทวีปเอเชีย ลาตินอเมริกา ตอนเหนือของออสเตรเลีย บางส่วนของแอฟริกาและอเมริกา (Khush *et al*., 1989) โรคนี้หากเกิดระดับปานกลางจะทำให้ผลผลิตลดลงไป 10-20 เปอร์เซ็นต์และในระดับรุนแรงจะทำให้ผลผลิตลดลงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ โดยทำให้น้ำหนักของเมล็ดลดลงและเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบเพิ่มขึ้น (Mew, 1989) นับว่าเป็นโรคที่สำคัญเป็นอันดับที่สองในข้าวรองจากโรคไหม้ (blast) ที่เกิดจากเชื้อรา

การป้องกันการเข้าทำลายและการแพร่ระบาดของเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งที่ดี ประหยัดต่อเกษตรกรและมิตรต่อสิ่งแวดล้อมคือ การใช้พันธุ์ข้าวต้านทานต่อโรค ที่ผ่านมานั้นประสบปัญหาเป็นอย่างมาก เนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคสามารถปรับตัวเข้าทำลายพันธุ์ข้าวเหล่านั้นได้ในเวลาไม่นาน (ทัศนีย์, 2540) อีกทั้งแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งมีหลาย strain หรือ race ตลอดจนพันธุ์ข้าวต่างๆที่มียีนแตกต่างกันมีปฏิกิริยาสัมพันธ์ต่อ race ต่างๆของเชื้อสาเหตุแตกต่างกันตามทฤษฎี gene-for-gene (Vera Cruz and Mew, 1989) ดังนั้นความรู้และเข้าใจถึงโครงสร้างและความหลากหลายของประชากรเชื้อสาเหตุจึงมีความจำเป็นเพื่อที่จะเลือกยีนต้านทานที่เหมาะสม ในการพัฒนาพันธุ์ข้าวต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งที่เหมาะสมต่อแต่ละพื้นที่อย่างยั่งยืน การปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อให้ได้ข้าวพันธุ์ดี นอกจากจะอาศัยวิธีการปรับปรุงพันธุ์ ผสมพันธุ์คัดเลือกและทดสอบพันธุ์ที่เหมาะสม สิ่งสำคัญที่ขาดไม่ได้คือ พันธุ์ที่ใช้เป็นพ่อแม่ควรมีฐานทางพันธุกรรมกว้าง เพื่อโอกาสจะประสบความสำเร็จที่จะได้พันธุ์ดีมีมากขึ้น (สงกรานต์, 2544)

ดังนั้นการค้นหาแหล่งพันธุกรรมแหล่งใหม่จาก ข้าวพื้นเมืองไทยที่เป็นแหล่งพันธุกรรมแหล่งใหญ่ที่รอการสำรวจและใช้ประโยชน์อย่างจริงจัง การค้นหาแหล่งพันธุกรรมความต้านทานโรคจากข้าวพื้นเมืองจึงเป็นสิ่งสำคัญ การรวบรวมพันธุ์ข้าวพื้นเมืองเพื่อปลูกฟื้นฟู ศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ต่างๆ และลักษณะการเกษตรที่สำคัญเพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลเบื้องต้นในงานปรับปรุงพันธุ์ หรือคัดเลือกข้าวที่มีลักษณะดีเด่นอื่นๆ สำหรับนำไปแนะนำให้เป็นอีกทางเลือกแก่เกษตรกรหรือสำหรับเป็นแหล่งพันธุกรรมที่มีประโยชน์อย่างมากในการปรับปรุงพันธุ์ (ปรีชาและสงกรานต์, 2527) สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาสยามบรมราชกุมารีทรงมีพระราชดำริเกี่ยวกับการอนุรักษ์พันธุ์ข้าวป่าและข้าวพื้นเมืองและค้นหายีนต่างๆ ในข้าวเพื่อใช้เป็นความรู้พื้นฐานในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวของประเทศไทย (อภิชาติ, 2544)

ด้วยความก้าวหน้าของเทคโนโลยีชีวภาพ ด้านพันธุศาสตร์โมเลกุลที่ได้เจริญก้าวหน้า ถูกนำมาช่วยในการศึกษาด้านต่าง ๆ รวมถึงการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งและการวางตำแหน่งของยีนต้านทานต่อโรค นักวิจัยและนักปรับปรุงพันธุ์ได้นำข้อมูลและเทคโนโลยีด้านเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานโรคอย่างแพร่หลาย ทำให้การปรับปรุงพันธุ์ข้าวมีประสิทธิภาพ และรวดเร็วทันต่อการเปลี่ยนแปลงของโรค ดังนั้นการศึกษาต่อความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อสาเหตุโรค จัดกลุ่มประชากรเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งในประเทศไทย พัฒนาชุดพันธุ์ข้าวตรวจสอบที่เหมาะสมเพื่อใช้จำแนกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งในประเทศไทยและการค้นหาแหล่งพันธุกรรมความต้านทานโรคขอบใบแห้งจากข้าวพื้นเมือง ตลอดจนนำไปสู่การต่อยอดผลงานวิจัยการปรับปรุงพันธุ์ข้าว กข.6 ที่มียีนต้านโรคไหม้ที่ได้จากคู่ผสมระหว่าง ข้าวเจ้าหอมนิล กับ ข้าว กข. 6 ที่ได้รับการพัฒนาที่ หน่วยค้นหาและใช้ประโยชน์จากยีนข้าว (Rice Gene Discovery Unit, RGDU) แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม โดยใช้วิธีการบ่งชี้ตำแหน่งยีนต้านทาน (gene tagging) โดยเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่สามารถให้ความแตกต่างของลักษณะความต้านทานระหว่างกลุ่มในประชากรชั่วที่ 2 ที่มาจากคู่ผสมระหว่างข้าวพื้นเมืองที่ต้านทานโรคขอบใบแห้งกับพันธุ์ข้าว กข.6 ที่ต้านทานโรคไหม้แต่อ่อนแอต่อโรคขอบใบแห้ง การวิจัยนี้จะนำไปสู่การค้นหาเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่วางตัวอยู่ใกล้กับยีน (tightly linked marker) ที่นอกจากจะใช้เป็นตัวชี้บอกตำแหน่งยีนสำหรับเข้าใกล้ยีนแล้วยังสามารถใช้ในงานด้านการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโดยใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือกพันธุ์ต้านทานอย่างมีประสิทธิภาพ และเป็นการถ่ายทอดยีนความต้านทานโรคขอบใบแห้งสู่พันธุ์ข้าว กข.6 ที่ต้านทานโรคไหม้เพื่อนำไปสู่พันธุ์ข้าวกข.6 ที่สามารถต้านทานได้ทั้งโรคไหม้และขอบใบแห้งในอนาคตต่อไป

วัตถุประสงค์

1. การจำแนกความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง

2. ศึกษาความต้านทานโรคขอบใบแห้งของข้าวพื้นเมืองจำนวน 182 สายพันธุ์

3. ศึกษาการถ่ายทอดลักษณะความต้านทานโรคขอบใบแห้งและบ่งชี้ตำแหน่งยีนต้านทานของข้าวพื้นเมืองพันธุ์เชียงรุ้ง 502

การตรวจเอกสาร

1. ชนิดของข้าว

ข้าว เป็นพืชผสมตัวเองจัดอยู่ใน วงศ์ Graminea และ สกุล oryza ส่วนใหญ่เป็นพวก diploid basic มีจำนวนโครโมโซม n เท่ากับ 12 หรือ 2n เท่ากับ 24 แต่มีข้าวบางชนิดที่เป็น tetraploid ซึ่งมีจำนวนโครโมโซม 2n เท่ากับ 48 ใน สกุล oryza ประกอบด้วย 22 species คือข้าวปลูกมี 2 species คือ *Oryza sativa* ที่นิยมปลูกในแถบทวีปเอเชีย อเมริกา ออสเตรเลีย ยุโรป และแอฟริกา ส่วน *Oryza glaberrima* เป็นข้าวที่มีสภาพความปรวนแปรน้อยมีการแพร่กระจายอยู่ในเขตจำกัด โดยเฉพาะเขตตะวันตกของ อัฟริกาเท่านั้น ที่เหลืออีก 20 species จะเป็นพวกข้าวป่า (wild rice) ซึ่งเป็นแหล่งพันธุกรรมที่สำคัญในงานปรับปรุงพันธุ์ข้าวในปัจจุบัน (จำรัส, 2534) Chang (1976) แบ่งข้าวปลูกตามสภาพภูมิประเทศ (ecospecies) ออกเป็น 3 กลุ่ม คือ indica, japonica และ javanica ข้าวกลุ่ม indica เป็นข้าวปลูกในเขตร้อน (tropical rice) มีลักษณะต้นสูงและไวแสง มีเมล็ดยาว ใบมากและโค้งงอ ไม่ค่อยตอบสนองต่อการใส่ปุ๋ยจึงให้ผลผลิตต่ำ เมล็ดมักมีระยะพักตัว พบการปลูกในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ตอนใต้ของจีน และแถบเอเชียใต้ ข้าวกลุ่ม japonica เป็นข้าวที่ปลูกในเขตอบอุ่น มีลักษณะเมล็ดป้อมสั้นทนต่ออากาศหนาวได้ดี ต้นเตี้ย ใบตั้งและสั้น ไม่ไวแสงและตอบสนองต่อปุ๋ยดี เมล็ดมักไม่มีระยะพักตัว นิยมปลูกในประเทศ จีน เกาหลี และญี่ปุ่น สำหรับข้าวกลุ่ม javanica เป็นข้าวที่มีลักษณะต้นสูงและเมล็ดใหญ่-ป้อม รวงยาว ให้ผลผลิตต่ำไม่ค่อยตอบสนองต่อปุ๋ย ปลูกในประเทศอินโดนีเซีย และมีการแพร่กระจายไปยังฟิลิปปินส์ ไต้หวัน กลุ่มเกาะ Ryukyu และญี่ปุ่น (จำรัส, 2534; Chang, 1976)

2. ข้าวพันธุ์พื้นเมืองของไทย

ประเทศไทยเป็นอีกหนึ่งประเทศที่จัดว่าตั้งอยู่ในเขตศูนย์กลางของความแปรปรวนและความหลากหลายทางพันธุกรรมของพันธุ์ข้าว โดยเห็นได้จากความหลากหลายของพันธุ์ข้าวพื้นเมืองในพวกข้าวเจ้า ข้าวเหนียว ข้าวไร่ ข้าวที่ปลูกในสภาพนาน้ำฝน รวมไปถึงข้าวป่า ที่พบในแปลงนาทั่วๆ ไป ทั้งในลักษณะที่เหมือนกันและแตกต่าง ประเทศไทยมีข้าวปลูกมากกว่า 3,400 พันธุ์ จากพันธุ์ข้าวปลูก 120,000 พันธุ์ ทั่วโลก จากการรวบรวมพันธุ์ข้าวพื้นเมืองในประเทศไทยของศูนย์วิจัยพันธุ์ข้าว กรมวิชาการเกษตร ตั้งแต่ปี พ.ศ 2525 - 2542 พบว่า มีพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่มีชื่อเรียกแตกต่างกันถึง 5,928 พันธุ์ ในจำนวนนี้เป็นพันธุ์ข้าวจากภาคเหนือ 2,151 พันธุ์ ภาคใต้ 1,371 พันธุ์ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 969 พันธุ์ ภาคกลาง 581 พันธุ์ ภาคตะวันตก 444 พันธุ์ และ

ภาคตะวันออก 412 พันธุ์ (สงกรานต์, 2548) สำหรับข้าวพันธุ์พื้นเมืองของไทยที่มีอยู่หลากหลายพันธุ์แต่ละสายพันธุ์โดยมีคุณลักษณะพิเศษที่เหมาะสมเฉพาะถิ่นและมีประสิทธิภาพการผลิตแตกต่างกันไป เช่น ข้าวยอดนิยมที่สร้างชื่อเสียงให้กับประเทศไทยไปทั่วโลกคือ ข้าวหอมมะลิ หรือข้าวขาวดอกมะลิ105 เป็นข้าวที่คุณภาพการหุงต้มดีมาก เนื่องจากมีความนุ่ม ขาวเหมือนดอกมะลิและมีกลิ่นหอมเหมือนกลิ่นใบเตย โดยเฉพาะเมื่อนำไปปลูกบริเวณจังหวัดในเขตอิสานตอนใต้แล้วจะมีความหอมกว่าข้าวหอมมะลิที่ปลูกพื้นที่อื่น และมีข้าวพื้นเมืองที่มีคุณภาพดีหลายสายพันธุ์ที่ได้รับรางวัลดีเด่นเมื่อครั้งประกวดข้าวระดับโลกที่ประเทศแคนาดา เมื่อปี พ.ศ.2476 และพันธุ์ข้าวที่ได้รางวัลชนะเลิศคือข้าวปิ่นแก้ว จากจังหวัดชลบุรี นอกจากนี้ข้าวพื้นเมืองยังมีคุณสมบัติเหมาะสมในการทำขนมหรืออาหารของแต่ละท้องถิ่น เช่นข้าวเจ้านางเมา ที่นิยมปลูกในเขตอิสานใต้ เหมาะกับการทำขนมจีน ข้าวไร่กระเหรี่ยง ที่นิยมปลูกในที่สูงของภาคเหนือ ข้าวชนิดนี้มียางข้าวเหมาะสมสำหรับ ทำน้ำข้าวต้ม ที่หอมอร่อย (หยาดฝน, 2546) นักวิชาการใช้ประโยชน์จากพันธุกรรมความต้านทานโรคของข้าวพันธุ์พื้นเมือง เช่น พันธุ์ข้าวหางยี 71 นางมลเอส มีความต้านทานโรคไหม้และพันธุ์ข้าวน้ำสะกุย 19 ที่ต้านทานโรคขอบใบแห้ง มาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ (ทัศนีย์, 2540)

ปัจจุบันข้าวพื้นเมืองหลายพันธุ์กำลังสูญหายไปอย่างรวดเร็ว โดยมีการประมาณการว่าประเทศไทยเคยมีข้าวพื้นเมืองหลายหมื่นสายพันธุ์ แต่เมื่อปี พ.ศ. 2504 ทางราชการมีนโยบายให้ปรับระบบการผลิตมาเป็นเกษตรแผนใหม่หรือที่เรียกว่า การปฏิวัติเขียว โดยส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกข้าวพันธุ์ปรับปรุงที่ให้ผลผลิตสูงและปลูกได้มากครั้งกว่าแทนที่การปลูกข้าวพื้นเมืองที่เริ่มได้รับความนิยมลดลง (สุกรานต์, 2547) ทำให้พันธุ์ข้าวดั้งเดิมที่มีลักษณะดีบางอย่างสูญพันธุ์ไปเป็นจำนวนมากและความหลากหลายทางพันธุกรรมที่มีอยู่ลดลงไป(สงกรานต์และฉวีวรรณ, 2539) อย่างไรก็ตามกรมการข้าว และหน่วยงานที่เกี่ยวข้องได้เล็งเห็นประโยชน์และคุณค่าของข้าวพื้นเมืองและข้าวป่าจึงดำเนินการอนุรักษ์พันธุกรรมข้าวดังกล่าวโดยการรวบรวมและเก็บรักษาที่ศูนย์ปฏิบัติการและเก็บรักษาเมล็ดเชื้อพันธุ์ข้าวแห่งชาติ (วิชาและคณะ, 2544)

3. **ข้อมูลของข้าวเหนียวสายพันธุ์ กข.6**

ข้าวเหนียวสายพันธุ์กข.6 เป็นข้าวที่นิยมปลูกคือบริเวณพื้นที่ปลูกข้าวในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศในพื้นที่นิเวศวิทยาแบบข้าวนาน้ำฝนหรือข้าวนาสวน เป็นพันธุ์ไวต่อช่วงแสงเก็บเกี่ยวประมาณวันที่ 21 พฤศจิกายน ข้าวเหนียวสายพันธุ์กข.6 ได้จากการชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมในพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยการนำเอาเมล็ดพันธุ์ข้าวขาว

ดอกมะลิ 105 ไปอาบรังสีแกมม่าขนาด 20 กิโลแรต แล้วนำเมล็ดพันธุ์ข้าวมาปลูกคัดเลือกลักษณะต่าง ๆ จนได้สายพันธุ์ข้าวเหนียวหลายสายพันธุ์ สายพันธุ์ ข้าว KDML105, 65G2U-68-254 เป็นสายพันธุ์ข้าวเหนียวที่ให้ผลผลิตสูง (Seedcenter, 2008) มีลักษณะประจำพันธุ์คือเป็นข้าวต้นสูงประมาณ 150 ซม. ทรงกอตั้ง แตกกอดี ลำต้นแข็งแรงปานกลาง รวงยาวแน่น ระแง้ ค่อนข้างถี่ คอรวงยาว เมล็ดข้าวเปลือกสีน้ำตาล ปลายยอดเมล็ดสีฟาง มีขนบนเมล็ด กลีบรองดอกสั้น เมล็ดข้าวกล้องรูปร่างเรียวยาว ข้าวสุกนิ่งนุ่มหอม ระยะพักตัวของเมล็ดประมาณ 5 สัปดาห์ ผลผลิต เฉลี่ยประมาณ 670 กิโลกรัมต่อไร่ น้ำหนักข้าวเปลือก 1,000 เมล็ด ประมาณ 27 กรัม ข้าวเหนียวสายพันธุ์กข.6 มีข้อดีคือให้ผลผลิตที่ค่อนข้างดีมีเสถียรภาพในสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ทนแล้ง และต้านทานต่อโรคใบจุดสีน้ำตาล และโรคไหม้ในระดับปานกลาง ข้าวสุกนิ่งมีลักษณะนุ่มและมีกลิ่นหอมมีรสชาติดี เหนียวนุ่ม ผู้บริโภคนิยม ปลูกและดูแลง่าย แต่มีข้อเสียคือ ไม่ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และแมลงบั่ว (สถาบันวิจัยข้าว, 2533)

4. โรคขอบใบแห้งของข้าว

โรคขอบใบแห้งข้าว (bacterial leaf blight) มีสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) (Swings *et al*., 1990) เป็นโรคที่สำคัญของข้าว (*Oryza sativa*) ที่ทำความเสียหายต่อผลผลิต (Ou, 1985) แนวทางการป้องกันการเข้าทำลายและการแพร่ระบาดของเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งที่ดีและประหยัดต่อเกษตรกรคือการปลูกพันธุ์ข้าวต้านทาน(Adhikari *et al*., 1999) จากรายงาน พบการระบาดโรคขอบใบแห้งครั้งแรกในพื้นที่เมือง Fukuoka ของประเทศญี่ปุ่น ในปีช่วงระหว่างปี ค.ศ 1884–1910 สำหรับประเทศไทยพบโรคขอบใบแห้งครั้งแรกในปี พ.ศ. 2500 ในข้าวพันธุ์หอมเศรษฐี ขาวตาแห้งและข้าวเหนียวก้านพลูในเขตพื้นที่ปลูกกรุงเทพมหานคร ต่อมาในปี พ.ศ. 2506 พบว่าโรคขอบใบแห้งระบาดทั่วไปในภาคกลาง และภาคเหนือของประเทศ(สมหญิง, 2526) ในพื้นที่ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคกลางตอนเหนือ ซึ่งประชากรนิยมบริโภคข้าวเหนียวกันเป็นส่วนใหญ่และยังคงนิยมปลูกข้าวพันธุ์พื้นเมือง ได้แก่ ข้าวเหนียวสันป่าตอง เหลืองประทิวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ข้าวปลูก กข.6 และ กข.10 ซึ่งไม่ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง จัดได้ว่าโรคนี้ยังคงมีความสำคัญในแหล่งที่มีการปลูกข้าวพันธุ์พื้นเมืองซึ่งไม่ต้านทานต่อโรคและมีพื้นที่กว้างขวาง (กาญจนา, 2544)

4.1 ลักษณะของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง

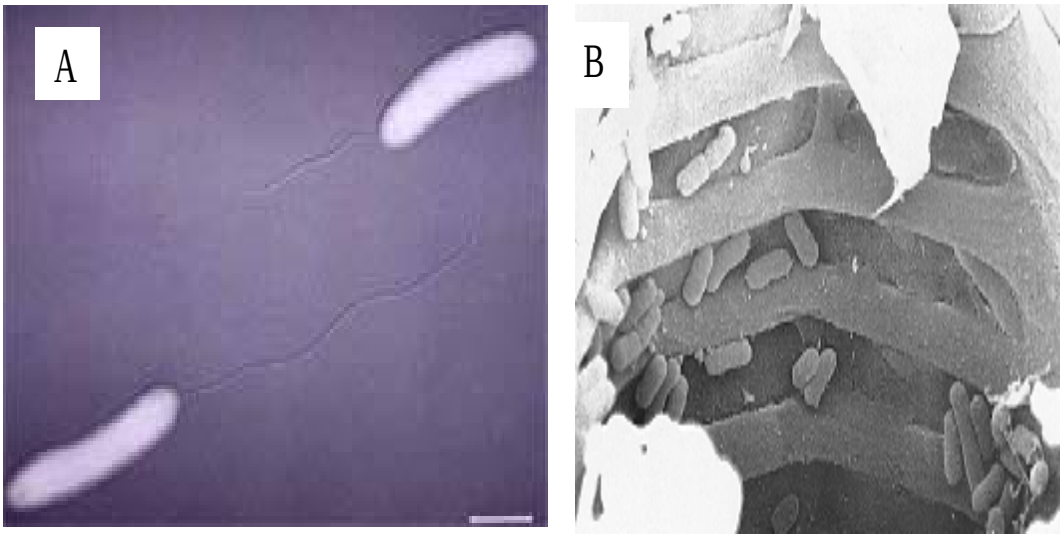
เชื้อแบคทีเรีย *Xoo* เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างเป็นท่อนตรง มีขนาด 0.55 - 0.75 x 1.35 - 2.17 μm จากที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และขนาด 0.45 - 0.60 x 0.65 - 1.40 μm บนเนื้อเยื่อของพืชอาศัย มีหาง (flagellum) สำหรับเคลื่อนที่ หนึ่งเส้น (ภาพที่ 1A) เชื้อนี้ปกติจะอยู่เดี่ยวๆ นอกจากนี้ยังพบว่าอาจสามารถจับกันเป็นคู่หรือสายยาวได้ เชื้อนี้มีโคโลนี กลม ผิวเรียบมันเยิ้ม โดยลักษณะสีเหลืองคือสาร brominated aryl polyenes หรือมีชื่อเรียกว่า Xanthomonadins

เซลล์ของ *Xoo* ถูกล้อมรอบด้วย mucous capsule ที่มีลักษณะเป็นน้ำเหนียวเป็นเมือกและรวมกันเป็นรูปแบบที่สัมพันธ์กันเกิดเสถียรภาพคงที่แม้จะอยู่ในน้ำ โคโลนี (colony) มีลักษณะเป็นวงกลม (circular) นูนออก สีค่อนข้างขาวเหลืองถึงเหลืองสีฟางข้าว ผิวหน้าราบเรียบ-ทึบแสง เม็ดสี (pigment) มีสีเหลืองไม่ละลายน้ำ (Ou, 1985; Mizukami, 1961) เมื่อทดสอบด้วยปฏิกิริยาทางชีวเคมีพบว่าไม่ย่อยสลายเจลาติน ไม่สร้างแอมโมเนีย ไม่รีดิวส์ไนเตรต สร้างไฮโดรซัลเฟตเล็กน้อย เกิดอินโดล สร้างกรดจากน้ำตาลได้ สามารถใช้น้ำตาลซูโครสและกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนได้ดีและเหมาะสมที่สุด แต่ไม่สามารถใช้น้ำตาลฟรุกโทสได้ สามารถใช้กรดกลูตามิค อิสทีน แอสพาราจีน เป็นแหล่งไนโตรเจน สามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 26-30 องศาเซลเซียสและอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตได้ดีในช่วงแรกเริ่มคือประมาณ 20 องศาเซลเซียส ช่วง pH ที่เหมาะสมคือ 6-6.5 (Mizukami and Wakimoto., 1969; Ou, 1985)

4.2 อาการของโรคขอบใบแห้ง

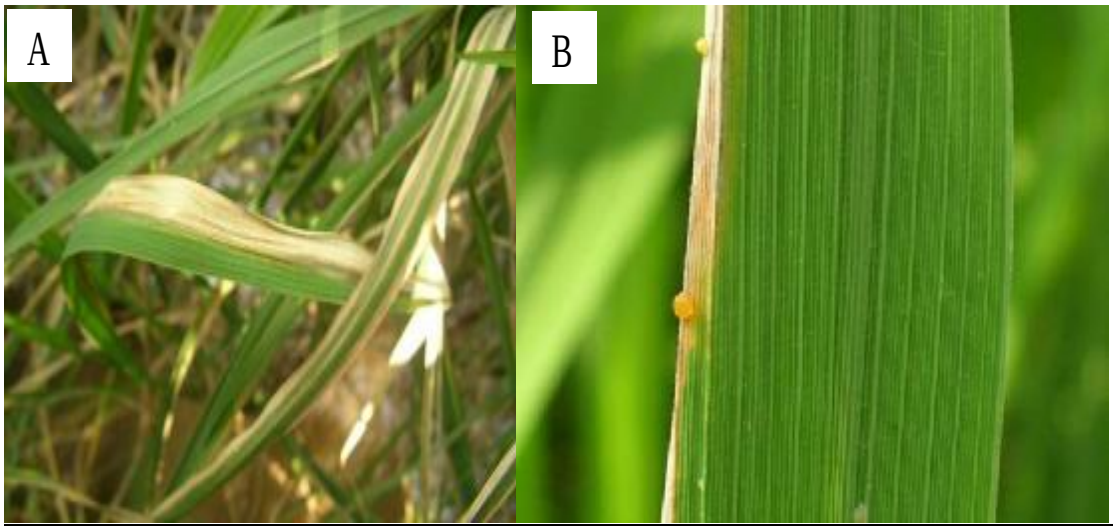
เมื่อเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* เข้าทำลายแล้วจะก่ออาการแสดงออกของ 2 แบบ คือ แบบ kresek ที่เกิดในช่วงระหว่างระยะต้นกล้าถึงระยะแรกของการแตกกอเต็มที่ โดยต้นกล้าจะแสดงอาการเหี่ยวแห้งทั้งกอและใบจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองซีดแห้ง โดยทั่วไปอาการ kresek จะทำความเสียหายให้กับต้นข้าวได้มากกว่า โดยการทำลายข้าวในระยะกล้าจะทำให้ต้นกล้าตายใน 1 – 2 สัปดาห์ซึ่งหมายถึงการจะไม่ได้ผลผลิตเลย แต่การเข้าทำลายของโรคในระยะแตกกอเต็มที่ ต้นข้าวจะยังคงมีชีวิตรอดแต่จะทำให้ผลผลิตลดลง (Rahman *et al*., 1991) ส่วนแบบ ใบไหม้ หรือ leaf blight (ภาพที่ 2A) จะเกิดรอยแผลบนแผ่นใบของพืชใยใบล่างๆจะเป็นจุดช้ำน้ำ ต่อมาในช่วง 1 – 2 สัปดาห์ต่อมา จุดช้ำนี้จะขยายมาที่กาบใบใน จะเพิ่มขนาดทั้งความกว้างและความยาว ใบจะเปลี่ยนเป็นสีฟางปนขาว จะมีน้ำชุ่มสีเทาหรือสีออกเหลือง อาการ leaf blight พบอาการในระยะแรกช่วงระยะข้าวแตกกอเต็มที่ และปรากฏอาการรุนแรงในระยะข้าวออกดอก ใบที่เป็นโรค

ขอบใบจะปรากฏมีรอยขีดช้ำลักษณะชุ่มน้ำ ต่อมาจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ที่แผลมีหยดน้ำสีครีมคล้ายยางสนกลม ๆ ขนาดเล็กเท่าหัวเข็มหมุดที่เรียกว่า bacterial ooze (ภาพที่ 2B) ออกมาจากผิวใบในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ซึ่งต่อมาจะกลายเป็นสีน้ำตาลและหลุดไปตามลม น้ำ หรือฝน บาดแผล (lesions) จะขยายไปตามความยาวของใบหรือบางครั้งอาจจะขยายไปตามความกว้างของใบ ขอบแผลมีลักษณะเป็นขอบลายหยัก และแผลนี้ไม่นานจะเปลี่ยนเป็นสีเทาเห็นขอบใบแห้งและม้วนตามความยาวของใบ การพัฒนาอาการของโรคจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วกับพันธุ์ข้าวอ่อนแอต่อเชื้อสาเหตุโรค และหากต้นข้าวได้รับปุ๋ย ไนโตรเจน ยูเรีย และแอมโมเนียมซัลเฟตมากจะมีผลทำให้ความยาวและจำนวนแผลเพิ่มมากขึ้นแต่หากว่าได้รับแคลเวียมและแอมโมเนียมไนเตรตเพิ่มขึ้นจะช่วยลดการพัฒนาความยาวของแผล (Reddy *et al*., 1973)



ภาพที่ 1 ลักษณะของเซลล์แบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน A. รูปร่างเป็นท่อนตรงและมีหาง (flagellum) B. เซลล์แบคทีเรียสาเหตุที่เจริญเติบโตบริเวณท่อน้ำ (xylem vessels) ของพืช

ที่มา: ภาพ A www.seedcenter15.doae.go.th ภาพ B www.apsnet.org/online/feature/microbe



ภาพที่ 2 แสดงลักษณะของโรคขอบใบแห้งในแปลงนาข้าวของเกษตรกร A. แสดงลักษณะของใบข้าวที่ถูกทำลายจากโรคขอบใบแห้ง B.แสดง bacterial ooze ของแบคทีเรียสาเหตุที่เป็นลักษณะหยดน้ำสีครีมคล้ายยางสนกลม ๆ ขนาดเล็กเท่าหัวเข็มหมุด

ที่มา: ภาพ B www.ricethailand.go.th/rkb/data_005/Image

4.3 การเข้าทำลายและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการระบาดของโรคขอบใบแห้ง

ลักษณะการเข้าทำลายต้นพืชของเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* เป็นลักษณะแบบดูดซึม (systemic) โดยเชื้อโรคเข้าทางบาดแผลหรือรูเปิดโดยธรรมชาติของใบผ่านเข้าสู่ท่อน้ำ (xylem) (ภาพที่ 1B) Ou (1985) พบว่า สายพันธุ์ข้าวที่มีความต้านทานต่อโรค (resistant varieties) มีการพัฒนาเกิด necrosis เป็นไปได้ช้าและบาดแผลจะยังคงเป็นสีเหลือง ส่วนในสายพันธุ์ที่อ่อนแอ (susceptible varieties) การพัฒนาของ necrosis จะรวดเร็วมากและมีผลทำให้เกิดอาการเละช่ำน้ำ (necrotic) เชื้อสาเหตุของการเกิดโรคจะมีการขับสาร (bacterial exudate) ออกทางบาดแผลใหม่ๆ ในตอนก่อนเช้า ซึ่งจะทำให้โรคสามารระบาดต่อไปได้ การระบาดในสภาพภูมิอากาศเขตร้อนชื้นที่มีความชื้นอยู่ในช่วงระยะเวลาที่ยาวนาน ความชื้นสัมพัทธ์สูง เชื้อแบคทีเรียแพร่กระจายไปในน้ำ ลม และฝน พบระบาดรุนแรงในพื้นที่มีการระบาดน้ำไม่ดี น้ำขัง มีร่มเงา และมีการให้ปุ๋ยไนโตรเจนสูง

เชื้อสาเหตุโรคสามารถเข้าทำลายพืชได้ 2 ทาง คือ ทาง hydathode และทางบาดแผล โดย hydathode คือโครงสร้างที่มีลักษณะคล้ายกับปากใบ (stomata) โดยทั่วไปจะพบ hydathode ได้ที่บริเวณด้านบนใบใกล้ส่วนปลายใบพืช ใบข้าวจะมีการคายน้ำทาง hydathode ในตอนเช้าหยดน้ำที่ออกมาทาง hydathode นี้ จะถูกส่งผ่านที่ว่างระหว่างเซลล์พวกพาเรนไคมา ซึ่งหยดน้ำนี้จะสัมผัสกับน้ำในท่อน้ำท่ออาหาร (vascular system) ของพืชดังนั้นแบคทีเรียสาเหตุจึงมีโอกาสปนเปื้อนในหยดน้ำผ่านเข้ามาทาง hydathode ได้นอกจากนี้อาจมีสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ที่แบคทีเรียสาเหตุโรคใช้เป็นแหล่งอาหารได้ (Feng and Ku, 1975; Ou, 1985) จำนวนของ hydathode บนใบจะแตกต่างกันไปตามอายุของใบข้าวและสายพันธุ์ของข้าวซึ่งพบ hydathode ใบจะพบมากในสายพันธุ์ข้าวที่อ่อนแอ Mew *et al.* (1984) รายงานว่า พบ hydathode ในต้นข้าวเป็นทางที่เชื้อ *Xoo* เข้าทำลาย

ส่วนทางที่สองคือทางบาดแผล (Wounds) ซึ่งพบว่า การเข้าทำลายของแบคทีเรียสาเหตุโรคทางบาดแผลบนใบข้าวจะเกิดขึ้นได้มากกว่าทาง hydathode หรือทางช่องเปิดตามธรรมชาติ Goto (1962) พบว่าการระบาดของโรคขอบใบแห้งของข้าวมีความสัมพันธ์กับบาดแผลบนใบของต้นข้าวที่เกิดจากพายุฝน Ou (1985) พบว่าการเกิดบาดแผลใหม่ ๆ นำมาซึ่งการจะเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรียได้มากกว่าบาดแผลเก่าๆ มีการศึกษาโดยการปลูกเชื้อที่ใบข้าวพบว่าเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรีย มีความสัมพันธ์ระหว่างเวลาของการปลูกเชื้อและการทำบาดแผลถ้าทำการ inoculation ได้เร็วหลังจากทำบาดแผล จะเกิดความเสียหายได้มากขึ้น

4.4 การเตรียมเชื้อ การปลูกเชื้อแบคทีเรีย และการประเมินผล

สถาบันวิจัยข้าวระหว่างประเทศ (International Rice Research Institute: IRRI) พบว่าอายุของการเพาะเลี้ยงเชื้อ ความเข้มข้นของ Inoculum และสภาวะของสภาพแวดล้อม โดยเฉพาะอุณหภูมิ และความชื้น ปัจจัยเหล่านี้มีอิทธิพลต่อการพัฒนาของบาดแผล IRRI (1965) การทดสอบปฏิกิริยาความต้านทานอาจใช้ใบข้าวใน seedling stage (ระยะกล้า) แทน flag leaf stage (ระยะใบธง) และใน tillering stage (ระยะแตกกอ) ซึ่งทั้ง 2 ระยะนี้มีค่าสหสัมพันธ์ต่อกันสูง Ou *et al.* (1971) พบว่าจากการศึกษาเปรียบเทียบปฏิกิริยาความต้านทานในระยะ seedling และระยะ flag leaf พบว่าปฏิกิริยาความต้านทานที่แสดงในระยะ seedling นั้นสามารถเป็นข้อมูลบ่งบอกปฏิกิริยาความต้านทานที่ระยะ flag leaf ได้เช่นเดียวกัน

Kauffman *et al.* (1973) แยกเชื้อ *Xoo* ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PSA และบ่มไว้ที่ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงนำมาใช้สำหรับเตรียมสารละลายที่ใช้ปลูกเชื้อให้อยู่ในรูปของสารละลายเชื้อ (suspension) ปรับความเข้มข้นของ bacterial cells อยู่ที่ประมาณ 10^8 cfu/ml ก่อนนำไปปลูกเชื้อในข้าวทดสอบด้วยวิธีการตัดที่ปลายใบ (clipping method) โดยใช้กรรไกรจุ่มสารละลายเชื้อที่เตรียมไว้แล้วนำมาตัดที่ปลายใบข้าว Ou (1985) ใช้เครื่องมือ spectrophotometer ช่วยในการปรับความเข้มข้นของ bacterial suspension ประมาณที่ 10^8 cfu/ml

Ou *et al.* (1971) ทดสอบปฏิกิริยาที่ระยะ seedling ที่อายุ 21 วันหลังจากเพาะข้าว ด้วยการใช้เข็มเจาะ (pricking) ใบข้าวจำนวนสองใบ Kauffman *et al.* (1973) ปลูกเชื้อ ที่อายุข้าว 20 วัน ด้วยวิธีการ clipping method ประมาณ 1 นิ้ว วัดผลที่ 15 วัน หลังการปลูกเชื้อ Adhikari and Basnyat (1999) ทดสอบปลูกเชื้อแบคทีเรีย ที่อายุข้าว 40 วัน หลังปักดำ ด้วยวิธีการ clipping method และวัดผลที่ 16 วันหลังการปลูกเชื้อตามระบบ SES หรือ Standard Evaluation System (IRRI, 1980) ตามระบบ SES โดยให้ R ไม่พบบาดแผล หรือบาดแผลขยายเพียงเล็กน้อย พื้นที่ใบถูกทำลายไม่เกิน 5 % ของใบ MR หรือ 3 มีความต้านทานปานกลาง (moderately resistance) พื้นที่ใบถูกทำลาย 6 – 12 % ของใบ MS หรือ 5 ค่อนข้างอ่อนแอ (moderately susceptibility) พื้นที่ใบถูกทำลาย 13 – 25 % ของใบ S หรือ 7 อ่อนแอ (susceptibility) พื้นที่ใบถูกทำลาย 26 – 50 % ของใบ VS หรือ 9 อ่อนแอที่สุด (very susceptibility) พื้นที่ใบถูกทำลายมากกว่า 51 – 100 % ของใบ
Shanti *et al.* (2001) ปลูกเชื้อที่อายุข้าว 45 วัน หลังปักดำ โดยใช้กรรไกรจุ่มสารละลายเชื้อที่เตรียมไว้ แล้วนำมาตัดที่ปลายใบข้าว (ประมาณ 1 – 2 นิ้ว) ที่ 3 หรือ 4 ใบบน และวัดขนาดความยาวของบาดแผล (lesion length) ประเมินผลที่ 14 วัน หลังการปลูกเชื้อ ตามระบบ SES

Mew *et al.* (1989) ประเมินผลปฏิกิริยาความต้านทานโรคของข้าว ด้วยการวัดขนาดความยาวของบาดแผล จากบริเวณปลายใบที่ตัด หน่วยวัดเป็นเซนติเมตร (ซม.) หลังปลูกเชื้อ 14 วัน และแยกประเภทความต้านทาน (resistance) ที่ 0 – 3 เซนติเมตร Chen *et al.* (2000) ประเมินลักษณะความต้านทานโรคขอบใบแห้ง ด้วยวิธีการวัดความยาวของบาดแผลที่เกิดจากเชื้อสาเหตุที่ระยะ 21 วัน หลังปลูกเชื้อ และแยกประเภทความต้านทาน (resistance) ที่มีความยาวของบาดแผลน้อยกว่า 3.0 ซม. ต้านทานปานกลาง (moderately resistance) ที่ 3.0 - 6.0 ซม. ค่อนข้างอ่อนแอ (moderately susceptibility) ที่ 6.0 - 9.0 ซม. และอ่อนแอ (susceptible) ที่ยาวกว่า 9.0 ซม. IRRI (1980) อธิบายประเมินการให้คะแนนการเป็นโรค (disease scores) ที่ระยะ 15 วัน หลังปลูกเชื้อ

5. เครื่องหมายโมเลกุลและการใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์

เครื่องหมายโมเลกุล (molecular marker) หรือเครื่องหมายดีเอ็นเอ (DNA marker) คือ ลำดับเบสช่วงหนึ่งบนโครโมโซมซึ่งบ่งบอกตำแหน่งใดตำแหน่งหนึ่งบนโครโมโซมที่ตรวจสอบได้และสามารถถ่ายทอดไปสู่รุ่นลูกหลานได้ จึงมีการนำเครื่องหมายโมเลกุลมาประยุกต์ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชในหลาย ๆ ด้าน (McCouch and Tankslay, 1991) อาทิเช่น ใช้ในการแยกสายพันธุ์พืช (varietals identification) เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างสายพันธุ์ การทำแผนที่ทางพันธุกรรม (genetic mapping) และการบ่งชี้ตำแหน่งของยีน (gene tagging) การศึกษาลักษณะทางปริมาณ (quantitative trait loci: QTL) เพื่อทำการวิเคราะห์ QTL mapping ที่ทำให้ทราบตำแหน่งของยีนแต่ละตัวที่เกี่ยวข้องต่อการแสดงออกของลักษณะทางปริมาณว่าวางตัวอยู่บนโครโมโซมใดและมีผลต่อการแสดงออกของลักษณะนั้นมากน้อยเพียงใด เมื่อทราบตำแหน่งของเครื่องหมายดีเอ็นเอที่อยู่ใกล้ยีนนั้นสามารถนำมาใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือก (marker-assisted selection; MAS) เพื่อลดขั้นตอนการในการคัดเลือกพันธุ์พืชโดยไม่ต้องรอคัดเลือกจากการแสดงออกของลักษณะทางฟีโนไทป์ (phenotype) เพิ่มประสิทธิภาพในการปรับปรุงพันธุ์ ตลอดจนสามารถร่นระยะเวลาและลดค่าใช้จ่าย (อภิชาติ, 2544) ปัจจุบันเครื่องหมายดีเอ็นเอสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทหลัก คือ (อรรัตน์, 2548)

1. Hybridization-based marker เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอซึ่งพัฒนาขึ้นโดยอาศัยหลักการเข้าคู่ของลำดับเบสดีเอ็นเอที่เป็นคู่สมกันระหว่างดีเอ็นเอตรวจสอบ (probe) กับดีเอ็นเอที่ต้องการตรวจสอบโดยใช้เทคนิค hybridization ความแตกต่างที่ตรวจพบแสดงถึงความหลากหลายของตำแหน่งจดจำของเอนไซม์ตัดจำเพาะบนจีโนมตัวอย่างได้แก่ RFLP marker (Kochert, 1994)

2. PCR-bases marker เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอซึ่งพัฒนาขึ้นโดยอาศัยหลักการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยเทคนิค Polymerase chain reaction (PCR) ตัวอย่างเครื่องหมายดีเอ็นเอที่นิยมใช้ในงานปรับปรุงพันธุ์พืช (สุรีพร, 2546) ได้แก่ RAPD marker, AFLP marker, Sequence Tag Site (STS), Express Sequence Tag (EST), Resistance Gene Analog Polymorphism (RGAP) และ Microsatellite marker หรือ SSR marker (Brown *et al.*, 1996) โดยมีหลักการดังนี้

RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) หมายถึง การตรวจสอบความแตกต่างหรือความหลากหลายของชิ้นดีเอ็นเอหลังจากถูกย่อยด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) ที่ได้จากแบคทีเรียและตัดดีเอ็นเอที่ตำแหน่งจดจำ (recognition site) ถ้าใช้เอ็นไซม์ตัด

เฉพาะชนิดหนึ่งตัดดีเอ็นเอเป้าหมายโมเลกุลหนึ่งจะได้ชิ้นดีเอ็นเอที่มีขนาดและจำนวนคงที่เสมอ ตามหลักการเข้าคู่ของเส้นดีเอ็นเอคู่สม (complementary) แล้วใช้ชิ้นดีเอ็นเอตรวจสอบ (probe) ตรวจพบความเปลี่ยนแปลงนั้นได้ หลักการเกิด polymorphism ของ RFLP คือความแตกต่างลักษณะของ DNA sequence ในจีโนมที่ศึกษา โดยความแตกต่างนี้เป็นผลจากการเกิดการกลายพันธุ์ (mutation) ตามธรรมชาตินั้นเอง Adhiraki *et al.* (1995) ใช้เทคนิค RFLP เพื่อจัดกลุ่มเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งจากแหล่งปลูกข้าวจากประเทศ จีน อินเดีย อินโดนีเซีย เกาหลีใต้ มาเลเซีย เนปาลและฟิลิปปินส์

RAPD (Random Amplified Polymorphic DNAs) เป็นการพัฒนาเทคนิค PCR โดยใช้ random primer (arbitrary primer) เพียงชนิดเดียวเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอ โดยไม่จำเป็นต้องทราบลำดับเบส โดย primer ที่ใช้จะมีขนาดสั้นกว่าปกติ คือประมาณ 8-10 นิวคลีโอไทด์ จึงสามารถเข้าคู่กับสารพันธุกรรมต้นแบบได้หลายตำแหน่งโดยสุ่ม ในจีโนมอาจมีหลายบริเวณที่ไกลกันมาก หรือทิศทางเดียวกันจะไม่เกิดผลผลิตของ PCR แต่ถ้าไปเกาะได้ในบริเวณที่ใกล้กัน และมีทิศทางเข้าหากันจะเกิดผลผลิตของ PCR เมื่อนำผลผลิตของ PCR มาแยกโดย electrophoresis และย้อมด้วย ethedium bromide จะได้แถบดีเอที่เหมือนหรือแตกต่างกัน Michelmore *et al.* (1991) ใช้เครื่องหมายโมเลกุล RAPD ในการตรวจสอบกลุ่มประชากรต้านทานและอ่อนในการหาตำแหน่งยีนต้านทานโรคราน้ำค้าง

AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) หมายถึง การตรวจสอบความแตกต่างหรือความหลากหลายของชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการย่อยด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะซึ่งตรวจสอบได้โดยเทคนิค PCR เป็นการรวมหลักการของ RFLP และ RAPD เข้าด้วยกัน สารพันธุกรรมจะถูกย่อยด้วยเอ็นไซม์ตัดจำเพาะสองชนิดที่มีตำแหน่งจดจำแตกต่างกัน ชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จะถูกต่อด้วย adapter 2 ชนิด จากปฏิกิริยาลูกโซ่ PCR จำนวนของ polymorphism ที่ได้ขึ้นอยู่กับขนาดของจีโนม ความถี่ของเอ็นไซม์ที่ตัดจำเพาะและจำนวนเบสที่จับกับ PCR primer ดังนั้นจึงมีความเหมาะสมที่จะใช้สร้างลายพิมพ์ดีเอ็นเอ เพื่อที่จะจำแนกชนิดและศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมระหว่างสปีชีส์ที่ต่างกันและภายในกลุ่มสปีชีส์เดียวกัน (Vos *et al.*, 1995)

Sequence Tag Site (STS) เป็นโมเลกุลเครื่องหมายที่ใช้ข้อมูลจากลำดับเบสของตำแหน่งเฉพาะในจีโนมมาออกแบบ primer จากนั้นใช้หลักการของ PCR เพื่อเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนของ DNA ในตำแหน่งนั้นๆ เพื่อศึกษาต่อไป คุณสมบัติที่สำคัญของโมเลกุลเครื่องหมายชนิดนี้ก็คือความจำเพาะเจาะจงของตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมายบนจีโนม และการเป็น codominant marker

และสามารถตรวจสอบได้งรวดเร็วและง่ายใช้ DNA เพียงเล็กน้อย ส่วนข้อจำกัดที่สำคัญนั้นก็คือ จะต้องมีข้อมูลลำดับเบสสำหรับใช้ในการออกแบบ primer และมีค่าใช้จ่ายมาก Sanchez *et al.* (2000) ใช้โมเลกุลเครื่องหมายชนิด STS ช่วยในการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่ได้รับการรวมยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งจำนวนสามยีนคือ *xa5 xa13* และ *xa21*

Express Sequence Tag (EST) มีหลักการคล้ายกับ STS คือเป็นโมเลกุลเครื่องหมายที่ใช้ข้อมูลจากลำดับเบสของยีนที่มีการแสดงออกมาออกแบบ primer เฉพาะตำแหน่งของยีนนั้นๆ คุณสมบัติที่สำคัญของโมเลกุลเครื่องหมายชนิดนี้ก็คือความจำเพาะเจาะจงของตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมายต่อยีนที่ใช้ออกแบบ primer หลังจากใช้ PCR เพื่อเพิ่มขยายชิ้นส่วนของ DNA ผลผลิตของการทำ PCR นั้นสามารถนำไปแยกขนาดโดยใช้ agarose gel electrophoresis หรือ polyacrymide gel electrophoresis แล้วแต่ขนาดของชิ้นส่วน DNA นั้นๆ (ธีรยุทธ, 2544)

Resistance Gene Analog Polymorphism (RGAP) เป็นโมเลกุลเครื่องหมายที่ใช้ข้อมูลลำดับ amino acid ตรงตำแหน่งส่วนอนุรักษ์ (conserved domains) ของยีนต้านทานโรคและแมลง มาออกแบบ primer จากนั้นใช้หลักการของ PCR เพื่อเพิ่มขยายชิ้นส่วนของ DNA ผลผลิตของการทำ PCR จะเรียกว่า RGA (Resistance Gene Analog) จากนั้นจะนำไปแยกขนาดโดยใช้ polyacrymide gel electrophoresis ซึ่งสามารถตรวจสอบความแตกต่างอันเกิดจาก addition, deletion และ mutation ในบริเวณตำแหน่งของยีนนั้นๆ คุณสมบัติที่สำคัญของโมเลกุลเครื่องหมายชนิดนี้ก็คือ ความจำเพาะเจาะจงของตำแหน่งโมเลกุลเครื่องหมายบนจีโนมซึ่งโมเลกุลเครื่องหมายนี้จะอยู่ใกล้กับหรือตรงกับตำแหน่งของยีนต้านทาน โมเลกุลเครื่องหมายชนิดนี้เป็นได้ทั้ง dominant and codominant marker อีกทั้งยังมีตำแหน่งที่แน่นอนบนจีโนมอีกด้วยมีการใช้เทคนิค RGAP ในการสร้างแผนที่ยีนเพื่อหาตำแหน่งยีนต้านโรคราสนิม โรค stripe rust และ โรค Barley Yellow Dwarf Virus (BYDV) ของประชากร double-haploid lines ของข้าว Barley (Toojinda *et al.*, 2000)

Microsatellite หรือ Simple Sequence Repeats (SSR) หรือ Simple Sequence Length Polymorphism (SSLP) เป็นโมเลกุลเครื่องหมายที่ใช้หลักการของการกระจายตัวของเบสซ้ำที่มีในสิ่งมีชีวิต ที่เกิดจากความแตกต่างของจำนวนชุดของลำดับเบสสั้น ๆ ที่มีนิวคลีโอไทด์ซ้ำ ๆ กัน (simple sequence repeat) เพียง 1-4 คู่เบสหรือไม่เกิน 10 คู่เบส โดย polymorphism ที่เกิดขึ้นนั้นเป็นผลเนื่องมาจากจำนวนครั้งของเบสซ้ำต่อเนื่อง (tandem repeat) โดยทั่วไปเบสซ้ำเหล่านี้มักมีลำดับเบสที่จำเพาะ (unique sequences) อยู่บริเวณรอบ ๆ เบสซ้ำต่อเนื่อง จากลักษณะเฉพาะนี้สามารถนำมาพัฒนาเป็นเครื่องหมายโมเลกุลได้ โดยการออกแบบ primer ที่สามารถเข้าคู่กับเบสจำเพาะ

จากนั้นใช้หลักการของ PCR เพื่อเพิ่มขยายชิ้นส่วนของ DNA ในตำแหน่งนั้นๆ ปัจจุบันนิยมใช้ Microsatellite marker ในการศึกษาแผนที่ของจีโนมและใช้แยกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิต (สุรินทร์, 2545) ทั้งนี้เพราะ Microsatellite มีอยู่จำนวนมหาศาล และมีขนาดความแปรรวนมาก คือ จำนวนซ้ำของหน่วย Microsatellite มีความแตกต่างกันในพืชหรือสัตว์ต่างสายพันธุ์ในสปีชีส์เดียวกัน จึงสามารถใช้ประโยชน์เป็นเครื่องหมายโมเลกุลได้อย่างดี (อรรัตน์, 2548) ข้อดีของเครื่องหมายโมเลกุลชนิดนี้คือ ให้แถบดีเอ็นเอจำนวนมากและ polymorphic สูง บางชนิดจัดเป็น codominant marker สามารถจำแนกสิ่งมีชีวิตที่เป็น homozygous และ heterozygous ออกจากกันได้ จำนวน primer ที่ใช้มีมากและเนื่องจากอาศัย PCR จึงใช้ดีเอ็นเอตั้งต้นในปริมาณน้อย นอกจากนี้การแลกเปลี่ยนข้อมูลลำดับเบสของ primer ระหว่างนักวิจัยทำได้ง่าย เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการศึกษาเกี่ยวกับแผนที่โครโมโซมและพันธุศาสตร์ประชากรได้ (สุรีพร, 2546)

6. การศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง

การศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง มีการใช้ความรู้หลากหลายวิธี ได้แก่ การศึกษาทางสัณฐานวิทยา (morphology) การทดสอบความสามารถในการเกิดโรค (pathogenicity) และการโดยใช้เทคนิคโมเลกุลเครื่องหมาย เป็นต้น

Veracruz และ Mew (1989) ศึกษา pathogenicity ของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง พบว่ามีหลาย strain หรือหลาย race ของแบคทีเรียสาเหตุ และพันธุ์ข้าวต้านทานแต่ละสายพันธุ์ซึ่งมียีนต้านทานแตกต่างกันจึงมีปฏิกิริยาต่อ race ต่าง ๆ ของเชื้อสาเหตุแตกต่างกัน สอดคล้องกับ Ogawa *et al.* (1986) พบว่าพันธุ์ TKM6 ต้านทานต่อ race 1 และต้านทานปานกลางต่อ race 4 แต่อ่อนแอต่อ race 2 และ race 3 หรือพันธุ์ TN1 ต้านทานเฉพาะ race 5 แต่อ่อนแอมากต่อ race อื่น ๆ การที่พันธุ์ข้าวต่างๆที่มียีนแตกต่างกันมีปฏิกิริยาต่อ race ต่างๆของเชื้อสาเหตุแตกต่างกันสอดคล้องตามทฤษฎี gene-for-gene ของ Flor (1971)

Adhiraki *et al.* (1995) ทำการจัดกลุ่มเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง 308 strains จากแหล่งปลูกข้าวใน 7 ประเทศทั่วเอเชียได้แก่ ประเทศ จีน อินเดีย อินโดนีเซีย เกาหลีใต้ มาเลเซีย เนปาลและฟิลิปปินส์ โดยใช้เทคนิค RFLP ซึ่งใช้ IS*1112* และ avr*Xa*10 เป็น probe เทียบกับลักษณะความรุนแรงของการเกิดโรค สามารถจัดเป็น 5 กลุ่ม ซึ่งเชื้อ 3 จาก 5 กลุ่มมาจากแต่ละประเทศที่ทำการเก็บตัวอย่าง เชื้อจากกลุ่มดังกล่าวนี้ยังพบอยู่ในกลุ่มอื่นด้วยแสดงให้เห็นถึงรูปแบบ

การกระจายตัวของเชื้อสาเหตุที่แตกต่างกันออกไปในแต่ละพื้นที่และความเป็นไปได้ในการพัฒนาพันธุ์ข้าวต้านทานของพื้นที่นั้น ๆ

George *et al.* (1996) วิเคราะห์การกระจายตัวของเชื้อสาเหตุ 71 ไอโซเลท ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้โดยใช้ PCR-based restriction analysis และ ligation-mediated PCR DNA fingerprint พบว่า PCR ให้ความแม่นยำสูงที่สุดและเสียค่าใช้จ่ายต่ำ เมื่อใช้ PCR และ RFLP เปรียบเทียบ strain ของเชื้อจากประเทศอินโดนีเซียและฟิลิปปินส์ พบว่าในขณะที่เชื้อในแต่ละพื้นที่มีความแตกต่างกัน strain ที่รุนแรงจากทั้งสองที่มีความใกล้ชิดกันทางพันธุกรรม

Yoshita *et al.* (1997) ศึกษาความหลากหลายของเชื้อสาเหตุ 67 ไอโซเลท จาก 18 แหล่งในประเทศอินเดียจากลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ใช้ repeat element 2 ชุดที่แตกต่างกันเป็น probe พบว่าตัวอย่างเชื้อสาเหตุ 12 จากทั้งหมด 18 แหล่งมีความสัมพันธ์กัน จากการวิเคราะห์ pathotype ทำให้จัดออกเป็น 2 กลุ่มคือ Ia และ Ib ส่วน Adhikari and Basnyat (1999) ได้มีการสำรวจและศึกษาการแสดงลักษณะที่ทำให้เกิดโรคของเชื้อ *Xoo* บนประชากรข้าวทดสอบที่ทราบยีนต้านทาน เพื่อเป็นฐานข้อมูลที่สำคัญสามารถใช้ในโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์โดยวิเคราะห์และจำแนกเชื้อโรคขอบใบแห้งของประเทศเนปาล ด้วยการศึกษาลักษณะทาง phenotypic และ molecular markers ตามลักษณะที่แสดงออกของปฏิกิริยาต่อกันระหว่างเชื้อสาเหตุโรค จำนวน 9 races ต่อข้าวทดสอบจาก IRRI 5 สายพันธุ์ ซึ่งแตกต่างกันและสายพันธุ์ข้าวของประเทศเนปาล 3 สายพันธุ์

Kosawong *et al.* (2005) ทำการศึกษาเชื้อสาเหตุ 30 ไอโซเลท จากแหล่งปลูกข้าวในภาคเหนือของไทย เพื่อจัดกลุ่มเชื้อสาเหตุโดยเทคนิค IS-PCR และ AFLP เทียบกับลักษณะความรุนแรงของการเกิดโรค พบว่า pathogenicity สามารถจัดเชื้อสาเหตุเป็น 3 กลุ่มใหญ่ ซึ่งแต่ละกลุ่มมีการกระจายตัวของเชื้อสาเหตุที่มาจากหลายพื้นที่และพบว่าเทคนิค AFLP สามารถจัดกลุ่มได้ดีกว่าเทคนิค IS-PCR ดังนั้นความรู้และเข้าใจในความแปรปรวนและความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งจึงมีความจำเป็นต่อการพัฒนาและปรับปรุงข้าวพันธุ์ต้านทานอย่างยั่งยืน

7. การศึกษาเกี่ยวกับพันธุกรรมความต้านทานโรคขอบใบแห้งและการปรับปรุงพันธุ์ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งโดยใช้เทคนิคโมเลกุลเครื่องหมาย

การศึกษาพันธุกรรมของลักษณะต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งของข้าวที่ผ่านส่วนใหญ่ดำเนินการที่ประเทศญี่ปุ่นและฟิลิปปินส์เป็นหลัก โดยญี่ปุ่นได้พัฒนาสายพันธุ์ข้าวต้านทานพันธุ์แรก คือ Norin 274 ที่มีลักษณะต้านทานแบบ dominant genes (*Xa1* และ *Xa2*) ส่วน IRRI นำพันธุ์ IR20 และ IR22 เป็นพันธุ์แรกที่ผลิตได้ในปี 1969 โดยมียีนต้านทานมาจากสายพันธุ์พื้นเมือง TKM6 และพันธุ์ Tudakan (Khush, 1977) ข้าวพันธุ์พื้นเมือง Hom Thong ของประเทศลาวและพันธุ์ Semora Mangga ของอินโดนีเซียเป็นยีนต้านทานที่ควบคุมด้วยยีนเด่นที่มีตำแหน่งอยู่ที่เดียวกับยีน *Xa4* ซึ่งเป็นยีนที่พบในข้าวชนิดอินดิกาที่มีอยู่ในพันธุ์ข้าวต้านทานของหลายๆประเทศในเอเชียตะวันออกและตะวันออกเฉียงใต้ อาทิ พันธุ์ข้าวต้านทาน TKM6, Tadukan, Sigadis ABT32, Govind , UR20 และ W1263 อย่างไรก็ตามการใช้พันธุ์ข้าวที่มีเพียงยีนต้านทานชนิดเดียวอย่างกว้างขวางและเป็นเวลานานส่งผลให้เกิดการวิวัฒนาการของเชื้อโรคขอบใบแห้งจนสามารถเข้าทำลายข้าวที่มียีนต้านทาน *Xa4* ได้ ทำให้เกิดความเสียหายต่อการผลิตข้าวในหลายประเทศทั่วทวีปเอเชีย (Librojo *et al*.,1976; Khush *et al*., 1989)

Yoshimura *et al*. (1992) ศึกษาโดยการสืบหายีนอย่างรวดเร็ว (gene tagging) ด้วยเทคนิค RFLP พบว่า ยีน *Xa1* และยีน *Xa2* จากการวิเคราะห์ linkage มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่ 4 ส่วนยีน *Xa3* เป็นอิสระจากยีน *Xa1* และ *Xa2* ซึ่งมีความสัมพันธ์กับเครื่องหมาย XNpb186 บนโครโมโซมที่ 11 ส่วน Yoshimura *et al*. (1995a) พบว่ายีน *Xa4* มี มีความสัมพันธ์กับเครื่องหมาย XNpb181 เช่นเดียวกัน และ Sidhu and Khush (1978) รายงานว่า ยีน *Xa4* นี้จะสัมพันธ์กับยีน *Xa6* โดยมีค่า recombination value เท่ากับ 26 เปอร์เซ็นต์ แต่เป็นอิสระจากยีนต้านทาน *xa5*

Blair และ McCouch (1997) ศึกษาประชากร F_2 จำนวน 2 ประชากรได้แก่ IR 24 x IRBB5 และ Chinsurah Boroll x IR64 โดยวิธีการ gene tagging โดยการใช้เครื่องหมายโมเลกุล RFLP คือ RG556 และ RZ390 และใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR markers ได้แก่ RM122 and RM390 พบว่ายีนต้านทาน *xa5* มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่ 5

ตารางที่ 1 รายชื่อยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งรายชื่อข้าวที่เป็นแหล่งยีนต้านทานและโครโมโซมที่วางยีนตำแหน่ง

Gene	Varieties	Chromosome	Gene	Varieties	Chromosome
Xa-1	Kogyoku	4	*xa-19*	XM5	11
Xa-1^{h}	IR22, IR29, IR30	4	*xa-20*	XM6	-
Xa-2	Rantai Emas II, Te-tep	4	*Xa-21*	*O.longistaminata*	11
Xa-3	Wase Aikoku 3	11	*Xa-22*	Zhachanglong	11
Xa-4^{b}	Semora Mangga	11	*Xa-23*	*O.nivara*	11
Xa-4	TKM 6, IR20, IR22	11	*Xa-24*	DV85, DV86, Aus295	-
xa-5	DZ192, IR1545-339	5	*Xa-25*	Minghui63	12
Xa-6	Zenith	-	*Xa-26*	NeBhaBongto, Minghui63	11
Xa-7	DV87	6	*Xa-27*	*O. minuta*, AraiRaj	6
xa-8	P1231129	7	*xa-28*	Lota Sail	-
Xa-9	Sateng	-	*Xa-29*	*O.fficinalis*	1
Xa-10	Cas 209	4	*Xa-30*	CB30	11
Xa-11	RP9-3, IR8	-	*Xa-30*	*O.nivara*	4
Xa-12	Kogyoku, Java 14	12	*Xa-31*	Zhachanglong	6
Xa-12^{h}	IR28, IR29, IR30	12	*xa-31*	*O.nivara*	5
xa-13	Long grain	8	*xa-32*	*O.barthii*	6
Xa-14	TN1	4			
xa-15	M41	-			
Xa-16	Tetep and IR24	-			
Xa-17	Asominori	-			
Xa-18	Toyonishiki	-			

ที่มา: Rao *et al.*, 2002; Ogawa and Khush, 1989; Sun *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2007 และ Singh *et al.*, 2007

กาญจนา (2544) ศึกษาหาตำแหน่งยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งกับเชื้อสาเหตุไอโซเลท No.8207 จากภาคกลางของไทย ด้วยวิธีการ gene tagging จากประชากร F_2 ของ IR 24 x IRBB5 โดยการใช้เครื่องหมายโมเลกุล RFLP พบว่ายีนต้านทาน *xa5* มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่5 และเครื่องหมาย E2/M1-1 อยู่ใกล้ชิดกับยีน *xa5* ในระยะ 0.60 cM ส่วน เครื่องหมาย E1/M8-3 ที่อยู่อีกด้านของยีน *xa5* อยู่ห่างออกไป เป็นระยะ 4.00 cM

Zhang *et al.* (1996) ศึกษาโดยการ gene tagging ในประชากร doubled haploid ของ IR64 x Azucena ด้วยเทคนิค RAPD และ RFLP พบว่ายีน *xa13* มีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซมที่ 8 ต่อมา Huang *et al.* (1997), Sanchez *et al.* (1999) นำเอา RFLP marker คือ RG136 มาใช้ในการพัฒนาวิธี PCR – based STS marker พบว่ายีน *xa13* ที่ตำแหน่งใกล้ R2027 marker และมีขนาด 96-kb clone 21H14 ผลจากการศึกษาพัฒนา PCR – based marker นี้จึงได้มีการนำ 21H14F และ 21H14R (BAC clones) มาใช้ในเทคนิค MAS ซึ่งจะแสดง polymorphism ระหว่างยีน *xa13*

Ronald *et al.* (1992) พบตำแหน่งของยีน *Xa21* โดยวิธี gene tagging พบว่า RAPD marker คือ RAPD 248 และ RFLP marker คือ RG103 มีความสัมพันธ์กับ gene ที่ระยะ 1.2 cM. อยู่บนโครโมโซมที่ 11 ต่อมา Ronald (1997) ทำการ Clone ยีน *Xa21* ในข้าว monocotyledonous species โดยใช้ plasmid pC822 เพื่อหาขนาดของยีนและการเรียงลำดับ (Sequencing) ของยีน *Xa21* พบ codes สำหรับโดเมน kinase receptor เพื่อจับกับ serine – threonine kinase (STK) ที่เป็น specificity ต่อกัน จากโครงสร้างทางโมเลกุลของยีน *Xa21* นี้จะช่วยสนับสนุนบทบาทหน้าที่ในการส่งสัญญาณ (signaling) สำหรับต้านทานเชื้อโรคพืช (Song *et al.*, 1995)

จากรายงานความหลากหลายทางพันธุกรรมของยีนต้านทานพบว่าโดยทั่วไปลักษณะการแสดงออกของยีนต้านทานจะมี 2 ลักษณะ คือที่เป็น Dominate gene มี 18 ยีน (*Xa1*, *Xa2*, *Xa3*, *Xa4*, *Xa6*, *Xa7*, *Xa9*, *Xa10*, *Xa11*, *Xa12*, *Xa14*, *Xa16*, *Xa17*, *Xa18*, *Xa21 Xa20*, *Xa23* และ *Xa24*) และลักษณะยีนต้านทานเป็น Recessive gene มี 6 ยีน (*xa5*, *xa8*, *xa13*, *xa15*, *xa19* และ *xa22*) (Khush and Kinoshita, 1991; Kinoshita, 1995; Kameswara Rao *et al.*, 2002)

จากการศึกษาการวางตำแหน่งยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งนั้นพบว่ามีรายงานตำแหน่งยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งบน 12 โครโมโซมของข้าว ดังในตารางที่ 1 และตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง ตำแหน่งบน linkage map และประชากรที่ใช้ศึกษา

Name	Chromosome	Start position (cM)	Stop position (cM)	Reference map
Xa1	4	108.20	108.20	Rice-JRGP RFLP 2000
Xa2	4	105.90	105.90	Rice-JRGP RFLP 2000
Xa3	11	109.8	114.4	Rice-JRGP RFLP 2000
Xa4	11	110.4	113.8	Rice-JRGP RFLP 2000
xa5	5	4.50	6.10	Rice-Cornell RFLP 2001
Xa6	6	98.5	116.10	Rice-JRGP RFLP 2000
xa8	11	96.5	106.4	Rice-Cornell RFLP 2001
Xa10	4	66.00	-	Rice-Morph 2000
Xa11	8	110.10	112.30	Rice-JRGP RFLP 2000
Xa12	4	40.00	78.20	Rice-Cornell RFLP 2001
xa19	11	95.40	95.40	Rice-Cornell RFLP 2001
Xa21	11	95.70	151.10	Rice-Cornell RFLP 2001
Xa23	11	44.00	100.00	Rice-Morph 2000
Xa26	11	112.80	122.40	Rice-JRGP RFLP 2000
Xa27	7	0.00	124.00	Rice-Morph 2000

ที่มา: Website www.gramene.org

Chen *et al.* (2000) ปรับปรุงพันธุ์ Minghui 63 และ Shanyou 63 เพื่อให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง ด้วยการถ่ายทอดยีนต้านทาน *Xa21* จาก IRBB21 และคัดเลือกลักษณะต้านทานโดยวิธีการปลูกเชื้อแต่ละชั่วนำมาคัดลักษณะของยีนต้านทานด้วยวิธีการ PCR เพื่อคัดเลือกลักษณะที่เป็น recombination ระหว่างยีนต้านทาน *Xa21* กับตำแหน่ง marker ซึ่งผลจากการศึกษาสามารถปรับปรุงพันธุ์ Minghui 63 และ Shanyou 63 ให้มีลักษณะต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งได้ดีกว่าพันธุ์เดิม

Sanchez *et al.* (2000) นำโมเลกุลเครื่องหมาย STS มาช่วยในการคัดเลือกข้าว 3 สายพันธุ์ที่ได้รับการรวมยีนต้านทานสามยีนเข้าด้วยกันคือ *xa5 xa13* และ *xa21* จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าประชากร near-isogenic lines (NILs) รุ่นที่ BC_3F_3 ที่มียีนต้านทานมากกว่ายีนเดียวมีลักษณะความต้านทานแบบกว้างมากกว่าและสามารถเพิ่มระดับของความต้านทานต่อเชื้อโรคขอบใบแห้งหลาย

race เมื่อเปรียบเทียบกับข้าว NILs ที่มียีนต้านทานเพียงชนิดเดียว และพบว่าการใช้โมเลกุลเครื่องหมายช่วยในการคัดเลือกมีความแม่นยำมากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์และ 96 เปอร์เซ็นต์ในการจำแนกพืชที่มียีนต้านทาน xa-5 และ xa-13 ตามลำดับ

Singh *et al.* (2001) ทำการรวมยอดยีน(gene pyramiding) ยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งจำนวน 3 ยีน (*xa5, xa13 และ Xa21*) เพื่อปรับปรุงพันธุ์ข้าวพันธุ์ PR106 ที่ให้ผลผลิตสูงแต่ไม่ต้านทานโรคขอบใบแห้งในประเทศฟิลิปปินส์ให้มีลักษณะต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งด้วยการใช้วิธี MAS โดยใช้สายพันธุ์ข้าว IRBB62 ที่มียีนต้านทานทั้งสามยีน เป็น donor parent และคัดเลือกด้วยวิธีการ PCR โดยใช้ markers คือ Sequence tagged site (STS) markers ได้แก่ RG556, RG136 และ pTA248 ที่สัมพันธ์กับยีนต้านทาน *xa*5, *xa13* และ *Xa21*

Narayanna *et al.* (2002) ศึกษาการถ่ายทอดยีนต้านทานโรคไหม้ *Piz5* และยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง *Xa21* เข้าสู่ข้าวพันธุ์ IR50 ด้วยการผสมกลับ และใช้วิธี MAS (marker-assisted selection) และใช้เครื่องหมาย Sequence tagged site (STS) คือ RG64 ในการคัดเลือกต้นที่มียีน *Piz5* และเนื่องจาก marker นี้แสดงออกเป็น codominance จึงสามารถใช้จำแนกต้นทีมีจีโนไทป์แบบ heterozygous และ homozygous ได้ทำให้สะดวกในการคัดเลือกและพบว่าข้าวที่ปรับปรุงพันธุ์ด้วยวิธีนี้สามารถต้านทานต่อเชื้อสาเหตุของโรคทั้งสองได้อย่างกว้างขวางขึ้น

Jena *et al.* (2007) ใช้ MAS เพื่อการรวมยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง 3 ยีนเข้าด้วยกันคือ *Xa4 xa5* และ *Xa21* เพื่อปรับปรุงพันธุ์ข้าว Mangeumbyeo ที่เป็นข้าว japonica ด้วยการผสมกลับและคัดเลือกโดยใช้โมเลกุลเครื่องหมาย AFLP และ SSR marker พบว่าประชากรรุ่นที่ BC_3F_3 และ BC_2F_4 ที่มียีนต้านทานทั้ง 3 ยีนแสดงลักษณะต้านทานแบบกว้าง (broad spectrum resistance) ต่อกลุ่มเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งทั้ง 16 กลุ่มของประเทศเกาหลีมากกว่าข้าวพันธุ์ที่มียีนต้านทานเพียงหนึ่ง และ สองยีน

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, *Xoo*) ที่เป็นสาเหตุโรคขอบใบแห้ง (แสดงในตารางภาคผนวกที่ 1)

2. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการแยกเชื้อ เลี้ยงเชื้อ ปลูกเชื้อ และเก็บรักษาเชื้อ

3. สายพันธุ์ข้าว near iso genic lines (NILs) จำนวน 9 สายพันธุ์ ข้าวพื้นเมือง จำนวน 182 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ปรับปรุงจำนวน 26 สายพันธุ์

3.1 ข้าวสายพันธุ์คู่แฝด (near isogenic lines) จาก สถาบันวิจัยข้าวระหว่างประเทศ (International Rice Research Institute: IRRI) จำนวน 9 สายพันธุ์ที่มียีนแตกต่างกันคือ *Xa3 Xa4 xa5 Xa7 xa8 Xa10 xa13 Xa14 Xa21* ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ข้าว near isogenic lines (NILs) ที่ใช้ในการทดสอบซึ่งมียีนต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งที่มียีนต้านทานที่แตกต่างกัน

ลำดับ	ชื่อพันธุ์ (รหัสพันธุ์)	ยีนต้านทาน	แหล่งเมล็ด	ประเทศ
1	IRBB3	*Xa-3*	IRRI	ฟิลิปปินส์
2	IRBB4	*Xa-4*	IRRI	ฟิลิปปินส์
3	IRBB5	*xa-5*	IRRI	ฟิลิปปินส์
4	IRBB7	*Xa-7*	IRRI	ฟิลิปปินส์
5	IRBB8	*xa-8*	IRRI	ฟิลิปปินส์
6	IRBB10	*Xa-10*	IRRI	ฟิลิปปินส์
7	IRBB13	*xa-13*	IRRI	ฟิลิปปินส์
8	IRBB14	*Xa-14*	IRRI	ฟิลิปปินส์
9	IRBB21	*Xa-21*	IRRI	ฟิลิปปินส์

3.2 ข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากศูนย์วิจัยข้าวพาน จังหวัดเชียงราย กรมการข้าว จำนวน 182 สายพันธุ์ ข้าวพันธุ์ปลูกจำนวน 26 สายพันธุ์ และข้าวพันธุ์ปรับปรุงจำนวน 26 สายพันธุ์จากหน่วยค้นหาและใช้ประโยชน์จากยีนข้าว (Rice Gene Discovery Unit, RGDU) แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม มาทดสอบถึงระดับความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งเพื่อค้นหายีนต้านทานใหม่และสายพันธุ์ข้าวต้านทานมาตรฐาน ได้แก่ IR62266 ส่วน สายพันธุ์ข้าวอ่อนแอมาตรฐาน ได้แก่ IR24 ข้าวหอมมะลิ 105 และข้าวเหนียวกข.6 เพื่อทดสอบความสามารถทำให้เกิดโรคของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง

3.3 เมล็ดพันธุ์พ่อและแม่ โดยข้าวพื้นเมือง ที่แสดงลักษณะความต้านทานโรคขอบใบแห้ง เป็นสายพันธุ์พ่อ ส่วนข้าวสายพันธุ์แม่คือ ลูกผสม BC_4F_2 คือ สายพันธุ์ข้าวกข.6*Blast No.7 (RGDU 334-3-11-1-1-179) ที่ได้จากคู่ผสมระหว่างข้าวเจ้าหอมนิลที่มียีนต้านโรคไหม้ ที่ตำแหน่งโครโมโซมที่ 1 และ 11 (Noenplab *et al.*, 2006) และข้าวเหนียวกข.6โดยได้รับการพัฒนาที่หน่วยค้นหาและใช้ประโยชน์จากยีนข้าว (Rice Gene Discovery Unit; RGDU) โดย Wongsaprom *et al.* (2008)

4. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอและการตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอด้วยเทคนิค Microsatellite หรือ Simple Sequence Repeats (SSR)

วิธีการ

1. **การจำแนกเชื้อแบคทีเรีย** *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*)

1.1 รวบรวมสายพันธุ์แบคทีเรีย

รวบรวมสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรีย *Xoo* สาเหตุโรคขอบใบแห้งจากหน่วยค้นหาและใช้ประโยชน์จากยีนข้าว (Rice Gene Discovery Unit; RGDU) แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม จำนวน 60 ไอโซเลท และ จากห้องปฏิบัติการภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จำนวน 68 ไอโซเลท กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ จำนวน 8 ไอโซเลท และการแยกเชื้อจากใบข้าวเป็นโรคที่รวบรวมเพิ่มเติมจากแหล่งปลูกข้าวที่สำคัญจำนวน 14 ไอโซเลท เพื่อการศึกษาวิจัยจำแนกเชื้อ

1.2 การแยกเชื้อและการเก็บรักษา

1.2.1 การแยกเชื้อจากใบข้าวเป็นโรคที่รวบรวมเพิ่มเติมจากแหล่งปลูกข้าว

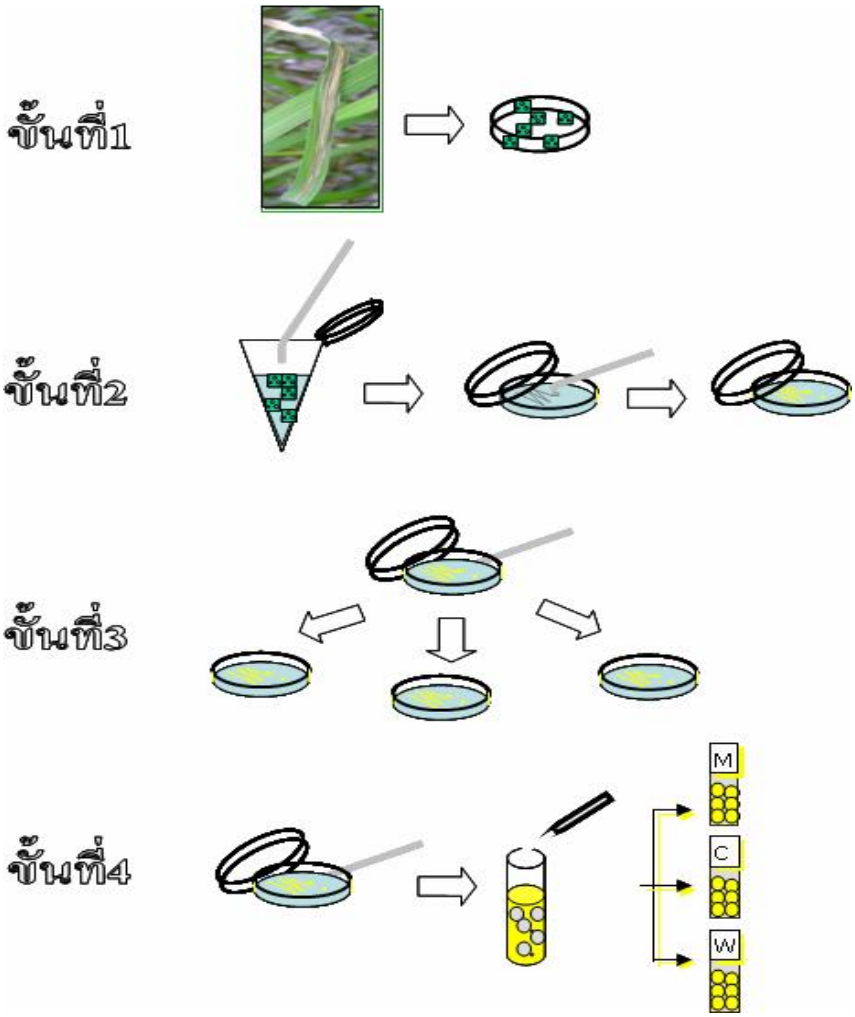
นำตัวอย่างใบข้าวที่เป็นโรคมาแยกเชื้อโดยวิธี ooze suspension และวิธี ooze picking โดยวิธี ooze suspension (ภาพที่ 3) เหมาะสมสำหรับการแยกเชื้อจากแผลที่ใหม่ ปฏิบัติโดยนำใบข้าวบริเวณที่เป็นรอยต่อระหว่างแผลที่เป็นโรคกับส่วนที่กำลังพัฒนาขยายออกไปมาทำความสะอาดด้วยกระดาษ tissue ที่จุ่มด้วย 70% ethanol มาลูบบนใบข้าวประมาณ 2-3 ครั้ง หลังจากนั้นตัดชิ้นส่วนของใบบริเวณที่มีรอยต่อที่เป็นโรคและที่กำลังพัฒนาให้มีขนาดประมาณ 2-3 ตารางมิลลิเมตร มาแช่ในน้ำนึ่งฆ่าเชื้อในหลอด microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิเมตร นานประมาณ 1-2 ชั่วโมง เพื่อให้เกิด oozing ของแบคทีเรีย ต่อมาเมื่อเชื้อเจริญใช้ loop จุ่มสารละลาย นำไป streak plate ในอาหาร peptone sucrose agar (PSA) หรือ nutrient glucose agar (NGA) ให้ได้โคโลนีเดี่ยว (single colony) (ภาพที่ 5) เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ เลือกโคโลนีเดี่ยวที่มีสีเหลืองกลมนูนขอบเรียบเยิ้มเล็กน้อย ซึ่งเป็นลักษณะที่มีแนวโน้มว่าเป็นเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง เก็บเชื้อที่ได้ในหลอดอาหารเอียง NGA เพื่อใช้ทดสอบต่อไป

ส่วนวิธี ooze picking (ภาพที่ 4) ปฏิบัติโดยนำตัวอย่างใบข้าวที่เป็นโรคมาตัดที่บริเวณแผลที่เกิดขึ้นใหม่ที่มีรอยต่อระหว่างบริเวณที่เป็นโรคกับส่วนปกติให้มีขนาด 1-2 ตารางมิลลิเมตร นำไปวางในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเล็กที่ค่ำอยู่ในจานเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อเพื่อให้เกิดความชื้น บ่มไว้ที่อุณหภูมิเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เมื่อเกิด ooze หรือโคโลนีสีเหลืองกลมนูนขึ้นบนใบข้าวที่นำไปบ่ม ใช้แท่งแก้วเขี่ยเอา ooze ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แล้ว streak บน อาหาร PSA หรือ NGA ในจานเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 28-30 องสาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 24-72 ชั่วโมง เมื่อเชื้อเจริญนำไป streak plate ให้ได้โคโลนีเดี่ยว เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ เลือกโคโลนีเดี่ยวที่มีสีเหลืองกลมนูนขอบเรียบเยิ้มเล็กน้อย ที่ลักษณะเป็นสาเหตุโรคขอบใบแห้ง

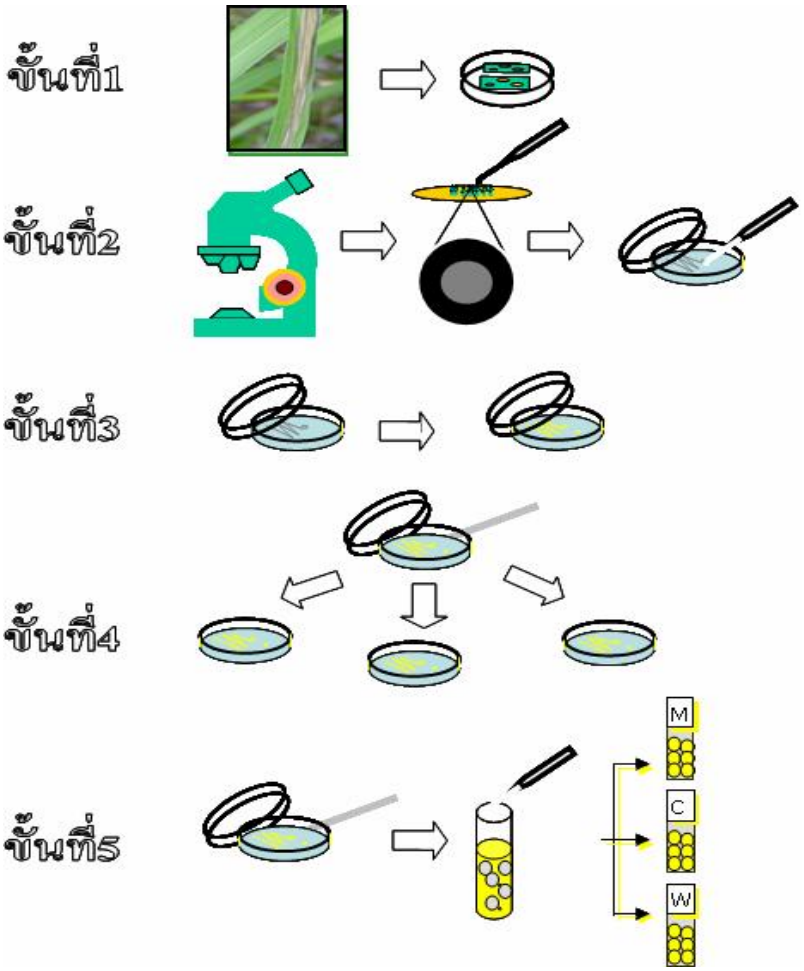
1.3 การเก็บรักษาเชื้อ

1.3.1 การเก็บรักษาชั่วคราวเพื่อการศึกษาระยะสั้น

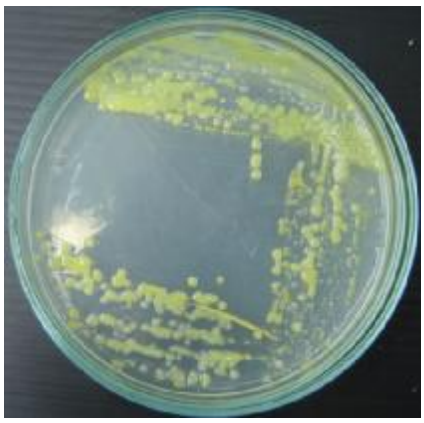
ใช้วิธี sub culturing โดยทำการย้ายเชื้อลงบนอาหาร NGA slant ทุก 15 วัน เก็บที่อุณหภูมิที่ 8-10 ^{o}C และเก็บโดยเททับด้วยพาราฟิลเหลวที่นึ่งฆ่าเชื้อรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 ^{o}C



ภาพที่ 3 แสดงขั้นตอนการแยกเชื้อวิธี ooze suspension และการเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง



ภาพที่ 4 แสดงขั้นตอนการแยกเชื้อวิธี ooze picking และการเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรค



ภาพที่ 5 แสดง colony เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งที่นำไป streak plate ให้ได้โคโลนีเดี่ยว เพื่อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ เลือกโคโลนีเดี่ยวที่มีสีเหลืองกลมนูนขอบเรียบเยิ้มเล็กน้อย

1.3.2 การเก็บรักษาชั่วคราวเพื่อการศึกษาระยะยาว

สามารถเก็บรักษาได้ 2 วิธี คือวิธีที่ 1โดยการย้ายเชื้อแบคทีเรียที่เจริญในอาหารเหลว NGB เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ลงในหลอด microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อเติมกลีเซอรอล 40 เปอร์เซ็นต์ที่ปลอดเชื้อโดยใช้อัตราส่วน ของ suspension เชื้อแบคทีเรีย ต่อกลีเซอรอล 40 เปอร์เซ็นต์ เป็นอัตราส่วน 1:1 (suspension เชื้อ 500 ไมโครลิตร: กลีเซอรอล 40 เปอร์เซ็นต์ 500 ไมโครลิตร) ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำ (-20 หรือ -80 องศาเซลเซียส)

วิธีที่ 2 เก็บเชื้อในรูปแบบ filter paper โดยการนำกระดาษกรอง (filter paper) ที่นึ่งฆ่าเชื้อมาวางทับบนเชื้อแบคทีเรียที่เจริญในอาหาร NGA เป็นเวลา 40 – 60 วินาที เพื่อให้กระดาษกรองดูดซึมเชื้อแบคทีเรียให้ไปอยู่ในเนื้อกระดาษกรอง นำกระดาษกรองที่ได้ไปอบเพื่อดูดความชื้นในโหลที่บรรจุเม็ดแก้วดูดความชื้นอยู่ภายใน อบกระดาษกรองไว้ ประมาณ 14 วัน จนกระดาษแห้ง จึงนำมาตัดเป็นชิ้นเล็กๆแล้วนำไปบรรจุไว้ในซองกระดาษหรือซอง Aluminium foil ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว นำไปเก็บรักษาระยะยาวที่อุณหภูมิต่ำ (-20 หรือ -80 องศาเซลเซียส)

1.4 การทดสอบในข้าวสายพันธุ์คู่แฝด (near isogenic lines)

1.4.1 การศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งโดยวิเคราะห์จากสามารถในการเกิดโรค (pathogenicity) กับพันธุ์ข้าว near isogenic lines คือ *Xa3 Xa4 xa5 Xa7 xa8 Xa10 xa13 Xa14* และ *Xa21* และข้าวปลูกจำนวน 26 (ตารางที่ 4) ทดสอบกับเชื้อแบคทีเรียสาเหตุจำนวน 90 ไอโซเลท (ตารางที่ 5) ที่เป็นตัวแทนจากพื้นที่แหล่งเก็บตัวอย่าง ทำการเพาะเมล็ดพันธุ์ข้าวทดสอบในจาน 3 วัน เมื่อมียอดข้าวโผล่ออกมายาวประมาณ 0.5 ซม. และมีรากงอกยาวประมาณ 0.5 - 1.0 ซม. ให้ย้ายปลูกลงในถาดหลุมพลาสติกแบบ 72 หลุม ขนาด 30 x 60 ซม. โดยปลูกสายพันธุ์ละ1 หลุมๆละ 5 ต้น ใส่ปุ๋ยยูเรีย อัตรา 50 กิโลกรัม ต่อไร่ โดยแบ่งใส่ 3 ครั้ง คือ ที่อายุหลังเพาะ 14 วัน 21 วันและ 2 วันก่อนการปลูกเชื้อ

เลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* ที่จะใช้ทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NGA และบ่มไว้ที่ 28 ^{o}C เวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำมาใช้เตรียมสารละลายเชื้อเพื่อใช้เป็นแหล่งเชื้อ (inoculum)โดยปรับความเข้มข้นของ bacterial cells ให้มีความเข้มข้นประมาณ 10^{8} – 10^{9} cfu/ml แล้วจึงนำไปปลูกเชื้อ (inoculation) ในข้าวทดสอบด้วยวิธี clipping method ของ Kauffman *et al.* (1973) โดยใช้กรรไกร

จุ่มสารละลายเชื้อที่เตรียมไว้แล้วนำมาตัดที่ปลายใบข้าวให้ต่ำจากปลายใบประมาณ 0.5 – 1 นิ้ว การตัดใบจะตัดจำนวน 2 ใบต่อ 1 ต้นคือใบบนสุดและใบรองลงมาของใบข้าวที่คลี่เต็มที่แล้วโดยใช้ข้าวอายุ 30 วัน (หรือมีใบประมาณ 4 – 5 ใบ) นำข้าวที่ปลูกเชื้อแล้วไปเก็บในที่มีสภาพความชื้นสูงประมาณ 16- 18 ชั่วโมง ต่อมานำไปเก็บไว้ในโรงเรือนที่มีความชื้นสูงและเป็นที่ร่มให้แสงแดดเข้าได้ประมาณ 60-80 เปอร์เซ็นต์ ควบคุมดูแลระดับน้ำในโรงเรือน ตลอดจนการติดตั้ง Sprinkle เพื่อฉีดพ่นหมอกทุก 3 ชั่วโมงในช่วงเวลากลางวัน รักษาระดับอุณหภูมิและความชื้นให้เหมาะสมคืออุณหภูมิระหว่าง 25 – 30 ^{o}C ที่จะทำให้โรคขอบใบแห้งข้าวมีการพัฒนาได้ดี (Ou, 1985)

การประเมินความรุนแรงของโรคทำตามวิธีของ Shanti *et al.* (2001) โดยวัดจากความยาวของแผลจากบริเวณที่ตัดซึ่งเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อเป็นเซนติเมตรที่ 14 วันหลังปลูกเชื้อ ระดับของความรุนแรงจำแนกจากลักษณะต้านทานหรืออ่อนแอที่เกิดขึ้นใบที่ปลูกเชื้อ แผลที่มีความยาว 0-3 เซนติเมตรจัดเป็นลักษณะต้านทาน (resistant; R) 3-6 เซนติเมตรจัดเป็นต้านทานปานกลาง (moderately resistant; MR) 6-9 เซนติเมตรจัดเป็นอ่อนแอปานกลาง (moderatel susceptible; MS) และมากกว่า 9 เซนติเมตรจัดเป็นลักษณะอ่อนแอ (susceptible; S)

1.4.2 การคำนวนค่าดัชนีความต้านทานแบบกว้าง (broad-spectrum resistance index ; BSR) ของพันธุ์ข้าวต่อเชื้อสาเหตุโรค ตามวิธีการของ Sirithunya *et al.* (2002) ค่าดัชนีความต้านทานของพันธุ์ข้าวต่อเชื้อสาเหตุโรค เป็นค่าที่แสดงถึงความสามารถของพันธุ์ข้าวแต่ละสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดสอบว่าสามารถต้านทานต่อการเข้าทำลายของเชื้อที่นำมาทดสอบได้มากน้อยเท่าไร โดยคำนวณจาก

สูตรการคำนวณ เปอร์เซ็นต์ Broad spectrum resistance index, % BSR

$$= \frac{\text{จำนวนของเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งที่แสดงความต้านทาน(R)}}{\text{จำนวนของเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งที่ใช้ทดสอบ (Total)}} \times 100$$

% BSR มีค่าระหว่าง 0 ถึง 100 โดยที่ค่า BSR มากจะบ่งชี้ถึงลักษณะของความต้านทานสูงในข้าวพันธุ์นั้น ๆ เมื่อคิดจากจำนวนไอโซเลทของเชื้อที่ใช้ในการทดสอบและเหมาะสำหรับใช้เป็นแหล่งทางพันธุกรรมของลักษณะต้านทานในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว จากการทดลองนี้จะสามารถคัดเลือกพันธุ์ข้าวปลูกและข้าวพื้นเมืองที่ให้ค่า BSR สูงเพื่อนำมาใช้ในการจำแนกยีนต้านทานต่อไป

1.4.3 การจำแนกความแตกต่างทางพันธุกรรมด้วยวิธีทางสถิติด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYS-pc version 2.01 (Rohlf and Marcus, 1993) โดยเปลี่ยนเป็น similarity matrix ด้วยโปรแกรม SimInt (similarity for interval data) โดยใช้ค่า Canberra 's similarity coefficient จากนั้นนำมาจัดกลุ่ม (clustering) ด้วย โปรแกรม SAHN (Seqeentail, aggloerative, hierachical and nested clustering method) โดยใช้ วิธี UPGMA (unweighted pair-group method with averages) จากนั้นใช้โปรแกรม Graphics ด้วยวิธี Tree plot เพื่อสร้าง dendrogram เพื่อนำมาจัดกลุ่มประชากรเชื้อสาเหตุโรค และนำผลการทดสอบมาใช้พิจารณาคัดเลือกสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุสำหรับใช้ในการทดสอบขั้นตอนไป

2. **ศึกษาความต้านทานโรคขอบใบแห้งของข้าวพื้นเมืองจำนวน** 182 **สายพันธุ์**

2.1 การทดสอบในข้าวพันธุ์พื้นเมืองจากศูนย์วิจัยข้าวพาน จ.เชียงราย กรมการข้าว จำนวน 182 สายพันธุ์ และข้าวพันธุ์ปรับปรุงจำนวน 26 สายพันธุ์จากหน่วยค้นหาและใช้ประโยชน์จากยีนข้าว (Rice Gene Discovery Unit, RGDU) แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม (ตารางที่ 4) โดยใช้สายพันธุ์ข้าว IR62266 เป็นพันธุ์ต้านทานมาตรฐาน และ IR24 ข้าวหอมมะลิ 105 และ ข้าวเหนียวกข.6 เป็น สายพันธุ์ข้าวอ่อนแอมาตรฐาน

2.2 ศึกษาพันธุกรรมความต้านทานเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งในข้าวพื้นเมือง

ศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมของข้าวพื้นเมืองจำนวน 182 สายพันธุ์และพันธุ์ข้าวปลูกในเชิงการค้าจำนวน 26 สายพันธุ์โดยประเมินจากระดับความรุนแรงโรคขอบแห้งกับเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจำนวน 13 ไอโซเลทที่คัดเลือกจากการทดลองที่ 1.4 ทำการปลูกเชื้อด้วยวิธี clipping method ของ Kauffman *et al.* (1973) ในข้าวอายุ 30 วัน การประเมินความรุนแรงของโรคทำตามวิธีของ Shanti *et al.* (2001)โดยวัดจากความยาวของแผลจากบริเวณที่ตัดซึ่งเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อเป็นเซนติเมตรที่ระยะ 14 วันหลังปลูกเชื้อ วิเคราะห์ผลปฏิกิริยาความต้านทานโรคของการทดสอบพันธุ์ข้าวกับเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคโดยนำผลการบันทึกข้อมูลมา วิเคราะห์ค่า %BSR เพื่อนำผลการทดสอบมาใช้พิจารณาคัดเลือกสายพันธุ์ของสายพันธุ์ข้าวสำหรับใช้ในการการศึกษาพันธุศาสตร์ลักษณะของความต้านทานโรคขอบใบแห้งในข้าวพื้นเมืองของไทยต่อไป

ภาพที่ 6 แสดงวิธีการปลูกเชื้อ (inoculation) ในข้าวทดสอบด้วยวิธี clipping method และการประเมินความรุนแรงของโรคโดยวัดจากความยาวของแผล

ตารางที่ 4 พันธุ์ข้าวจำนวน 35 สายพันธุ์ที่ใช้ในการศึกษาระหว่างปฏิกิริยาของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุ

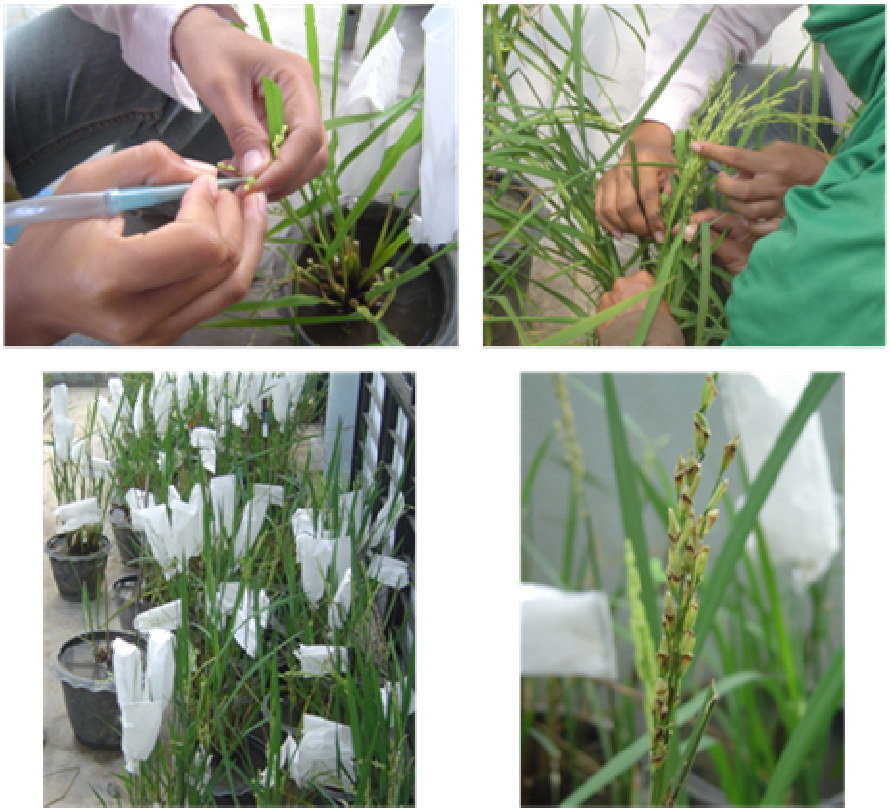
ลำดับ	พันธุ์ข้าว	แหล่งที่มาจาก	ลำดับ	พันธุ์ข้าว	แหล่งที่มาจาก
1	เจ้าหอมนิล	RGDU, ไทย	20	CT9993	IRRI, ฟิลิปปินส์
2	หอมมะลิ105	RGDU, ไทย	21	สุรินทร์1	RGDU, ไทย
3	IR62266	IRRI, ฟิลิปปินส์	22	Abhaya	IRRI, ฟิลิปปินส์
4	IR1188	IRRI, ฟิลิปปินส์	23	IR57514	IRRI, ฟิลิปปินส์
5	IR24	IRRI, ฟิลิปปินส์	24	FL496	IRRI, ฟิลิปปินส์
6	IRBB3	IRRI, ฟิลิปปินส์	25	DH206	RGDU, ไทย
7	IRBB4	IRRI, ฟิลิปปินส์	26	BA5	RGDU, ไทย
8	IRBB5	IRRI, ฟิลิปปินส์	27	Azucena	IRRI, ฟิลิปปินส์
9	IRBB7	IRRI, ฟิลิปปินส์	28	FL530	IRRI, ฟิลิปปินส์
10	IRBB8	IRRI, ฟิลิปปินส์	28	FR13A	IRRI, ฟิลิปปินส์
11	IRBB10	IRRI, ฟิลิปปินส์	30	ชัยนาท1	RGDU, ไทย
12	IRBB13	IRRI, ฟิลิปปินส์	31	RathuHeenati	RGDU, ไทย
13	IRBB14	IRRI, ฟิลิปปินส์	32	หอมลูกรัง	RGDU, ไทย
14	IRBB21	IRRI, ฟิลิปปินส์	33	ดอกพยอม	RGDU, ไทย
15	IR64	IRRI, ฟิลิปปินส์	34	หอมจัน	RGDU, ไทย
16	TN1	IRRI, ฟิลิปปินส์	35	สังข์หยด	RGDU, ไทย
17	กข.6	RGDU, ไทย			
18	สุพรรณบุรี1	RGDU, ไทย			
19	23-215	RGDU, ไทย			
				รวม 35 สายพันธุ์	

ตารางที่ 5 เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งที่ใช้ในการทดสอบจำนวน 90 ไอโซเลท

No.	เชื้อ	จังหวัด	No.	เชื้อ	จังหวัด	No.	เชื้อ	จังหวัด	No.	เชื้อ	จังหวัด
1	0096	พิษณุโลก	24	TXO34	อุดรธานี	47	TXO80	อุบลราชธานี	70	TXO119	ขอนแก่น
2	0303	พะเยา	25	TX035	อุดรธานี	48	TXO85	สุรินทร์	71	TXO120	อุดรธานี
3	0304	เชียงราย	26	TXO36	อุดรธานี	49	TXO87	สุรินทร์	72	TXO121	อุดรธานี
4	9602	เชียงใหม่	27	TXO38	พิษณุโลก	50	TXO89	สุรินทร์	73	TXO122	อุดรธานี
5	9603	แพร่	28	TXO40	พิษณุโลก	51	TXO99	อุบลราชธานี	74	TXO123	อุดรธานี
6	8231	เพชรบูรณ์	29	TXO49	แพร่	52	TXO101	อุบลราชธานี	75	TXO124	อุดรธานี
7	7536	ลำปาง	30	TXO50	แพร่	53	TXO102	อุบลราชธานี	76	TXO126	อุดรธานี
8	TXO1	นครปฐม	31	TXO51	แพร่	54	TXO103	อุบลราชธานี	77	TXO127	ร้อยเอ็ด
9	TXO2	นครปฐม	32	TXO52	แพร่	55	TXO104	อุบลราชธานี	78	TXO128	ร้อยเอ็ด
10	TXO3	นครปฐม	33	TXO53	แพร่	56	TXO105	อุบลราชธานี	79	TXO129	ร้อยเอ็ด
11	TXO4	นครปฐม	34	TXO55	เชียงราย	57	TXO106	อุบลราชธานี	80	TXO131	ร้อยเอ็ด
12	TXO5	นครปฐม	35	TXO56	เชียงราย	58	TXO107	อุบลราชธานี	81	TXO132	ร้อยเอ็ด
13	TXO7	นครปฐม	36	TXO57	เชียงราย	59	TXO108	อุบลราชธานี	82	TXO133	ร้อยเอ็ด
14	TXO10	นครปฐม	37	TXO58	เชียงราย	60	TXO109	อุบลราชธานี	83	TXO134	ร้อยเอ็ด
15	TXO14	พิษณุโลก	38	TXO59	อุดรธานี	61	TXO110	อุบลราชธานี	84	TXO135	ร้อยเอ็ด
16	TXO15	พิษณุโลก	39	TXO61	อุบลราชธานี	62	TXO111	อุบลราชธานี	85	TXO136	อุบลราชธานี
17	TXO16	พิษณุโลก	40	TXO69	อุบลราชธานี	63	TXO112	อุบลราชธานี	86	TXO137	อุบลราชธานี
18	TXO21	พิษณุโลก	41	TXO70	เชียงราย	64	TXO113	ขอนแก่น	87	TXO138	อุดรธานี
19	TXO26	สุโขทัย	42	TXO71	เชียงราย	65	TXO114	ขอนแก่น	88	TXO139	อุดรธานี
20	TXO28	สุโขทัย	43	TXO73	กาฬสินธ์	66	TXO115	ขอนแก่น	89	TXO140	อุดรธานี
21	TXO31	สุโขทัย	44	TXO74	กาฬสินธ์	67	TXO116	ขอนแก่น	90	TXO141	หนองบัวลำภู
22	TXO32	สุโขทัย	45	TXO76	เชียงราย	68	TXO117	ขอนแก่น			
23	TXO33	อุดรธานี	46	TXO77	เชียงราย	69	TXO118	ขอนแก่น			

3. **ศึกษาการถ่ายทอดลักษณะความต้านทานโรคขอบใบแห้งและบ่งชี้ตำแหน่งยีนต้านทานของข้าวพื้นเมืองพันธุ์เชียงรุ้ง** 502

3.1 ผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ข้าวเหนียว กข.6*Blast (RGDU 334-3-11-1-1-179) ที่ต้านทานโรคไหม้และพันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่มียีนต้านทานโรคขอบใบแห้งด้วยวิธี cliping method (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 แสดงวิธี cliping method ในการผสมพันธุ์ข้าวระหว่างพันธุ์ข้าวเหนียว กข.6*Blast (RGDU 334-3-11-1-1-179) ที่ต้านทานโรคไหม้ กับพันธุ์ข้าวพื้นเมือง (ต้านทานโรคขอบใบแห้ง)

โดยเมื่อต้นข้าวทั้งสองสายพันธุ์ออกดอกพร้อมผสมแล้ว ทำการทำลายเกสรตัวผู้ (emasculation) ในพันธุ์พื้นเมือง (เชียงรุ้ง 502) ที่ใช้เป็นต้นแม่ในการผสมโดยวิธี cliping method แล้วจึงนำเกสรตัวผู้จากพันธุ์ กข.6*Blast (RGDU 334-3-11-1-1-179) มาผสม จากนั้นคลุมช่อดอกที่ผสมแล้วด้วยถุงกระดาษทิ้งไว้ประมาณ 25 วัน จึงเก็บเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) นำเมล็ดที่ได้ไปอบในตู้อบ อุณหภูมิ ประมาณ 50 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน เพื่อทำลายการพักตัวของเมล็ด (break domamcy)

3.2 นำลูกผสมชั่วที่ 1 ไปปลูกเพื่อให้ได้ลูกผสม ชั่วที่ 2 (F_2) จำนวนประมาณ 250 ต้น

3.3 นำเมล็ดพันธุ์ ของสายพันธุ์ P_1 (พันธุ์ข้าวเหนียวกข.6*Blast :RGDU 334-3-11-1-1-179) สายพันธุ์ P_2 (ข้าวพันธุ์เชียงรุ้ง 502) ลูกผสมชั่วที่ 1(F_1) และ ประชากรชั่วที่ 2 (F_2) มาปลูกพร้อมกันเพื่อทดสอบความสามารถในการเกิดโรค (pathogenicity) ด้วย เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคจำนวน 1ไอโซเลท ทำการปลูกเชื้อในข้าวทดสอบด้วยวิธี clipping method ของ ของ Kauffman *et al.* (1973) ในต้นข้าวที่อายุ 30 วัน การประเมินความรุนแรงของโรค 14 วันหลังปลูกเชื้อตามวิธีของ Shanti *et al.* (2001) โดยผลการบันทึกข้อมูลความยาวของแผลจากบริเวณที่ตัดซึ่งเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อเป็นหน่วยเซนติเมตร

3.4 วิเคราะห์ประชากร F_2 ที่ได้จากการทดสอบความสามารถในการเกิดโรค โดยใช้ Chi-square test ตามกฎของเมนเดล ดังนี้

$$X^2 = \sum_{i=1}^{n} \frac{(O_i - E_i)^2}{E_i}$$

โดยให้ n = จำนวนกลุ่มที่ใช้ในการทดสอบ

O_i = ค่าที่สังเกตได้ของการทดลองในกลุ่มที่ i

E_i = ค่าที่คาดหมายตามสมมติฐานของการทดลองในกลุ่มที่ i

$O_i - E_i$ = ค่าเบี่ยงเบนระหว่างค่าสังเกตจากค่าคาดหมาย

3.5 วิเคราะห์หาความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะ (heritibility) ของประชากร F_2 ที่ได้จากการทดสอบความสามารถในการเกิดโรคโดยวัดอัตราส่วนระหว่างความผันแปรทางพันธุกรรมและความผันแปรทางพันธุกรรมบวกกับผันแปรทางสภาพแวดล้อมดังนี้

$$H = \delta^2 g / \delta^2 g + \delta^2 e$$

โดยให้ H = ความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะ (heritibility)

$\delta^2 g$ = ความผันแปรที่เกิดจากพันธุกรรม

$\delta^2 e$ = ผันแปรที่เกิดจากสภาพแวดล้อม

3.6 การตรวจหาเครื่องหมายโมเลกุล (molecular markers) ที่ใช้บ่งชี้ลักษณะต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งของข้าวเชียงรุ้ง 502 โดยจะทำการสืบหายีนอย่างรวดเร็ว (gene tagging)

วิธีการตรวจหาเครื่องหมายโมเลกุล (molecular markers) ที่ใช้บ่งชี้ลักษณะต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งของข้าวเชียงรุ้ง 502 โดยการสืบหายีนอย่างรวดเร็ว (gene tagging) ดังแสดงวิธีการในภาพที่ 8 โดยอาศัยหลักการ การสืบหาเครื่องหมายโมเลกุล DNA ที่สามารถให้ความแตกต่างของลักษณะความต้านทานระหว่างกลุ่มในประชากรชั่วที่ 2 (F_2) ที่มาจากคู่ผสมระหว่างข้าวพื้นเมืองที่ต้านทานโรคขอบใบแห้งกับพันธุ์ข้าว กข.6* Blast (RGDU 334-3-11-1-1-179) ที่ต้านทานโรคไหม้แต่อ่อนแอต่อโรคขอบใบแห้ง หรืออีกนัยหนึ่งคือเครื่องหมายโมเลกุลนั้นน่าจะที่วางชิดกับยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคขอบใบแห้งของข้าวพื้นเมืองนั้นเอง

3.7 การสกัด DNA ของพันธุ์ สายพันธุ์ P_1 (พันธุ์ข้าวเหนียวกข.6*Blast (RGDU 334-3-11-1-1-179) สายพันธุ์ P_2 (ข้าวพันธุ์เชียงรุ้ง 502) สายพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1(F_1) และประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 (F_2)

พันธุ์ P_1 (พันธุ์ข้าวเหนียวกข.6 ที่มียีนต้านทานโรคไหม้; RD6*Blast: RGDU 334-3-11-1-1-179) และ P_2 (ข้าวพื้นเมืองพันธุ์ต้านทานพันธุ์เชียงรุ้ง502; CR502) ประชากรลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) และประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 (F_2) ใช้วิธีการสกัดแบบ DNA TRAP® ที่พัฒนาโดยห้องปฏิบัติการดีเอ็นเอเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม (http://dnatec.kps.ku.ac.th) วิธีการสกัด DNA จากใบข้าวโดยวิธีของ DNA TRAP® ดังนี้

นำใบอ่อนข้าวที่มีน้ำหนักสดประมาณ 1 กรัมมาตัดให้เป็นชิ้นเล็กๆใส่ในหลอด 1.5 มิลลิลิตร เติมไนโตรเจนเหลว แล้วบดให้ละเอียด เติมเอ็กแทรคชั่นบัพเฟอร์ (extraction buffer) 1 มิลลิลิตร (ml) เขย่าให้เข้ากันแล้วนำส่วนผสมที่ได้ไปบ่มที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เมื่อครบเวลาแล้วนำมาแช่น้ำแข็งทันที 5 นาที เติมนิวทราไลเซอร์ (neutralizer) 100 ไมโครลิตร (μl) เขย่าให้เข้ากัน แช่น้ำแข็งต่ออีก 5 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที (rpm) 10 นาที ดูดส่วนใสใส่หลอดใหม่แล้วเติมแทรปปิงค์บัพเฟอร์ (Trapping buffer) 500 ไมโครลิตร กลับหลอดตัวอย่างไปมาให้ส่วนผสมระหว่าง DNA กับสารที่ใส่จับกันอย่างสมบูรณ์ จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที เทส่วนใสทิ้ง เติมวอชชิ่งบัพเฟอร์วัน (washing buffer I) 500 ไมโครลิตร นำไปวอร์เทกซ์ (vortex) ให้ตะกอนแตกออกจากกันจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 2,000 รอบต่อนาทีนาน 1 นาทีเทส่วนใสทิ้งโดยพยายามไม่ให้ตะกอน

หลุดออกมา เติมวอชชิ่งบัพเฟอร์ทู (washing buffer II) 500 ไมโครลิตร นำไปวอร์เทกซ์ ให้ตะกอนแตกออกจากกัน จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที เทส่วนใสทิ้ง นำไปอบแห้งในตู้บ่ม 65 องศาเซลเซียส 15 นาที หรือจนกว่าจะแห้ง เติมอีลูชั่นบัพเฟอร์ (elution buffer) 100 ไมโครลิตร บ่ม 65 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 14,000 รอบต่อนาที นาน 2 นาที ดูดส่วนใสใส่หลอดใหม่ แล้วนำ DNA ที่สกัดได้ไปตรวจสอบปริมาณและคุณภาพ DNA ที่ได้เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

3.8 การตรวจแยกแถบ DNA (agarose gel electrophoresis)

เตรียมถาดสำหรับเทเจลและหวีเสียบในชุดเตรียมเจลให้อยู่แนวระนาบ เตรียมผง agarose gel จำนวน 2.5 กรัมลงใน 0.5X TBE buffer ปริมาตร 250 มิลลิลิตร(1% agarose gel) หลอมเจลให้ละลายด้วยเตาไมโครเวฟแล้วค่อย ๆ เทลงบนถาดที่เตรียมไว้ให้หนาประมาณ 5 มิลลิเมตร ระวังอย่าให้เกิดฟองอากาศ ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 1 ชั่วโมง เพื่อให้เจลแข็งตัว เติม 0.5X TBE buffer ท่วมเจล ดึงหวีเสียบออกจากเจลอย่างระมัดระวัง ใช้ไมโครปิเปตดูดสีย้อม(10X loading dye) ผสมกับ DNA ตัวอย่าง อัตราส่วน 8 : 2 หยอดลงตรงช่องเจล หยอดสารละลาย DNA ที่ทราบความเข้มข้นที่ระดับ 100 300 500 และ 1,000 μl ตามลำดับเพื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นกับ DNA ที่ต้องการทดสอบ ยกถาดเจลออกจากชุดเตรียมเจลอย่างเบา ๆ แล้ววางใน electrophoresis chamber โดยให้ด้านที่มีหลุมอยู่ด้านขั้วลบ โดยใช้กระแสไฟ 100 โวลต์ นาน 1 ชั่วโมง ย้อมแถบ DNA ด้วย ethidium bromide เขย่าด้วย shaker เป็นเวลานาน 15 นาที ดูผลเจลภายใต้แสงอุลตราไวโอเลต (UV) พร้อมกับบันทึกภาพ อ่านค่าความเข้มข้นเปรียบเทียบกับ DNA มาตรฐาน เพื่อตรวจสอบขนาดของ DNA การแตกหักของ DNA การปนเปื้อนของ RNA โปรตีนและสารอื่นๆและคาดปริมาณ DNA อย่างคร่าวๆ

3.9 เครื่องหมายโมเลกุล (molecular markers)

เครื่องหมายโมเลกุลที่ใช้เป็น ประเภท SSR markers หรือ Rice microsattelite (RM) markers ที่พัฒนาจากหน่วยค้นหาและใช้ประโยชน์จากยีนข้าว (Rice Gene Discovery Unit, RGDU) แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม ทำการสุ่มเลือกเครื่องหมายโมเลกุลมีการกระจายตัวอยู่บนทั้ง 12 โครโมโซมของข้าวจำนวน 96 marker โดยอาศัยข้อมูลชีวสารสนเทศจาก gramene database (http://www.gramene.org) และ http://rice.kps.ku.ac.th ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดง จำนวนเครื่องหมาย โมเลกุล Microsattelite marker จำนวน 96 maker ที่ใช้หาความแตกต่างระหว่างพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอ

Chromosome	จำนวน Maker	Microsattelite marker
1	8	RM34 RM226 RM246 RM283 RM14 RM 23 RM243 RM259
2	8	RM29 RM53 RM116 RM138 RM154 RM174 RM263 RM530
3	8	RM7 RM 22 RM 55 RM60 RM232 RM 282 RM411 RM517
4	7	RM164 RM185 RM241 RM 261 RM 273 RM 307 RM334
5	7	RM164 RM173 RM267 RM289 RM 334 RM408 RM507
6	7	RM30 RM111 RM136 RM190 RM217 RM253 RM461
7	7	RM2 RM8 RM11 RM125 RM234 RM248 RM436
8	9	RM126 RM25 RM72 RM44 RM42 RM38 RM230 RM248 RM256
9	8	RM105 RM108 RM201RM215 RM245 RM316 RM409 RM434
10	4	RM184 RM222 RM228 RM239
11	17	RM21 RM116 RM120 RM139 RM144 RM167 RM202RM209RM224 RM229 RM232 RM254 RM256 RM284 RM286 RM287 RM332 RM456 RM473
12	6	RM12 RM17 RM19 RM179 RM309 RM512
รวม	96	

3.10 การเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยเทคนิค PCR-based method ที่พัฒนาวิธีโดยหน่วยค้นหาและใช้ประโยชน์จากยีนข้าว (Rice Gene Discovery Unit, RGDU) แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ดังนี้

เตรียม ส่วนผสมของ PCR cocktail ในปริมาตร 10 ul ที่มีส่วนประกอบต่างๆ ดังนี้คือ DNA ตัวอย่างจำนวน 2 μl, dNTPs จำนวน 2 μl, PCR bufferจำนวน 1 μl, MgCl2 จำนวน 0.8 μl, Taq DNA polymerase จำนวน 0.1 μl, Fluorescence-labeled Forward primer จำนวน 0.5 μl, Reverse primer จำนวน 0.5 μl และ d H_2O จำนวน 3.1 μl ต่อมาเติม PCR cocktail ลง ใน plate

พลาสติกที่เตรียมไว้ หยด mineral oil 1 หยด ปิดด้วยเทปกระดาษฟอยล์ให้สนิท นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 1,200 รอบเป็นเวลา 1 นาที ต่อมานำ PCR plate มาใส่เครื่อง PCR โดยตั้งโปรแกรมการทำงาน (PCR profile) ดังนี้

ขั้นตอน	จำนวนรอบ	อุณหภูมิ	เวลา	รายละเอียด
1	1	$94^{O}C$	3 นาที	Initial template denaturation
2	30	$94^{O}C$	30 วินาที	Template denaturation
3		$55^{O}C$	30 วินาที	Primer annealing
4		$72^{O}C$	1 นาที	Base extension
5	1	$72^{O}C$	5 นาที	Final elongation
6	1	$4^{O}C$	α	

โปรแกรมการทำ PCR ประกอบด้วย 1 รอบ สำหรับการคลายเกลียวและแยกสาย DNA (denaturation) ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที และ 30 รอบสำหรับปฏิกิริยาเพิ่มปริมาณ DNA ที่ประกอบด้วย อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที สำหรับ DNA denaturation อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที สำหรับ DNA annealing ทำให้ primer จับกับ ดีเอ็นเอต้นแบบที่ตำแหน่ง ที่มี complementary sequence และอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 1 นาที สำหรับ DNA extension ทำให้ DNA polymerase สังเคราะห์ DNA สายใหม่โดยใช้ dNTPs ในปฏิกิริยาเป็น substrate เมื่อปฏิกิริยาดำเนินไปครบทั้ง 3 ขั้นตอนถือว่าเป็น 1 รอบ DNA มีการเพิ่มปริมาณขึ้น 1 เท่า และเมื่อปฏิกิริยาดำเนินไปครบทั้ง 30 รอบ จะมีผลให้มีปริมาร DNA เพิ่มขึ้นประมาณ 2^{30} เท่านับเป็นจำนวนมากมายมหาศาล และ 1 รอบสุดท้ายเพื่อการสังเคราะห์ที่สมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ต่อมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หรือนำ PCR plate ที่ได้มาวิเคราะห์ดูแถบ DNA ต่อไป

3.11 วิธีการเตรียม Polyacrylamide gel โดยวิธีของ RGDU ดังนี้

ทำความสะอาด chamber ด้านที่ต้องติดกับกระจกโดยการเช็ดด้วย 95% ethanol และเช็ดด้วยน้ำยาเช็ดกระจก อีกครั้ง เพื่อไม่ให้แผ่นเจลติดกับ chamber และเช็ดกระจกด้วย 95% ethanol ต่อมาใช้สารละลาย bind silane (bind silane 1 μl, glacial acetic acid 2.5 μl, และ95% ethanol 500 μl) ใส่ลงบนกระจก เช็ดอีก ครั้งเพื่อให้เจลติดกับกระจก จากนั้นเช็ดกระจกด้วย 95% ethanol ปล่อย

ไว้ประมาณ 5-10 นาทีให้อุปกรณ์แห้งสนิท หลังจากนั้นทำการประกอบ chamber กับกระจกเข้าด้วยกัน โดยวาง spacer ไว้ทั้งสองข้างเพื่อให้เกิดช่องว่างระหว่างกระจกทั้งสอง โดยหันด้านที่ทา bind silane และน้ำยาเช็ดกระจก เข้าหากัน ใช้คลิปหนีบยึดไว้ให้อยู่กับที่

ทำการเตรียมส่วนผสมของเจลที่ประกอบด้วย สารละลาย 4.5% acrylamide gel (แช่เย็น) + TEMED 70 µl + 10% APS (แช่เย็น) 350 µl เขย่าเบาๆให้ส่วนผสมเข้ากัน (ที่ต้องแช่เย็น acrylamide gel และ APS เพราะช่วยในการเก็บรักษา และไม่ให้เจลแข็งตัวเร็วเกินไป) จากนั้นให้รีบเทสารละลาย acrylamide gel ลงในช่องระหว่างกระจก พร้อมกับเคาะไล่ฟองอากาศไปด้วย พยายามอย่าให้เจลที่เทเกิดฟองอากาศภายในกระจก ให้เทสารละลาย acrylamide gel จนกว่าจะไหลทั่วกระจกและหยดออกมาทางท้ายกระจกเล็กน้อยเป็นอันใช้ได้ จากนั้นใส่หวีเข้าด้านที่เท ปล่อยไว้ประมาณ 30 นาที – 1 ชั่วโมงเพื่อให้เจลแข็งตัว (polymerize)

3.12 วิธีการ Gel running โดยวิธีของ RGDU ดังนี้

เมื่อเจลแข็งตัวดีแล้วใช้น้ำล้างกระจกด้านนอกให้สะอาด ดึงหวีออกแล้วประกอบเข้าชุดที่ใช้ในการ Gel running ที่ประกอบด้วย ตัวฐาน และตัวครอบด้านบนซึ่งต่ออยู่กับ power supply โดยเอากระจกที่ set acrylamide gel แล้วไปตั้งบนตัวฐาน เติมสารละลายเท TBE buffer ลงในช่องของ chamber และที่ตัวฐานให้เต็มพอดี โดยใช้ปริมาตรประมาณ 1.5 ลิตร ต่อ 1 เจล (ระวังอย่าให้มีฟองอากาศในกระจก)

ต่อสายไฟเข้ากับเครื่องเปิด power supply ทำการ pre-run โดยใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้าที่ 100 วัตต์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 20- 30 นาที จนอุณหภูมิกระจกขึ้นถึง 49 องศาเซลเซียส ให้นำ PCR product ไปเข้าเครื่อง heat ที่ 94 องศาเซลเซียส 5 นาที จากนั้นให้รีบวางลงบนน้ำแข็งทันทีเพื่อป้องกันไม่ให้ ดีเอ็นเอสายเดี่ยวกลับมาจับกันอีก ปิดเครื่องหยุดการ pre-run ต่อมาทำความสะอาดบริเวณที่จะ หยอดตัวอย่าง โดยใช้จุกยางเป่าไล่ฟองอากาศ และเศษเจลออกให้หมด หันหวีด้านที่เป็นฟันปลาเสียบเข้าไปที่เดิม ให้ฟันปักลึกลงไปในเจลเล็กน้อย ทำการหยอด PCR product ตัวอย่างละ 2.5 µl ลงในช่องว่างแต่ละช่อง เมื่อเติมตัวอย่างเสร็จแล้วให้เอาตัวครอบใส่เข้าไปเหมือนเดิม

เปิดเครื่องทำการ run โดยใช้แรงเคลื่อนไฟฟ้าที่ 60 วัตต์ ที่ 50 องศาเซลเซียส ทำการ run จนกระทั่งให้ระยะของ band ที่เกิดขึ้น ยาวประมาณ 15-17 เซนติเมตร หรือขึ้นอยู่กับขนาดของ

DNA เมื่อ run เสร็จแล้ว เท buffer ออกจาก chamber ถอดส่วนประกอบออกให้หมด นำกระจกออกจาก chamber อย่างระมัดระวัง แยกกระจกทั้งสองแผ่นออกจากกัน โดยนำกระจกที่มีเจลติดอยู่ไปแช่ด้วย สารละลาย fixative (10% acetic acid จำนวน 1 ลิตร) นาน 20 นาที เขย่าเบาๆบนเครื่องเขย่าที่อยู่ในที่มืด จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น 3 รอบ รอบละ 2 นาที เขย่าตลอดเวลา

แช่แผ่นเจลด้วยสารละลาย 0.2 % silver nitrate นาน 30 นาทีโดยเขย่าตลอดเวลา จากนั้นเทสารละลายออก ล้างด้วยน้ำกลั่นอย่างรวดเร็ว 10 วินาที เทสารละลาย developer (2.5% sodium carbonate, 0.02% formaldehyde และ sodium thiosulfate 2 μl/lite) เขย่าจนกว่า band DNA ปรากฏให้เห็น เมื่อ band ปรากฏแล้ว ให้หยุดปฏิกิริยาการ stain ด้วยการแช่ด้วยสารละลาย 10% acetic acid ทันที (หากหยุดไม่ทันจะทำให้ band ที่เกิดขึ้นเปลี่ยนเป็นสีดำอย่างรวดเร็ว จนไม่สามารถอ่านผลได้) ทำการเขย่าต่อไปด้วยจนหมดฟองอากาศ จากนั้นเทสารละลายทิ้ง ล้างด้วยน้ำกลั่น นาน 10 นาที ผึ่งเจลให้แห้ง จึงนำไปวิเคราะห์ผลต่อไป

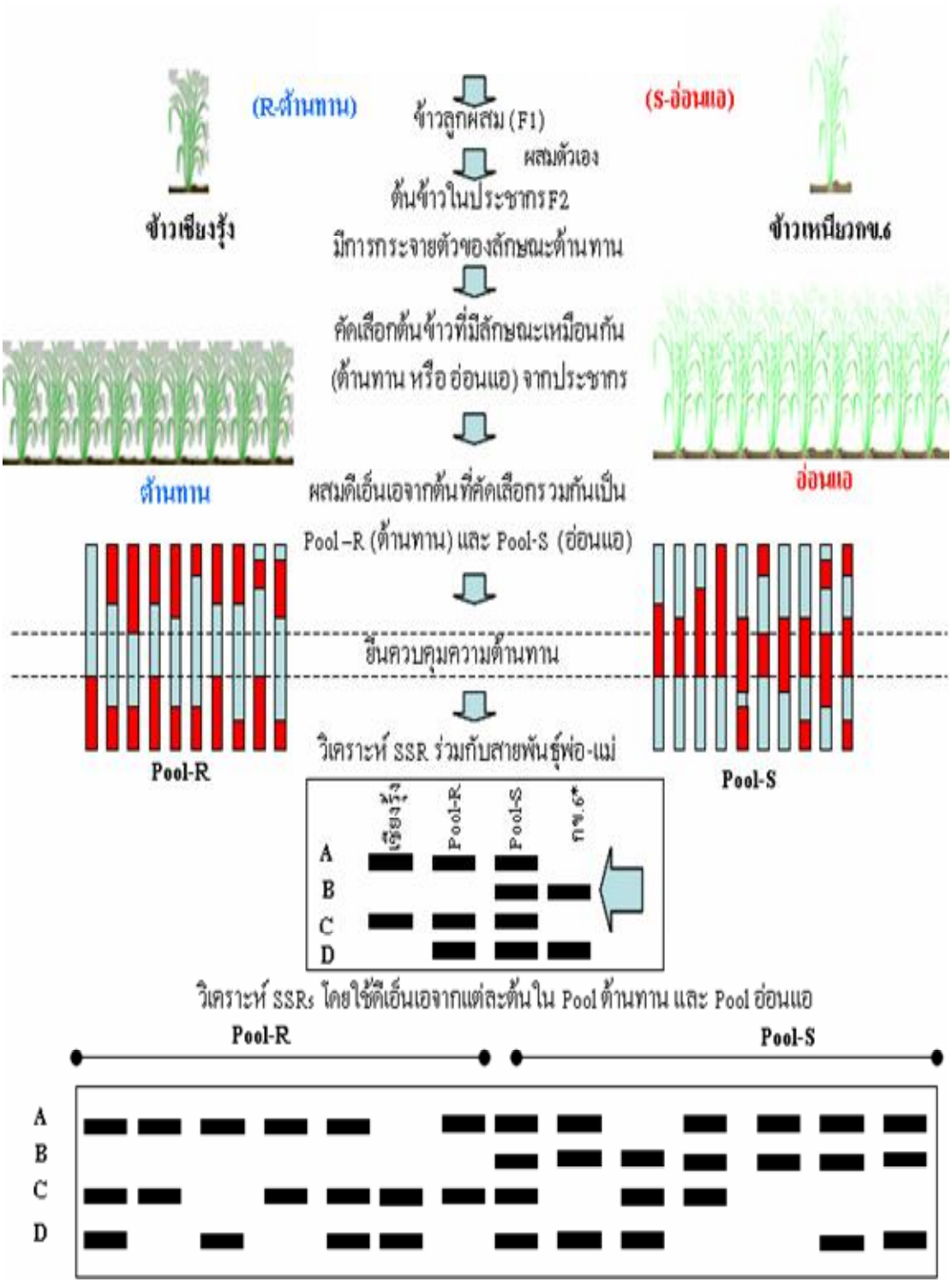
3.13 การวิเคราะห์แถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอ

การอ่านแถบลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ปรากฏบน Polyacrylamide gel โดยให้คะแนนรูปแบบของ microsatellite โดยแต่ละแถบดีเอ็นเอจะนำมาวิเคราะห์เป็นหนึ่งลักษณะ (character) ซึ่งให้ค่าเป็น 1 เมื่อปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งหนึ่งๆ มีแถบเหมือนพันธุ์พ่อที่ต้านทาน (homozygous resistance) ให้ค่าเป็น 2 เมื่อปรากฏแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งหนึ่ง ๆ มีสองแถบเหมือนทั้งของพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่ (heterozygous) และให้ค่าเป็น 3 เมื่อปรากฏแถบดีเอ็นเอในตำแหน่งเหมือนพันธุ์แม่ที่อ่อนแอ (homozygous susceptible)

3.14 การวิเคราะห์ทางสถิติ

โดยการหาค่า Analysis of Variance (ANOVA) การวิเคราะห์ multiple regression analysis และ ประเมินหาค่า R-square วิเคราะห์ linkage ระหว่าง SSR markers ที่เลือกได้กับตำแหน่งของยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งของข้าวพื้นเมือง

ข้าวพันธุ์เชียงรุ้งผสมกับข้าวเหนียวกข.6*Blast



ภาพที่ 8 แสดงหลักการสืบหาเครื่องหมายโมเลกุลที่บ่งชี้ตำแหน่งยีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง (gene tagging) ดัดแปลงจาก อภิชาติ (2544)

สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย

สถานที่ คือ หน่วยค้นหาและใช้ประโยชน์จากยีนข้าว (Rice gene discovery unit, RGDU) แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อำเภอกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม (Kasetsart University, KampaengSaen Campus, Nakorn Pathom)
การทดลองนี้เริ่มตั้งแต่เดือน ตุลาคม พ.ศ 2548 ถึง ตุลาคม พ.ศ 2551

แหล่งทุนสนับสนุน

ผลงานวิจัยครั้งนี้อยู่ภายใต้การสนับสนุนโดยหน่วยค้นหาและใช้ประโยชน์จากยีนข้าว (Rice Gene Discovery Unit, RGDU) แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC) และศูนย์วิจัยข้าวเชียงราย กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ที่อนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์ข้าวพื้นเมือง

ผลและวิจารณ์

1. ผลการจำแนกความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง

1.1 การจำแนกเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง

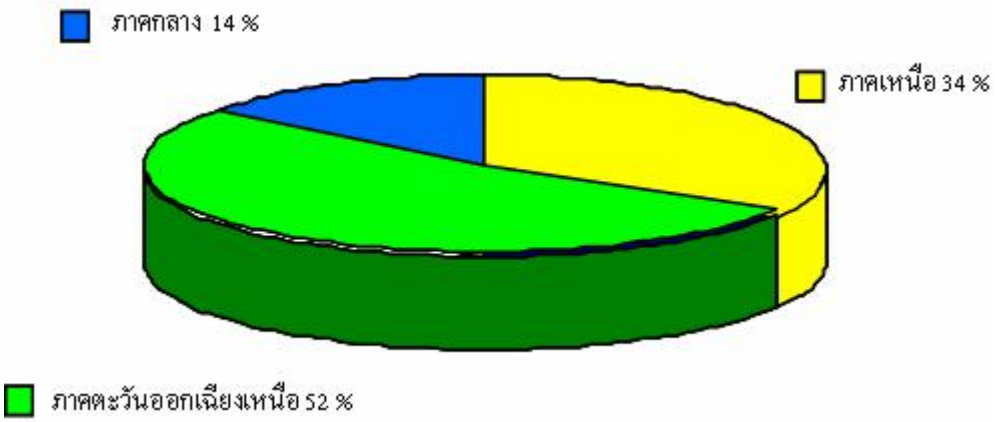
สามารถเก็บรวบรวมและแยกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุเพิ่มเติมได้รวมเป็นจำนวน 150 ไอโซเลท (ตารางภาคผนวกที่1) จาก 19 จังหวัดจาก 3 ภาคของประเทศไทยดังนี้ ภาคเหนือ ได้แก่ ลำปาง พิจิตร เพชรบูรณ์ พะเยา เชียงราย พิษณุโลก เชียงใหม่ และ แพร่ จำนวน 50 ไอโซเลท ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ กาฬสินธ์ ขอนแก่น ร้อยเอ็ด หนองบัวลำภู สุรินทร์ อุดรธานี และอุบลราชธานี จำนวน 78 ไอโซเลท และภาคกลางได้แก่ นครปฐม ชัยนาท และสุพรรณบุรี จำนวน 22 ไอโซเลท โดยเป็น 34 52 และ 14 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ (ภาพที่ 9)

หากจำแนกเชื้อสาเหตุตามประเภทข้าวที่เป็นพืชอาศัย 6 กลุ่ม ได้แก่ ข้าวหอมมะลิ105 ข้าวเหนียวกข.6 ข้าวปลูกเชิงการค้า ข้าวพื้นเมือง ข้าวที่กำลังปรับปรุง และข้าวที่ไม่ทราบชนิดพันธุ์ (unknown) พบว่าเชื้อที่รวบรวมได้คิดเป็นร้อยละ 30, 23, 15, 9, 7 และ 16 ของจำนวนเชื้อสาเหตุทั้งหมด ซึ่งข้อมูลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าการระบาดของโรคขอบใบแห้งพบมากในพันธุ์ข้าวที่เป็นข้าวที่ปลูกกันแพร่หลายของเกษตรกร เช่น ข้าวพันธุ์ข้าวหอมมะลิ105 และข้าวเหนียวกข.6 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าข้าวทั้งสองสายพันธุ์ ค่อนข้างอ่อนแอต่อโรคขอบใบแห้ง (ภาพที่ 10)

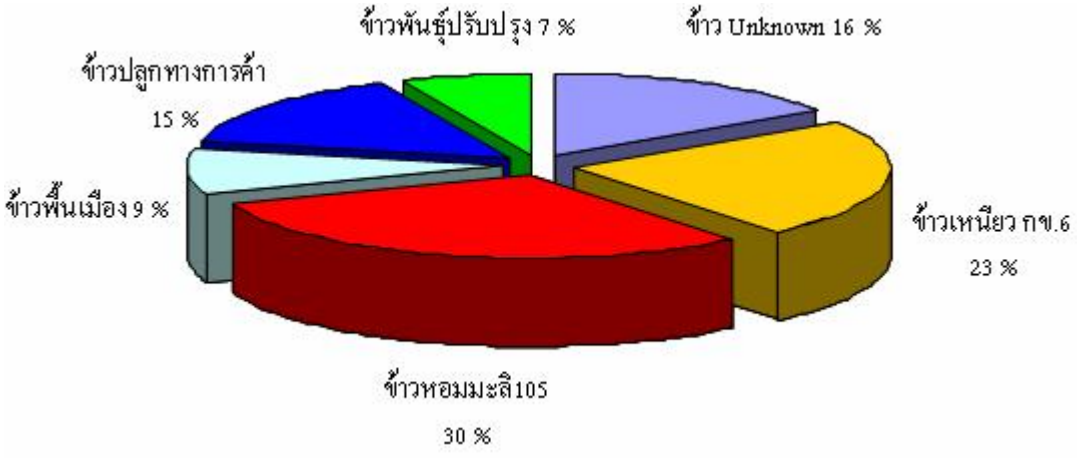
1.2 การจำแนกทางพันธุกรรมของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง

1.2.1 การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* โดยอาศัยแบบแผนความรุนแรงในการเกิดโรคกับข้าว near-isogenic lines (NILs)

ผลการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* จำนวน 90 ไอโซเลทโดยอาศัยความรุนแรงในการเกิดโรคกับข้าว near-isogenic lines (NILs) จำนวน 9 สายพันธุ์ ที่มียีนแตกต่างกันคือ *Xa3 Xa4 xa5 Xa7 xa8 Xa10 xa13 Xa14* และ *Xa21* (ตารางที่ 7) พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มเชื้อได้ 25 กลุ่มโดย 10 กลุ่มเป็นกลุ่มที่มีจำนวนสมาชิกเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* ตั้งแต่ 4 ถึง 12 ไอโซเลท ส่วนกลุ่มที่เหลือมีจำนวนสมาชิก 1-2 ไอโซเลท เท่านั้น กลุ่มที่มีจำนวนสมาชิก สูงสุด 3 อันดับแรก คือกลุ่ม pathotype ที่ 19, 9 และ 13 มีจำนวนเชื้อเท่ากับ 12, 9 และ 8 ไอโซเลทตามลำดับ



ภาพที่ 9 แสดงจำนวนของเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งจำนวน 150 ไอโซเลท ที่รวบรวมและจำแนกตามภูมิภาค



ภาพที่ 10 แสดงจำนวนของเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งจำนวน 150 ไอโซเลท ที่รวบรวมและจำแนกตามประเภทของข้าวที่เป็นพืชอาศัย

โดย pathotype ที่ 19 มีความรุนแรงสูงสุดโดยสามารถเข้าทำลายข้าวที่มียีนต่างๆได้ยกเว้นข้าวที่มียีนต้านทาน *xa5* เท่านั้น pathotype ที่ 9 มีความรุนแรงสูงเช่นกันโดยสามารถเข้าทำลายข้าวที่มียีนต่างๆได้ยกเว้นข้าวที่มียีนต้านทาน *Xa4* และ *xa5* กลุ่ม pathotype ที่ 13 มีความรุนแรงในการเข้าทำลายระดับปานกลางโดยสามารถเข้าทำลายข้าวที่มียีนต่างๆได้ยกเว้นข้าวที่มียีนต้านทาน*Xa4* *xa5* *Xa7* และ *Xa21* กลุ่ม pathotype ที่ 2 ไม่มีความรุนแรงโดยไม่สามารถเข้าทำลายข้าวที่มียีน

ต้านทานใดๆได้เลย โดยในแต่ละกลุ่ม pathotype ที่เป็นกลุ่มใหญ่จะมีเชื้อสาเหตุที่มาจากหลากหลายหลายพื้นที่และพืชอาศัย (ตารางภาคผนวกที่ 1 และ ที่ 2)

จากผลของปฏิกิริยาสัมพันธ์ของยีนต้านทานต่อกลุ่มเชื้อชี้ให้เห็นว่ายีนต้านทาน 4 ยีนมีค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีความต้านทานแบบกว้าง (BSR) สูง เช่นยีนต้านทาน *xa5* ให้ค่า BSRเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยแสดงความต้านทานกับทุกกลุ่มเชื้อที่ใช้ในการทดสอบ และ ยีนต้านทาน *Xa4 Xa7* และ *Xa21* ให้ค่า BSR เท่ากับ 65.6, 66.7, 44.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดสอบความต้านทานต่อเชื้อที่เป็นสาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวในประเทศไทยโดยกาญจนา (2544) ซึ่งพบว่าข้าวสายพันธุ์ IRBB5 ที่มียีนต้านทาน *xa5* สามารถแสดงความต้านทานต่อเชื้อทั้ง 5 ไอโซเลท คือ 8702, 9502, 9601, 9602 และ 9603 ที่ใช้ในการทดสอบ และ ผลการทดลองนี้ก็ยังสอดคล้องกับการทดลองของ Emmachit and Mew (1981) ซึ่งพบว่าข้าว DV85 ที่มียีนต้านทาน *xa5* สามารถแสดงความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคทุกกลุ่มที่ใช้ในการทดสอบ ซึ่งผลการทดลองก็สอดคล้องกับ Kosawang (2005) ซึ่งพบว่า ข้าวสายพันธุ์คู่แฝดที่มียีนต้านทาน *Xa3 Xa4 xa5* และ *Xa21* แสดงความต้านทานได้ดีต่อเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งจากพื้นที่ภาคเหนือของไทยและยีนต้านทาน *xa5* ต้านทานดีที่สุดต่อเชื้อสาเหตุโรคในประเทศไทย

อย่างไรก็ตามการศึกษาความต้านทานโรคขอบใบแห้งในประเทศเพื่อนบ้านของไทย เช่น ประเทศพม่าโดย Myint (2008) ศึกษา pathogenicity ของเชื้อสาเหตุโรคจำนวน 5 ไอโซเลทกับสายพันธุ์ข้าวคู่แฝด จำนวน 12 สายพันธุ์พบว่าข้าวที่มียีนต้านทาน *Xa21* สามารถต้านทานกับเชื้อทุกกลุ่มส่วนยีนต้านทาน *Xa4, xa5* และ *Xa7* แสดงความอ่อนแอต่อเชื้อบางกลุ่ม ในขณะที่การศึกษาในประเทศจีนโดย Wu *et al.* (1985) พบว่ายีนต้านทาน *Xa4* แสดงความต้านทานอย่างสูงกับเชื้อสาเหตุในประเทศจีน ข้าวพันธุ์พื้นเมือง Hom Thong ของประเทศลาวและพันธุ์ Semora Mangga ของอินโดนีเซียมียีนต้านทานที่ควบคุมด้วยยีนเด่นที่มีตำแหน่งอยู่บริเวณเดียวกับยีน *Xa4* ซึ่งเป็นยีนที่พบในพันธุ์ข้าวต้านทานของหลายๆประเทศในเอเชียตะวันออกและตะวันออกเฉียงใต้ (Librojo *et al.*,1976; Khush *et al.*, 1989) ซึ่งรายงานเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่ายีนต้านทานนั้นมีความจำเพาะต่อกลุ่มเชื้อสาเหตุ การที่พันธุ์ข้าวต่างๆที่มียีนแตกต่างกันมีปฏิกิริยาต่อสายพันธุ์เชื้อแตกต่างกันสอดคล้องกับคำอธิบายตามทฤษฎี gene-for-gene ของ Flor (1971)

จะเห็นได้ว่ายีนต้านทาน *xa5* ถึงแม้จะแสดงความต้านทานได้ดีสำหรับสายพันธุ์เชื้อที่พบในประเทศไทยก็ไม่ได้มีประสิทธิภาพสูงในการต้านทานต่อสายพันธุ์เชื้อที่พบในประเทศเพื่อนบ้าน

ดังนั้นหากเกิดมีการแพร่ระบาดของโรคขอบใบแห้งจากประเทศเพื่อนบ้านมาสู่ไทย ตลอดจนความแปรปรวนและความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งในประเทศไทยซึ่งมีสูง (Kosawong *et al*., 2005) ที่สร้างโอกาสเกิดเชื้อสายพันธุ์ใหม่ๆ ซึ่งทำให้ข้าวที่มียีนที่แสดงความต้านทานในปัจจุบันจะถูกเชื้อเหล่านั้นเข้าทำลายได้ในอนาคต

การผนวกยีนต้านทาน (pyramiding gene) ที่ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีความต้านทานแบบกว้าง (BSR) สูงต่อประชากรเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งในประเทศไทย อาทิยีนต้านทาน *xa5, Xa4 Xa7 และ Xa21* เข้าด้วยกันในข้าวสายพันธุ์ต่างๆ มีผลให้สายพันธุ์ข้าวเหล่านั้นแสดงความต้านทานต่อเชื้อได้กว้างขวางมากขึ้น ทั้งนี้การมียีนต้านทานมากกว่าหนึ่งยีนสามารถเพิ่มระดับของความต้านทานต่อเชื้อโรคขอบใบแห้งหลายสายพันธุ์มากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวที่มีเพียงยีนต้านทานเพียงชนิดเดียวและยังเป็นแนวทางที่ทำให้ความต้านทานโรคขอบใบแห้งดำรงอยู่ได้ยาวนานมากขึ้น (Sanchez *et al*.,2000)

1.2.2 การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* โดยการวิเคราะห์ค่าความเหมือนจากค่าความยาวของแผลในข้าว NILs

ข้อมูลความยาวแผลได้ถูกนำมาวิเคราะห์ค่าความเหมือน (similarity) โดยคำนวณด้วยค่า Canberra ‘s coefficient และจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA เพื่อสร้างแผนภูมิ (dendrogram) สาหรับจัดกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* และเปรียบเทียบกับ ความรุนแรงของเชื้อสาเหตุ (virulent) แหล่งที่เก็บ (location) และประเภทของพืชอาศัย (host) (ภาพที่ 11) พบว่าการจัดกลุ่มไม่สามารถจัดตามความสัมพันธ์กับปัจจัยทั้งสามคือรูปแบบความรุนแรงของเชื้อสาเหตุ (virulent patern) แหล่งที่เก็บและประเภทของ hostได้อย่างชัดเจน

โดย dendrogram ที่ค่าความเหมือน 50 % สามารถแบ่งกลุ่มเชื้อได้เป็น 2 กลุ่มหลัก คือกลุ่ม A1 ซึ่งประกอบด้วยสมาชิกจำนวน 85 ไอโซเลท โดยเป็นเชื้อจากทุกกลุ่ม pathotype (ตารางที่ 7) ทั้งที่เป็นเชื้อประเภทมีความรุนแรง (virulent) จำนวน 82 ไอโซเลท และไม่รุนแรง (Avirulent) จำนวน 3 ไอโซเลท กลุ่มที่ A2 ประกอบด้วยเชื้อจำนวน 5 ไอโซเลทโดยส่วนใหญ่มีความไม่รุนแรง ต่อข้าว NILs ได้แก่ 0303 TXO5 TXO14 TXO21 ส่วนอีก 1 ไอโซเลทเป็นประเภทรุนแรง เป็นที่น่าสังเกตุว่าเชื้อที่มีลักษณะไม่รุนแรง (Avirulent) นั้นสามารถพบได้จากทุกประเภทของพันธุ์ข้าวที่เป็นพืชอาศัย อาทิเช่นข้าวที่ไม่ทราบชนิดพันธุ์(unknown) ข้าวกำลังปรับปรุง ข้าวปลูกเชิงการค้า ข้าวหอมมะลิ105 ข้าวเหนียวกข.6 เป็นต้น อย่างไรก็ตามนอกจากลักษณะจำเพาะทางพันธุกรรมของเชื้อที่ทำ

ให้แต่ละไอโซเลทมีความรุนแรงแตกต่างกันตามที่มีรายงานแล้วนั้น สภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปก็เป็นสาเหตุที่ทำให้เชื้อมีความรุนแรงแปรเปลี่ยนไปเช่นกัน (Scortichini *et al.* 2002) ดังนั้นการทดสอบในสภาพเรือนทดลองก็อาจจะเป็นเหตุหนึ่งของความแตกต่างกันในลักษณะของความรุนแรงของเชื้อเนื่องจากสภาพโรงเรือนอาจมีความเหมาะสมต่อเชื้อบางกลุ่มทำให้เชื้อแสดงความรุนแรงมาก และบางกลุ่มอาจมีความรุนแรงน้อยลง อีกประการที่สำคัญคือช่วงการเก็บรักษาที่ยาวนานอาจเป็นสาเหตุให้ความรุนแรงของโรคลดต่ำลงโดยพบว่าเชื้อส่วนใหญ่ที่เป็นเชื้อที่ไม่รุนแรงนั้น เป็นเชื้อที่เก็บรักษามาแล้วมากกว่า 4 ปี

เมื่อพิจารณาความเหมือนที่ 75 % สามารถแบ่งกลุ่มเชื้อเป็นกลุ่มย่อยได้จำนวน 17 กลุ่ม โดยกลุ่ม C15 และ C17 เป็นกลุ่มใหญ่ที่สุดประกอบด้วยสมาชิกจำนวนเท่ากับ 40 และ 21 ไอโซเลทตามลำดับ ส่วนกลุ่มอื่นๆ อีก 15 กลุ่มมีจำนวนสมาชิกกลุ่มละประมาณ 1-5 ไอโซเลทเท่านั้น ซึ่งชี้ให้เห็นว่าเชื้อที่ใช้ทดสอบนี้มีความหลากหลายทางพันธุกรรม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมาในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่นในประเทศหภาพพม่า Lwin (2006) รายงานว่าสามารถแบ่งกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* จำนวน 32 ไอโซเลทที่รวบรวมจาก 4 ภาคของพม่าเป็น 19 race ส่วน Kosawang (2005) ซึ่งศึกษาในประเทศไทยได้จัดกลุ่มเชื้อสาเหตุจากภาคเหนือจำนวน 30 ไอโซเลทเป็น 20 กลุ่มพันธุ์ ผลการวิจัยเหล่านี้แสดงถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมอย่างสูงของเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งในภูมิภาค

เมื่อพิจารณาพันธุกรรมของเชื้อที่เก็บมาจากพันธุ์ข้าวที่แตกต่างกันหรือพื้นที่ต่างกันพบว่าส่วนใหญ่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมที่ชัดเจน ส่วนเชื้อที่เก็บมาจากพันธุ์ข้าวเดียวกัน หรือในแหล่งปลูกข้าวเดียวกันนั้นมีความแตกต่างทางพันธุกรรม อาทิเช่นเชื้อ 4 ไอโซเลทจากจังหวัดสุโขทัยคือ TXO26 TXO28 TXO31 และ TXO32 ที่เก็บจากพื้นที่เดียวกันและจากพันธุ์ข้าวสุพรรรบุรี 1 พบว่าจัดอยู่ในกลุ่มพันธุกรรมที่แตกต่างกัน ขณะที่ 3 ไอโซเลทที่ได้จากศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานีได้แก่ TXO101 TXO104 และ TXO109 ซึ่งเก็บในแปลงเดียวกันแต่ต่างพันธุ์ข้าวกันสามารถจัดอยู่ในกลุ่มพันธุกรรมเดียวกันได้ ที่น่าสนใจคือในกลุ่มย่อย C15.1 พบว่าหากพิจารณาที่ความเหมือนที่ 85% มีสมาชิกจำนวน 21 ไอโซเลทซึ่งได้มาจาก 4 จังหวัดของภาคอิสานได้แก่ จังหวัดขอนแก่น ร้อยเอ็ด อุดรธานีและอุบลราชธานี การที่บางไอโซเลทเก็บมาจากพื้นที่ต่างกันและจากพันธุ์ข้าวต่างกันสามารถจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันได้นั้นสอดคล้องกับงานทดลองของ Tika *et al.* (1999) ที่ศึกษาการจัดกลุ่มเชื้อ *Xoo* ในประเทศเนปาลโดยทดสอบแยกเชื้อจากแหล่งปลูกข้าวและจาก host ที่เป็นพันธุ์ข้าวแตกต่างกันแล้วนำมาตรวจสอบลักษณะทาง genotype พบว่าเชื้อบางกลุ่มที่มาแหล่งปลูกข้าวต่างกันและ host ต่างกันมีลักษณะทาง genotype เหมือนกัน

1.2.3 การจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของข้าวจำนวน 35 สายพันธ์โดยใช้ความยาวของแผลที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* จำนวน 90 ไอโซเลท

ข้อมูลความยาวบาดแผลในถูกนำมาใช้วิเคราะห์ค่าความเหมือน โดยการคำนวณด้วยค่า Canberra's coefficient และนำมาจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA (ภาพที่ 12) พบว่าสายพันธุ์ข้าวที่ใช้ทดสอบสามารถแบ่งได้เป็น 3 กลุ่มตามความสามารถในการต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโดยมีค่าความเหมือนที่ 65 % โดยข้าวในกลุ่ม A3 ซึ่งประกอบด้วยสายพันธุ์ IRBB5 และ IR62266 โดยทั้งสองมียีนต้านทาน *xa5* มีความต้านต่อเชื้อสาเหตุสูง และกว้าง โดยสามารถต้านทานได้ทุกกลุ่มเชื้อสาเหตุ ส่วนข้าวในกลุ่ม A2 ประกอบด้วยข้าวสายพันธุ์ IRBB7 และ BA5 ซึ่งมียีน *Xa7* สามารถต้านทานได้ 66 % ของจำนวนเชื้อสาเหตุที่ใช้ทดสอบ (ตารางที่7) ส่วนข้าวในกลุ่ม A1 ประกอบด้วยข้าว จำนวน 31 สายพันธุ์แสดงความต้านทานจำเพาะต่อกลุ่มเชื้อ

หากแบ่งกลุ่มของข้าวที่ระดับค่า similarity ที่ 75 % พบว่าสามารถแบ่งกลุ่มข้าวได้แบ่ง 8 กลุ่มตามระดับความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุ ได้แก่ กลุ่ม B1 และ B2 ที่ประกอบด้วยข้าวกลุ่มเดียวกับข้าว NILs ที่มี ยีน *Xa3 xa8 Xa10 xa13 Xa14* ข้าวพื้นเมืองและข้าวพันธุ์ check อ่อนแอ โดยกลุ่ม B1 ที่ประกอบด้วย 2 กลุ่มย่อยคือ กลุ่ม B1-1 ที่ค่อนข้างอ่อนแอและ B1-2 ที่อ่อนแอปานกลาง ส่วนข้าวกลุ่ม B3 ที่เป็นกลุ่มข้าวที่ยีน *Xa21* เหมือนกันคือข้าว IRBB21 และ IR1188 (Jataboon *et.al*., 2004) โดยนี้เป็นกลุ่มต้านทานปานกลาง ส่วนข้าวกลุ่ม B4 B5 และ B6 ที่อยู่กลุ่มเดียวกับข้าวที่ยีน *Xa4* และ *Xa7* เป็นกลุ่มต้านทาน ส่วนข้าวกลุ่ม B7 และ B8 คือกลุ่ม ที่มียีน *xa5* ที่ความต้านอย่างสูงต่อทุกกลุ่มเชื้อสาเหตุ ในกลุ่มข้าว B3 ที่ระดับค่า similarity ที่ 80 % พบว่าสามารถจัดกลุ่มข้าว IRBB4 และ ข้าว IR64 ที่มี ยีนต้านทาน *Xa4* เหมือนกันจึงจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันได้ (Davierwala *et al*.2001) ดังนั้นสายพันธุ์อื่นๆที่อยู่กลุ่มนี้ได้แก่ ข้าวพันธุ์ปรับปรุงของไทยคือ สุพรรณบุรี1 ชัยนาท1 และ ข้าว 23-215 หรือข้าวหอมกำแพงแสนและข้าวพันธุ์ปรับปรุงจากต่างประเทศคือ ข้าว IR57514 ข้าว Abhaya และข้าว CT9993 จึงมีแนวโน้มที่มี ยีน *Xa4* เช่นเดียวกันกับข้าว IRBB4 และ ข้าว IR64

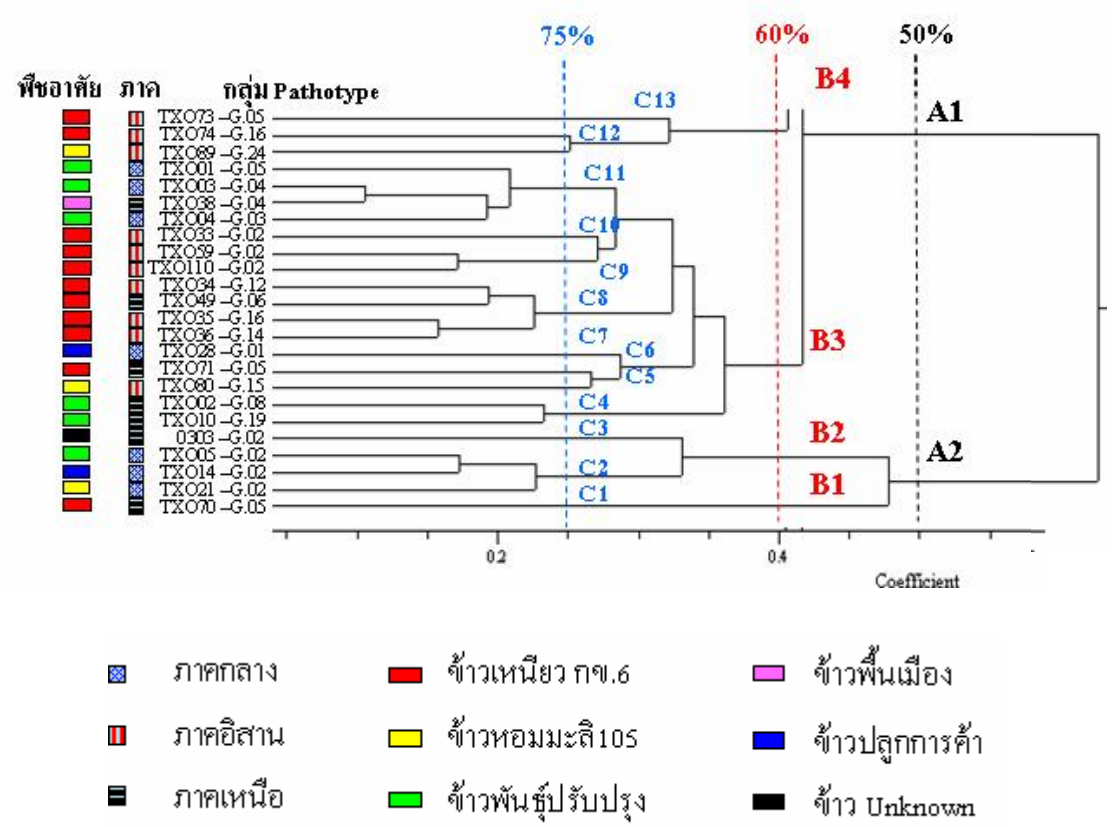
ถึงแม้ว่าข้าวสายพันธุ์ IRBB5 และ IR62266 ต่างมียีน *xa5* ที่มีความต้านสูงต่อทุกกลุ่มเชื้อสาเหตุที่ทดสอบก็ตาม หากเปรียบเทียบความยาวของแผลระหว่างทั้งสองสายพันธุ์ต่อการเข้าทำลายของเชื้อชนิดเดียวกัน พบว่าข้าวสายพันธุ์ IRBB5 มีความยาวของแผลที่ยาวกว่าที่พบในข้าวสายพันธุ์ IR62266 ในหลายไอโซเลทที่ใช้ทดสอบ เช่น TXO105, TXO106, TXO 108 และ TXO 136 (ตารางภาคผนวกที่ 3) จากการศึกษาของ ภมร (2548) ในการสืบหายีนต้านทานของข้าวสาย

พันธุ์ IR62266 ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* จากภาคกลางของประเทศไทยพบว่านอกจากยีนต้านทานที่เป็นยีนหลักอย่าง xa5 แล้ว ข้าวสายพันธุ์ IR62266 ยังมียีน อื่นๆที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานที่มีตำแหน่งบนโครโมโซมที่ 4 ด้วยเหตุนี้จึงมีความเป็นไปได้ว่ายีนดังกล่าวอาจจะช่วยเสริมทำให้ข้าวสายพันธุ์ IR62266 มีความต้านทานมากกว่าข้าวสายพันธุ์ IRBB5

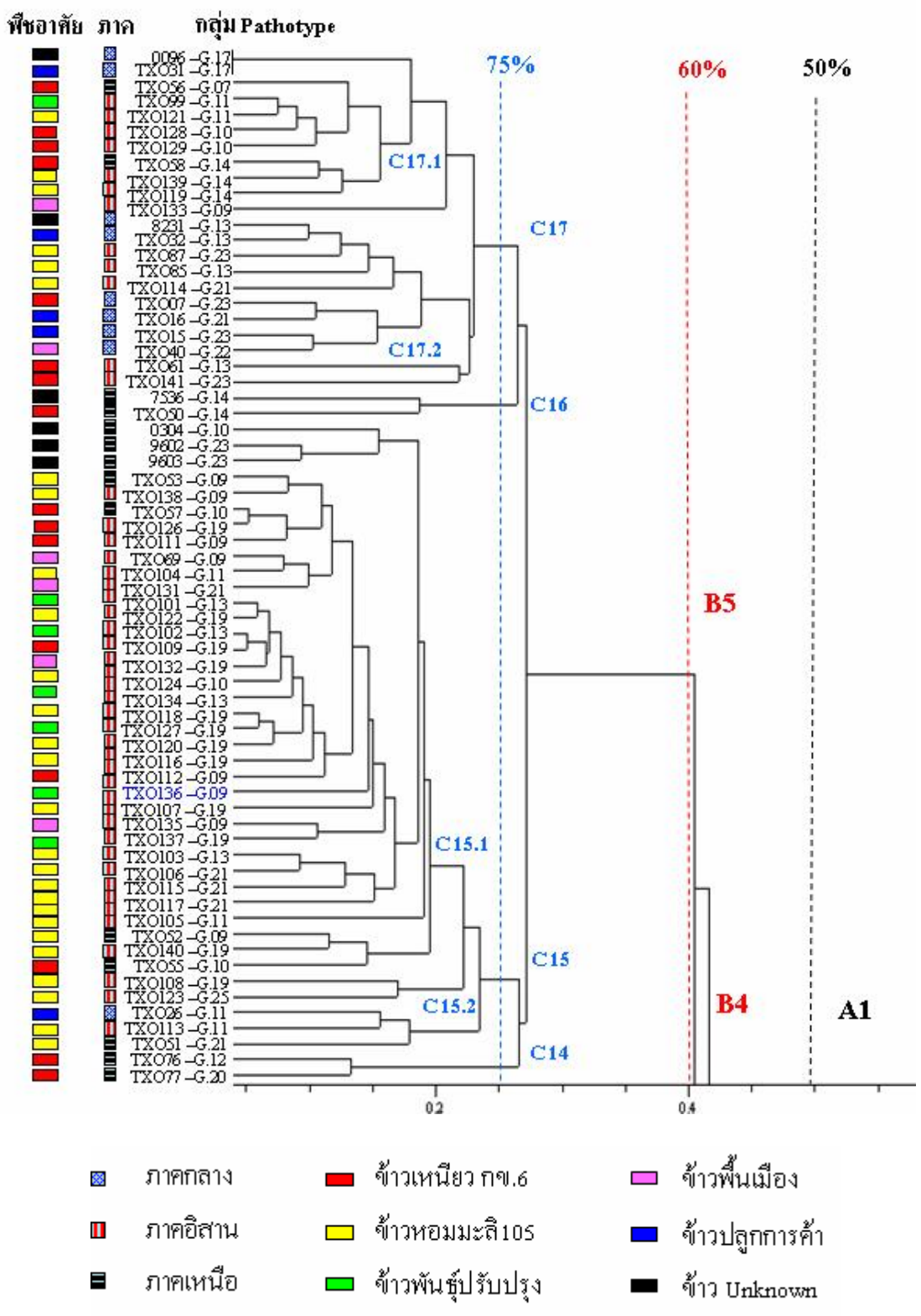
จากการทดสอบนี้สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวเพื่อเป็นข้าวชุดทดสอบ differential host set (DFH) ที่มีจำนวนลดลงจาก 35 สายพันธุ์เป็น 10 สายพันธุ์ที่เป็นตัวแทนจากกลุ่มย่อยต่างๆ จำนวน 10 กลุ่มเพื่อความสะดวกและรวดเร็วในการทดสอบต่อเชื้อสาเหตุและการจำแนกยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งของเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* ในประเทศไทยต่อไป

ตารางที่ 7 การจัดกลุ่มสายพันธุ์เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) ที่ได้จากการวิเคราะห์ pathotype group โดยให้ R คือ ต้านทาน (resistance); มีความยาวบาดแผลเท่ากับ 0-6 cm. และ S คืออ่อนแอ (susceptible); มีความยาวบาดแผลมากกว่า 6 cm.

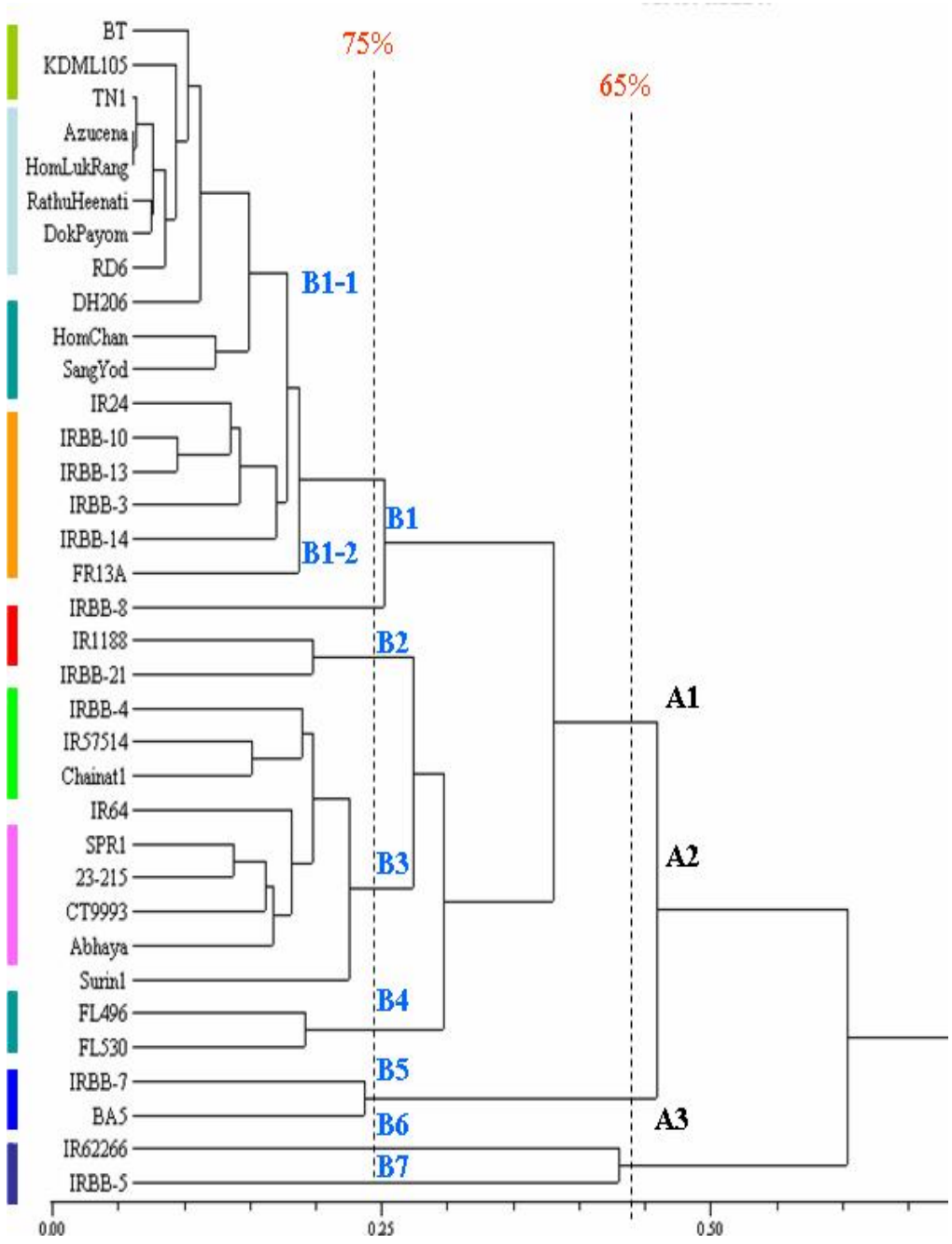
กลุ่ม Pathotype	จำนวนไอโซเลท	สายพันธุ์ข้าว NILs/Gene										สายพันธุ์ Check	
		IRBB-3(Xa3)	IRBB-4(Xa4)	IRBB-5(xa5)	IRBB-7(Xa7)	IRBB-8(xa8)	IRBB-10(Xa10)	IRBB-13(xa13)	IRBB-14(Xa14)	IRBB-21(Xa21)	IR62266(xa5)	RD.6	KDML105
1	1	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	S	S
2	7	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
3	1	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S
4	2	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S
5	4	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S
6	1	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S
7	1	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S
8	1	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S
9	9	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S
10	6	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S
11	6	S	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S
12	2	S	R	R	R	S	S	S	R	S	R	S	S
13	8	S	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S
14	6	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S
15	1	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S
16	2	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S
17	2	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S
18	1	S	R	R	S	R	S	S	S	S	R	S	S
19	12	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S
20	1	S	S	R	S	S	S	S	R	S	R	S	S
21	7	S	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S
22	1	S	S	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S
23	6	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S
24	1	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S
25	1	S	S	R	S	R	S	S	S	S	R	S	S
% BSR	90	20.0	65.6	100.0	66.7	33.3	12.2	8.9	21.1	44.4	100.0	8.9	6.7



ภาพที่ 11 แผนภาพแสดงจากการจัดกลุ่มเชื้อ แบคทีเรีย *Xoo* จำนวน 90 ไอโซเลท ตามความรุนแรงในการเกิดโรคขอบใบแห้งของเชื้อในพันธุ์ข้าวคู่แฝด (NILs) จำนวน 9 สายพันธุ์


พืชอาศัย ภาค กลุ่ม Pathotype
75%
60%
50%
C17.1
C17
C17.2
C16
B5
C15.1
C15
B4
A1
C15.2
C14
0.2
0.4
ภาคกลาง
ภาคอิสาน
ภาคเหนือ
ข้าวเหนียว กข.6
ข้าวหอมมะลิ105
ข้าวพันธุ์ปรับปรุง
ข้าวพื้นเมือง
ข้าวปลูกการค้า
ข้าว Unknown

ภาพที่ 11 (ต่อ)



ภาพที่ 12 แผนภาพแสดงการจัดกลุ่มพันธุ์ข้าวจำนวน 35 สายพันธุ์ จากความรุนแรงในการเกิดโรคขอบใบแห้งของเชื้อ Xoo จำนวน 90 ไอโซเลท ใน ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc version 2.01 โดย similarity คำนวณด้วยค่า Canberra ‘s coefficient ที่ใช้คือ จัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA

2. ผลการจำแนกความหลากหลายทางพันธุกรรมต้านทานโรคขอบใบแห้งของข้าวพันธุ์พื้นเมือง

2.1 การศึกษาความต้านทานโรคขอบใบแห้งของข้าวพื้นเมือง

เมื่อนำข้อมูลความยาวของแผลในข้าวพื้นเมืองจำนวน 182 สายพันธุ์มาวิเคราะห์ความต้านทานแบบกว้าง (broad spectrum resistance, BSR) สามารถแบ่งกลุ่มข้าวพื้นเมืองได้ 2 กลุ่มใหญ่ตามระดับความต้านทาน โดยกลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มข้าวที่มีค่า % BSR ช่วงระหว่าง 0-50 เปอร์เซ็นต์ ข้าวในกลุ่มนี้จำนวน 169 สายพันธุ์ แสดงความอ่อนแอ และต้านทานปานกลาง ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 97 ของพันธุ์ที่ใช้ทดสอบทั้งหมด กลุ่มที่ 2 เป็นกลุ่มข้าวที่แสดงความต้านทานอย่างสูง มีค่า% BSR มากกว่า 50% (ตารางที่ 8) ซึ่งประกอบด้วยข้าวจำนวน 13 สายพันธุ์ หรือคิดเป็นร้อยละ 3 ของพันธุ์ที่ใช้ทดสอบทั้งหมด (ภาพที่ 13) ข้าวพื้นเมือง 13 สายพันธุ์ประกอบด้วย ข้าวบือเปรอมือ ข้าวเบือนอมู ข้าวเชียงรุ้ง 502 ข้าวยากู่ ข้าวเชียงรุ้ง ข้าวนาปรัง ข้าวพวงนาค 16 ข้าวเก้ารวง 88 ข้าวเหลือง 52 ข้าว กข.6 เมล็ดยาว ข้าวดอกพะยอม ข้าวน้ำสะกุย 19 และข้าวเสมอใจ (ตารางที่ 9)

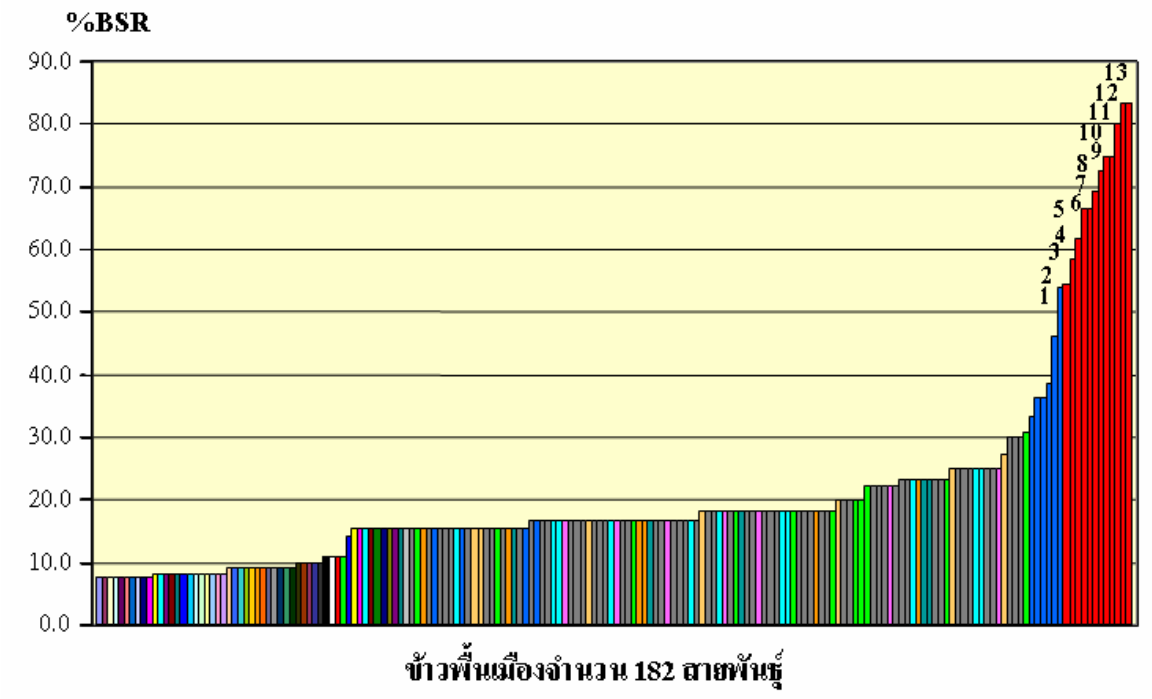
สำหรับข้าวที่ปรับปรุงและแนะนำให้ปลูกโดยกรมการข้าวจำนวน 25 สายพันธุ์ พบว่า 9 สายพันธุ์ให้ค่าดัชนีความต้านทานสูงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ได้แก่ ข้าวพันธุ์ กข.7 กข.25 พิษณุโลก 60 สุพรรณบุรี 1 สุพรรณบุรี 2 สุพรรณบุรี 90 กข. 23 หอมคลองหลวง และ ปทุมธานี 1 แสดงให้เห็นความสำเร็จที่ผ่านมาในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวของกรมข้าวซึ่งข้าวสายพันธุ์ดังกล่าวสามารถต้านทานเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งในพื้นปลูก (ตารางที่ 10)

ตารางที่ 8 แสดงเปอร์เซ็นต์ค่าดัชนีความต้านทานแบบกว้าง (%BSR) ของข้าวพื้นเมืองจำนวน 182 สายพันธุ์และข้าวปลูกจำนวน 26 สายพันธุ์ต่อเชื้อแบคทีเรียสาเหตุจำนวน 13 ไอโซเลท

No.	สายพันธุ์	BSR	No.	สายพันธุ์	BSR	No.	สายพันธุ์	BSR	No.	สายพันธุ์	BSR
1	บือตาโม	27.3	26	เบล้จัวะ	16.7	51	เบล้ไจ้	18.2	76	บือคู้ได้	18.2
2	ข้าวบ่ากอก	15.4	27	เบล้ไจ้	25.0	52	บือโซ	18.2	77	ฌ๊าเงีดะ	8.3
3	ข้าวแพร่ปี	16.7	28	เบล้เบล่าจัวะ	22.2	53	บือกวา	16.7	78	เชียงรุ้ง502	83.3
4	ข้าวแพร่ดอ	16.7	29	บือเนอมู	69.2	54	เบล้กะมอ	18.2	79	ยากู่	75.0
5	ข้าวชิว	15.4	30	บือปีอิกอ	16.7	55	เบล้ดี๊ะ	22.2	80	บือซิ	16.7
6	ข้าวแพร่นา	8.3	31	บือกวา	16.7	56	ข้าวแพร่กลาง	8.3	81	บือพะทอ	16.7
7	ข้าวเหลืองน้อย	8.3	32	เบล้กะมอ	15.4	57	เบล้ปอซิ	9.1	82	ข้าวหลวง	30.0
8	บือกวา	15.4	33	ข้าวลายหลวง	16.7	58	บือมื่อ	15.4	83	ปางอุ่ง	25.0
9	บือซอมี	23.1	34	เบล้ปอซา	16.7	59	บือข่า	18.2	84	บือกิ	18.2
10	บือเซอะลา	15.4	35	บือมื่อ บือกอ	16.7	60	บือโพปริ	8.3	85	แซะล่า	9.1
11	ข้าวชิว	18.2	36	บือปีอิซอวะ	18.2	61	บือซอมี	18.2	86	แซะเน	18.2
12	บือกวา	16.7	37	บือเกษตร	18.2	62	บือปีอิ	18.2	87	ข้าวเหลืองหอม	23.1
13	บือปีอิ	25.0	38	บือข่า	16.7	63	ข้าวเมอ	18.2	88	จะพูมา	10.0
14	บือคึ	7.7	39	บือโปะโละ	16.7	64	ขามเหนี่ย	18.2	89	ลาซอ	18.2
15	บือโปะโละ	23.1	40	บือซอมี	16.7	65	บือแม้วพะโดะ	11.1	90	วอจี่ซะ	16.7
16	บือกวา	16.7	41	ข้าวแพร่	15.4	66	บือแม้วชิแก	18.2	91	เชียงรุ้ง	83.3
17	บือซอมี	23.1	42	บือทอวา	9.1	67	มะแป้	22.2	92	อะอิ	15.4
18	บือปีอิปอสี	7.7	43	บือกิ	8.3	68	นิกอ	11.1	93	ผา37-3-6	15.4
19	บือกิ	16.7	44	บือเขาะ	7.7	69	SMGC89001	9.1	94	เจ้าช่อ	15.4
20	บือกะ	18.2	45	บือพะโดะ	16.7	70	ดามูดี๊ะ	16.7	95	พันธุ์เตี้ย	7.7
21	บือซอมี	16.7	46	ข้าวดอกพุด	7.7	71	ขะสอ	8.3	96	กาบช้าง	15.4
22	บือโค่คี	11.1	47	ข้าวเหมยหลวง	15.4	72	แพร่วา	8.3	97	ขาวโป่งไคร้	22.2
23	น้ำรุ	15.4	48	ข้าวบ่าตาล	15.4	73	บือพะดู่	10.0	98	เจ้าลีซอ	38.5
24	บือเปรอมื่อ	66.7	49	บือโปะโละ	18.2	74	ไคร้หมี่ส้า	9.1	99	จ้าวลาซอ	22.2
25	เบล้เกษตร	25.0	50	บือซอมี	20.0	75	ข้าวดำ	10.0	100	ข้าวทนหนาว	30.8

ตารางที่ 8 (ต่อ)

No.	**สายพันธุ์**	BSR	No.	**สายพันธุ์**	BSR	No.	**สายพันธุ์**	BSR	No.	**สายพันธุ์**	BSR
101	ข้าวนาปรัง	72.7	128	เมล็ดมะขาม	7.7	155	ผาโก้งน้อย	8.3	182	หอมพม่า	46.2
102	เหลืองทองนาปรัง	15.4	129	ขว้าง	16.7	156	ขาวลี้	20.0	183	กข.1	8.3
103	พวงนาค16	80.0	130	แก้ว	16.7	157	กาบแก้ว	16.7	184	กข.4	30.8
104	เก้ารวง88	54.5	131	เฟื่องคำ	8.3	158	กาบซาง	9.1	185	กข.7	76.9
105	เหลือง52	75.0	132	แตงอ่อน	10.0	159	หอมลาว	30.0	186	กข.10	23.1
106	ประดู่แดง	15.4	133	เล็บช้าง	15.4	160	เชียงแสน	9.1	187	กข.23	100.0
107	เหมยนอง62-M	9.1	134	มหาวงศ์	15.4	161	หลวงเสวย	20.0	188	กข.25	61.5
108	ดอเชียงใหม่	9.1	135	ผาโค้ง	25.0	162	ต้นเล็ก	14.3	189	พิษณุโลก60	60.0
109	สันป่าตองดอ	15.4	136	ลูกเขย	20.0	163	ลอย	18.2	190	สุพรรณบุรี1	83.3
110	กข.6(เมล็ดยาว)	61.5	137	มะตาล	9.1	164	พวงหางหมี	10.0	191	สุพรรณบุรี2	100.0
111	กข.6(เมล็ดใหญ่)	15.4	138	ลาบน้อย	15.4	165	อีลุง	18.2	192	สุพรรณบุรี60	58.3
112	เหนียวหอม	25.0	139	ดอมานะ	16.7	166	ข้าวแดง	36.4	193	สุพรรณบุรี90	84.6
113	หางยี71	23.1	140	เลือดวัว	16.7	167	เจ้านาง	7.7	194	ปทุมธานี60	58.3
114	ดอกเหลือง88	23.1	141	วังซ้อน	15.4	168	สันป่าขาว	15.4	195	หอมคลองหลวง	83.3
115	เผือกน้ำ43	22.2	142	เสมอใจ	53.8	169	เหลืองหลวง	7.7	196	เวียดนาม1	33.3
116	ข้าวกล่ำ	16.7	143	ขาวตาเสียม	8.3	170	แม่แป๊ก	7.7	197	ไทซุง	16.7
117	เหนียวหมาหอน	25.0	144	นางหมาผอบ	16.7	171	มะตาลปี	15.4	198	ปทุมธานี1	72.7
118	ใบลด	11.1	145	ขาว	9.1	172	เหลืองประทาน	16.7	199	บาสมาติ370	25.0
119	ดอกพยอม	66.7	146	ดอกพุดลาย	18.2	173	ข้าวมุม	15.4	200	กข.15	16.7
120	ขี้กามแดง	25.0	147	ม้าน้ำโพธิ์	16.7	174	ปีลาว	9.1	201	กข.8	15.4
121	ดอแพร่	18.2	148	แม่ห้าง	30.0	175	ลายน้อย	23.1	202	กข.6	9.1
122	หอมอ้ม	20.0	149	พวงหางยี	18.2	176	ลาบหลวง	8.3	203	กข.15	8.3
123	ขี้กามใหญ่	33.3	150	นางก๋าย	23.1	177	ดงน้อย	15.4	204	กข.11	18.2
124	น้ำสะกุย19	58.3	151	ดอขาว	15.4	178	หอมนางนวล	25.0	205	IR62266	100.0
125	ข้าวหอมเมืองพาน	36.4	152	กาบอ๋อย	7.7	179	ขี้ตมขาว	15.4	206	IR64	84.6
126	เหนียวหอมมะลิ	18.2	153	เมาะผั่ว	15.4	180	ขาวปากหม้อ	23.1	207	IR1188	76.9
127	กาบดำ	8.3	154	เฟื่องเหลือง	15.4	181	หอมพม่า No.12	15.4	208	CT9993	76.9

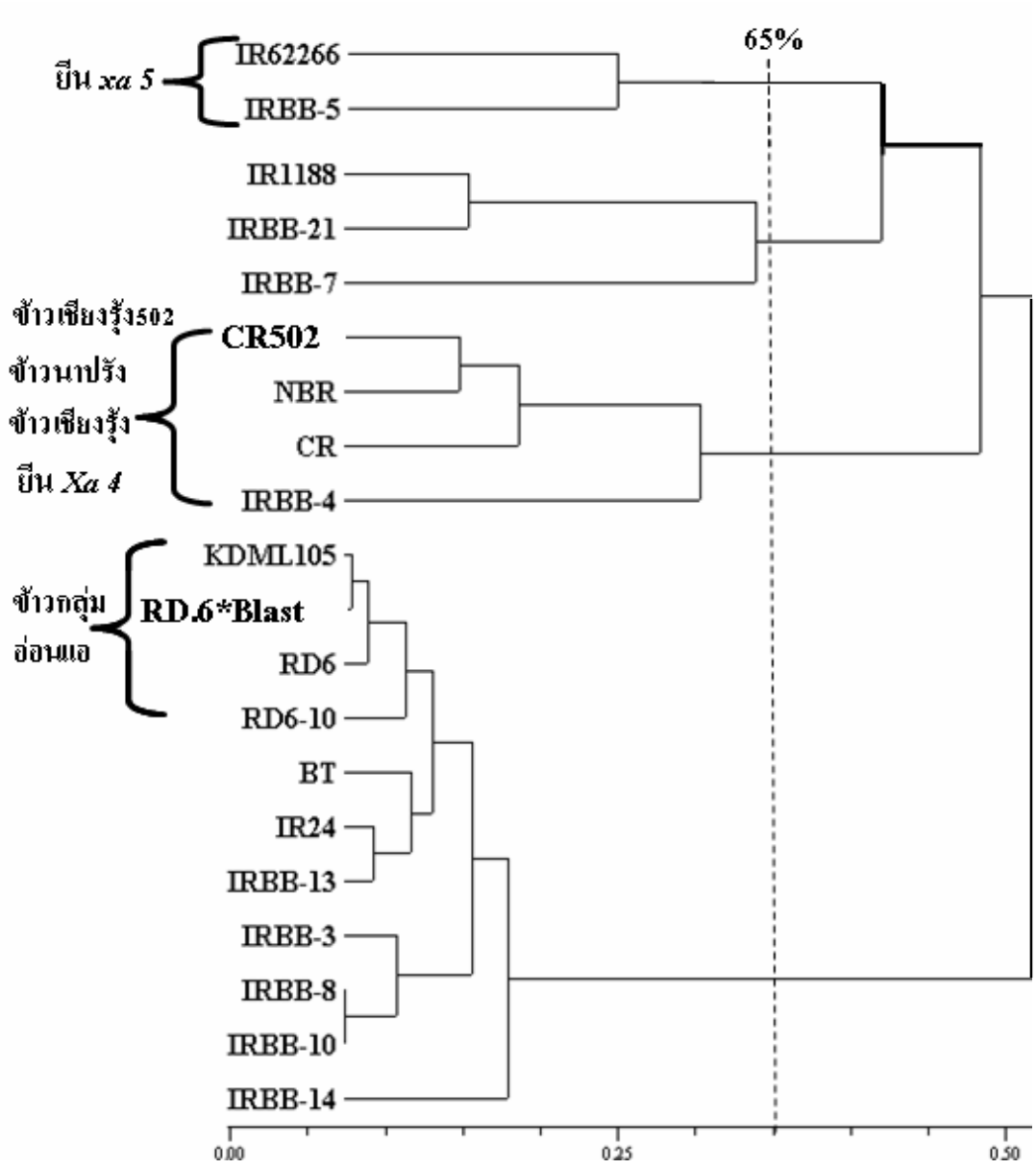


ภาพที่ 13 กราฟแสดงเปอร์เซ็นต์ค่าดัชนีความต้านทาน (%BSR) ของข้าวพื้นเมืองจำนวน 182 สายพันธุ์ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* จำนวน 13 ไอโซเลท ข้าวพื้นเมืองจำนวน 13 สายพันธุ์ มีค่า % BSR มากกว่า 50 % ดังนี้คือ 1. ข้าวเสมอใจ 2. ข้าวเก้ารวง 88 3. ข้าวน้ำสะกุย 19 4. ข้าว กข.6 (เมล็ดยาว) 5. ข้าวบือเปรอมือ 6. ข้าวดอกพะยอม 7. ข้าวเบือนอมู 8. ข้าวนาปรัง 9. ข้าวยากู่ 10. ข้าวเหลือง 52 11. ข้าวพวงนาค 16 12.ข้าวเชียงรุ้ง 502 13. ข้าวเชียงรุ้ง

2.2 การทดสอบความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งของสายพันธุ์พ่อ-แม่ที่ใช้ในการศึกษาทางพันธุศาสตร์

เมื่อพิจารณาความรุนแรงในการเกิดโรคขอบใบแห้งของเชื้อ *Xoo* จำนวน 13 ไอโซเลท ข้าวสายพันธุ์เชียงรุ้ง 502 เชียงรุ้ง และ นาปรัง จัดอยู่ในกลุ่มที่มีความต้านทานดีเช่นเดียวกับข้าว IRBB-4 ที่มียีนต้านทาน *Xa4* (ภาพที่ 14) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าข้าวพันธุ์พื้นเมืองสายพันธุดังกล่าวมีศักยภาพในการนำไปใช้เป็นแหล่งความต้านทานในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป ซึ่งในการศึกษายีนควบคุมความต้านทานโรคขอบใบแห้งในข้าวพื้นเมืองไทยได้ทำการคัดเลือก ข้าวเชียงรุ้ง502 มาเป็นวัสดุในการศึกษาโดยได้ผสมกับข้าวพันธุ์อ่อนแอเพื่อสร้างสร้างประชากรรุ่นที่ 2 (F_2) ใช้ในการสืบหาตำแหน่งของยีนต้านทานโดยวิธีการค้นหายีนอย่างรวดเร็ว(gene tagging) ซึ่งอาศัยความแตกต่างของรูปแบบของเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอในกลุ่มของลูกที่แสดงความต้านทานและอ่อนแอ

จากการทดสอบปลูกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งสายพันธุ์ TXO 136 พบว่าให้ความแตกต่างของความยาวแผลในระหว่างข้าวแต่ละสายพันธุ์ (ภาพที่15) โดยพันธุ์ ข้าว IRBB5 (*xa5*) และ ข้าว IRBB4 (*Xa4*) นั้นมีค่าเฉลี่ย 1.0 และ 1.3 เซนติเมตรตามลำดับ พันธุ์ ข้าว KDML105 และพันธุ์ข้าวอีน้อย นั้นมีค่าเฉลี่ย 20.0 และ 23.8 เซนติเมตรตามลำดับข้าว ส่วนพันธุ์ข้าว IRBB21 (*Xa21*) มีค่าเฉลี่ย 4.8 เซนติเมตร รวมทั้งพันธุ์พ่อแม่ที่ใช้มีความแตกต่างกันสูงคือ พันธุ์ ข้าวเชียงรุ้ง 502 (CR502) และข้าวกข.6*Blast (RGDU 334-3-11-1-1-179) นั้นมีค่าเฉลี่ย 1.0 และ 17.0 เซนติเมตรตามลำดับ และในประชากรพันธุ์ข้าวนั้นพบว่ามีการกระจายตัวของลักษณะความต้านทานที่เกิดขึ้น



ภาพที่ 14 dendrogram การจัดกลุ่มความรุนแรงในการเกิดโรคขอบใบแห้งของเชื้อ *Xoo* จำนวน 13 ไอโซเลท ในพันธุ์ข้าวจำนวน 22 สายพันธุ์ ด้วยโปรแกรม NTSYS-pc version 2.01 โดยค่า similarity คำนวณด้วยค่า Canberra's coefficient จัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA สามารถแบ่งกลุ่มสายพันธุ์ข้าวได้ 4 กลุ่มที่ระดับความเหมือน 65 %

ภาพที่ 15 แสดงระดับความรุนแรงของโรคขอบใบแห้งของไอโซเลท TXO136 ที่ทดสอบกับพันธุ์ข้าวจำนวน 7 สายพันธุ์ ได้แก่ 1. KDML105 2. ข้าวเชียงรุ้ง 502 3. ข้าวกข.6*Blast (RGDU 334-3-11-1-1-179) 4. ข้าวอีน้อย 5. ข้าว IRBB21 (*Xa21*) 6. ข้าว IRBB5 (*xa5*) และ 7. ข้าว IRBB4 (*Xa4*)

ตารางที่ 9 แสดงเปอร์เซ็นต์ค่าดัชนีความต้านทานแบบกว้าง (%BSR) ของข้าวพื้นเมืองจำนวน 13 สายพันธุ์ที่ต้านทานกับเชื้อแบคทีเรียสาเหตุจำนวน 13 ไอโซเลท

		Isolates/Pathotype group													
No.	Cultivars	9 TXO136	6 TXO49	13 TXO61	10 0304	22 TXO40	21 TXO16	12 TXO34	17 0096	2 0303	3 TXO4	23 9603	11 TXO113	19 TXO132	%BSR
1	เสมอใจ	R	S	S	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S	53.8
2	เก้ารวง 88	R	R	S	R	S	S	S	S	R	R	R	S	R	54.5
3	น้ำสะกุย 19	R	R	S	R	R	S	R		R	R	S	R	S	58.3
4	กข.6 (เมล็ดยาว)	R	R	S	R	S	S	S	R	R	R	R	S	R	61.5
5	บือเปรอมื่อ	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	R	66.7
6	ดอกพยอม	R	R	S	S	S	S	R		R	R	R	R	R	66.7
7	บือเนอมู	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	69.2
8	ข้าวนาปรัง	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S		72.7
9	ยากู่	R	R	S	R	S	R	R		R	R	R	S	R	75.0
10	เหลือง 52	R	R	S	R	S	S	R	R	R	R	R	S	R	75.0
11	พวงนาค16	R	R	R	R		S	R		R	R	R		S	80.0
12	เชียงรุ้ง 502	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R		83.3
13	เชียงรุ้ง	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R		83.3

โดยกำหนดให้ R คือ ต้านทาน (resistance) และ S คือ อ่อนแอ (susceptible)

ตารางที่ 10 แสดงเปอร์เซ็นต์ค่าดัชนีความต้านทานแบบกว้าง (%BSR) ของข้าวสายพันธุ์การค้าจำนวน 11 สายพันธุ์ที่ต้านทานกับเชื้อแบคทีเรียสาเหตุจำนวน 13 ไอโซเลท

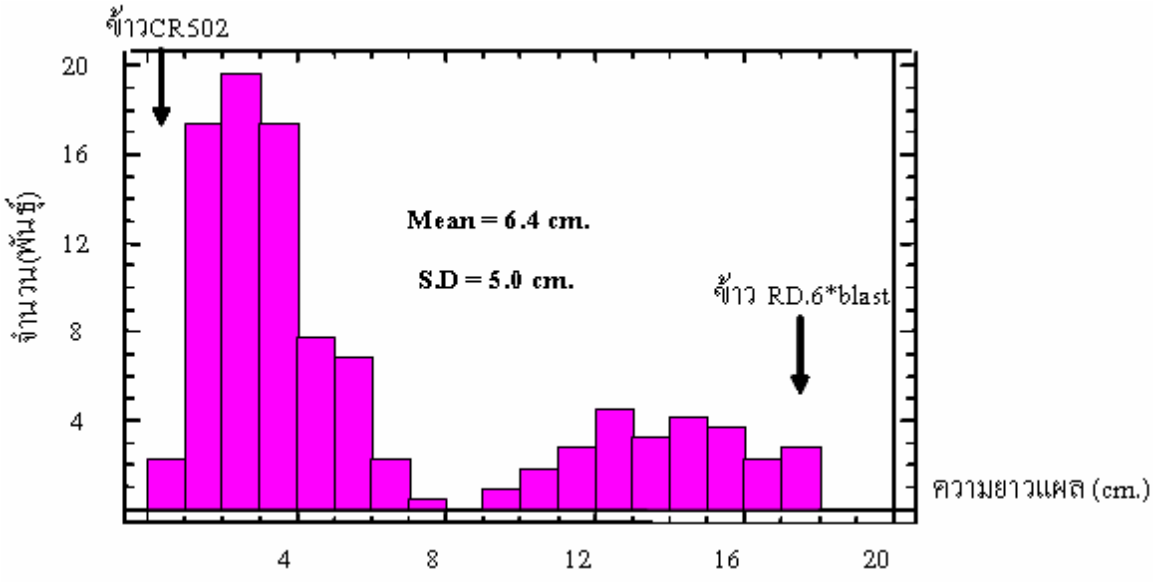
		Isolates/Pathotype group													
No.	Cultivars	9 TXO136	6 TXO49	13 TXO61	10 0304	22 TXO40	21 TXO16	12 TXO34	17 0096	2 0303	3 TXO4	23 9603	11 TXO113	19 TXO132	%BSR
1	สุพรรณบุรี 60	S	R	R	R	S	S	R	R		R	S	S	R	58.3
2	ปทุมธานี 60	S	R		R		S	R	R	R	R	R	S	S	58.3
3	พิษณุโลก 60	S	S	R		S	S		R		R	R	S	R	60.0
4	กข.25	S	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	61.5
5	ปทุมธานี1	S	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R			72.7
6	กข.7	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	R	R	76.9
7	สุพรรณบุรี1	S	R	R	R	S		R	R	R	R	R	R	R	83.3
8	หอมคลองหลวง	R	R	R	R	S		R	R	R	R	R	S	R	83.3
9	สุพรรณบุรี 90	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	84.6
10	กข.23	R	R	R	R	R	R	R	R		R	R	R	R	100.0
11	สุพรรณบุรี 2	R	R	R	R		R	R	R	R	R	R	R	R	100.0

โดยกำหนดให้ R คือ ต้านทาน (resistance) และ S คือ อ่อนแอ (susceptible)

3. ผลการศึกษาการถ่ายทอดลักษณะความต้านทานโรคขอบใบแห้งของข้าวสายพันธุ์ เชียงรุ้ง502

3.1 การกระจายตัวของความยาวแผลในประชากรรุ่นที่ 2

ประชากรข้าว F_2 จำนวน 219 สายพันธุ์นั้นค่าความยาวแผลระหว่าง 0.9 เซนติเมตร (ต้านทาน) ถึง 18.0 เซนติเมตร (อ่อนแอ) เมื่อนำข้อมูลดังกล่าวมาจัดแบ่งกลุ่มตามความยาวของแผลที่เกิดโรค สามารถแบ่งออกได้เป็น 18 กลุ่ม โดยที่แต่ละกลุ่มมีความยาวแผลแตกต่างกัน 1.0 เซนติเมตร โดยกลุ่ม 1-6 มีความยาวแผลตั้งแต่ 0-6 เซนติเมตร โดยจัดให้เป็นกลุ่มต้านทาน และกลุ่ม 7 ถึง 18 คือมีความยาวแผลมากกว่า 6 เซนติเมตรขึ้นไป จัดให้เป็นกลุ่มอ่อนแอ ในสายพันธุ์พ่อ-แม่ เชียงรุ้ง 502 และ กข.6 *Blast (RGDU 334-3-11-1-1-179) มีค่าเฉลี่ยความยาวแผล 1.0 และ 18.5 เซนติเมตรตามลำดับซึ่งแตกต่างกันอย่างชัดเจน เมื่อนำสัดส่วนของการกระจายตัวในลักษณะต้านทานและอ่อนแอมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า การกระจายตัวของความยาวแผลในประชากรมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.4 เซนติเมตร และ ค่า Standard deviation เท่ากับ 5.0 เซนติเมตร โดยลูกส่วนมากอยู่ในกลุ่มที่มีความต้านทาน (ภาพที่ 16)



ภาพที่ 16 การกระจายตัวของประชากรต่อ ค่าความรุนแรงในการเกิดโรคขอบใบแห้งตามความยาวของโรคที่เกิดจากการปลูกเชื้อ TXO136 ในประชากร F_2 ของคู่ผสม CR502/RD6*Blast (RGDU 334-3-11-1-1-179) เปรียบเทียบกับการเกิดโรคในพันธุ์พ่อแม่

การทดสอบ Chi-square test ชี้ให้เห็นว่าสัดส่วนของความต้านทานต่ออ่อนแอนั้นเป็น 3 ต่อ 1 โดยที่ค่าค่า Chi-square เท่ากับ 1.65 ที่ df 1 และมีค่า P-value เท่ากับ 0.19 (ค่า X^2 ที่ P-value0.01 = 6.63 และ P-value 0.05 = 3.84) ซึ่งเป็นค่าที่น้อยกว่าค่า critical ทำให้การจัดแบ่งกลุ่มที่อัตราส่วนนี้ยอมรับทางสถิติ (ตารางที่ 11) ซึ่งผลดังกล่าวสอดคล้องกับอัตราส่วนการกระจายตัวของประชากรชั่วที่ 2 (F_2) ตามกฎของเมนเดลที่ควบคุมด้วยยีนเด่นจำนวน 1 คู่

ตารางที่ 11 การวิเคราะห์ Chi-square ของลักษณะต้านทานกับอ่อนแอในประชากร F_2 ของคู่ผสม

ลักษณะ	Observe	Expected	Chi-square (3:1)
Resistance (1-6 cm.)	156	164.25	0.41
Susceptible (>6 cm.)	63	54.75	1.24
Total	219	219	1.65

df =1 , P-value = 0.19

3.2 อัตราพันธุกรรมหรือความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะ

การวิเคราะห์ค่าอัตราพันธุกรรม (heritability)ในประชากร F_2 พบว่า ลักษณะทางพันธุกรรมความต้านทานโรคขอบใบแห้งของข้าวเชียงรุ้ง 502 นี้จะสามารถถ่ายทอดจากชั่วที่หนึ่งไปยังอีกชั่วที่หนึ่งได้ประมาณ 84.8 % และมีอิทธิพลของสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องประมาณ 15.2 % (ตารางที่ 12) อันเป็นผลให้การการคัดเลือกพันธุ์ข้าวที่มีลักษณะต้านทานจากประชากรมีความถูกต้องแม่นยำ และเป็นไปได้ง่าย เนื่องจากสายพันธุ์พ่อแม่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมความต้านทานสูง(ภาพที่14) ซึ่งส่งผลให้มีค่า heritability สูงตามไปด้วย (ทัศนีย์, 2540)

ตารางที่ 12 การวิเคราะห์ค่า heritability ของลักษณะต้านทานโรคขอบใบแห้งของข้าวเชียงรุ้ง 502 ในประชากร F_2

Source	Sum of Squares	df.	Mean Square	Var. Comp.	Percent
จีโนไทป์ (genotypes)	9973.23	223	44.72	20.99	84.81
ค่าคลาดเคลื่อน (error)	801.25	213	3.76	3.76	15.19

3.3 การสืบหาหาเครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอที่วางตำแหน่งใกล้กับยีนควบคุมลักษณะต้านทานโรคขอบใบแห้งจากประชากรชั่วที่ 2

3.3.1 การทดสอบหาเครื่องหมายโมเลกุล SSR marker ที่สามารถแยกความแตกต่าง (polymorphism) ระหว่างพันธุ์พ่อ-แม่

จากการทดสอบ SSR marker จำนวน 96 marker ในพันธุ์เชียงรุ้ง502 (ต้านทาน) และพันธุ์ กข.6* Blast (อ่อนแอ) พบว่ามี SSR marker จำนวน 17 markerที่ให้ความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์เชียงรุ้ง502 (ต้านทาน) และพันธุ์ กข.6*Blast (อ่อนแอ) โดย SSR marker ดังกล่าวมีตำแหน่งวางอยู่ใน 7 โครโมโซม ได้แก่ โครโมโซมที่ 2, 5, 7, 9, 10, 11 และ 12 (ตารางที่ 13)

เมื่อนำเครื่องหมายโมเลกุล SSR marker ไปทดสอบในประชากรชั่วที่ 2 (F_2) ที่มีการรวมดีเอ็นเอ (pool DNA) ซึ่งแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ pool R (resistant) และ pool S (susceptible) ซึ่งแต่ละ pool ได้มาจากประชากร F_2 ที่ต้านทานและอ่อนแออย่างละ 10 ต้น พบว่ามีเครื่องหมายโมเลกุล SSR คือ RM144 และ RM254 ซึ่งอยู่บนโครโมโซมที่11 แสดงความแตกต่างระหว่าง pool R และ pool S อย่างชัดเจน (ภาพที่ 17)

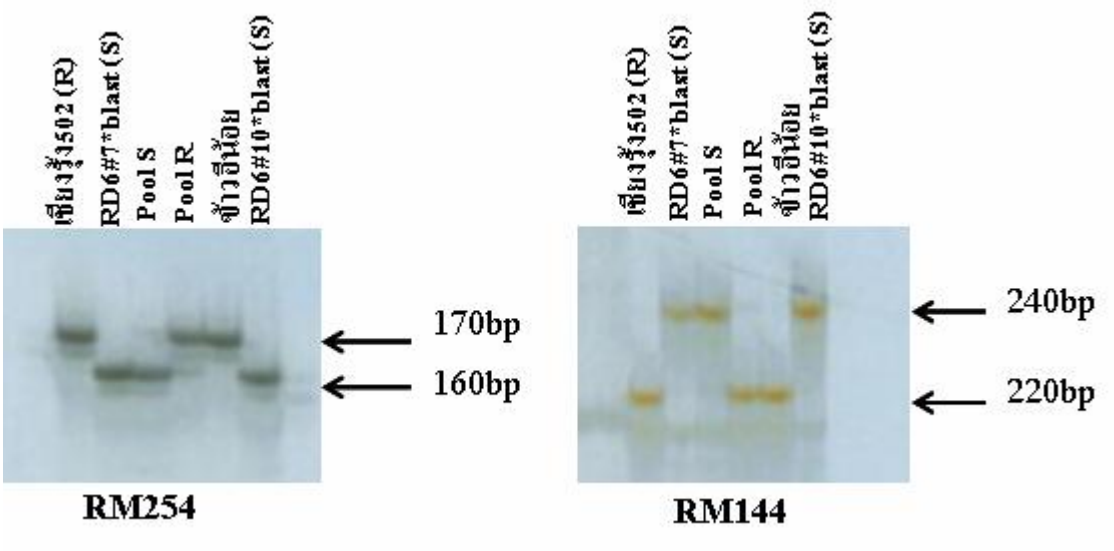
ตารางที่ 13 จำนวน 17 เครื่องหมาย โมเลกุล Microsattelite marker (SSR marker) ที่ให้ความแตกต่างระหว่างพันธุ์เชียงรุ้ง502 (ต้านทาน) และพันธุ์ กข.6* Blast (อ่อนแอ)

Chromosome	จำนวน Maker	Microsattelite marker
2	2	RM154 RM263
5	1	RM164
7	1	RM234
9	1	RM245
10	3	RM164 RM173 RM267 RM289 RM 334 RM408 RM507
11	6	RM30 RM111 RM136 RM144 RM217 RM254 RM461
12	3	RM2 RM8 RM11 RM125 RM234 RM248 RM436
รวม	17	

ตารางที่ 14 ลำดับเบสของเครื่องหมายโมเลกุล RM144 และ RM254 ที่วางตำแหน่งอยู่โครโมโซมที่ 11 ที่แสดงความแตกต่างระหว่างกลุ่มที่ต้านทาน (pool R) และอ่อนแอ (pool S)

Primer Name	Forward Primer	Reverse Primer
RM144	TGCCCTGGCGCAAATTTGATCC	GCTAGAGGAGATCAGATGGTAGTGCATG
RM254	AGCCCCGAATAAATCCACCT	CTGGAGGAGCATTTGGTAGC

ที่มา: Website www.gramene.org และ http://rice.kps.ku.ac.th



ภาพที่ 17 การตรวจหาแถบ DNA marker ที่ปรากฏในพันธุ์เชียงรุ้ง 502 ที่ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งในประชากรชั่วที่ 2 (F_2) โดยใช้ เครื่องหมายโมเลกุล SSR marker โดยการรวมดีเอ็นเอ (pool DNA) 2 กลุ่ม pool R (resistant) และ pool S (susceptible) จากประชากรF_2 ที่ต้านทานและอ่อนแออย่างละ 10 ต้น พบว่ามีเครื่องหมาย โมเลกุล SSR marker เพียง 2 marker คือ RM144 และ RM254 ที่แสดงความแตกต่างระหว่างทั้ง 2 กลุ่ม

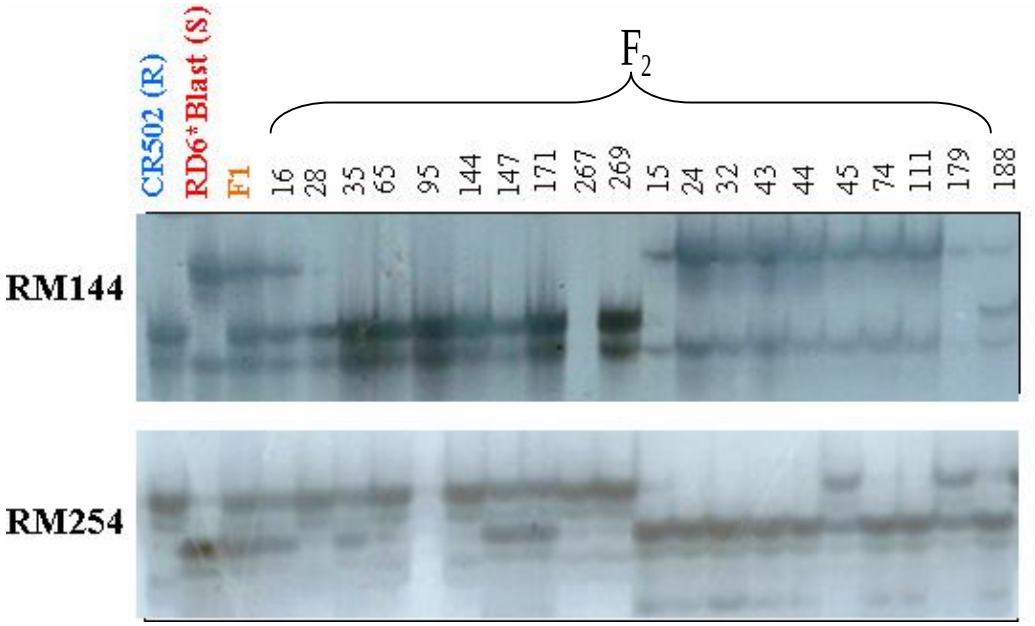
3.3.2 การกระจายตัวของแถบ DNA ของ RM144 และ RM254 ในประชากร F_2

ตารางที่ 15 การวิเคราะห์ Chi-square ของการกระจายตัวประเภทของแถบ DNA ของ SSR marker ในประชากร F_2

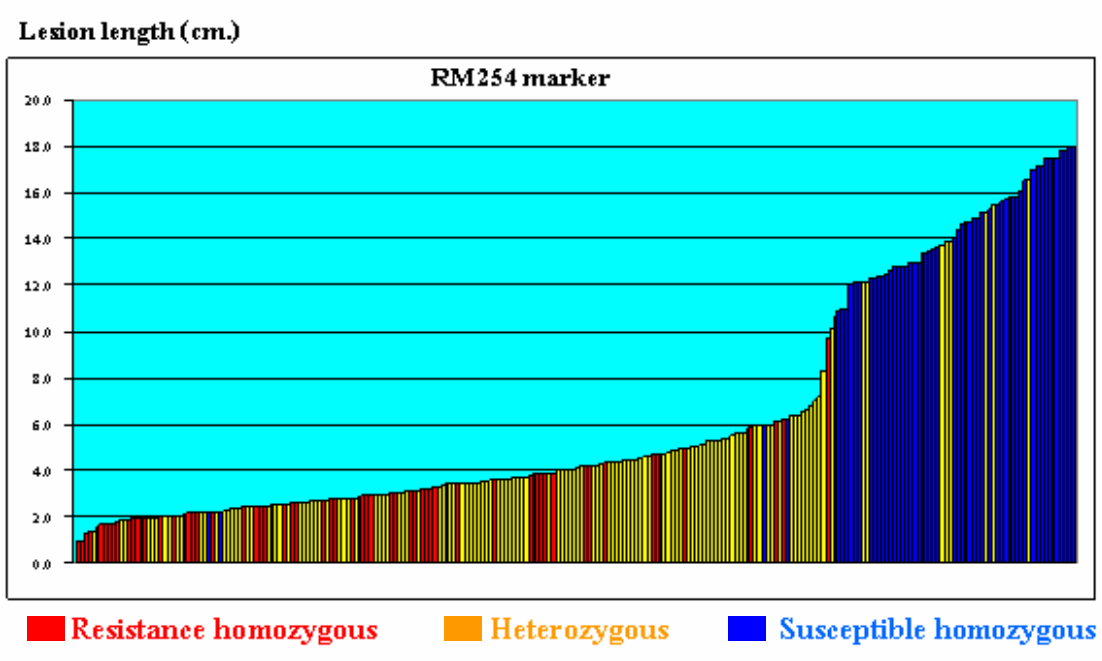
Marker	Number of observed plants			Chi-square (1:2:1)	
	homozygous (R)	Heterozygous	homozygous (S)	Value	Probability
RM254	54	105	52	0.04	0.98
RM144	62	102	46	2.61	0.27

โดยกำหนดให้ R = resisatance, S = susceptiple

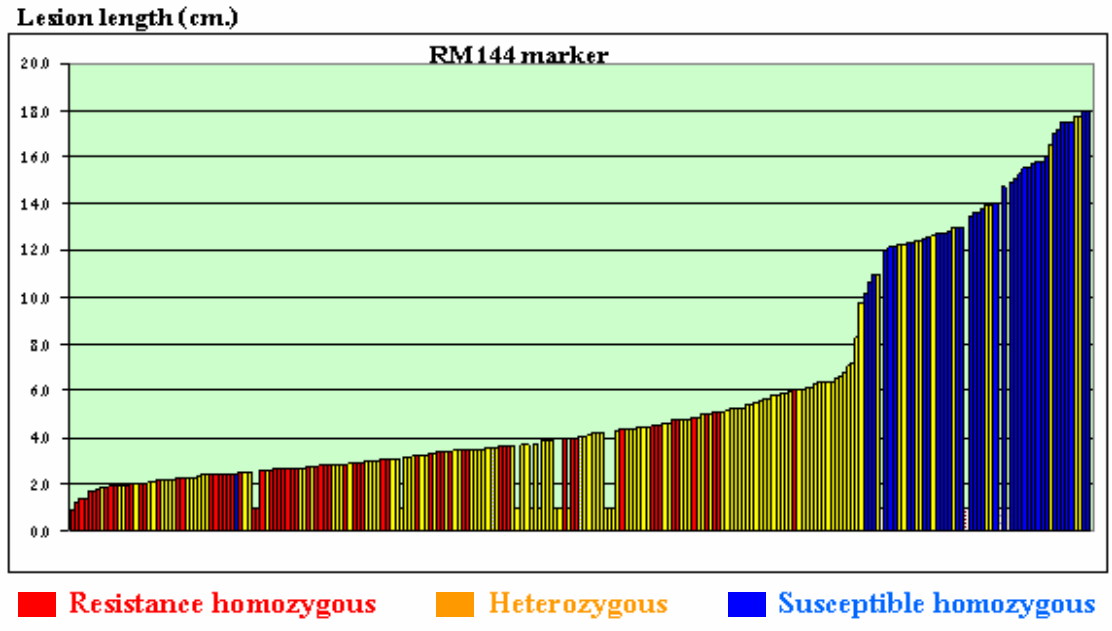
เพื่อเป็นการทดสอบอัตราส่วนของลักษณะของแถบ DNA ที่แสดงออก โดยนำค่าที่ได้นี้วิเคราะห์หาอัตราส่วนการกระจายตัวของแถบ DNA ในประชากรจากการใช้เครื่องหมายโมเลกุล RM254 และ RM144 (ภาพที่ 19 และ 20) โดยการทดสอบ Chi-square test พบว่าเมื่อจัดให้กลุ่มประชากรที่เป็น กลุ่มต้านทาน (resistance homozygous; R) กลุ่ม Heterozygous และกลุ่มประชากรที่เป็น กลุ่มอ่อนแอ (susceptible homozygous; S) โดยมีค่าคาดหมายในอัตราส่วนที่เกิดขึ้นเป็น 1 : 2 : 1 นั้น ได้ค่า Chi-square และค่า P-value เท่ากับ 0.04 , 0.98 และ 2.61, 0.27 ตามลำดับ ที่ค่า df เท่ากับ 2 (ค่า X^2 ที่ P-value 0.01 = 9.21 และ P-value 0.05 = 5.99) ซึ่งค่า X^2 ที่ได้ของทั้งสอง marker เป็นค่าที่น้อยกว่าค่า critical ทำให้การจัดแบ่งกลุ่มที่อัตราส่วนนี้ยอมรับทางสถิติ (ตารางที่ 15) ให้ผลสอดคล้องกับอัตราส่วนการกระจายตัวของประชากรช่วงที่ 2 (F_2) ตามกฎของเมนเดล ที่เป็นการกระจายตัวตามปกติสามารถใช้ประชากรนี้ในการศึกษาต่อไปได้



ภาพที่ 18 การตรวจหาแถบ DNA marker ที่ปรากฏในพันธุ์เชียงรุ้ง 502 ที่ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งในประชากรช่วงที่ 2 (F_2) โดยใช้ เครื่องหมาย โมเลกุล microsattelite marker คือ RM144 และ RM254 ที่แสดงความแตกต่างระหว่างทั้ง 2 กลุ่ม



ภาพที่ 19 แสดงความยาวของแผลในประชากรชั่วที่ 2 (F_2) ของคู่ผสม CR502/RD6*Blast (RGDU 334-3-11-1-1-179) เมื่อปลูกเชื้อ TXO136 โดยกำหนดให้สีแดง เหลือง และน้ำเงินแสดงการจำแนกประชากร F_2 ตามเครื่องหมายโมเลกุล RM254



ภาพที่ 20 แสดงความยาวของแผลในประชากรชั่วที่ 2 (F_2) ของคู่ผสม CR502/RD6*Blast (RGDU 334-3-11-1-1-179) เมื่อปลูกเชื้อ TXO136 โดยกำหนดให้สีแดง เหลือง และน้ำเงิน แสดงการจำแนกประชากร F_2 ตามเครื่องหมายโมเลกุล RM144

ในการใช้เครื่องหมายโมเลกุลในการคัดเลือกประชากรใน F_2 ที่ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งข้าว (ภาพที่ 18) พบว่าลักษณะที่ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งของข้าวเชียงรุ้ง502 เป็นลักษณะเด่น (dominant) ที่มี genotype แบบ homozygous และ heterozygous มีการแสดงลักษณะทาง phenotype เหมือนกัน ดังนั้น การใช้ SSR marker ที่เป็น codiminence marker ที่สามารถนำมาใช้แยกประชากรใน F_2 แต่ละต้นที่มี genotype แบบ homozygous และ heterozygous ออกจากกันได้ เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพ และร่นระยะเวลาของวิธีทาง conventional breeding (Abenes *et al*. 2000)

3.3.3 ผลการวิเคราะห์ค่า multiple regression analysis และ ANOVA ของ SSR maker คือ RM254 และ RM144 กับลักษณะต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง

เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่าง SSR maker กับยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งของข้าวเชียงรุ้ง 502 จึงวิเคราะห์ด้วย multiple regression analysis และ ANOVA ปรากฏว่าให้ค่า coefficient of determination (R^2) พบว่า RM254 พบว่ามีค่าเท่ากับ 53.5 % และค่า P-value ในตาราง ANOVA มีค่า 0.0 น้อยกว่า 0.01 แสดงว่ามีระดับความสัมพันธ์ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99 % (ตารางที่ 16) ส่วน RM144 พบว่ามีค่าเท่ากับ 60.7 % และค่า P-value ในตาราง ANOVA มีค่าเป็น 0.0 ระดับ ความเชื่อมั่นที่ 99 % (ตารางที่ 17) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างทั้ง 2 SSR marker พบว่า RM144 เมื่อนำมาประเมินหาค่า R^2 มีค่าที่สูงกว่าแสดงว่าเครื่องหมายโมเลกุล RM144 มีตำแหน่งอยู่ใกล้กับยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งจากข้าวเชียงรุ้ง 502 มากกว่าเครื่องหมายโมเลกุล RM254 ถึงแม้ว่าค่า R^2 ที่ได้จะมีค่าระหว่าง 53.50 – 60.67 % ซึ่งเป็นค่าที่อยู่ในระดับปานกลาง อย่างไรก็ตามสามารถใช้เครื่องหมายโมเลกุลทั้งสองสำหรับคัดเลือกลักษณะลักษณะความต้านทานที่เป็นลักษณะทางปริมาณได้อย่างมีประสิทธิภาพเพราะเครื่องหมายและลักษณะความต้านทานมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยยะสำคัญทางสถิติ (Lande and Thomson, 1990)

สำหรับการวางตำแหน่งใกล้เคียงของ SSR marker พบว่า RM254 และ RM144 มีตำแหน่งที่ 110.0 และ 123.20 cM ตามลำดับบนโครโมโซมที่ 11 และอยู่ใกล้กับตำแหน่งที่พบยีนต้านทานได้แก่ *Xa3 Xa4* และ *Xa22* (Yoshimura *et al*. 1995; Ogawa *et al*. 1986; Lin *et al*. 1996) ที่มีตำแหน่งที่ 109.80-114.40, 110.40-113.80 และ 112.80-119.50 cM ตามลำดับ (ภาพที่ 21)

ตารางที่ 16 แสดงค่าการวิเคราะห์ multiple regression analysis และ ANOVA ของ maker RM254 กับลักษณะต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง

Parameter	Estimate	Standard Error	T-Statistic	P-Value
CONSTANT	-3.96	0.70	-5.58	0.0
RM254	5.20	0.33	15.50	0.0

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	df.	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	2873.06	1	2873.06	240.41	0.0
Residual	2497.70	209	11.95		
Total (Corr.)	5370.76	210			

R-squared = 53.50 percent Mean absolute error = 2.78

Standard Error of Est. = 3.45 Durbin-Watson statistic = 1.76

ตารางที่ 17 แสดงค่าการวิเคราะห์ multiple regression analysis และ ANOVA ของ maker RM144 กับลักษณะต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง

Parameter	Estimate	Standard Error	T-Statistic	P-Value
CONSTANT	-4.05	0.64	-6.31	0.0
RM144	5.49	0.31	17.43	0.0

Analysis of Variance

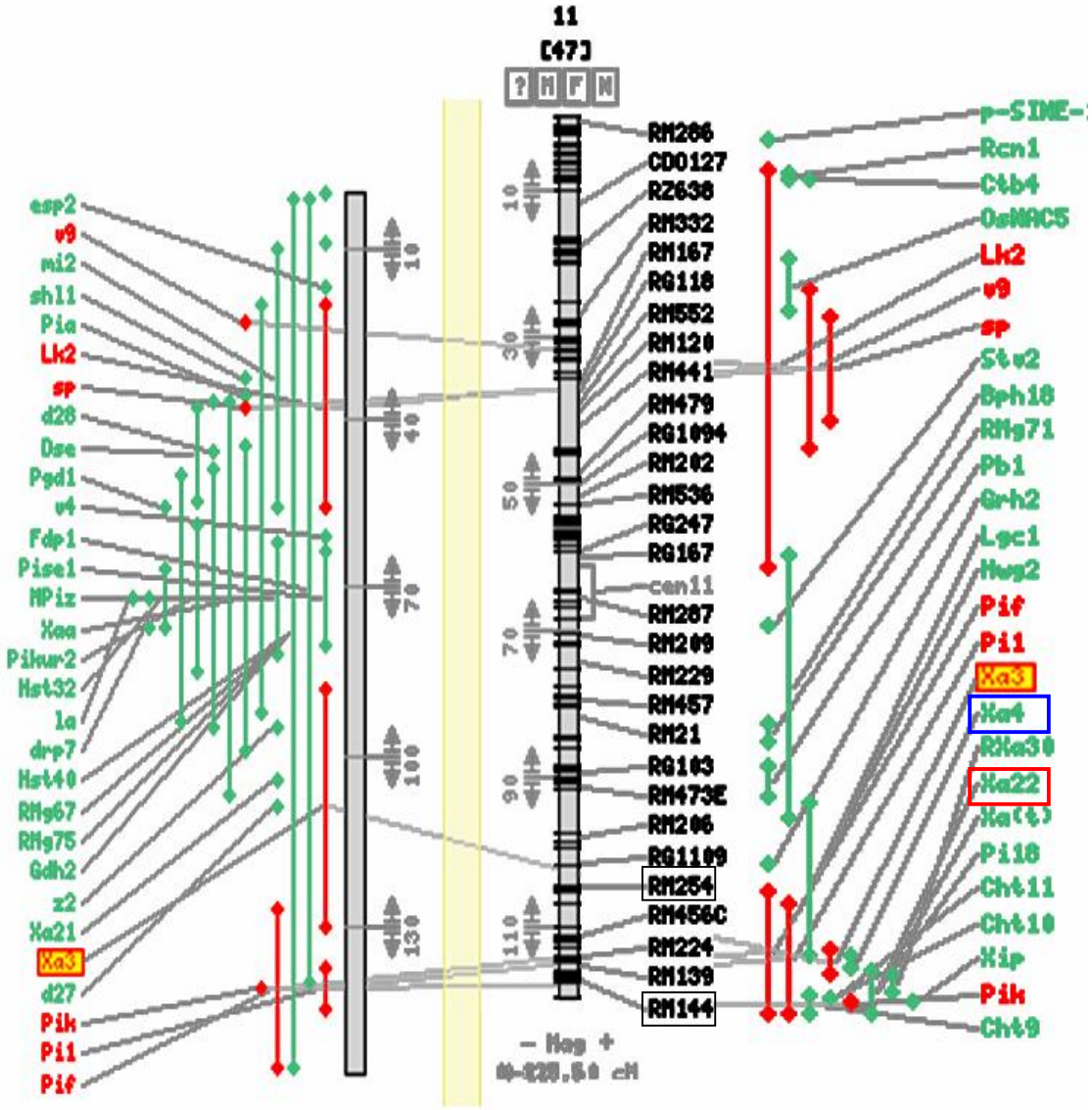
Source	Sum of Squares	df.	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Model	3113.75	1	3113.75	303.90	0.0
Residual	2018.46	197	10.24		
Total (Corr.)	5132.21	198			

R-squared = 60.67 percent Mean absolute error = 2.55

Standard Error of Est. = 3.20 Durbin-Watson statistic = 1.81

เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ RM254 และ RM144 ที่วางตัวอยู่ใกล้กับยีนต้านทาน ที่นอกจากจะใช้เป็นตัวชี้บอกตำแหน่งยีนสำหรับเข้าใกล้ยีนแล้วยังสามารถใช้ในงานด้านการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโดยใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลช่วยคัดเลือกสำหรับเป็นเครื่องมือช่วยในการคัดเลือกพันธุ์อย่างมีประสิทธิภาพ Kennard *et al.* (1994) พบว่าเครื่องหมายโมเลกุลที่วางตำแหน่งใกล้เคียงกับยีนที่ควบคุมลักษณะเชิงคุณภาพอย่างใดอย่างหนึ่ง ที่มีระยะน้อยกว่า 10 cM จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการคัดเลือกได้ดี นอกจากนี้ยังใช้เป็นเครื่องมือในการถ่ายทอดยีนความต้านทานโรคขอบใบแห้งสู่พันธุ์ข้าว กข.6 ที่ต้านทานโรคไหม้เพื่อนำไปสู่พันธุ์ข้าวกข.6 ที่สามารถต้านทานได้ทั้งโรคไหม้และขอบใบแห้งในอนาคตต่อไป

การปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งที่ผ่านมานั้นประสบปัญหาเนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคสามารถปรับตัวเข้าทำลายพันธุ์ข้าวที่ได้รับการปรับปรุงในเวลาไม่นาน (ทัศนีย์, 2540) ดังนั้นการศึกษาเพื่อทำความเข้าใจต่อสาเหตุของความแปรปรวนและความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรเชื้อและการศึกษายีนต้านทานต่อสายพันธุ์ใหม่ของเชื้อในข้าวสายพันธุ์ต่างๆ เพิ่มเติม จึงนับว่ามีความสำคัญซึ่งจะทำให้การปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานโรคขอบใบแห้งประสบความสำเร็จ และพันธุ์ที่ได้รับการปรับปรุงมีความต้านทานที่คงอยู่ได้ยาวนาน อันจะทำให้การผลิตข้าวของไทยมีความยั่งยืนในอนาคต



ภาพที่ 21 แผนภาพแสดงตำแหน่งของโมเลกุลเครื่องหมายดีเอ็นเอและยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งที่มีรายงานบนโครโมโซมที่ 11

ที่มา: ดัดแปลงจาก Website http://www.gramene.org/db/cmap/map_details? ref และ http://www.gramene.org/db/cmap/viewer?ref_map_set_ace=cou2001a;ref_map_accs =cou2001

สรุป

1. สามารถรวบรวมและจำแนกเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งได้จำนวน 150 ไอโซเลท จากพื้นที่ 19 จังหวัดใน 3 ภูมิภาคคือ ภาคเหนือจำนวน 50 ไอโซเลท ภาคกลางจำนวน 22 ไอโซเลทและภาคตะวันออกเฉียงเหนือจำนวน 78 ไอโซเลท

2. จากจากการจัดกลุ่มของเชื้อสาเหตุโรคจำนวน 90 ไอโซเลทพบว่าสามารถแบ่งกลุ่มเชื้อได้ 25 กลุ่มตามปฏิกิริยาสัมพันธ์ของยีนต้านทานต่อกลุ่มเชื้อ

3. ยีนต้านทาน *xa5* มีความต้านทานต่อกลุ่มเชื้อกว้างขวางที่สุด ตามด้วยยีน *Xa4*, *Xa7* และ *Xa21* ตามลำดับ ซึ่งทั้งสี่ยีนมีค่าดัชนีความต้านทานเท่ากับ100.0, 65.6, 66.7, 44.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

4. จากการทดสอบพันธุ์ข้าวพื้นเมืองจำนวน 182 สายพันธุ์ พบว่ามีข้าวพื้นเมืองจำนวน 13 สายพันธุ์ที่มีค่าดัชนีความต้านทานโรคขอบใบแห้งมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ คือระหว่าง 53.8 ถึง 83.3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งข้าวทั้ง 13 สายพันธุ์ประกอบด้วย ข้าวเสมอใจ ข้าวเก้ารวง 88 ข้าวน้ำสะกุย 19 ข้าว กข.6 (เมล็ดยาว) ข้าวบือเปรอมือ ข้าวดอกพะยอม ข้าวเบือนอมู ข้าวนาปรัง ข้าวยากู่ ข้าวเหลือง 52 ข้าวพวงนาค 16 ข้าวเชียงรุ้ง 502 และ ข้าวเชียงรุ้ง ตามลำดับ

5. ข้าวสายพันธุ์เชียงรุ้ง 502 และ เชียงรุ้งให้ระดับของค่าดัชนีความต้านทานโรคสูงสุดเท่ากับ 83.3 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีระดับความต้านทานใกล้เคียงกับข้าวสายพันธุ์คู่แฝดซึ่งมียีน *Xa4* อันแสดงให้เห็นว่า ข้าวพันธุ์พื้นเมืองดังกล่าวสามารถนำไปใช้เป็นแหล่งของยีนต้านทานในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวได้

6. ความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งของข้าวสายพันธุ์เชียงรุ้ง 502 ในประชากร F_2 ที่ได้จากการผสมระหว่าง เชียงรุ้ง 502 และ RGDU 334-3-11-1-1-179 ควบคุมด้วยยีนเด่น 1 คู่โดยมีการกระจายตัวระหว่าง ต้านทาน : อ่อนแอ เท่ากับ 3 :1

7. เครื่องหมายโมเลกุล RM144 และ RM254 สามารถแยกความแตกต่างระหว่างต้นที่อ่อนแอ และ ต้านทานได้ในประชากร F_2

8. การวิเคราะห์ Multiple regression และ ANOVA ในประชากร F_2 ชี้ให้เห็นว่าว่า RM254 และ RM144 ที่มีตำแหน่งที่ 110.0 และ 123.20 cM ตามลำดับบนโครโมโซมที่ 11 มีความสัมพันธ์กับยีนต้านทานในข้าวเชียงรุ้ง 502 อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

9. ยีนต้านทานในข้าวเชียงรุ้ง 502 อยู่ใกล้กับยีนต้านทาน *Xa3, Xa4, Xa(t)* และ *Xa22* ที่ได้มีการรายงานแล้ว

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กาญจนา กล้าแข็ง. 2544. **การตรวจหาเครื่องหมายโมเลกุลที่ใช้บ่งชี้ลักษณะต้านทานโรคขอบใบแห้งของข้าวด้วยวิธีเอเอฟแอลพี** (AFLP) **ของพันธุ์ข้าว** Near Isogenics Lines. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอก, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จำรัส โปร่งศิริวัฒนา. 2534. **ความรู้เรื่อง ข้าว.** สถาบันวิจัยข้าว, กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ฉวีวรรณ วุฒิญาโณ และมานิตย์ ใจฉกรรจ์. 2543. การจัดทำฐานข้อมูลพันธุ์ข้าว, น. 74-95. ใน **การประชุมสัมมนาเชิงปฏิบัติการเรื่องการจัดทำฐานข้อมูลพันธุ์ข้าว**กรมวิชาการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

ชาตรี สิทธิกุล. 2540. **โรคของพืชไร่.** ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 240

ทัศนีย์ สงวนสัจ. 2540. **บทบาทของพันธุกรรมต้านทานโรคและแมลงกับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวไทย.** เอกสารวิชาการประจำปี 2540. ศูนย์ข้าวพิษณุโลก สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ธีรยุทธ ตู้จินดา. 2544. Genome mapping. เอกสารการสอนวิชาชีวโมเลกุลในการปรับปรุงพันธุ์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อำเภอกำแพงแสน, นครปฐม. (อัดสำเนา)

ปรีชา ขัมพานนท์ และสงกรานต์ จิตรากร. 2527. **เอกสารประกอบการสัมมนาทางวิชาการ. เรื่องแหล่งพันธุกรรมทางพืชแห่งชาติ.** ครั้งที่2. กรมวิชาการเกษตร. (อัดสำเนา)

ภมร ปัตตาวะตัง. 2548. **การศึกษาตำแหน่งของยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งในข้าว.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

วิชา ธิติประเสริฐ. 2543. **โครงการจัดทำระบบฐานข้อมูลพันธุ์พืช** กรมวิชาการเกษตร ภายใต้โครงการอนุรักษ์ พัฒนาพืชสมุนไพร พืชพื้นเมืองและจุลลินทรีย์, น. 8-16 *ใน* การประชุมสัมมนาเชิงปฏิบัติการเรื่องการจัดทำฐานข้อมูลพันธุ์ข้าว กรมวิชาการเกษตร. กรมวิชาการเกษตร

วิชา ธิติประเสริฐและคณะ. 2544. **ฐานข้อมูลเชื้อพันธุ์พืช: ข้าว.** สถาบันวิจัยข้าวและสำนักคุ้มครองพันธุ์พืชแห่งชาติ กรมวิชาการเกษตร ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ 682 หน้า.

สงกรานต์ จิตรากร. 2544. ข้าวกับวิถีชีวิตคนไทย, น. 12–27. ใน. **วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีกับข้าวไทย,** ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ, สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ปทุมธานี.

สุกรานต์ โรจนไพรวงศ์. 2547. **พันธุกรรมท้องถิ่นกับเกษตรกรรมยั่งยืน,** คณะกรรมการจัดงานมหกรรมเกษตรกรรมยั่งยืน สำนักงานเลขานุการ, นนทบุรี

สงกรานต์ จิตรากร. 2548. เชื้อพันธุ์ข้าว. **วารสารพืชปลูกพื้นเมืองไทย** 1(2): 43-47.

สมคิด ดิสถาพร. 2532. **ชาวนาปราบโรคข้าว.** กลุ่มงานวิจัยโรคข้าวและธัญพืชเมืองหนาว กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สมหญิง อภิญญพานิชย์. 2526. **การศึกษาพืชอาศัยของเชื้อ** *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* **ที่ก่อให้เกิดโรคขอบใบแห้งของข้าวและการป้องกันกำจัดโดยสารเคมี.** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.

สถาบันวิจัยข้าว. 2533. **เอกสารแนะนำข้าวและธัญพืชเมืองหนาวพันธุ์ดี 59 พันธุ์.** กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2545. **จีโนมและเครื่องหมายดีเอ็นเอ: ปฏิบัติการอาร์เอพีดีและเอเอฟแอลพี.** สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุรีพร เกตุงาม. 2546. เครื่องหมายดีเอ็นเอในงานปรับปรุงพันธุ์พืช : DNA Markers in Plant Breeding. **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี** 5(2):37-54.

หยาดฝน ธัญโชติกานต์. 2546. **ข้าวอินทรีย์ข้าวที่ดีต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อม,** มูลนิธิสายใยแผ่นดิน, บริษัท อมรินทร์ บุ๊คเซนเตอร์ จำกัด กรุงเทพฯ.

อรรัตน์ มงคลพร. 2548. **เครื่องหมายโมเลกุลเพื่อการปรับปรุงพันธุ์.** ภาควิชาพืชสวน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อำเภอกำแพงแสน, นครปฐม.

อภิชาต วรรณวิจิตร. 2544. **คู่มือการสอนวิชา003579ชีวโมเลกุลในการปรับปรุงพันธุ์** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อำเภอกำแพงแสน, นครปฐม. (อัดสำเนา)

อภิชาต วรรณวิจิตร. 2544. การค้นหายีนทั้งหมดในข้าวไทย, น. 133–146. ใน. **วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีกับข้าวไทย,** ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ, สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ปทุมธานี.

Abenes, M.L.P., E.R. Angeles, G.S. Khush and N. Huang. 2000. Selection of bacterial blight resistant rice plants in the F_2 generation via their linkage to molecular markers. Available: http://genome.cornell.edu/rice/documents/ newsletters/*rgn10/vxv33.htm*, July 16, 2000.

Adhikari, T.B., T.W. Mew. and P.S. Teng. 1994. Phenotypic diversity of *Xanthomonas Oryzae* pv. *oryzae* in Nepal. Plant Dis. 78: 68- 72.

Adhiraki, T. B., Vera Cruz, C. M., Zhang, Q., Nelson, R. J., Skinner, D. Z., Mew, T. W., and Leach, J. E. 1995. Genetic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Asia. Appl. Environ. Microbiol. 61(3): 966-971.

Adhikari, T.B., T.W. and P.S. Teng. 1996. Progress of bacterial blight on rice cultivars carrying different *Xa* genes for resistance in the field. Plant Dis. 78: 73- 77.

Adhikari, T.B. and R.C. Basnyat. 1999. Virulence of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* on rice lines containing single resistance genes and gene combinations. Plant Dis. 83: 46- 50.

Adhikari, T.B., R.C. Basnyat., C. Ram., A. Shrestha and T.W. Mew. 1999. Use of partial host resistance in the management of bacterial blight of rice. Plant Dis. 83: 896 - 901.

Ansari, M.M. and R. Sridhar. 2001. Iron nutrition and virulence in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryza*. Indian Phytopath 54(3): 279 - 283.

Blair, M.W. and S.R. McCouch. 1997. Microsatellite and sequence tagged site markers diagnostic for the rice bacterial leaf blight resistance gene *Xa 5*. Theor. Appl. Genet. 252: 597 - 607.

Brown, S.M., Szewc-McFadden, A.K., and Kresovish, S. 1996. Development and application of simple sequence repeat (SSR) loci for plant genome analysis. *In.* Methods of plant genome analysis: Their merits and pitfalls. Jauhar, P.P. (ed.). CRS Press, Boca raton, FL. U.S.A. pp. 147-159.

Chang, T.T. 1976. The origin, evolution , cultivation, dissemination and diversification of Asian and African rice. Euphytica 25: 435 - 441.

Chen, S., X.H. Lin., C.G. Xu. and Q. Zhang. 2000. Improving of bacterial blight resistance of "Minghui63, an elite restorer line of hybrid rice, by molecular marker assisted selection. Crop Sci. 40: 239 - 244.

Davierwla , A.P., A.P.K.Reddy, M.D.Lagu, P.K.Ranjekar and V.S. Gupta.2001. Marker assited selection of bacterial blight resistance gene in rice. Biochem. Genet. 39(7/8):261-278.

Eamchit, S. and T. W. Mew. 1982. Comparison of virulence of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryza.* in Thailand and Philippines. Plant Dis. 66: 556-559

Exconde, O.R., O.S. Opina. and S.A. Phanom. 1971. Yield losses due to bacterial leaf blight. Philipp. Agric. 57: 120- 140.

Ezuka, A., 0. Horino, K. Toriyama, H. Shinoda and T. Morinaka, 1975. Inheritance of resistance of rice variety Wase Akikoku 3 to Xanthomonas oryzae. Bull. Tokai-Kinki Nat. Agric. Exp. Stn. 28: 124-130.

Feng, T.Y. and T.T. Ku. 1975. Bacterial leaf blight of rice plant. VI. Chemotactic responses of *Xanthomonas oryzae* to water pores on the leaf of rice plant. Bot. Bull. Acad. Sin. 16: 126 - 136.

Flor, H.H. 1971. Current status of the gene-for -gene concept. Annu.Rev. Phythopatol. 9: 275-296.

George, M. L. C., Bustaman, M., Cruz, W. T. Leach, J. E., and Nelson, R. J. 1996. Movement of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Southeast Asia detected using PCR-Based DNA fingerprinting. Phytopathology 87: 302-309.

Goto, M. 1962. Studies on Citrus Canker I. (in Japanese, English summary). Bull. Fac. Agric. Shizuoka Univ. 12: 3 - 72.

Gu, K., Yang, B., Tian, D., Wu, L., Wang, D., Sreekala, C., Yang, F., Chu, Z., Wang, G.L., White, F.F., Yin, Z. 2005. *R* gene expression induced by a type – III effect or triggers disease resistance in rice. Nature 435:1122-1125.

Horino, O. 1978. Distribution of pathogenic strains of *Xanthomonas oryzae* Dowson in Japan in 1973 and 1975. Ann. Phytopathol. Soc. Jpn. 44: 297- 304.

Howard, R.J. 1994. Cell Biology of pathogenesis , pp. 3-22. *In:* Zeigler, R. S., Leong, S.A., and Teng, P.S. (eds). Rice Blast Disease. CAB International/IRRI, Wallingford, UK.

Huang, N., E.R. Angels., J. Domingo., G. Magpantay., S. Singh., G. Zhang., N. Kumar., B.J. Vadivel. and G.S. Khush. 1997. Pyramiding of bacterial blight resistance genes in rice: marker- assisted selection using RFLP and PCR. **Theor. Appl. Genet**. 95: 313 - 320.

Hittamani, S., Parco, A., Mew, T.V., Zeigler, R.S and Huang. 2000. Fine mapping and DNA marker assited pyramiding of the major genes for blast resistance in rice. **Theor. Appl. Genet**.100.1121-1128.

IRRI-International Rice Research Institute. 1965. **Annual report for 1965**. Manila, Philippines.

IRRI-International Rice Research Institute . 1980. **Standard Evaluation System for Rice**. International Rice Research Institute. Manila, Philippines.

Iyer, A.S. and S.R. McCouch.2004. The rice bacterial blight resistnce gene *xa5* encode a novel form of disease resistance. **The Am. Phytopatol. Soc**. 17(12):1348-1354.

Jena, K.K, J.U.Jeung, T.H.Noh, S. Heu, J.P.Suh, K.Y. Kim, M.S.SHIN, M.Y. Reveche, A.Pamplona, C.M. Vera Cruze, Y.M. Kim and D.S. Brar. 2007. Molecular breeding for bacterial blight resistance in japonica rice. **The 2nd International Conferrence on Bacterial Blight of Rice,** October 1-3, 2007, Nanjing, China. pp. 77-82.

Jataboon, J., M. Siangliw, C. Wongsaprom, T. Toojinda and A. Vanavichit. 2004. Discovery of New Bacterial Blight Resistance Genes in Backcross Introgressed Lines of KDML105. **The 1st International Conferrence on Rice for the future**, 31 August – 3 September, 2004, Kasetsart Univ. Bangkok. pp 118.

Kang, S.,Mullins, E., Dezwaan, T.M., and Orbach, M.J. 2000. Pathogenesis and genome organization of the rice blast fungus, pp. 195-235. *In* **Fungal Patholoty**, Kluwer Acadamic publishers.

Kameswara, R.K., M. Lakshminarasu. and K.K. Jena. 2002. DNA markers and marker-assisted breeding for durable resistance to bacterial blight disease in rice. Biotechnology Advances. **Elsevier Sci**. 20: 33 - 47.

Kawamura, E. and Ono, K. 1948. Studies on the ralation between the preinfection behaviour of rice blast fungus, *Pyricularia oryzae*, and water droplets on rice plant leaves. **Bull. Nat.Agri. Exp. Stn.** 4: 1-12.

Kauffman, H.E., A.P.K. Reddy., S.P.Y. Hsieh. and S.D. Merca. 1973. An improved technique for evaluation of resistance of rice varieties to *Xanthomonas oryzae*. **Plant Disease Rep.** 57: 537 - 541.

Kennard, W.C.., K.Poetter, A. Dijkhuizen, V. Meglie, J. Staub and M. Havey. 1994. Linkages among RFLP, RAPD, isozyme, disease resistance and morphological marker inarrow and wild crosses of cucumber. **Theor. Appl. Genet**. 89:42-48.

Khush, G.S., D.J. MacKill., G.S. Sidhu. 1989. Breeding rice for resistance to bacterial blight. In : Baterial blight of rice, Proc. In. **Worshop Bacterial Blight Rice**. IRRI. Manila. The Philippines.

Khush, G.S., E. Bacalangco. and T. Ogawa. 1990. A new gene for resistance to bacterial blight from *O. longistaminata*. **Rice Genet. Newsl**. 67: 121 - 122.

Kiyosawa, S and I., Ando. 1990. Blast resistance, pp. 361-385. *In* **Science of the Rice Plant**. Vol. 3. Genetics. (In Japanese.) T. Matsuo, ed. Nosan-gyoson Bunka Kyokai, Tokyo.

Khush, G.S. and T. Kinoshita. 1991. Rice karotype, marker gene and linkage groups. pp. 83-108. *In* Khush, G.S., G.H. Toenniessen. (eds). **Rice Biotechnology**. CAB Int. Wallingford, UK.

Khush, G.S. and G.H. Toenniessen. 1991. **Rice Biotechnology**. CAB International. Biotechnology in Agriculture. No. 6: 320.

Kinoshita, T. 1995. Report of committee on gene symbolization, nomenclature and linkage groups. **Rice Genet. Newsl.** 12: 9 - 153.

Kochert, G. 1994. RFLP technology, pp. 8-38. *In.* **DNA-based markers in plants**. Phillips, T.L. and Vasil, I.K. (eds.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. The Netherlands

Kosawang, C. 2005. **Genetic Diversity of Bacterial Leaf Blight Pathogen in the Northern Using Near-Isogenic Lines, Insert-Sequence and AFLP Makers**. Master degree thesis. Chiangmai Univ.

Lande, R. and Thomson.1990. Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. **Genetics**.124:743-756.

Lee, K.S, S.Rasabandith, E.R. Anggeles and G.S. Khush. 2007. Inheritance of resistance to bacterial blight in 21 cultivars of rice (*O.sativa* L.) **The 2nd International Conferrence on Bacterial Blight of Rice,** October 1-3, 2007, Nanjing, China. pp. 84.

Librojo, V., H.E. Kauffman and G.S. Khush. 1976. Genetics analysis of bacterial blight resistance in four varieties of rice. **SABROA. J**. 8:105-110.

Lin, X.H., D.P.Zhang,Y.F.Xie, H.P.Gao and Q.Zhang.1996. Indentifying and mapping a new gene for baceterial blight resistance in rice based on RFLP markers. **Phytopatho**.86:1156-1159.

Lwin, T. 2006. **Pathogenicity diversity of *Xanthomonas campestris* pv. *Oryzae* from major rice growing divions of Myanmar and resistance of indigenous rice germplams to bacterial blight**. Ph.D degree thesis. Institute of agriculture, Yezin, Pyinmana.

Mew, T.W., I.C. Mew and J.S. Huang. 1984. Scanning electron microscope of virulent and avirulent strains of *Xanthomonas campestris* pv. *Oryzae* on rice leaves. **Phytopathol**. 74: 635 - 641.

Mew, T.W. 1989. An overview of the world bacterial blight situation, pp. 7 - 12. *In* **Proceedings of the International Workshop on Bacterial Blight of Rice**, March 14 - 18, 1988. The International Rice Research Institute. Manila, Philippines.

Mew, T.W., R.C. Reyes. and C.M.V. Cruz. 1989. Screening for bacterial blight resistance in rice, p. 338- 341. *In* Klement, Z., K. Rudolph. and D.C. Sands. eds. **Methods in Phytobacteriology**. Akademiai, Kiado, Bu-dapest.

Mizukami, T. and S. Wakimoto. 1969. Epidemiology and control of bacterial leaf blight of rice. **Ann. Rev. Phytopathol**. 7: 51 - 72.

Matsuyama, N. 1975. The effect of ample nitrogen fertilizer on cell wall material and its sinificnace to rice blast disease. **Ann. Phytopatho.Soc. Jap**. 41: 56-61.

McCouch, S. and Tankslay, S.D. 1991. Development and use of restriction fragment length polymorphisms in rice breeding and genetic. pp. 109-133. *In*. Khush, G.S. and Toenniessen, G.H. eds. **Rice Biotechnology**. CAB International. Wallingford. Oxon. UK.

Mehrotra, R.S. and Aggrarwal, A. 2003. **Plant Pathology: Blast Disease of Rice**. 2ed. Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited. New Delhi India.

Michelmore, R.W., I. Paran and R.V. Kesseli. 1991. Identification of markers linked to disease resistance genes by bulk segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genome regions by using segregating populations. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**. 88: 9828-9832.

Myint, S. 2008. **Reaction of ten rice varieties to five races of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*** . Post-graduate Diploma degree thesis. Yezin Agriculture Univ.

Narayanna, N.N., N.Baisakh, C.M. Vera Cruz, S.S.Gnanamanickam, K.Datta and S.K.Datta. 2002. Molecular breeding for the development of blast and bacterial blight resistance in rice cv. IR50. **Crop Sci**. 42: 2072-2079.

Noenplap, A., A.Vanavichit., T. Toojinda., P, Sirithunya. S. Tragoonrung., S, Sriprakhon and C. Wongsaprom. 2006. QTL Mapping for Leaf and Neck Blast Resistance in Khao Dawk Mali 105 and Jao Hom Nin Recombinant inbred Lines. **Sci. Asia** 32: 133-142.

Ogawa, T. and T. Yamamoto, 1986. Inheritance of resistance of bacterial blight in rice. *In*. **Rice Genetics**. pp. 471-479. IRRI, Manila

Ogawa, T. and G.S Khush, 1989. Major genes for resistance to bacterial blight in rice. *In*. **Bacterial Blight of Rice** .pp. 177-192. IRRI, Los Banos, Phillippines.

Ona, I. and C.M.V. Cruz. 1998. Epidemic Development of Bacterial Blight on Rice Carrying Resistance Genes *Xa4, Xa7,* and *Xa10*. **Plant Dis.** 82: 1337 - 1340.

Ou, S.H., F.L. Nuque. and J.P. Silva. 1971. Varietal Resistance to Bacterial Blight of Rice. **Plant Dis**. 55: 17 - 21.

Ou, S.H. 1976. **Rice Disease**. Common wealth Mycological Institute. Ferry Lane, UK.

Rahman, M.M., M.H. Khan and M. Nasiruddin. 1991. Kresek in mature rice plants. **International Rice Res. News**. 16: 21 - 22.

Rao, K.K., M.Lakshminarasu and K.K.Jena. 2002. Research Review Paper, DNA Markers and Marker-Assited Selection Breeding for Durable Resistance to Bacterial Blight Disease in Rice. **Biotech. Advances**. 20: 33-47

Reddy, A.P and H.E. Kaufman. 1973, Multiplication and movement of. *Xanthomonas Oryzae* in susceptible and resistat host. **Plant Dis**.57: 784-787.

Reddy, J.N., M.R. Baraoidan, M.A. Bernardo, M.L.C. George and R. Sridhar. 1997. Application of marker-assisted selection in rice for bacterial blight resistance gene, *Xa21.* **Current Sci.** 73: 873 - 875.

Rohlf, F. J. and L. F. Marcus. 1993. A revolution in morphometrics. **Trends in Ecology and Evolution**, 8:129-132.

Ronald, P.C., B. Albano, R. Tabien, L. Abenes, K. Wu, S.R. McCouch and S.D. Tanksley. 1992. Genetic and physical analysis of the bacterial blight disease resistance locus, *Xa21*. **Mol. Gen. Genet**. 236: 113 - 120.

Ronald, P.C. 1997. Molecular basis of disease resistance. **Plant Mol. Biol**. 35: 179 -186.

Sakaguchi, S., 1967. Linkage studies on the resistance to bacterial leaf blight, *Xanthomonas oryzae* (Uyeda et Ishiyama) Dawson in rice. **Bull. Nat. Inst. Agric. Sci., Jpn., Ser**. D 16: 1-18.

Sanchez, A.C., L.L. Hog, D. Yang, D.S. Brar, F. Ausubel, G.S. Khush, M. Yano, T. Sasaki and N. Huang. 1999. Genetic and physical mapping of *Xa13*, a recessive bacterial blight resistance gene in rice. **Theor. Appl. Genet**. 98: 621 - 632.

Sanchez, A.C., B. Fu, D. Yang, G.S. Khush and Z. Li. 2000. **Isolation and sequence analysis of candidate cDNA clones for the Xa-5 gene in rice**. International Congress on Plant Molecular Biology (ICPMB) June: 18 - 24, at Quebec, Abstracts published by ICPMB, Canada.

Scortichini, M., M.P.Rossi and U. Marchesi. 2002. Genetic, phenotype and pathogenic diversity of *Xathomonas arboricola* pv. *corylina* strains question the representative nature of the type strain. **Plant Dis**. 51: 374-381.

Seedcenter, 2008. **ข้าวเหนียว พันธุ์ กข.6.** แหล่งที่มา:http://seedcenter15.doae.go.th/LibraRiceSeeds/ricevar/RiceVariety/RiceVar-06.28,html, 10 มีนาคม 2551.

Shanti, M.L., M.L.C. George., C.M.V. Cruz., M.A. Bernardo., R.J. Nelson., H. Leung., J.N. Reddy. and R. Sridhar. 2001. Identification of resistance genes effective against rice bacterial blight pathogen in eastern India. **Plant Dis.** 85: 506 - 512.

Sidhu, G.S. and G.S. Khush. 1978. Dominance reversal of a bacterial blight resistance gene in some rice cultivars**. Phytopathol**. 68: 461 - 463.

Singh, R. J., G. S. Khush and T. W. Mew, 1983. A new gene for resistance to bacterial blight in rice. **Crop Sci.** 23: 558-560.

Singh, S., J.S. Sidhu., N. Huang., Y. Vikal., Z. Li., D.S. Brar., H.S. Dhaliwal. and G.S. Khush. 2001. Pyramiding three bacterial blight resistance genes (*xa5, xa13* and *Xa21*) using marker-assisted selection into indica rice cultivar PR106. **Theor. Appl. Genet**. 102: 1011 - 1015.

Singh, K., Y.Vikul, R. Mahajan, K.K. Cheema, D. Bhatia, R. Sharma, J.S. Lore and T.S. Bharaj. 2007. Three novel bacterial blight resistance genes identified, Mapped and transfer to cultivated rice *O. sativa* L. **The 2nd International Conferrence on Bacterial Blight of Rice,** October 1-3, 2007, Nanjing, China. pp. 82-84.

Sirithunya, P., Tragoonrung, S., Vanavichit, A., Pa-In, N., Vongsaprom, C., and Toojinda, T. 2002. Quantitative Trait Loci Associated with Leaf and Neck Blast Resistance in Recombinant Inbred Line Population in rice (*Oryza Sativa* L.). **DNA. Res**. 9: 79-88.

Song, W.Y., G.G. Wang., L.L. Chen., H.S. Kim., L.Y. Pi., T. Holsten., J. Gardner, B. Wang., W.X. Zhai., L.H. Zhu., C. Fauquet. and P.C. Ronald. 1995. A receptor kinase- like protein encoded by the rice disease resistance gene, *Xa21*. **Science**. 270: 1804 - 1806.

Sun, X.Y. Cao, Z. Yang, C. Xu, X. Li, S. Wang and Q. Zhang. 2004. *Xa26*, a gene resistance to *Xathomonas oryzae* pv. *oryzae* in Rice, Encodes an LRR Receptor Kinase-Like Protien. **Plant J**. 37: 517-527.

Swings, J., M.V. Mooter., L. Vauterin., B. Hoste., M. Gillis., T.W. Mew. and K. Kersters. 1990. Reclassification of the causal agents of bacterial blight of rice (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) and bacterial leaf streak (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzicola*) of rice as pathovars of *Xanthomonas oryzae* (ex. Ishiyama 1992). **Sp. Nov. Nom. Rev. Int. J. Syst. Bacteriol.** 40: 30 – 311.

Tabei, H. 1977. Anatomical studies of rice plant affected with bacterial leaf blight, *Xanthomonas oryzae* (Uyeda et Ishiyama Dowson). **Bull. Kyushu Agric. Exp. Stn**. 19: 193 - 257.

Tika, B.A., T.W. Mew and J.E. Leach. 1999. Genotypic and pathotypic diversity in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Nepal. **Phytopathology** 89: 687-694.

Ting, Y. 1933. The wild rice of Guangton and a new variety of cultivated rice obtained from crossing. **Agronomy Bull Zhongshan Univ**. 3: 2 - 15.

Tojinda, T. L.H. Broers, X. M. Chen, P. M. Hayes, A. Kleinhofs, J. Korte, D. Kudrna, H. Leung, R. F. Line, W. Powell, L. Ramsay, H. Vivar, R. Waugh.2000. Mapping quantitative and qualitative disease resistance genes in a doubled haploid population of barley (*Hordeum vulgare*) **Theor. Appl. Genet**. 2000. 101: 580-589

Vera Cruz, C.M. and Mew, T.W. 1989. How variable is *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*. pp. 153-166 *In* **Bacterial Blight of Rice**. International Rice Research Institute, LosBanos, Philippines

Vos, P., R. Hogers, M. Blceker., M. Reijans., T.V.D. Lee., M. Hornes., A. Frijters., J. Pot., J. Peleman., M. Kuiper. and M. Zabeau. 1995. AFLP: A new technique for DNA fingerprinting. **Nucleic Acids Res**. 23: 4407 - 4414.

Wang, G.L., W.Y. Song., D.L. Ruan., S. Sideris. and P.C. Ronald. 1996. The cloned gene, *Xa21*, confers resistance to multiple *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* isolates in transgenic plants. **Mol. Plant-Microbe Interact** 9: 850 - 855.

Wang, W., W. Zhai., M. Luo., G. Jiang., X. Chen., X. Li., R.A. Wing., L. Zhu. 2001. Chromosome landing at the bacterial blight resistance gene *Xa4* locus using a deep coverage rice BAC library. **Mol. Genet. Genomics**. 265: 118 - 125.

Wongsaprom, C. 2009. **Mapping of quantitative trait loci (QTL) associated with broard spectram resistance and development of backcross introgressed of RD6 carrying the QTL through maker assisted selection**. Master degree thesis. Kasetsart Univ.

Wu, S. Z., X. M. Xu, J. M. Liu. T.W. Mew and C.M. Veracruz. 1985. Comparation of virulence of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in South China and the Philippines. **Acta Phytopathol. Sin.** 15(2): 65-72.

Yoshimura, A., T. W. Mew, G. S. Khush and T. Omura, 1983. Inheritance of resistance to bacterial blight in rice cultivar Cas 209. **Phytopathol.** 73: 1409-1412.

Yashitola, J., A.P.K. Reddy. and R.V. Sonti. 2000. A Widely Distributed Lineage of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in India may have come from native wild rice. **Plant Dis**. 84: 465 - 469.

Yoshimura, S., R. Nelson., A. Yoshimura. 1992. RFLP mapping of the bacterial blight resistance genes *Xa3* and *Xa4*. **Rice Genet. News**. 9: 136 – 138.

Yoshimura, S., A. Yoshimura., N. Iwata., S.R. McCouch., M.L. Abenes., M.R. Baraoidan., T.W. Mew. and R.J. Nelson. 1995. Tagging and combining bacterial blight resistance genes in rice using RAPD and RFLP markers. **Mol. Breed**. 1: 375 – 387.

Yoshita, J., Krishnaveni, D., Reddy, A. P. K., and Sonti, R. V. 1997. Genetic diversity within the population of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in India. **Phytopatho**. 87: 760-765.

Yoshimura, S., U. Yamanouchi, Y. Katayose, S. Toki, Z.X. Wang, I. kono, N.kurata, M. Yono, N. Iwata and T. Sasaki. 1998. Expression of Xa1, a Bacterial Blight Resistance Gene in Rice, is Induced by Bacterial Inoculation. **Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A**. 95: 1663-1668.

Zhang, G., E.R. Angeles., M.L.P. Abenes., G.S. Khush. and N. Huang. 1996. RAPD and RFLP mapping of the bacterial blight resistance gene *Xa-13* in rice. **Theor. Appl. Genet**. 93: 65 – 70.

Zeigler, R. S. 1998. Recombination in *Magnaporthe grisea*. **Annu. Rev. Phytopathol**. 36: 249-275.

ภาคผนวก

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดลอง

Peptone Sucrose Agar (PSA)

Peptone	5.0	กรัม
Sucrose	20.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม

Nutrient glucose agar (NGA)

Beef extract	3.0	กรัม
Bacto peptone	5.0	กรัม
Glucose	2.5	กรัม
Agar	15.0	กรัม

Nutrient glucose broth (NGB)

Beef extract	3.0	กรัม
Bacto peptone	5.0	กรัม
Glucose	2.5	กรัม

Nutrient broth (NB)

Beef extract	3.0	กรัม
Bacto peptone	5.0	กรัม

สูตรอาหารเตรียม ในอัตราน้ำ 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ตารางผนวกที่ 1 แสดงข้อมูลของเชื้อแบคทีเรียโรคขอบใบแห้งจำนวน 150 ไอโซเลท

No.	Code	สถานที่	จังหวัด	พันธุ์ข้าว	หมายเหตุ
1	TB7536		ลำปาง	-	กรมการข้าว
2	TB8104		พิจิตร	-	กรมการข้าว
3	TB8213		เพชรบูรณ์	-	กรมการข้าว
4	TB0303		พะเยา	-	กรมการข้าว
5	TB0304		เชียงราย	-	กรมการข้าว
6	TB0096		พิษณุโลก	-	กรมการข้าว
7	TB9602		เชียงใหม่	-	กรมการข้าว
8	TB9603		แพร่	-	กรมการข้าว
9	TXO1	ม.เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน	นครปฐม	line 33-1-1-37	ม.เชียงใหม่
10	TXO2	ม.เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน	นครปฐม	line 33-1-1-37	ม.เชียงใหม่
11	TXO3	ม.เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน	นครปฐม	line 331-1-1	ม.เชียงใหม่
12	TXO4	ม.เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน	นครปฐม	line 331-1-1	ม.เชียงใหม่
13	TXO5	ม.เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน	นครปฐม	line 9-3-3-1	ม.เชียงใหม่
14	TXO6	ม.เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน	นครปฐม	line 9-3-3-1	ม.เชียงใหม่
15	TXO7	ม.เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน	นครปฐม	กข.6	ม.เชียงใหม่
16	TXO8	ศวข. พิษณุโลก อ.วังทอง จ.พิษณุโลก	พิษณุโลก	ข้าว	ม.เชียงใหม่
17	TXO9	ศวข. พิษณุโลก อ.วังทอง จ.พิษณุโลก	พิษณุโลก	ข้าว	ม.เชียงใหม่
18	TXO10	ม.เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน	นครปฐม	line 4-18-6-2	ม.เชียงใหม่
19	TXO11	ม.เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน	นครปฐม	line 4-18-6-2	ม.เชียงใหม่
20	TXO12	ศวข. พิษณุโลก อ.วังทอง	พิษณุโลก	พิษณุโลก2	ม.เชียงใหม่
21	TXO13	ศวข. พิษณุโลก อ.วังทอง	พิษณุโลก	พิษณุโลก2	ม.เชียงใหม่
22	TXO14	ศวข. พิษณุโลก อ.วังทอง	พิษณุโลก	พิษณุโลก2	ม.เชียงใหม่
23	TXO15	ศวข. พิษณุโลก อ.วังทอง	พิษณุโลก	พิษณุโลก2	ม.เชียงใหม่
24	TXO16	ศวข. พิษณุโลก อ.วังทอง	พิษณุโลก	พิษณุโลก2	ม.เชียงใหม่
25	TXO17	ศวข. พิษณุโลก อ.วังทอง	พิษณุโลก	พิษณุโลก2	ม.เชียงใหม่
26	TXO18	ศวข. พิษณุโลก อ.วังทอง	พิษณุโลก	พิษณุโลก2	ม.เชียงใหม่
27	TXO19	ศวข. พิษณุโลก อ.วังทอง	พิษณุโลก	พิษณุโลก2	ม.เชียงใหม่
28	TXO20	ศวข. พิษณุโลก อ.วังทอง	พิษณุโลก	พิษณุโลก2	ม.เชียงใหม่
29	TXO21	ศวข. พิษณุโลก อ.วังทอง	พิษณุโลก	ขาวดอกมะลิ105	ม.เชียงใหม่
30	TXO22	ศวข. พิษณุโลก อ.วังทอง	พิษณุโลก	ขาวดอกมะลิ105	ม.เชียงใหม่

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

No.	Code	สถานที่	จังหวัด	พันธุ์ข้าว	หมายเหตุ
31	TXO26	บ้านกลางดง ต.กลางดง อ.ทุ่งเสลี่ยม	สุโขทัย	สุพรรณบุรี1	ม.เชียงใหม่
32	TXO27	บ้านกลางดง ต.กลางดง อ.ทุ่งเสลี่ยม	สุโขทัย	สุพรรณบุรี1	ม.เชียงใหม่
33	TXO28	บ้านกลางดง ต.กลางดง อ.ทุ่งเสลี่ยม	สุโขทัย	สุพรรณบุรี1	ม.เชียงใหม่
34	TXO29	บ้านกลางดง ต.กลางดง อ.ทุ่งเสลี่ยม	สุโขทัย	สุพรรณบุรี1	ม.เชียงใหม่
35	TXO30	บ้านกลางดง ต.กลางดง อ.ทุ่งเสลี่ยม	สุโขทัย	สุพรรณบุรี1	ม.เชียงใหม่
36	TXO31	บ้านกลางดง ต.กลางดง อ.ทุ่งเสลี่ยม	สุโขทัย	สุพรรณบุรี1	ม.เชียงใหม่
37	TXO32	บ้านกลางดง ต.กลางดง อ.ทุ่งเสลี่ยม	สุโขทัย	สุพรรณบุรี1	ม.เชียงใหม่
38	TXO33	ศูนย์วิจัยข้าวอุดรธานี	อุดรธานี	กข.6	ม.เชียงใหม่
39	TXO34	ศูนย์วิจัยข้าวอุดรธานี	อุดรธานี	กข.6	ม.เชียงใหม่
40	TXO35	ศูนย์วิจัยข้าวอุดรธานี	อุดรธานี	กข.6	ม.เชียงใหม่
41	TXO36	ศูนย์วิจัยข้าวอุดรธานี	อุดรธานี	กข.6	ม.เชียงใหม่
42	TXO37	บ้านไชยนาม อ.วังทอง	พิษณุโลก	พวงทอง	ม.เชียงใหม่
43	TXO38	บ้านไชยนาม อ.วังทอง	พิษณุโลก	พวงทอง	ม.เชียงใหม่
44	TXO39	ศูนย์วิจัยข้าวชัยนาท	ชัยนาท	-	ม.เชียงใหม่
45	TXO40	บ้านไชยนาม อ.วังทอง จ.พิษณุโลก	พิษณุโลก	พวงทอง	ม.เชียงใหม่
46	TXO41	บ้านไชยนาม อ.วังทอง จ.พิษณุโลก	พิษณุโลก	พวงทอง	ม.เชียงใหม่
47	TXO42	ม.เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน	นครปฐม	-	ม.เชียงใหม่
48	TXO43	ม.เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน	นครปฐม	-	ม.เชียงใหม่
49	TXO44	ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก อ.วังทอง	พิษณุโลก	ชัยนาท1	ม.เชียงใหม่
50	TXO45	ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก อ.วังทอง	พิษณุโลก	ชัยนาท1	ม.เชียงใหม่
51	TXO46	ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก อ.วังทอง	พิษณุโลก	ชัยนาท1	ม.เชียงใหม่
52	TXO48	(ตรงข้าม ศวข.แพร่) อ.ร้องกวาง	แพร่	กข.6	ม.เชียงใหม่
53	TXO49	(ตรงข้าม ศวข.แพร่) อ.ร้องกวาง	แพร่	กข.6	ม.เชียงใหม่
54	TXO50	(ตรงข้าม ศวข.แพร่) อ.ร้องกวาง	แพร่	กข.6	ม.เชียงใหม่
55	TXO51	ศูนย์วิจัยข้าวแพร่ อ.ร้องกวาง	แพร่	ขาวดอกมะลิ105	ม.เชียงใหม่
56	TXO52	ศูนย์วิจัยข้าวแพร่ อ.ร้องกวาง	แพร่	ขาวดอกมะลิ105	ม.เชียงใหม่
57	TXO53	ศูนย์วิจัยข้าวแพร่ อ.ร้องกวาง	แพร่	ขาวดอกมะลิ105	ม.เชียงใหม่
58	TXO54	สถานีอนามัยตำบลครึ่ง อ.เชียงของ	เชียงราย	กข.6	ม.เชียงใหม่
59	TXO55	สถานีอนามัยตำบลครึ่ง อ.เชียงของ	เชียงราย	กข.6	ม.เชียงใหม่
60	TXO56	สถานีอนามัยตำบลครึ่ง อ.เชียงของ	เชียงราย	กข.6	ม.เชียงใหม่

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

No.	Code	สถานที่	จังหวัด	พันธุ์ข้าว	หมายเหตุ
61	TXO57	สถานีอนามัยตำบลครึ่ง อ.เชียงของ	เชียงราย	กข.6	ม.เชียงใหม่
62	TXO58	สถานีอนามัยตำบลครึ่ง อ.เชียงของ	เชียงราย	กข.6	ม.เชียงใหม่
63	TXO59	ศูนย์วิจัยข้าวอุดรธานี	อุดรธานี	กข.6	ม.เชียงใหม่
64	TXO60	ศูนย์วิจัยข้าวอุดรธานี	อุดรธานี	กข.6	ม.เชียงใหม่
65	TXO61	ศวข. อุบลราชธานี อ.วารินทร์ชำราบ	อุบลราชธานี	กข.6	ม.เชียงใหม่
66	TXO62	ศวข. อุบลราชธานี อ.วารินทร์ชำราบ	อุบลราชธานี	กข.6	ม.เชียงใหม่
67	TXO63	ศวข. อุบลราชธานี อ.วารินทร์ชำราบ	อุบลราชธานี	กข.6	ม.เชียงใหม่
68	TXO69	ศวข. อุบลราชธานี อ.วารินทร์ชำราบ	อุบลราชธานี	ข้าวพื้นเมือง	ม.เชียงใหม่
69	TXO70	แปลงน้ำท่วมของเกษตรกร อ. เวียงชัย	เชียงราย	กข. 6	ม.เชียงใหม่
70	TXO71	แปลงน้ำท่วมของเกษตรกร อ. เวียงชัย	เชียงราย	กข. 6	ม.เชียงใหม่
71	TXO73	แปลงน้ำท่วมเกษตรกร อ. ร่องคำ	กาฬสินธ์	กข. 6	ม.เชียงใหม่
72	TXO74	แปลงน้ำท่วมเกษตรกร อ. ร่องคำ	กาฬสินธ์	กข. 6	ม.เชียงใหม่
73	TXO75	ศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์	สุรินทร์	ขาวดอกมะลิ105	ม.เชียงใหม่
74	TXO76	แปลงทดสอบน้ำท่วม อ. พญาเม็งราย	เชียงราย	กข. 6	ม.เชียงใหม่
75	TXO77	แปลงทดสอบน้ำท่วม อ. พญาเม็งราย	เชียงราย	กข. 6	ม.เชียงใหม่
76	TXO80	แปลงทดสอบน้ำท่วม อ. เขื่องใน	อุบลราชธานี	ขาวดอกมะลิ105	ม.เชียงใหม่
77	TXO81	ศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์	สุรินทร์	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
78	TXO82	ศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์	สุรินทร์	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
79	TXO83	ศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์	สุรินทร์	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
80	TXO84	ศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์	สุรินทร์	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
81	TXO85	ศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์	สุรินทร์	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
82	TXO86	ศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์	สุรินทร์	ข้าวเหนียวดำ	RGDU, ม.เกษตรฯ
83	TXO87	ศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์	สุรินทร์	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
84	TXO88	ศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์	สุรินทร์	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
85	TXO89	ศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์	สุรินทร์	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
86	TXO90	ศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์	สุรินทร์	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
87	TXO91	ศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์	สุรินทร์	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
88	TXO92	ศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์	สุรินทร์	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
89	TXO93	ศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์	สุรินทร์	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
90	TXO94	ศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์	สุรินทร์	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

No.	Code	สถานที่	จังหวัด	พันธุ์ข้าว	หมายเหตุ
91	TXO95	ศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์	สุรินทร์	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
92	TXO96	ศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์	สุรินทร์	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
93	TXO97	ศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์	สุรินทร์	ข้าวก่ำ เบอร์4	RGDU, ม.เกษตรฯ
94	TXO98	ศูนย์วิจัยข้าวสุรินทร์	สุรินทร์	ข้าวก่ำ เบอร์4	RGDU, ม.เกษตรฯ
95	TXO99	ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี	อุบลราชธานี	เบอร์10	RGDU, ม.เกษตรฯ
96	TXO100	ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี	อุบลราชธานี	เบอร์10	RGDU, ม.เกษตรฯ
97	TXO101	ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี	อุบลราชธานี	เบอร์1	RGDU, ม.เกษตรฯ
98	TXO102	ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี	อุบลราชธานี	เบอร์1	RGDU, ม.เกษตรฯ
99	TXO103	ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี	อุบลราชธานี	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
100	TXO104	ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี	อุบลราชธานี	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
101	TXO105	ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี	อุบลราชธานี	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
102	TXO106	ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี	อุบลราชธานี	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
103	TXO107	ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี	อุบลราชธานี	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
104	TXO108	ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี	อุบลราชธานี	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
105	TXO109	ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี	อุบลราชธานี	กข.6	RGDU, ม.เกษตรฯ
106	TXO110	ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี	อุบลราชธานี	กข.6	RGDU, ม.เกษตรฯ
107	TXO111	ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี	อุบลราชธานี	กข.6	RGDU, ม.เกษตรฯ
108	TXO112	ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี	อุบลราชธานี	กข.6	RGDU, ม.เกษตรฯ
109	TXO113	ศูนย์วิจัยข้าวขอนแก่น	ขอนแก่น	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
110	TXO114	ศูนย์วิจัยข้าวขอนแก่น	ขอนแก่น	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
111	TXO115	ศูนย์วิจัยข้าวขอนแก่น	ขอนแก่น	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
112	TXO116	ศูนย์วิจัยข้าวขอนแก่น	ขอนแก่น	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
113	TXO117	ศูนย์วิจัยข้าวขอนแก่น	ขอนแก่น	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
114	TXO118	ศูนย์วิจัยข้าวขอนแก่น	ขอนแก่น	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
115	TXO119	ศูนย์วิจัยข้าวขอนแก่น	ขอนแก่น	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
116	TXO120	ศูนย์วิจัยข้าวอุดรธานี	อุดรธานี	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
117	TXO121	ศูนย์วิจัยข้าวอุดรธานี	อุดรธานี	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
118	TXO122	ศูนย์วิจัยข้าวอุดรธานี	อุดรธานี	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
119	TXO123	ศูนย์วิจัยข้าวอุดรธานี	อุดรธานี	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
120	TXO124	ศูนย์วิจัยข้าวอุดรธานี	อุดรธานี	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

No.	Code	สถานที่	จังหวัด	พันธุ์ข้าว	หมายเหตุ
121	TXO125	ศูนย์วิจัยข้าวอุดรธานี	อุดรธานี	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
122	TXO126	ศูนย์วิจัยข้าวอุดรธานี	อุดรธานี	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
123	TXO127	อ.ปทุมรัตน์	ร้อยเอ็ด	เบอร์ 417	RGDU, ม.เกษตรฯ
124	TXO128	อ.ปทุมรัตน์	ร้อยเอ็ด	กข.6	RGDU, ม.เกษตรฯ
125	TXO129	อ.ปทุมรัตน์	ร้อยเอ็ด	กข.6	RGDU, ม.เกษตรฯ
126	TXO130	อ.ปทุมรัตน์	ร้อยเอ็ด	อยุธยา 1.2	RGDU, ม.เกษตรฯ
127	TXO131	อ.ปทุมรัตน์	ร้อยเอ็ด	อยุธยา 1.2	RGDU, ม.เกษตรฯ
128	TXO132	อ.ปทุมรัตน์	ร้อยเอ็ด	หอมพม่า	RGDU, ม.เกษตรฯ
129	TXO133	อ.ปทุมรัตน์	ร้อยเอ็ด	หอมพม่า	RGDU, ม.เกษตรฯ
130	TXO134	อ.ปทุมรัตน์	ร้อยเอ็ด	เบอร์ 403	RGDU, ม.เกษตรฯ
131	TXO135	อ.ปทุมรัตน์	ร้อยเอ็ด	เบอร์ 403	RGDU, ม.เกษตรฯ
132	TXO136	ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี	อุบลราชธานี	เบอร์24	RGDU, ม.เกษตรฯ
133	TXO137	ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี	อุบลราชธานี	เบอร์24	RGDU, ม.เกษตรฯ
134	TXO138	ศูนย์วิจัยข้าวอุดรธานี	อุดรธานี	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
135	TXO139	ศูนย์วิจัยข้าวอุดรธานี	อุดรธานี	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
136	TXO140	ศูนย์วิจัยข้าวอุดรธานี	อุดรธานี	ขาวดอกมะลิ105	RGDU, ม.เกษตรฯ
137	TXO141	บ.หนองอู ต.หนองบัว อ.ศรีบุญเรือง	หนองบัวลำภู	กข.6	RGDU, ม.เกษตรฯ
138	TXO142	ศูนย์วิจัยข้าวอุดรธานี	อุดรธานี	ข้าวหอมพะโล้	RGDU, ม.เกษตรฯ
139	TXO143	ม.เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน	นครปฐม	กข.6	RGDU, ม.เกษตรฯ
140	TXO144	ม.เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน	นครปฐม	กข.6	RGDU, ม.เกษตรฯ
141	TXO145	บ.ทุ่งเข็น อ.สองพี่น้อง	สุพรรณบุรี	ข้าวพิษณุโลก2	RGDU, ม.เกษตรฯ
142	TXO146	บ.ทุ่งเข็น อ.สองพี่น้อง	สุพรรณบุรี	ข้าวพิษณุโลก2	RGDU, ม.เกษตรฯ
143	TXO147	ม.เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน	นครปฐม	ข้าว line 84-1-8	RGDU, ม.เกษตรฯ
144	TXO148	ม.เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน	นครปฐม	ข้าว line 84-1-8	RGDU, ม.เกษตรฯ
145	TXO149	บ.หนองอู ต.หนองบัว อ.ศรีบุญเรือง	หนองบัวลำภู	กข.6	RGDU, ม.เกษตรฯ
146	TXO150	ถนนสาย 340 หลัก km ที่ 158 อ.หันคา	ชัยนาท	-	RGDU, ม.เกษตรฯ
147	TXO151	บ.ทุ่งเข็น อ.สองพี่น้อง	สุพรรณบุรี	ข้าวพิษณุโลก2	RGDU, ม.เกษตรฯ
148	TXO152	ถนนสาย 340 หลัก km ที่ 158 อ.หันคา	ชัยนาท	-	RGDU, ม.เกษตรฯ
149	TXO153	ม.เกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน	นครปฐม	ข้าว line C40	RGDU, ม.เกษตรฯ
150	TXO154	ถนนสาย 340 หลัก km ที่ 158 อ.หันคา	ชัยนาท	-	RGDU, ม.เกษตรฯ

ตารางผนวกที่ 2 การจัดกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* ที่ได้จากการวิเคราะห์ pathotype group

			สายพันธุ์ข้าว												
No.	Isolates	pathotype	IRBB3	IRBB4	IRBB5	IRBB7	IRBB8	IRBB10	IRBB13	IRBB14	IRBB21	IR62266	RD.6	KDML	IR24
1	TXO28	1	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	S	S	S
2	TXO3	4	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S	R
3	TXO38	4	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S	R
4	TXO33	2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R
5	TXO14	2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
6	TXO21	2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
7	303	2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
8	TXO5	2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
9	TXO59	2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
10	TXO110	2	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
11	TXO4	3	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	R
12	TXO1	5	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	R
13	TXO70	5	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	R
14	TXO71	5	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S
15	TXO73	5	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S
16	TXO49	6	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R
17	TXO52	9	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
18	TXO53	9	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
19	TXO69	9	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
20	TXO111	9	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
21	TXO112	9	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
22	TXO133	9	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
23	TXO135	9	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
24	TXO136	9	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
25	TXO138	9	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

			สายพันธุ์ข้าว												
No.	Isolates	pathotype	IRBB3	IRBB4	IRBB5	IRBB7	IRBB8	IRBB10	IRBB13	IRBB14	IRBB21	IR62266	RD.6	KDML	IR24
26	0304	10	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S
27	TXO55	10	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S
28	TXO57	10	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S
29	TXO124	10	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S
30	TXO128	10	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S
31	TXO129	10	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S
32	TXO26	11	S	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S
33	TXO99	11	S	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R
34	TXO104	11	S	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S
35	TXO113	11	S	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S
36	TXO105	11	S	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S
37	TXO121	11	S	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S
38	TXO34	12	S	R	R	R	S	S	S	R	S	R	S	S	S
39	TXO76	12	S	R	R	R	S	S	S	R	S	R	S	S	S
40	TXO101	13	S	R	R	R	S	S		S	R	R	S	S	S
41	TXO102	13	S	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S
42	8231	13	S	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S
43	TXO32	13	S	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S
44	TXO61	13	S	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S
45	TXO85	13	S	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S
46	TXO103	13	S	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S
47	TXO134	13	S	R	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S
48	7536	14	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S
49	TXO36	14	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S
50	TXO50	14	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

			สายพันธุ์ข้าว													
No.	Isolates	pathotype	IRBB3	IRBB4	IRBB5	IRBB7	IRBB8	IRBB10	IRBB13	IRBB14	IRBB21	IR62266	RD.6	KDML	IR24
51	TXO58	14	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S
52	TXO119	14	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S
53	TXO139	14	S	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S
54	TXO80	15	S	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S
55	TXO35	16	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	R
56	TXO74	16	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S
57	0096	17	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S
58	TXO31	17	S	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S
59	TXO56	7	S	R	R	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S
60	TXO2	8	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	R
61	TXO10	19	R	S	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S
62	TXO140	19	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
63	TXO137	19	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
64	TXO132	19	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
65	TXO126	19	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
66	TXO127	19	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
67	TXO122	19	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
68	TXO120	19	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
69	TXO116	19	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
70	TXO118	19	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R
71	TXO107	19	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
72	TXO109	19	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S
73	TXO108	19	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R			S
74	TXO77	20	S	S	R	R	S	S	S	R	S	R	S	S	S
75	TXO16	21	S	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

			สายพันธุ์ข้าว												
No.	Isolates	pathotype	IRBB3	IRBB4	IRBB5	IRBB7	IRBB8	IRBB10	IRBB13	IRBB14	IRBB21	IR62266	RD.6	KDML	IR24
76	TXO131	21	S	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S
77	TXO114	21	S	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S
78	TXO115	21	S	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S
79	TXO117	21	S	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S
80	TXO106	21	S	S	R	R	S	S		S	S	R	S	S	S
81	TXO51	21	S	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S
82	TXO40	22	S	S	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	R
83	9602	23	S	S	R	R	S	S		S	R	R	S	S	S
84	9603	23	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S
85	TXO87	23	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S
86	TXO7	23	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S
87	TXO15	23	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S
88	TXO141	23	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S
89	TXO89	24	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S
90	TXO123	25	S	S	R	S	R	S	S	S	S	R	S	S	S
จำนวน R			18	59	90	60	30	11	8	19	40	90	8	6	18
Total			90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90	90
%BSR			20	66	100	67	33	12	9	21	44	100	9	7	20

ตารางผนวกที่ 3 แสดงค่าความยาวแผล (cm) ของสายพันธุ์ข้าวจำนวน 35 สายพันธุ์ทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* จำนวน 90 ไอโซเลท

No.	Cultrivars	BLB isolates														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
		0096	0303	0304	9602	9603	8231	7536	TXO1	TXO2	TXO3	TXO4	TXO5	TXO7	TXO10	TXO14
1	JaoHomNin	18.1	2.9	12.3	22.4	13.7	15.8	13.3	7.7	6.5	10.1		3.0	9.8		1.5
2	KDML105	30.2	2.3	22.5	10.8	14.3	19.7	17.6	11.7	6.9	10.4	7.3	2.0	9.5	13.1	2.0
3	IR62266	0.1	0.3	0.4	0.3	0.2	0.4	0.1	0.7	0.5	0.9	0.3	0.7	2.1	1.5	0.3
4	IR1188	8.4	1.4	2.7	1.3	1.3	3.5	6.7	2.9	1.6	2.4	1.6	0.5	1.7	4.1	1.1
5	IR24	10.2	1.4	12.3	12.4	9.6	13.1	7.4	4.3	2.2	3.4	3.6	1.4	8.7	9.6	0.8
6	IRBB-3	12.5	0.6	9.9		11.3	9.4	7.9	2.5	2.6	3.1	3.1	1.7	8.6	2.0	1.5
7	IRBB-4	3.7	1.0	4.6	5.2	5.5	4.5	4.5	4.5	7.8	4.8	4.0	1.3	9.1	13.7	1.1
8	IRBB-5	1.2	0.4	1.0	1.2	0.9	2.1	0.4	0.9	0.5	0.7	0.8	0.3	1.6	1.1	1.6
9	IRBB-7	2.4	0.7	9.0	4.2	2.5	0.9	0.1	0.1	0.3	0.8	0.6	0.3	0.6	0.3	0.3
10	IRBB-8	2.9	0.2	15.8	10.2	12.8	7.4	3.3	4.5	6.5	3.6	2.9	1.5	6.4	4.9	1.4
11	IRBB-10	9.9	1.2	16.8	9.8	11.7	9.9	10.7	6.1	8.6	6.6	3.3	1.0	6.4	5.7	1.3
12	IRBB-13	12.4	1.7	13.5		9.8	8.4	10.1	5.5	8.3	8.4	4.5	2.3	8.2	8.3	1.5
13	IRBB-14	9.3	0.5	14.8	15.7	14.2	10.5	11.2	3.5	10.9	5.3	6.9	1.7	9.6	9.6	1.4
14	IRBB-21	4.1	0.7	1.9	2.3	3.3	2.9	5.3	4.3	8.6	5.5	2.2	1.5	3.3	0.7	1.0
15	IR64	1.5	1.1	2.5	2.3	2.7	2.5	1.3	6.0	4.2	3.5	3.1	3.5	9.5	9.7	1.2
16	TN1	17.5	1.8	12.3	18.3	20.7	16.4	14.3	8.2	10.3	9.3	3.4	9.3	10.0	15.6	2.0
17	RD6	16.7	2.3	29.3	12.8	14.9	20.7	20.5	9.3	7.5	5.4	6.4	5.4	12.0	19.3	2.9

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

No.	Cultrivars	BLB isolates														
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
		0096	0303	0304	9602	9603	8231	7536	TXO1	TXO2	TXO3	TXO4	TXO5	TXO7	TXO10	TXO14
18	SPR1	17.5	3.4	1.1	3.9	10.9	7.0	5.9	5.9	7.1	5.1	4.9	5.1	8.5	8.4	1.3
19	23-215	16.5	0.8	1.3	3.7	6.8	3.1	4.7	5.2	4.0	3.8	2.5	3.8	8.1	4.8	1.0
20	CT9993	30.6	0.3	2.3	3.5	3.5	3.7	2.9	7.2	3.0	4.2		4.2	8.1		1.8
21	Surin1	0.1	3.4	10.9	4.1	6.3	12.3	1.7	10.0	8.1	6.0	4.9	6.0	12.1	10.9	1.9
22	Abhaya	8.2	0.5	1.7	1.9	3.5	6.4		3.1	6.8	4.2	3.9	4.2	11.1	11.8	1.4
23	IR57514	10.2	1.0	2.5	8.9	8.7	9.0	5.2	3.0	3.3	4.4	2.1	4.4	8.6	10.0	0.8
24	FL496	1.5	1.1	1.0	2.3	2.6	4.9	2.8	5.0	4.8	5.6	2.7	5.6	8.3	11.5	1.5
25	DH206	17.5	2.1	16.2	16.0	14.5	23.3	15.1	6.3	12.4	7.9	6.0	7.9	10.3	11.8	1.5
26	BA5	16.7	0.6	12.6	1.8	0.8	0.4	0.2	0.4	0.2	1.0	0.4	1.0	0.8	1.1	0.7
27	Azucena	4.8	3.7		26.2	13.0	22.2	25.8	9.7	10.2		4.5		10.1		1.6
28	FL530	1.6	0.5	1.0	1.5	2.1	2.8	2.1	2.8	4.9	2.6	2.0	2.6	10.3	4.1	1.4
29	FR13A	1.9	1.4	15.0	10.1	7.5	14.3	17.2		6.0	5.5	4.6	5.5	8.2	11.7	1.7
30	Chainat1	6.5	1.1	3.4	5.8	8.4	8.1	4.9	5.4	9.1	4.3	4.3	4.3	8.5	13.5	1.5
31	RathuHeenati	17.3	1.7	21.6	17.9	21.3	16.6	19.6	3.8	17.3	5.8	11.0	5.8	12.5	16.7	2.0
32	HomLukRang	21.3	2.1	21.8	16.4	14.3	7.2	18.9	9.1	11.1	5.8	5.8	5.8	10.0	17.3	1.5
33	DokPayom	25.9	2.3	20.5	22.4	7.3	13.8	22.8	5.6	12.5	8.0	4.2	8.0		8.8	1.8
34	HomChan	9.5	1.3	18.1	8.1	13.2	9.8	4.8	4.9	4.9	6.3	6.6	6.3	5.4	13.1	1.8
35	SangYod	7.8	1.6	21.3	12.9	13.3	8.9	6.7	11.1	7.7	6.6	3.9	6.6	10.4	14.8	2.7

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

No.	Cultrivars	BLB isolates														
		16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
		TXO15	TXO16	TXO21	TXO26	TXO28	TXO31	TXO32	TXO33	TXO34	TXO35	TXO36	TXO38	TXO40	TXO49	TXO50
1	JaoHomNin	10.0	10.8		7.6		15.9	14.1	8.5	10.7	7.1	11.9	6.8		6.5	11.7
2	KDML105	10.2	10.2	1.9	10.8	11.1	29.6	14.4	8.5	12.6	9.6	11.3	6.6	7.4	8.6	5.4
3	IR62266	1.4	2.1	0.1	0.1	0.3	0.1	0.2	0.4	0.1	0.1	0.5	0.7	1.3	0.1	0.3
4	IR1188	2.0	3.3	1.0	5.5	1.4	8.2	4.6	8.5	7.2	4.6	6.2	2.0	1.8	1.8	3.5
5	IR24	9.5	7.3	0.6	7.9	7.7	10.2	8.3	4.9	6.4	4.5	8.0	3.9	5.0	4.0	8.6
6	IRBB-3	6.4	7.0	0.9	13.5	1.6	12.5	8.3	3.1	6.6	5.1	9.4	3.4	6.5	4.4	8.8
7	IRBB-4	6.3	7.9	1.4	2.6	1.5	3.7	3.9	1.7	2.2	2.7	3.2	4.4	7.0	1.8	3.5
8	IRBB-5	0.8	0.9	0.2	0.9	0.5	1.2	1.2	0.5	0.1	0.2	0.1	0.8	0.8	0.6	1.1
9	IRBB-7	0.4	0.6	0.2	1.6	0.2	2.4	0.9	1.1	0.5	0.7	0.9	1.9	0.5	0.5	0.2
10	IRBB-8	8.6	6.9	0.8	9.1	7.7	2.9	5.9	0.8	5.2	1.2	0.9	2.7	6.3	4.6	4.7
11	IRBB-10	7.7	7.2	1.6	13.1	4.8	9.9	8.6	4.0	8.1	7.7	10.6	5.9	4.7	8.4	6.8
12	IRBB-13	7.1	9.7	1.9	14.6	5.4	12.4	8.0	3.3	7.9	7.2	7.4	7.0	5.5	6.7	10.5
13	IRBB-14	7.3	9.0	1.3	11.8	2.3	10.6	6.0	3.8	4.9	4.8	7.3	5.1	5.7	7.8	10.3
14	IRBB-21	2.5	5.2	1.0	7.6	2.0	3.7	2.8	3.9	7.6	4.2	5.2	5.3	2.3	3.5	9.5
15	IR64	6.0	8.8		1.2	2.2	1.5	2.5	2.2	0.8	2.0	10.0	3.6	4.4	1.2	3.0
16	TN1	9.2	10.9	2.1	9.9	8.4	17.5	11.7	10.4	14.6	12.9	11.0	5.7	11.0	6.1	10.8
17	RD6	9.5	11.2	2.2	9.0	10.6	16.7	12.6	7.0	11.0	13.5	11.2	3.4	6.4	9.1	12.0

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

No.	Cultrivars	BLB isolates														
		16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
		TXO15	TXO16	TXO21	TXO26	TXO28	TXO31	TXO32	TXO33	TXO34	TXO35	TXO36	TXO38	TXO40	TXO49	TXO50
18	SPR1	8.5	6.0	0.9	1.6	4.1	4.8	6.0	1.9	1.7	2.0		4.2	6.5	1.6	1.6
19	23-215	6.1	7.4	1.6	1.2	2.7	1.6	3.1	1.7	1.7	1.8	4.3	3.2	6.7	1.6	3.9
20	CT9993	5.8	10.3		1.5	3.4	1.9	3.9	1.3	0.6	1.0	8.5	8.3		2.4	3.8
21	Surin1	9.4	9.1	4.1	1.7	5.7	6.5	6.7	1.2	0.9	0.9	6.3	6.5	6.3	2.8	3.8
22	Abhaya	6.5	12.4	1.2	0.8	3.3	2.2	3.3	1.6	2.2	1.4	4.2	2.4	5.4	1.8	1.9
23	IR57514	8.5	10.0	1.0	1.1	2.1	2.5	4.0	2.2	1.6	1.2	3.8	2.9	4.7	2.0	5.0
24	FL496	7.2	7.4	1.0	1.1	2.2	2.1	2.3	1.4	0.9	1.1	7.8	2.8	4.5	1.9	1.4
25	DH206	11.2	9.3	3.5	14.9	9.8	15.1	12.6	2.3	6.5	9.1	3.3	6.9	7.5	12.0	
26	BA5	0.1	1.6	0.2	2.7	0.1	0.4	0.4	0.3	2.6	0.2	1.9	0.4	0.2	0.6	0.3
27	Azucena		10.6		13.3	10.2	19.9	13.4	11.2	14.5	14.1	10.9	11.5	6.5	8.9	13.1
28	FL530	5.0	4.3	0.8	0.4	1.0	2.1	1.0	0.8	0.4	0.9	7.1	2.0	4.7	0.3	2.1
29	FR13A	8.5	8.9	2.9	6.3	12.4	8.1	9.8	0.3		0.4	3.4	4.4	5.8	9.3	10.5
30	Chainat1	10.2	10.8	1.1	1.4	5.4	5.7	5.8	1.8	2.5	3.3	8.3	3.4	7.0	2.2	5.5
31	RathuHeenati	9.6	10.6	3.7	13.8	12.4	17.3	17.2	6.3	15.0	14.1	9.1	4.2	10.5	10.1	9.5
32	HomLukRang	8.6	7.9	2.6	18.6	8.8	16.7	13.0	10.7	13.5	16.1	11.9	5.0	7.6	10.6	
33	DokPayom	12.6	11.2	2.9	5.8	11.0	25.9	14.0	8.3	12.8	12.7	4.6	14.5	9.6	11.4	11.2
34	HomChan	11.4	10.6	2.0	13.6	15.2	9.6	9.0	3.0	8.6	2.2	3.8	2.6	8.0	9.0	9.1
35	SangYod	13.1	8.7	2.6	15.0	5.8	7.8	14.2	3.2	3.1	2.5	5.1	3.9	7.7	10.3	13.6

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

No.	Cultrivars	BLB isolates														
		31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
		TXO51	TXO52	TXO53	TXO55	TXO56	TXO57	TXO58	TXO59	TXO61	TXO69	TXO70	TXO71	TXO73	TXO74	TXO76
1	JaoHomNin	21.6	18.9	14.1	12.6	18.3	18.3	10.1	3.7	7.1	11.3	2.6	4.0	7.3	10.7	7.5
2	KDML105	31.0	17.3	22.1	23.3	21.5	10.7	10.7	3.8	15.0	17.2	7.2	10.9	18.0	20.8	13.1
3	IR62266	0.5	0.6	0.6	0.1	1.0	0.4	0.1	0.8	0.2	0.2	0.2	0.1	0.4	0.2	0.2
4	IR1188	7.4	6.0	3.1	6.7	4.2	5.8	3.1		2.1	6.1	1.4	3.4	2.4	2.6	7.0
5	IR24	13.3	13.0	10.5	9.7	15.7	14.7	7.4	3.7	8.2	7.4	4.4	8.3	14.9	9.3	8.6
6	IRBB-3	17.3	6.3	9.8	7.3	8.4	12.7	6.5	1.3	7.8	11.0	1.0	4.5	4.1	10.0	7.0
7	IRBB-4	5.4	2.1	3.1	2.7	2.8	3.5	2.1	3.7	1.1	3.8	0.1	1.9	3.1	2.9	3.9
8	IRBB-5	1.2	1.1	1.0	0.9	0.8	1.6	0.9	0.9	0.9	1.9	1.0	0.4	0.6	0.9	1.6
9	IRBB-7	0.9	7.4	7.5	9.3	5.3	9.9	2.3	0.3	1.9	5.8	0.2	0.1	0.5	0.8	0.2
10	IRBB-8	8.1	8.9	10.3	11.8	4.5	8.9	4.2	2.0	6.1	9.7	0.3	2.2	0.3	4.7	9.2
11	IRBB-10	15.9	7.9	9.7	11.0	10.0	11.3	5.8	3.0	8.5	9.6	5.2	7.4	11.3	9.1	11.6
12	IRBB-13	17.3	10.9	12.4	8.9	9.0	13.1	6.1	3.0	5.7	9.6	7.8	6.9	13.5	9.4	11.8
13	IRBB-14	15.3	10.8	10.6	7.8	12.7	11.7	7.2	2.4	8.2	9.0	0.7	0.2	0.5	0.4	0.4
14	IRBB-21	15.0	7.0	5.3	4.0	5.1	4.1	5.1	1.9	1.9	5.9	0.5	2.3	0.7	1.6	8.1
15	IR64	8.3	1.3	2.8	0.5	1.5	2.6	1.4	4.7	1.5	2.0	1.6	1.0	4.6	1.5	0.9
16	TN1	22.7	13.7	17.3	11.3	14.3	17.4	11.2	5.7	11.3	12.2	12.1	14.5	14.2	14.7	9.2
17	RD6	27.2	19.6	25.3	15.8	27.2	20.3	15.8	2.2	12.6	14.8	10.3	12.7	15.3	16.8	16.1

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

No.	Cultrivars	BLB isolates														
		31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
		TXO51	TXO52	TXO53	TXO55	TXO56	TXO57	TXO58	TXO59	TXO61	TXO69	TXO70	TXO71	TXO73	TXO74	TXO76
18	SPR1	8.4	2.3	2.2	1.2	1.0	4.4	3.2	2.4	3.3	3.3	0.9	2.2	2.4	1.5	1.9
19	23-215	4.0	2.0	2.1	1.4	0.9	2.6	2.0	2.4	1.5	1.8	1.0	1.6	2.5	2.6	2.3
20	CT9993	4.4	1.6	2.0	1.8	1.0	2.4	2.2	4.5		2.7	1.0	0.9	3.4	2.2	2.4
21	Surin1	9.5	2.2	2.7	3.4	8.7	5.2	2.0	3.4	3.8	3.8	1.4	0.8	2.4	2.8	1.8
22	Abhaya	5.0	5.0	1.4	2.5	1.7	3.1	1.4	2.3	2.0	2.5	0.9	1.2	1.0	2.6	1.7
23	IR57514	8.9	1.9	7.7	3.3	1.5	4.3	3.3	1.8	3.2	3.0	0.7	0.6	1.4	3.2	2.5
24	FL496	2.5	1.1	1.9	1.0	0.5	1.2	0.4	5.1	0.7	2.2	1.0	1.0	0.9	1.3	1.3
25	DH206	28.2	14.5	14.2	11.8	8.5	24.0	9.0	3.4		8.0	5.3	13.6	8.6	17.5	12.0
26	BA5	1.8	6.5	12.0	3.8	2.2	13.2	0.2	0.3	0.9	0.5	0.1	0.1	1.5	1.3	0.1
27	Azucena	23.5	16.4			7.5	23.8	9.9	4.4	10.9	10.3	8.4	16.1	9.6	7.6	11.0
28	FL530	1.5	1.9	0.6	0.5	0.5	1.2	0.7	1.8	1.5	1.5	1.1	0.5	0.6	0.5	0.7
29	FR13A	15.2	9.9	13.0	15.8	5.6	13.6	14.1	3.2	7.7	9.6	6.9	8.7	1.2	12.6	9.6
30	Chainat1	13.5	3.3	6.8	3.1	3.8	3.0	5.4	2.7	5.9	4.8	1.9	2.2	1.2	3.4	3.6
31	RathuHeenati	27.6	17.7	20.2	22.4	24.1	28.3	10.1	2.9	12.2	15.3	5.7	15.3	15.0	21.9	13.3
32	HomLukRang	25.2	16.3	18.5	20.2	20.2		12.6	5.1	15.8	11.1	7.1	9.6	20.2	16.9	10.1
33	DokPayom	24.8	13.1	13.3	19.8	22.1	28.3	13.6	4.6	12.1	11.5		11.0	7.5	21.2	12.2
34	HomChan	12.9	6.7	19.2	8.9	22.4	13.1	7.5	2.1	5.5	6.7	9.0	7.6	20.9	23.5	4.7
35	SangYod	25.0	11.6	23.6	13.9	16.9	11.5	11.4	3.3	7.3	12.4	7.7	5.8	23.8	18.1	5.5

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

No.	Cultrivars	BLB isolates														
		46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
		TXO77	TXO80	TXO85	TXO87	TXO89	TXO99	TXO101	TXO102	TXO103	TXO104	TXO105	TXO106	TXO107	TXO108	TXO109
1	JaoHomNin	8.6	15.7	14.3	9.0	10.2	6.4	15.4	15.9	20.9	12.7	11.2	18.4	13.5	13.7	12.4
2	KDML105	18.0	8.9	13.6	12.1	12.9	8.5	17.4	18.7	18.5	16.5	15.9	20.3	13.4		14.6
3	IR62266	0.9	0.3	1.3	0.2	0.8	0.8	1.3	1.2	0.6	6.2	0.8	1.5	1.4	0.2	1.7
4	IR1188	6.0	1.7				2.3	4.1	4.8	5.4	4.8	3.7	4.5	4.0	8.9	7.0
5	IR24	12.5	6.7				3.5	9.4	12.2	11.2	14.2	8.3	13.5	5.1	14.3	14.2
6	IRBB-3	10.2	5.4	9.4	7.4	7.9	6.2	12.7	14.8	11.0	9.5	8.6	15.1	12.8	11.6	13.0
7	IRBB-4	5.7	1.2	4.1	5.5	6.7	4.3	6.7	5.7	4.3	4.4	3.8	6.8	5.7	11.8	6.0
8	IRBB-5	1.5	0.3	2.0	1.7	1.9	1.4	2.1	1.9	2.6	1.5	6.9	3.8	1.5	5.9	2.3
9	IRBB-7		0.2	0.5	1.7	1.6	4.3	6.8	10.3	4.4	3.4	4.4	4.4	7.2	8.5	10.1
10	IRBB-8	11.3	1.7	5.6	9.3	3.5	7.9	13.2	10.2	13.1	8.1	7.5	13.4	7.7	6.6	13.1
11	IRBB-10	15.4	5.0	10.0	8.1	13.1	9.1	10.8	11.7	14.1	9.6	13.1	15.4	12.7	11.5	10.9
12	IRBB-13	14.4	8.1	12.4	8.5	12.8	7.0		11.2	8.1	10.3	10.5		18.1	9.4	11.6
13	IRBB-14	0.8	5.0	13.2	9.3	1.2	8.8	15.3	12.2	13.4	9.9	13.1	14.2	11.8	9.0	12.2
14	IRBB-21	7.0	1.5	2.5	2.5	1.3	5.2	5.4	7.2	4.3	6.1	6.7	6.2	14.1	12.2	6.0
15	IR64	0.3	1.2				2.5	4.1		3.9	4.1	3.3	6.3	2.1	11.0	6.3
16	TN1	5.1	13.1				7.3	18.3		19.4		16.1	19.6	18.7		
17	RD6	14.1	8.6				8.0	16.0	16.5	17.8	17.9	13.4	18.3	14.1	14.2	17.9

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

No.	Cultrivars	BLB isolates														
		46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
		TXO77	TXO80	TXO85	TXO87	TXO89	TXO99	TXO101	TXO102	TXO103	TXO104	TXO105	TXO106	TXO107	TXO108	TXO109
18	SPR1	0.3	1.8				2.2	4.9	3.9	6.1	4.5	2.5	4.6	3.7	5.0	7.4
19	23-215	0.7	1.9				1.9	6.1	5.2	5.5	3.7	3.5	5.2	6.4	7.6	5.2
20	CT9993	0.3	1.8				1.8	3.2		3.7	3.1	6.0	7.4	4.9	8.0	4.3
21	Surin1	0.7	4.3				3.1	7.2	5.7	9.3	4.6	6.7	9.7	7.9	6.7	6.5
22	Abhaya	0.5	1.5				1.8	4.0	4.4	4.1	2.4	3.1	5.2	4.4	4.5	3.7
23	IR57514	0.2	1.4				4.4	3.9	6.9	5.3	3.7	3.4	7.2	9.2	4.5	6.3
24	FL496	0.1	1.3				2.0	3.4	3.1	4.3	2.4	2.0	3.1	3.6	5.1	3.6
25	DH206	4.8	9.2				3.5	11.6	14.6	13.5	12.7	18.1	15.7		12.0	18.0
26	BA5	0.1	0.5				3.8	8.6	11.0	7.8	9.4	4.5	8.3	6.7		9.5
27	Azucena	10.5														
28	FL530	0.1	0.2				1.5	2.8	2.4	3.6	2.3	2.7	4.3	3.2	2.9	2.0
29	FR13A	3.0	6.8				4.0		11.8	13.8	8.6	14.4	17.1	14.7	9.2	10.5
30	Chainat1	1.0	2.1				4.0	8.5	6.0	7.4	3.6	3.6	5.9	9.7	6.5	4.9
31	RathuHeenati	10.7	12.2				12.8	12.1	15.4	19.4	14.1	14.0	17.1	15.1	18.6	19.1
32	HomLukRang	9.4	10.2													
33	DokPayom	11.3	15.3													
34	HomChan	4.7	3.3				6.7	12.9	25.2	13.4	12.9	12.8	14.7	6.4	14.5	16.9
35	SangYod	3.9	6.2				6.6	13.0	20.1	19.2	10.5	12.7	16.4	13.5	18.7	18.3

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

No.	Cultrivars	BLB isolates														
		61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
		TXO110	TXO111	TXO112	TXO113	TXO114	TXO115	TXO116	TXO117	TXO118	TXO119	TXO120	TXO121	TXO122	TXO123	TXO124
1	JaoHomNin	4.1	10.3	15.4	13.1	10.7	9.5	17.5	8.3	17.0	11.4	10.0	10.1	15.0	16.3	10.9
2	KDML105	4.2	12.4	21.5	12.9	12.7	13.2	14.5	11.9	24.1	7.7	18.4	10.0	22.0	21.8	11.1
3	IR62266	0.6	0.6	0.8	0.6	2.4	2.8	0.7	0.6	0.9	0.4	0.8	0.6	1.0	1.9	0.8
4	IR1188	2.1	4.8	6.0	7.1	3.6	4.4	8.1	6.7	5.7		8.5	6.8	11.6	11.4	3.6
5	IR24	2.4	9.2	13.2	10.0	6.6	12.1	7.7	11.4	3.5		10.8	6.5	15.2	14.3	11.8
6	IRBB-3	2.6	12.7	11.7	9.0	7.7	11.2	12.3	12.0	11.3	8.3	11.6	8.5	12.7	14.9	9.7
7	IRBB-4	2.1	3.8	4.6	4.3	6.2	11.8	6.4	6.7	9.3	3.2	7.8	3.8	5.6	8.5	3.5
8	IRBB-5	1.4	2.1	2.6	1.3	2.2	3.1	2.3	2.1	3.0	2.3	2.0	2.0	2.3	3.5	1.6
9	IRBB-7	0.8	8.3	12.3	1.1	1.4	3.6	9.4	3.4	8.6	3.2	9.8	4.4	7.8	12.1	10.0
10	IRBB-8	2.2	8.7	9.2	10.7	5.1	10.8	13.4	11.5	11.3	4.2	11.2	5.5	9.3	4.9	10.5
11	IRBB-10	3.0	11.4	10.8	10.9	7.9	10.7	19.5	12.4	11.6	5.9	12.4	9.0	10.7	12.0	10.5
12	IRBB-13	3.2	12.8	11.4	9.2	8.3	13.9	15.6	5.3	13.9	8.7	12.3	7.3	12.2	17.8	11.7
13	IRBB-14	2.6	10.2	10.7	10.9	9.0	13.0	15.7	10.3	13.3	8.8	11.0	9.6	11.2	15.4	10.3
14	IRBB-21	2.1	7.3	11.1	9.8	7.9	5.1	8.1	10.4	7.5	5.5	8.3	5.3	5.2	10.6	4.8
15	IR64	1.6	5.9	6.2	4.7	6.1	9.3	4.5	8.2	2.1		3.9	4.4	4.7	1.5	4.2
16	TN1	3.8	11.8		14.6	11.3		18.1	12.5				9.1	20.7		
17	RD6	3.2	11.1	17.1	15.1	8.6	14.8	17.6	10.6	20.4		17.6	8.7	19.4	19.3	17.0

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

No.	Cultrivars	BLB isolates														
		61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
		TXO110	TXO111	TXO112	TXO113	TXO114	TXO115	TXO116	TXO117	TXO118	TXO119	TXO120	TXO121	TXO122	TXO123	TXO124
18	SPR1	1.7	3.2	4.8	3.9	7.9	10.6	4.3	6.0	10.0		4.0	1.8	5.7	8.0	3.9
19	23-215	1.7	3.4	5.7	3.3	5.7	11.5	6.1	4.1	6.7		5.0	2.9	4.5	7.2	4.5
20	CT9993	1.8	2.4	3.0	2.9	9.0	32.6	3.9	5.5	3.1		4.7	3.1	7.1	1.6	2.7
21	Surin1	1.8	6.1	5.7	9.5	9.4	12.9	9.7	10.4	5.3		8.1	4.9	9.4	2.1	3.9
22	Abhaya	1.3	3.5	3.5	2.6	6.9	10.4	3.7	4.7	1.6		3.1	4.8	3.5	1.7	4.3
23	IR57514	1.7	5.5	6.5	5.2	8.0	11.0	5.7	10.4	1.7		4.8	3.8	4.9	1.0	4.4
24	FL496	1.3	2.2	1.7	3.0	9.9	11.2	5.0	3.5	5.7		3.3	3.1	2.7	2.7	2.5
25	DH206	4.0	13.1	13.3	11.6	14.2	8.1	11.4	10.6	20.1		13.0	11.3		21.5	9.8
26	BA5	1.1	5.3	15.1	1.0	4.7	1.6	7.8	3.2	9.3		12.3	2.4	5.9	11.5	12.4
27	Azucena															
28	FL530	1.5	3.7	1.9	1.5	7.0	7.7	3.4	1.9	3.2		2.0	2.0	3.1	3.2	2.3
29	FR13A	2.7	10.8	16.3	14.8	4.2	10.3	12.6	10.1	13.0		8.0	7.5	16.2		12.1
30	Chainat1	1.5	5.5	5.9	4.0	6.7	8.0	6.3	8.4	2.5		5.5	3.0	5.0	2.8	4.4
31	RathuHeenati	3.9	10.8	21.8	17.3	10.7	16.5	12.2	14.0	22.1		19.6	9.5	21.4	21.1	13.2
32	HomLukRang															
33	DokPayom															
34	HomChan	2.4	8.6	17.2	12.0	8.0	15.3	12.9	10.4	17.3		15.7		15.7	21.0	17.4
35	SangYod	3.7	9.8	17.8	14.3	13.4	14.9	14.7	14.9	8.8		18.2	9.3	21.4		14.8

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

No.	Cultrivars	BLB isolates														
		76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
		TXO126	TXO127	TXO128	TXO129	TXO131	TXO132	TXO133	TXO134	TXO135	TXO136	TXO137	TXO138	TXO139	TXO140	TXO141
1	JaoHomNin	16.1	11.3	10.8	8.6	13.3	14.5	12.4	10.5	13.7	14.3	12.1	17.8	6.1	11.7	
2	KDML105	16.9	15.7	12.3	8.7	19.5	18.2	13.5	6.3	14.8	13.5	13.8	21.5	13.8	13.0	6.2
3	IR62266	0.5	0.6	0.3	0.8	0.7	1.2	1.0	1.0	1.6	3.5	1.0	5.5	1.0	0.8	2.2
4	IR1188		7.0			4.7	3.4	5.7	2.9	6.6	9.1	8.5	14.5	3.6	3.6	
5	IR24		10.8			11.2	12.3	14.2	10.9	14.3	12.7	11.8	10.1	6.6	15.9	5.3
6	IRBB-3	13.3	10.1	7.9	8.2	12.0	11.9	11.5	9.9	7.9	9.3	25.6	10.8	7.3	7.0	4.9
7	IRBB-4	5.4	5.5	3.2	5.0	5.3	5.2	4.1	3.4	4.2	3.8	8.2	4.1	3.7	7.1	6.5
8	IRBB-5	2.8	3.1	1.6	1.1	1.8	2.1	2.4	2.1	1.7	2.8	2.0	1.1	1.3	1.0	2.1
9	IRBB-7	9.1	9.3	6.5	5.4	4.7	10.7	12.0	2.7	9.2	9.0	6.3	6.9	1.7	11.0	1.9
10	IRBB-8	11.6	10.9	5.2	6.9	8.3	7.8	12.7	26.9	10.0	7.7	9.0	14.7	4.3	8.3	4.7
11	IRBB-10	11.6	11.7	9.1	8.6	12.1	11.7	13.5	12.6	8.8	8.7	11.3	8.3	7.0	9.6	5.7
12	IRBB-13	16.5	14.2	8.4	5.2	13.0	11.8	12.8	5.8	9.0	8.5	12.6	14.5	6.9	11.1	5.3
13	IRBB-14	15.9	10.3	9.0	8.7	13.2	14.2	13.4	8.1	12.9	6.2	12.5	13.0	8.3	10.0	5.4
14	IRBB-21	5.9	7.8	3.6	4.9	5.6	5.6	5.3	4.5	9.4	10.7	8.2	5.1	5.9	7.3	2.0
15	IR64		3.5			3.7	4.5	8.9		7.2	4.9	4.2	8.0	2.1	2.7	
16	TN1					12.6	17.7				17.0	15.5				
17	RD6		18.7			21.4	19.9	21.0	10.1	12.6	13.6	14.1	20.0	8.0	14.9	6.9

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

No.	Cultrivars	BLB isolates														
		76 TXO126	77 TXO127	78 TXO128	79 TXO129	80 TXO131	81 TXO132	82 TXO133	83 TXO134	84 TXO135	85 TXO136	86 TXO137	87 TXO138	88 TXO139	89 TXO140	90 TXO141
18	SPR1		4.8			3.5	3.5	4.4	2.0	3.6	4.7	5.5	4.3	2.7	3.3	
19	23-215		4.5			3.0	6.3	4.2	2.3	3.1	6.7	5.2	6.8	3.4	3.9	
20	CT9993		4.7			1.9	5.4	4.5		3.6	5.1	4.3	6.5	1.3	4.1	
21	Surin1		5.0			6.9	7.8	6.5	2.8	5.6	7.8	9.7	6.8	3.1	4.9	
22	Abhaya		2.5			2.8	4.6	5.2	4.2	2.6	8.8	3.7	3.2	3.0	2.6	
23	IR57514		6.8			3.2	6.9	9.3	2.6	3.0	8.8	6.2	1.7	2.2	5.7	
24	FL496		2.5			1.7	3.3	2.7	0.9	2.0	5.1	2.8	2.5	1.7	2.3	
25	DH206		10.7			8.4	11.9	11.4	9.5	8.9	18.1	12.8	12.5	7.0	12.6	
26	BA5		7.4			3.8	12.2	15.5		9.9	12.6	8.1	10.5	2.1	8.7	
27	Azucena							1.4								
28	FL530		2.4			1.7	2.3	7.4	1.2	1.5	4.4	3.3	4.2	2.1	3.3	
29	FR13A		10.5				9.4	4.3	6.5	5.5	7.1	14.0	0.0	3.6	3.8	
30	Chainat1		6.3				7.1	18.8	2.4	2.2	13.8	5.4	3.5	2.8	5.7	
31	RathuHeenati		15.3				16.9		25.8	17.4	22.4	16.7	21.3	8.8	15.6	
32	HomLukRang															
33	DokPayom							13.9								
34	HomChan		19.6			13.2	13.8	19.4	10.3	16.9	18.3	12.4	16.9	7.0	16.5	
35	SangYod		19.4			16.4	17.3	16.0	17.6	13.7	18.8	14.2	21.0	8.0	12.0	

ตารางผนวกที่ 4 แสดงค่าความยาวแผล (cm.) และค่าดัชนีความต้านทานโรคของข้าวพื้นเมือง จำนวน 182 สายพันธุ์และข้าวปลูกจำนวน 28 สายพันธุ์ต่อเชื้อแบคทีเรีย *Xoo* จำนวน13 ไอโซเลท

		Isolates/Pathotype group													
		9	6	13	10	22	21	12	17	2	3	23	11	19	
No.	สายพันธุ์	TXO136	TXO49	TXO61	0304	TXO40	TXO16	TXO34	0096	0303	TXO4	9603	TXO113	TXO132	%BSR
1	บือตาโม	6.2	3.1	6.9	13.9		5.3	13.9		1.3	2.3	5.9	13.3	11.2	27.3
2	ข้าวบ่ากอก	7.9	4.0	6.3	7.2	10.5	5.7	5.8	10.2	1.6	4.7	5.3	11.2	9.1	15.4
3	ข้าวแพร่ปี	13.0	4.6	8.4	15.7	9.1	13.6	8.7	5.8	1.2	3.3	8.6		8.0	16.7
4	ข้าวแพร่คอ	9.6	6.1	6.9	13.9	18.4	16.0	10.5	9.7	0.8	2.7	11.4		9.7	16.7
5	ข้าวชิว	9.8	6.7	5.9	14.1	13.3	14.7	9.1	11.9	3.8	3.5	13.6	23.4	8.8	15.4
6	ข้าวแพร่นา	12.3	4.6	6.9	13.8	8.5	7.7	10.9	13.0		4.3	9.0	15.5	11.2	8.3
7	ข้าวเหลืองน้อย	8.5	7.0	8.3	9.7	10.2	11.1	9.4	21.8	0.2	6.7	12.5	14.8		8.3
8	บือกวา	9.7	6.5	7.5	10.5	12.2	13.3	9.8	9.8	2.2	4.2	12.0	15.8	7.6	15.4
9	บือซอมี	9.6	6.3	7.2	16.0	11.5	10.4	11.2	6.5	2.5	4.3	3.9	15.3	7.8	23.1
10	บือเซอะลา	13.9	8.0	6.3	17.3	10.6	18.3	8.1	8.8	1.5	3.8	5.9	12.0	7.7	15.4
11	ข้าวชิว	10.5	7.1	8.7	21.0	8.9	14.6	11.7	18.9	1.9	3.2	8.6			18.2
12	บือกวา	12.8	5.5	8.5	18.5	9.3	13.1	10.1	17.1	2.3	4.2		15.0	8.9	16.7
13	บือปีอิ	8.7	1.8	7.6	14.6	9.5	10.4	10.6	5.0	2.6	1.9	11.0		10.7	25.0
14	บือคึ	21.2	7.4		14.4	7.6	19.4	8.9	14.4	2.9	7.0	10.8	12.5	11.1	7.7
15	บือโปะโละ	16.5	2.2	5.4	13.8	16.0	10.4	7.0	9.5	2.4	3.6	12.4	10.5	6.5	23.1
16	บือกวา	13.2	5.5	7.5	12.9	11.6	10.0	10.0	13.8	2.4	4.0	12.4		12.4	16.7
17	บือซอมี	14.1	3.8	8.0	8.0	13.9	16.7	7.8	12.3	2.3	4.0	8.6	15.2	8.0	23.1
18	บือปีอิปอสี	11.5	5.6	9.6	13.0	9.2	13.3	8.5	8.6	3.0	5.5	7.9	16.3	7.2	7.7
19	บือกิ	16.9	3.4	8.5	17.0	11.2	14.2	7.7	11.4	2.4	6.1	13.5		7.0	16.7
20	บือกะ	11.1	6.5	8.3	15.2	11.5	17.7	18.4	17.0	2.2	3.3	9.5			18.2
21	บือซอมี	7.3	8.0	6.8	15.4	12.9	7.7	11.2	9.2	3.9	3.1	8.5	22.1		16.7
22	บือโค่คี	10.6	6.9	7.4	11.1	11.2	8.3	10.3		1.6	6.4	7.6			11.1
23	น้ำรุ	13.1	6.0	12.5	25.6	13.7	21.0	8.4	18.6	2.0	3.8	16.7	21.7	10.5	15.4
24	บือเปรอมื่อ	15.4	0.5	0.8	1.9	9.3	13.8	2.7	2.1		2.4	1.0	7.1	0.4	66.7
25	เบล้เกษตร	10.3	4.2	11.3	14.7	11.2	12.5	12.0	9.4	1.9	4.4	9.3	18.1		25.0

ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ)

No.	สายพันธุ์	Isolates/Pathotype group													
		9	6	13	10	22	21	12	17	2	3	23	11	19	
		TXO136	TXO49	TXO61	0304	TXO40	TXO16	TXO34	0096	0303	TXO4	9603	TXO113	TXO132	%BSR
26	เบล้จ๊วะ	14.0	5.7	7.9	15.1	11.9	22.6	13.6	13.8	1.9	3.5	9.6	24.0		16.7
27	เบล้ไจ้	13.6	4.0	7.6	13.2	11.2	12.9	10.2	9.0	2.0	3.3	7.6		6.3	25.0
28	เบล้เบล่าจ๊วะ	12.7	5.9	5.1	7.4	10.1	10.1	17.1		1.7	4.3			6.9	22.2
29	บือเนอมู	14.3	1.0	0.9	2.1	8.7	10.8	2.1	1.2	0.7	2.1	2.3	4.7	0.7	69.2
30	บือปีอิกอ	12.4	2.4	8.2	13.1	7.4	13.9	10.9	12.9	1.8	4.5	9.1	15.9		16.7
31	บือกวา	15.2	10.0	7.1	17.5	10.7	18.0	16.7	12.1	1.2	3.6	9.4		9.0	16.7
32	เบล้กะมอ	11.0	5.1	11.7	17.4	8.8	14.9	14.5	14.8	2.9	4.0	12.6	18.9	9.6	15.4
33	ข้าวลายหลวง	12.9	10.3	10.9	15.8	8.0	14.8	9.5	9.8	2.1	3.8	10.7		8.6	16.7
34	เบล้ปอซา	9.8	7.8	9.9	14.0	9.8	11.2	21.3	11.7	2.1	3.5	14.1	15.3		16.7
35	บือมื่อ บือกอ	9.7	10.5	8.4	14.6	11.0		10.0	19.0	2.4	4.5	13.2	17.2	7.9	16.7
36	บือปีอิซอวะ	16.0	9.8	9.7	19.3		14.7	10.8	14.6	2.4	2.7	9.0		8.3	18.2
37	บือเกษตร	15.5	7.6	10.0	16.4	11.0	9.5	11.3	13.0	2.2	3.9		23.3		18.2
38	บือข่า	15.3	6.6	8.8	11.0	9.0	11.6	14.8	15.5	2.2	4.4	7.7		8.0	16.7
39	บือโปะโละพะ	15.8	6.8	10.3	13.4	9.1	12.2	20.5	17.1	2.0	3.8	9.0	15.3		16.7
40	บือซอมี	1.8	10.0	13.0	19.5	12.9	8.8	14.9	13.6	2.2		13.7	17.8	9.8	16.7
41	ข้าวแพร่	14.5	7.1	7.3	18.2	12.6	12.3	15.2	16.4	2.4	4.4	10.4	19.6	8.3	15.4
42	บือทอวา	18.3	8.4	11.3	20.6	12.1	13.8	10.5	10.9	1.7	4.5	9.6			9.1
43	บือกิ	11.3	7.2	9.6	13.7	10.1	12.1	17.7	14.4	2.2	5.2		16.1	11.7	8.3
44	บือเขวะ	13.5	7.6	11.6	16.5	8.5	14.1	24.5	14.3	1.0	5.7	13.5	17.2	7.9	7.7
45	บือพะโดะ	0.7	10.6	7.9	12.7	10.8	13.0	19.0	14.3	0.6	5.5	13.9	18.8		16.7
46	ข้าวดอกพุด	8.7	8.6	9.3	14.1	8.9	11.5	8.0	22.7	2.1	5.7	10.0	20.8	9.5	7.7
47	ข้าวเหมยหลวง	13.8	12.6	14.2	17.6	10.0	4.6	13.0	21.0	1.6	4.3	7.3	11.4	6.5	15.4
48	ข้าวบ่าตาล	13.5	9.0	10.1	17.1	7.9	13.4	10.1	12.0	2.1	3.5	11.8	18.5	8.2	15.4
49	บือโปะโละ	12.1	11.4	14.0	19.4		14.0	8.1	15.0	1.7	2.9	21.5		9.5	18.2
50	บือซอมี	12.2	7.3	9.4	18.0		8.0	8.6		2.1	4.4	11.2		9.8	20.0

ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ)

No.	สายพันธุ์	Isolates/Pathotype group													
		9	6	13	10	22	21	12	17	2	3	23	11	19	
		TXO136	TXO49	TXO61	0304	TXO40	TXO16	TXO34	0096	0303	TXO4	9603	TXO113	TXO132	%BSR
51	เบล้ไจ้	14.5	9.0	14.0	14.9	9.3	7.9	12.6	14.7	2.3	2.9	10.8			18.2
52	บือโซ	18.9	8.7	15.9	15.3	11.8	14.0	15.9	18.0	2.5	4.0	10.3			18.2
53	บือกวา	12.9	11.5	18.1	17.5	10.3	10.6	13.6	12.8	3.2	4.1	12.8	19.9		16.7
54	เบล้กะมอ	11.9	11.9	8.7	17.1	11.0	7.0	8.9	10.8	1.9	3.2	9.5			18.2
55	เบล้ด๊ะ	15.6	8.9	14.0	14.7	10.6	15.7	2.4	20.0	2.3				6.6	22.2
56	ข้าวแพร่กลาง	17.3	10.6	11.7	13.6	7.1	9.8	11.3	12.1	1.2	5.3	10.2	16.8		8.3
57	เบล้ปอซิ	16.0	12.8	13.2	4.6	8.4	7.0	16.8	14.4	2.0	4.8	10.8		5.0	9.1
58	บือมื่อ	10.3	8.0	12.0	14.4	10.5	14.3	20.1	10.7	1.8	3.7	10.3	16.9	5.8	15.4
59	บือข่า		10.8	9.1	20.1	11.4	9.7	18.4	12.0	2.6	4.0	11.4			18.2
60	บือโพปริ	24.4	16.3	12.2	23.0	9.4	15.0	16.6	14.0	1.1	5.7	12.1		5.5	8.3
61	บือซอมี	18.2	8.2	8.8	17.9	20.1	9.3	7.2		2.6	3.2	8.5		8.8	18.2
62	บือปีอิ	18.8	14.7	11.9	19.9	12.9	17.8	4.0	12.4	2.7	5.2	11.2			18.2
63	ข้าวเมอ	16.4	11.5	9.6	18.4	11.0	12.2	8.4	12.0	2.9	4.2	11.2			18.2
64	ขามเหนี่ย	15.2	11.4	14.7	22.9	12.8	10.3	5.9	12.5	1.6		9.6	18.4		18.2
65	บือแม้วพะโคะ		10.6	8.6	17.4	8.8	12.4	15.3		2.4		13.1			11.1
66	บือแม้วซิแก	6.0	11.7	15.3	7.5	9.2	14.6	16.1		3.0	3.8	13.3	11.4		18.2
67	มะแป้	10.6	6.8	7.1	8.8	7.7		11.3	11.0	1.9	2.5	8.9			22.2
68	นิกอ	7.7	5.4	9.1	10.5	9.5	15.4	11.8	16.8	3.3		9.1			11.1
69	SMGC89001	15.7	11.9	9.8	8.4	11.3	10.3	6.0	12.2	3.0		12.6		10.2	9.1
70	ดามูด๊ะ	14.4	8.6	10.1	10.8	8.3	11.7	8.6	11.4	2.2		7.7	11.5	2.8	16.7
71	ขะสอ	22.6	9.7	17.7	14.9	11.3	11.3	10.2	12.7	2.8	5.1	9.1		11.3	8.3
72	แพร่วา	18.5	10.0	13.2	13.4	13.8	7.8	17.4	10.0	2.8	6.1	10.6		11.5	8.3
73	บือพะคู่	12.1	8.6	22.6	11.5	10.1	6.6	15.8	10.0	2.0		9.7			10.0
74	ไคร้หมี่ส้า	21.3	7.3	15.9	11.0	9.8	14.8	12.4	5.2	1.8	6.6	7.0			9.1
75	ข้าวดำ	16.8	13.0	10.9	16.0	8.1	10.5	13.3	5.5	2.4	9.0				10.0

ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ)

No.	สายพันธุ์	Isolates/Pathotype group													
		9	6	13	10	22	21	12	17	2	3	23	11	19	
		TXO136	TXO49	TXO61	0304	TXO40	TXO16	TXO34	0096	0303	TXO4	9603	TXO113	TXO132	%BSR
76	บือคู้ได้		7.8	11.7	8.2	5.5	0.4	12.3	9.5		2.6	12.1		11.3	18.2
77	ฌ๊างีดะ	16.6	8.7	10.4	14.5	9.2	6.8	10.1	8.7	2.8	6.0	12.1		11.0	8.3
78	เชียงรุ้ง502	1.0	1.3	2.1	0.7	7.0	9.1	3.9	2.1	1.2	2.0	2.2	2.2		83.3
79	ยากู่	1.2	1.4	6.7	2.1	11.0	0.1	2.8		2.2	0.8	2.4	4.1	1.6	75.0
80	บือซิ		13.2	14.6	21.4	7.8	0.1	9.1	6.4	1.7	3.6	9.0		9.6	16.7
81	บือพะทอ	19.6	7.8	15.1	18.3	11.7	6.6	12.3	8.1	1.3	3.1	12.1	16.4		16.7
82	ข้าวหลวง	20.0	10.7	15.9	19.1	9.7	4.4	15.8	8.7	1.9	2.4				30.0
83	ปางอุ่ง	22.8	2.7	18.9	13.9	8.5	11.9	5.2	8.7	1.8	2.9	11.4		12.4	25.0
84	บือกิ	22.2	11.5	13.9	19.8	10.4	17.6	7.1	7.3	2.4	3.3	7.9			18.2
85	แซะล่า	20.9	9.8	8.0	7.4	11.2	5.1	8.6		3.1		30.0	15.6	9.9	9.1
86	แซะเน	17.8	10.8	15.8	15.6	10.7	5.0	8.4	10.9	1.6	3.2	12.6			18.2
87	ข้าวเหลืองหอม	20.8	10.0	8.2	13.2	13.7	3.9	9.3	13.2	3.0	3.4	5.6	16.5	10.8	23.1
88	จะพูมา		7.1	7.0	12.5	8.3	11.1	7.4			3.0	8.2		6.8	10.0
89	ลาซอ	9.6	9.6	16.3	12.0	9.2	18.1	11.2	6.5	2.7	3.8	12.4			18.2
90	วอจี่ซะ	8.9	9.2	18.3	18.9	14.6	6.1	7.3	6.6	1.9	2.3	7.8		7.8	16.7
91	กข.1	14.6	7.8	11.7	7.9	11.4	5.2	9.5	7.1		2.1	10.5	9.0	4.5	8.3
92	กข.4	15.2	8.4	15.9	10.8	8.3	6.0	9.3	4.3	2.1	3.8	3.2	10.0	6.9	30.8
93	กข.7	4.2	1.0	2.0	4.2	10.3	7.0	2.5	0.9	0.7	2.1	5.4	4.1	0.7	76.9
94	กข.10	13.9	8.3	13.4	11.1	10.9	4.6	7.3	10.4	1.3	2.5	2.9	8.7	5.2	23.1
95	กข.23	2.5	1.8	1.3	2.2	3.5	3.3	1.9	1.5		1.8	3.4	3.1	1.5	100.0
96	กข.25	7.0	1.8	2.0	1.7	9.7	3.9	1.8	0.6	0.5	2.9	5.1	16.9	10.1	61.5
97	เชียงรุ้ง	1.6	0.6	0.6	0.4	7.9	6.6	2.6	0.8	0.1	1.6	1.8	4.1		83.3
98	พิษณุโลก60-2	5.4	4.1	3.6		5.3	4.9		1.9		2.9	4.2	6.2	1.8	60.0
99	สุพรรณบุรี1	5.4	1.0	1.4	1.0	6.3		2.2	2.6	0.4	1.9	2.2	3.4	1.6	83.3
100	สุพรรณบุรี2	4.3	1.8	1.7	0.6		1.2	3.3	2.3	1.0	2.3	3.1	3.9	1.4	100.0

ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ)

		Isolates/Pathotype group													
		9	6	13	10	22	21	12	17	2	3	23	11	19	
No	สายพันธุ์	TXO136	TXO49	TXO61	0304	TXO40	TXO16	TXO34	0096	0303	TXO4	9603	TXO113	TXO132	%BSR
101	สุพรรณบุรี60	6.8	2.7	2.6	4.1	7.5	6.5	2.8	1.0		4.0	5.1	5.7	3.1	58.3
102	สุพรรณบุรี90	0.9	0.6	1.2	1.1	6.7	3.0	2.3	1.7	0.3	2.3	1.2	5.4	0.8	84.6
103	ปทุมธานี60	4.7	1.1		2.3		6.6	2.8	1.8	1.2	4.1	1.3	16.1	5.5	58.3
104	หอมคลองหลวง	1.7	0.4	0.2	1.0	7.1		2.0	1.5	1.0	2.7	1.8	4.5	0.4	83.3
105	เวียดนาม1	14.3	5.9	13.6	9.6	5.7	6.4	2.1	3.1	1.1	2.0	9.2		7.8	33.3
106	ไทซุง	14.9	7.6	14.1	18.1	10.5	5.9	12.6	12.4	0.3	4.0	10.4		8.4	16.7
107	ปทุมธานี1	6.0	2.0	3.2	5.3	10.5	3.0	1.8	2.3	0.8	2.1	4.1			72.7
108	ข้าวนาปรัง	0.7	0.9	1.5	1.2	15.0	16.2	1.3	0.4		2.2	3.6	6.3		72.7
109	เหลืองทองนาปรัง	19.9	11.3	8.8	13.8	9.7	18.6	8.9	5.3	1.3	3.4	6.7	12.1	10.0	15.4
110	พวงนาค16	0.8	0.1	0.2	0.7		5.3	2.4		0.6	4.3	2.4		9.2	80.0
111	เก้ารวง88	0.8	0.6	13.1	4.2	8.5		7.7	5.7		3.1	3.8	11.3	1.7	54.5
112	บาสมาติ370	15.1	4.8		6.2	8.4	13.7	9.0	1.5		3.6	6.3	13.0	4.5	25.0
113	เหลือง52	3.4	2.3	4.6	1.4	4.2	5.1	2.6	1.2		2.2	1.5	4.9	1.1	75.0
114	ประดู่แดง	21.4	9.8	10.5	16.5	6.9	6.9	7.7	5.0	1.6	3.6	13.7	12.1	8.1	15.4
115	เหมยนอง62-M	21.5	9.1	19.0	5.5	8.4		18.3	4.6	0.7	6.6	14.0		9.7	9.1
116	ขาวดอกมะลิ105	21.3	12.7	15.8	17.1	13.8	5.6	7.6		1.0	5.3	12.1	16.4	9.9	9.1
117	ดอเชียงใหม่	21.1	7.6	16.1	20.6	12.3	6.7	11.0		1.0	5.1	13.3	13.9	10.2	9.1
118	เหนียวสันป่าตอง	13.6	6.8	10.7	11.9	6.2	10.8		4.3	2.0	2.0	16.1	15.3	9.6	25.0
119	สันป่าตองดอ	20.4	9.5	16.4	14.0	11.1	15.4	4.4	8.0	2.3	5.9	16.2	14.5	10.6	15.4
120	กข.15 (1)	18.2	12.5	16.0		10.8	6.6	3.0	7.4	0.6	5.5	15.2	14.6	8.2	16.7
121	กข.8	14.7	8.5	10.1	10.2	7.8	12.0	6.9	7.8	1.3	3.9	10.6	9.1	6.8	15.4
122	กข.6(เมล็ดยาว)	0.6	0.8	14.0	1.7	5.4	21.6	5.3	0.7	0.8	2.4	2.9	12.8	3.8	61.5
123	กข.6(เมล็ดใหญ่)	15.3	8.5	15.4	20.4	9.3	13.1	12.7	6.3	1.4	4.3	8.8	12.5	7.6	15.4
124	กข.6	15.7	10.9	15.5	18.0		15.8	10.8		1.3	5.7	12.1	12.8	7.8	9.1
125	กข.15 (2)	17.5	9.0	19.2	19.8	9.3	9.4	10.7	10.7	1.0	5.5	35.8	15.0	9.4	8.3

ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ)

No.	สายพันธุ์	Isolates/Pathotype group													
		9	6	13	10	22	21	12	17	2	3	23	11	19	
		TXO136	TXO49	TXO61	0304	TXO40	TXO16	TXO34	0096	0303	TXO4	9603	TXO113	TXO132	%BSR
126	กข.11	19.8	7.9	12.5	8.1			8.5	7.2	1.4	2.4	7.3	8.2	6.1	18.2
127	เหนียวหอม	23.0	7.4	10.8	12.1		13.1		7.3	0.4	1.7				25.0
128	หางยี71	21.1	9.7	16.8	13.2	9.5	6.4	8.8	0.8	1.3	2.8	14.3	14.5	9.5	23.1
129	ดอกเหลือง88	14.7	6.1	8.9	10.8	9.8	13.7	7.7	1.7	1.4	3.1	12.2	11.8	7.4	23.1
130	เผือกน้ำ43	12.0	7.4	13.6			6.8	7.5	13.1	1.0	3.0	11.8			22.2
131	ข้าวกล่ำ	18.6	9.7	12.9		12.8	12.3	9.2	9.2	2.9	3.6	13.4	14.0	8.5	16.7
132	เหนียวหมาหอน		8.8	12.7	0.1	10.4	12.4	10.4	7.5	1.5	3.9	12.3	14.2	7.7	25.0
133	ใบลด		10.0	16.4	15.4	8.3	9.2	9.0	6.5		2.5	13.0			11.1
134	ดอกพยอม	3.1	2.0	7.4	8.5	5.9	10.1	0.8		0.6	3.3	1.4	3.9	1.0	66.7
135	ขี้กามแดง	0.1	4.7	17.1	20.7	7.0	14.6	13.1		1.0	2.6	11.5	10.7	10.1	25.0
136	ดอแพร่	14.4	11.3	15.3	18.1	7.2			8.8	1.4	3.5	16.0	13.7	10.5	18.2
137	หอมอ้ม		11.0	15.6	11.4		13.8	5.0		2.4	3.6	14.5	11.0	10.5	20.0
138	ขี้กามใหญ่	13.2	11.3	15.0	11.3	9.0	3.9	9.9		1.8	3.1	14.7	12.5	1.7	33.3
139	น้ำสะกุย19	0.8	0.9	17.8	3.6	2.7	18.6	4.2		0.5	2.3	5.7	12.8	7.5	58.3
140	ข้าวหอมเมืองพาน	10.1	1.7	15.0		8.0	9.8	4.3		0.8	4.0	9.5	7.6	10.6	36.4
141	เหนียวหอมมะลิ	20.9	15.3	16.2		11.6	17.2	13.8		2.9	4.2	15.3	13.8	8.0	18.2
142	กาบดำ	19.7	9.5	25.4	13.9	4.8	6.2	9.9		2.5	5.2	12.7	11.5	8.4	8.3
143	เมล็ดมะขาม	16.2	12.5	18.4	13.7	10.8	11.4	6.2	9.6	1.5	6.2	15.2	14.6	7.8	7.7
144	ขว้าง	18.0	12.2	20.6	13.8	11.0	14.4	15.1	11.7	1.6	3.7	10.5	11.0		16.7
145	แก้ว	14.3	10.8	16.1	5.6	6.1	6.4	11.2	9.2	2.8	4.1	13.3		6.9	16.7
146	เฟื่องคำ	16.4	11.8	16.1	6.3	11.1	4.6	9.9	10.3		2.8	15.0	11.9	10.8	8.3
147	แตงอ่อน	11.5	10.0	18.8	8.9	9.1	5.0	9.0			4.4	12.0		7.9	10.0
148	เล็บช้าง	19.3	10.1	16.6	8.9	8.2	3.5	9.9	11.2	1.7	2.8	11.3	12.1	7.5	15.4
149	มหาวงศ์	15.4	11.4	15.2	11.1	7.8	5.7	7.5	14.7	1.8	2.9	13.1	12.2	8.8	15.4
150	ผาโค้ง	15.2	7.0	20.7	3.4		5.1	5.8		1.4	2.1	12.4	13.1	8.7	25.0

ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ)

		Isolates/Pathotype group													
		9	6	13	10	22	21	12	17	2	3	23	11	19	
No.	สายพันธุ์	TXO136	TXO49	TXO61	0304	TXO40	TXO16	TXO34	0096	0303	TXO4	9603	TXO113	TXO132	%BSR
151	ลูกเขย		8.6		4.7	14.4	2.8	10.4	9.1		3.8	8.2	15.3	7.1	20.0
152	มะตาล	13.5	12.5	17.1	5.9	7.3	7.0			1.0	4.1	14.8	13.0	10.8	9.1
153	ลาบน้อย	16.3	11.7	16.8	11.2	7.6	10.7	13.3	12.2	1.0	4.1	14.5	12.1	5.6	15.4
154	ดอมานะ	13.0	9.4	15.7	4.8	5.3	8.6	9.6	12.5	0.9	3.6	11.3	10.2		16.7
155	เลือดวัว	17.7	14.5	15.8	11.7	8.9	6.6	4.4	16.0	2.2	5.8	9.5		8.9	16.7
156	วังซ้อน	17.2	1.4	21.8	6.1	7.4	6.5	14.5	11.9	0.7	5.5	12.8	16.6	5.5	15.4
157	เสมอใจ	0.7	8.7	20.1	3.0	2.9	3.1	12.1	1.3	0.9	2.7	7.7	13.9	7.1	53.8
158	ขาวตาเสียม	16.8	8.7	15.5	6.4		12.1	8.3	15.1	1.4	5.6	12.1	10.7	7.6	8.3
159	นางหมาผอบ	17.9	12.1	16.4	8.7	6.8	4.5	11.1		1.3	1.8	14.7	18.5	6.6	16.7
160	ขาว	17.4	14.8	15.8	5.9	7.8	6.8		12.7	1.3	5.5	19.0		9.2	9.1
161	ดอกพุดลาย	20.3	13.3	18.4	18.5	11.1			17.0	2.2	3.1	11.7	9.4	7.8	18.2
162	ม้าน้ำโพธิ์	12.8	13.0	17.2	7.8	8.3	4.7	6.6	8.1	1.3	3.2	18.5	9.3		16.7
163	แม่ห้าง	9.1	9.1	13.2	3.7			10.4	14.0	1.6	2.8	11.0		8.7	30.0
164	พวงหางยี	20.5	15.1	21.2	8.8		3.7	13.9	14.8	1.3		20.2	11.4	8.1	18.2
165	นางก๋าย	16.1	10.4	16.2	6.6	7.2	2.8	9.4	15.1	0.9	2.7	14.9	10.0	8.4	23.1
166	ดอขาว	18.2	11.3	17.9	5.1	14.0	7.5	8.0	7.9	2.0	3.2	17.6	12.9	7.3	15.4
167	กาบอ๋อย	16.4	11.7	15.8	6.7	8.2	9.2	11.5	9.9	2.0	6.4	16.0	19.6	7.3	7.7
168	เมาะผั่ว	17.5	9.7	12.3	8.0	10.6	5.1	15.9	10.9	1.2	3.8	13.8	11.2	7.6	15.4
169	เฟื่องเหลือง	20.6	8.5	18.2	5.8	2.7	7.7	10.0	5.1	0.7	4.9	12.8	11.4	7.9	15.4
170	ผาโก้งน้อย	14.4	11.4	14.7	6.2	6.2	8.1	8.2	12.7	1.5	4.8	10.2	15.9		8.3
171	ขาวลี้	16.2	7.2	22.7	9.3		7.1	12.6	13.2	1.6	4.2	12.2			20.0
172	กาบแก้ว	23.3	12.7	20.8	14.7	11.8	9.1	11.2	14.0	2.0	4.3	11.7		8.8	16.7
173	กาบซาง	14.5	11.7	18.3	8.6	13.1	6.2	12.2	19.0	1.0	6.5	17.8	15.6		9.1
174	หอมลาว	20.2	9.5	20.7	4.3	8.0		0.9	11.7	1.0	6.2	9.8			30.0
175	เชียงแสน	14.0	11.5	13.9	7.8	8.9	8.3	7.2	12.6	1.0	5.7	10.4			9.1

ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ)

No.	สายพันธุ์	Isolates/Pathotype group													
		9	6	13	10	22	21	12	17	2	3	23	11	19	
		TXO136	TXO49	TXO61	0304	TXO40	TXO16	TXO34	0096	0303	TXO4	9603	TXO113	TXO132	%BSR
176	หลวงเสวย	17.9	8.3	17.2	6.3	11.6	8.5	3.4	21.5		2.7	17.3			20.0
177	ต้นเล็ก	16.4	10.3	12.4	9.5			9.2		1.0	5.5	11.0			14.3
178	ลอย	14.2	9.4	12.2	5.0	6.0	5.3	10.5	10.2	1.1	2.7	8.4			18.2
179	พวงหางหมี	16.3	12.6	11.3	9.4	6.0	5.4	15.0	9.6	1.0	8.5	12.5			10.0
180	อีลุง	7.9	9.2	16.4	8.6	7.6	7.4	9.4	5.8	1.0	3.7	13.3			18.2
181	ข้าวแดง	13.3	10.1	13.5	5.7	5.0	3.7	2.3	9.5	1.1	4.0	13.5			36.4
182	เจ้านาง	17.2	13.9	15.1	9.3	6.4	5.5	16.0	11.5	1.0	5.1	13.1	12.1	10.1	7.7
183	สันป่าขาว	14.4	12.7	13.9	1.8	11.1	10.9	10.6	20.0	1.6	5.6	18.8	16.4	11.7	15.4
184	เหลืองหลวง	13.4	7.9	12.1	8.3	12.8	21.2	9.3	11.2	1.1	5.3	13.2	13.5	28.6	7.7
185	แม่แป๊ก	14.9	10.3	12.7	4.8	13.0	9.4	13.3	18.1	1.5	4.8	15.5	16.1	9.3	7.7
186	มะตาลปี	16.5	14.5	13.3	8.0	7.1	6.4	11.9	17.2	1.0	4.3	12.2	11.2	10.9	15.4
187	เหลืองประทาน	16.1	8.9	14.6	6.8		9.0	9.6	23.7	1.2	3.6	12.6	12.5	8.1	16.7
188	ข้าวมุม	15.0	14.2	17.3	5.6	9.6	6.5	11.8	16.7	0.7	3.4	16.2	13.5	11.3	15.4
189	ปีลาว	15.1	15.3	11.1	8.1	12.3		15.5		1.0	5.0	17.1	19.0	11.6	9.1
190	ลายน้อย	15.2	9.7	14.7	10.6	8.4	3.6	9.0	14.3	1.3	2.9	13.5	13.6	9.9	23.1
191	ลาบหลวง	17.8	19.2	15.1	12.6	10.4	5.9	13.9	15.3		3.3	10.7	14.0	11.6	8.3
192	ดงน้อย	15.8	15.4	14.0	8.8	7.1	6.5	11.3	15.2	0.6	3.1	13.1	14.3	11.0	15.4
193	หอมนางนวล	16.8	11.6	15.1	9.2		2.3	14.8	17.8	2.1	4.3	15.0	13.1	11.1	25.0
194	ขี้ตมขาว	15.3	8.4	12.6	10.5	8.0	4.4	10.7	17.3	1.0	40.7	12.6	13.7	8.3	15.4
195	อะอิ	16.6	11.0	14.7	9.3	8.7	8.8	16.1	23.0	2.2	4.5	16.6	11.4	13.2	15.4
196	ผา37-3-6	15.5	15.5	16.2	9.6	14.3	9.6	7.6	15.3	1.8	4.0	16.5	10.3	12.3	15.4
197	เจ้าช่อ	17.2	19.7	12.6	1.6	12.8	9.9	12.7	30.0	1.6	7.1	12.1	16.7	12.1	15.4
198	พันธุ์เตี้ย	16.7	16.3	17.5	4.7	11.3	10.0	13.0	28.3	1.3	5.7	8.9	14.0	12.2	7.7
199	กาบช้าง	14.2	12.1	13.4	5.7	10.6	7.5	12.9	16.8	1.2	1.0	14.2	14.5	10.1	15.4
200	ขาวโป่งไคร้	1.9	5.2	5.4	7.9			9.2	22.1	0.5			16.3	11.3	22.2

ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ)

		Isolates/Pathotype group													
		9	6	13	10	22	21	12	17	2	3	23	11	19	
No.	สายพันธุ์	TXO136	TXO49	TXO61	0304	TXO40	TXO16	TXO34	0096	0303	TXO4	9603	TXO113	TXO132	%BSR
201	เจ้าลีซอ	6.6	3.9	7.7	1.9	7.4	3.1	7.5	14.5	0.5	3.1	8.7	6.2	8.1	38.5
202	จ้าวลาซอ	10.9		18.0	8.6	6.6	7.5			1.0	3.4	10.1		12.7	22.2
203	ขาวปากหม้อ	8.8	10.8	13.8	4.8	9.3	7.1	1.6	10.3	1.0	3.0	8.7	12.0	4.8	23.1
204	หอมพม่า No.12	10.1	13.1	13.0	7.9	7.5	6.1	8.9	12.5	0.6	3.1	8.4	9.5	6.1	15.4
205	ข้าวทนหนาว	9.0	11.5	4.6	2.4	7.7	7.1	6.5	3.9	0.2	4.5	4.9	9.5	4.7	30.8
206	หอมพม่า No.827	9.1	10.2	13.3	8.1	4.2	3.9	12.3	0.5	0.5	2.3	3.4	11.7	7.2	46.2
207	IR62266	0.1	0.0	0.4	0.3	1.4	3.6	0.5	0.1	0.1	0.5	0.9	1.6	0.4	100.0
208	IR64	1.0	0.9	3.2	0.8	8.1	5.8	1.6	0.7	0.3	4.0	2.2	3.1	1.9	84.6
209	IR1188	4.2	8.0	4.5	1.1	3.1	2.2	4.3	6.4	0.8	1.7	2.1	3.7	1.4	76.9
210	CT9993	1.2	0.3	2.7	0.6	8.6	6.0	2.0	18.1	0.4	2.4	1.2	3.9	1.2	76.9

ตารางผนวกที่ 5 แสดงค่า phenotype และ genotype ประชากร F_2ระหว่างข้าว CR502/กข.6*Blast

		Pathotype	Genotype				Pathotype	Genotype	
No.	CODE	TXO136	RM254	RM144	No.	CODE	TXO136	RM254	RM144
1	CR502	1.0	CR	CR	26	3X	12.5	RD	RD
2	RD6*Blast	18.0	RD	RD	27	4X	13.7	RD	RD
3	F_1	3.0	H	H	28	5MR	2.7	CR	CR
4	16	2.3	CR	CR	29	6X	12.4	RD	RD
5	28	2.2	CR	CR	30	8MS	6.8	H	H
6	35	2.0	CR	CR	31	9R	2.0	H	
7	65	0.9	CR	CR	32	10R	2.5	CR	CR
8	95	2.0		CR	33	12MS	5.0	H	
9	144	2.1	CR	CR	34	13R	2.5	H	H
10	147	2.0	CR	CR	35	15X	14.8		
11	171	1.8	CR	CR	36	16R	2.3	H	H
12	267	2.0	CR		37	18R	2.8	H	H
13	269	1.6	CR	CR	38	19MR	3.5	CR	CR
14	15	14.8	RD	RD	39	21R	2.4	H	H
15	24	13.4	RD	RD	40	22MR	4.3	CR	H
16	32	14.9	RD	RD	41	23MS	6.6	H	H
17	43	17.2	RD	RD	42	24X	13.4	RD	
18	44	15.6	RD	RD	43	26MR	4.4	H	H
19	45	16.6	H	RD	44	27MR	5.6	H	H
20	74	15.8	RD	RD	45	28R	2.2	CR	
21	111	17.5	RD	RD	46	29R	2.7	H	CR
22	179	15.2	H		47	30X	11.0	RD	H
23	188	14.4	RD	H	48	31X	13.8	H	RD
24	1MR	3.3	CR	CR	49	32X	14.9	RD	RD
25	2MS	7.2	H	H	50	33R	2.8	RD	H

ตารางผนวกที่ 5 (ต่อ)

		Pathotype	Genotype				Pathotype	Genotype	
No.	CODE	TXO136	RM254	RM144	No.	CODE	TXO136	RM254	RM144
51	34MS	5.8	H	H	76	66X	12.9	RD	RD
52	35R	2.0	H	CR	77	67X	12.7	RD	H
53	36MR	3.9	CR	CR	78	69X	12.0	RD	RD
54	37MR	3.6	CR	CR	79	70R	1.4	CR	CR
55	38MR	2.8	CR	CR	80	71X	15.7	RD	RD
56	40X	14.6	RD		81	72R	2.0	CR	CR
57	41MR	4.3	CR		82	74X	15.8	RD	RD
58	42X	15.5	RD	RD	83	76MR	2.5	H	CR
59	43X	17.2	RD	RD	84	77X	10.9	RD	RD
60	46X	9.8	CR	H	85	78MR	4.6	H	CR
61	47X	14.0	RD	RD	86	79MR	2.8	CR	CR
62	48MS	6.4	H	H	87	80X	16.1	RD	RD
63	49MR	2.6	CR	CR	88	81MR	3.0	H	H
64	50X	18.0	RD	RD	89	82X	13.5	RD	RD
65	51R	2.6	H	H	90	83X	12.6		RD
66	52MR	3.4	CR	CR	91	88MS	3.1	H	H
67	53MR	3.0	CR	CR	92	89MR	3.5	H	H
68	54X	15.1	RD	RD	93	90MS	5.6	H	H
69	55X	4.1	H	H	94	91MR	4.3	H	H
70	56X	5.0	CR	CR	95	93MR	3.3	H	H
71	61X	17.5	RD	RD	96	95R	2.0	CR	CR
72	62MR	3.5	H	H	97	97MR	3.6	H	H
73	63MR	2.2	CR	CR	98	98MR	3.9	H	H
74	64X	17.0	RD	RD	99	100MR	4.4	CR	CR
75	65R	0.9	CR	CR	100	101MS	6.4		H

ตารางผนวกที่ 5 (ต่อ)

		Pathotype	Genotype				Pathotype	Genotype	
No.	CODE	TXO136	RM254	RM144	No.	CODE	TXO136	RM254	RM144
101	102MR	3.6	H		126	148X	13.0	RD	H
102	103MR	3.1	H		127	149MR	2.2	RD	H
103	105X	13.6	RD	RD	128	152X	7.0	H	H
104	106MR	4.2	H	H	129	154R	1.9	H	H
105	107MR	2.6		CR	130	155MR	2.0	H	H
106	108MR	3.6	H	H	131	156MR	2.7	H	CR
107	109R	1.4	H	CR	132	157MS	6.2	H	H
108	110MR	2.8	CR	H	133	158MR	3.6	H	H
109	112MR	4.4	H	H	134	160R	2.3	H	H
110	115MR	3.7	H	H	135	161X	16.5	RD	H
111	116MR	3.5	H	H	136	162MR	4.4	H	H
112	117MS	5.1	H	H	137	163MR	2.7	H	H
113	118MR	2.4	H	H	138	164MR	3.6	H	
114	119MR	2.5	CR	CR	139	165X	11.0	RD	
115	121MR	3.1	H	H	140	166MR	1.9	H	H
116	122X	15.3	RD	RD	141	167MR	4.8	H	H
117	124MS	4.9	H	CR	142	168MS	6.6	H	H
118	125MS	5.9	CR		143	169R	1.3	CR	CR
119	127MR	3.8	CR		144	170X	15.8	RD	RD
120	128MR	2.5	H	RD	145	173MR	2.5	CR	CR
121	129X	12.3	RD	RD	146	175R	1.9	CR	CR
122	130MR	3.2	CR	CR	147	177MS	5.0	H	H
123	131MR	3.8	H	H	148	181R	2.7	CR	CR
124	145MR	4.4	H	H	149	183MR	2.9	H	H
125	146X	10.1	H	RD	150	184MR	3.0	H	H

ตารางผนวกที่ 5 (ต่อ)

		Pathotype	Genotype				Pathotype	Genotype	
No.	CODE	TXO136	RM254	RM144	No.	CODE	TXO136	RM254	RM144
151	185MR	3.2	H	H	176	215R	2.0	CR	CR
152	186X	12.8	RD	RD	177	216MR	5.3	H	H
153	187MR	3.4	H	H	178	217MS	4.4	H	H
154	189MR	3.5	H	H	179	218MS	5.9	H	H
155	190MR	3.7	H	H	180	219MS	6.0	H	H
156	191X	15.5	H	RD	181	220MR	3.5	H	H
157	193MR	2.9	H	CR	182	221X	17.8	RD	H
158	194X	10.6	RD	RD	183	223X	12.8	RD	RD
159	195MS	4.0			184	224R	2.1	H	H
160	196MS	8.3	H	H	185	225MR	2.7	H	H
161	197X	18.0	RD	RD	186	226MR	2.8	H	CR
162	198MR	3.8	H		187	227MR	2.9	CR	CR
163	200MS	3.5	H	CR	188	228X	13.9	H	H
164	201MS	5.2	H	H	189	229MR	3.9	CR	
165	202X	14.8	RD	RD	190	230MS	4.3	H	
166	203MS	4.9	H	H	191	231R	1.7	CR	CR
167	204MS	5.3	H	H	192	232MR	3.0	H	H
168	205MR	2.5	H	CR	193	233MS	4.8	H	H
169	206MR	2.5	H	H	194	234MS	4.6	H	H
170	207MS	6.3	RD	H	195	235X	5.7	H	H
171	209MR	2.7	CR	CR	196	237MS	5.3	H	H
172	211X	6.0	RD	H	197	238MR	4.1	H	H
173	212MR	4.2	H	H	198	239MS	5.1	H	CR
174	213MS	6.2	CR	CR	199	240X	17.5	RD	RD
175	214MS	6.2	CR	H	200	241MR	2.5		

ตารางผนวกที่ 5 (ต่อ)

		Pathotype	Genotype				Pathotype	Genotype	
No.	CODE	TXO136	RM254	RM144	No.	CODE	TXO136	RM254	RM144
201	242MR	2.3	H	H	212	256MR	4.8	CR	CR
202	244MR	2.5	CR	CR	213	257MR	2.3	RD	CR
203	245MR	3.4		CR	214	260MR	3.2	CR	H
204	246MR	4.5	H	CR	215	261R	3.1	CR	CR
205	247X	13.0	RD	RD	216	262MR	2.7	H	CR
206	248MR	2.2	H	H	217	263X	12.4	RD	H
207	249X	12.2	H	H	218	264MS	5.4	H	H
208	250MR	4.0	H	CR	219	268MS	6.4	H	H
209	251R	2.0	H	CR	220	270MS	3.1	CR	H
210	253MR	3.6	H	CR	221	271X	12.2	RD	RD
211	254MR	3.9	CR	H	222	94R	1.8	CR	CR

หมายเหตุ pathotype คือค่าความยาวของแผล (cm.) จากการทดสอบกับเชื้อแบคทีเรีย TXO136 genotype คือประเภทแถบ DNA marker ในประชากรF_2 ที่เป็น resistance homozygous เหมือนพันธุ์เชียงรุ้ง 502 (CR) กลุ่ม heterozygous (H) และกลุ่มประชากรที่เป็น susceptible homozygous เหมือนพันธุ์ RD6*Blast (RD)

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	แสงชัย ศรีประโคน
วัน เดือน ปี ที่เกิด	26 กรกฎาคม 2518
สถานที่เกิด	จ.สุรินทร์
ประวัติการศึกษา	เทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร
ตำแหน่งหน้าที่การงานปัจจุบัน	ผู้ช่วยนักวิจัย
สถานที่ทำงานปัจจุบัน	หน่วยค้นหาและใช้ประโยชน์จากยีนข้าว (Rice Gene Discovery Unit) แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม
ผลงานดีเด่นและรางวัลทางวิชาการ	
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ได้รับทุนการศึกษาจากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ (BIOTEC)