

การรวมยอยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 3 ชนิด
จากข้าวสายพันธุ์ผสมกลับ BC₄F₃₋₄ [(ราตูฮีเนติ/ข้าวดอกมะลิ 105) × ชัยนาท 1] และ
[(อาบาญา/ข้าวดอกมะลิ 105) × ชัยนาท 1]

Pyramiding 3 Brown Planthopper Resistant Genes from BC₄F₃₋₄
Backcross Rice Lines [(Rathu Heenati/KDML105) × Chai Nat 1] and
[(Abhaya/KDML105) × Chai Nat 1]

วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ^{1/*} สมชาย ธนสินชัยกุล^{2/} เจตน์ คชฤกษ์^{3/} และคณิดา เกิดสุข^{3/}
Weerathep Pongprasert^{1/*}, Somchai Tanasinchayakul^{2/}, Jate Kotcharerk^{3/} and Kanita Kerdusuk^{3/}

^{1/}ภาควิชาวิทยาศาสตร์การเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก 65000

^{1/}Department of Agricultural Science, Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand

^{2/}ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140

^{2/}Department of Entomology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Nakhon Pathom 73140, Thailand

^{3/}ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก อำเภอวังทอง จังหวัดพิษณุโลก 65000

^{3/}Phitsanulok Rice Research Center, Wang Thong, Phitsanulok 65000, Thailand

*Corresponding author: E-mail address: weerathepp@gmail.com

(Received: 1 August 2015; Accepted: 30 September 2015)

Abstract: The objectives of this study were to produce F1 rice lines that pyramided 3 brown planthopper (BPH, *Nilaparvata lugens* (Stål)) resistant genes from of BC₄F₃₋₄ backcross rice lines ((Rathu Heenati/KDML105) × Chai Nat 1) and ((Abhaya/KDML105) × Chai Nat 1) and evaluate on the reactions of those F1 lines on brown planthoppers (BPH) collected from irrigation paddy fields in lower northern Thailand. The experiments were carried out in green house. The evaluation on F1 was performed based on randomized complete block design with 4 replications, using 9 standard rice varieties for comparison: PTB33, TN1, A12-26-201-436, R8-24-1-183-84-227, Chai Nat 1, Rathu Heenati, KDML105, Abhaya, and Rathu Heenati/KDML105 and indices for resistant evaluation based on standard evaluation system for rice from International Rice Research Institute (IRRI). The result revealed that the total of 292 seeds of F1 rice lines from R8-24-1-183-84-227 carried *Bph3* resistant gene and A12-26-201-436 carried *Qbph6* and *Qbph12* resistant genes was produced. The reactions of those F1 rice lines responded to the infestation of BPH populations were better than those of their parents. The remarkable recovery of those F1 rice lines from the damage caused by the infestation of BPH was found at 29 and 33 days after BPH release and damage score was in the same level as found in PTB33 and BPH resistant check varieties.

Keywords: Brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål), resistant variety, pyramiding genes

บทคัดย่อ: วัตถุประสงค์ของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เพื่อสร้างลูกผสม F1 ซึ่งเป็นการรวบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (BPH, *Nilaparvata lugens* (Stål)) จำนวน 3 ชนิดจากข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC₄F₃₋₄ [(ราตยูเ็นติ/ขาวดอกมะลิ 105) × ชัยนาท 1] และ [(อาบาญา/ขาวดอกมะลิ 105) × ชัยนาท 1] และศึกษาปฏิกิริยาของข้าวสายพันธุ์ลูกผสมดังกล่าวกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเก็บรวบรวมจากนาเขตชลประทานของภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย การทดลองดำเนินการในเรือนทดลอง การทดสอบข้าวลูกผสมใช้แผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ 4 ซ้ำ โดยมีพันธุ์ข้าว/สายพันธุ์ข้าวเปรียบเทียบจำนวน 9 พันธุ์/สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์พ่อ A12-26-201-436, สายพันธุ์แม่ R8-24-1-183-84-227, ชัยนาท 1, ราตยูเ็นติ, ขาวดอกมะลิ 105, อาบาญา, ราตยูเ็นติ×ขาวดอกมะลิ 105 และการประเมินผลปฏิกิริยาของข้าวต่อการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลใช้เกณฑ์มาตรฐานตาม Standard Evaluation System for Rice ของ IRRI ผลการทดลองสามารถผลิตลูกผสมที่มีการรวบยีนต้านทานทั้ง 3 ชนิดได้จำนวน 292 เมล็ด และข้าวสายพันธุ์ลูกผสมดังกล่าวแสดงปฏิกิริยาตอบโต้ต่อการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในภาคเหนือตอนล่าง ได้ในระดับที่ดีกว่าพ่อและแม่ รวมทั้งมีความสามารถในการฟื้นตัวจากความเสียหายที่เกิดจากการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะกล้าได้อย่างรวดเร็ว จนอยู่ในระดับที่ไม่แตกต่างจากพันธุ์ต้านทานมาตรฐานเปรียบเทียบคือ PTB33 ที่ 29 และ 33 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลาย

คำสำคัญ: เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ยีนต้านทาน การรวบยีน

คำนำ

เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens* (Stål)) (= *Delphax oryzae*) (Hemiptera: Delphacidae) จัดว่าเป็นหนึ่งในแมลงศัตรูข้าวที่มีการแพร่ระบาดมากที่สุด ในเอเชีย ทั้งตัวอ่อนและตัวเต็มวัยดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นข้าว ทำให้ต้นข้าวมีอาการเหี่ยว และไหม้ตาย (ปริดา และ พันนิภา, 2552) และยังเป็นพาหะถ่ายทอดเชื้อไวรัสโรคเขียวเตี้ย และโรคใบหงิกมาสู่ข้าว ทำให้ข้าวไม่สามารถออกรวง (Heinrichs, 1979; Rivera *et al.*, 1966; Renganayaki *et al.*, 2002) ผลผลิตข้าวลดลงและไม่คุ้มค่าการลงทุน (สุวัฒน์, 2544) การควบคุมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลมักนิยมใช้สารเคมีฆ่าแมลงเป็นหลัก (สำนวน และ วีรเทพ, 2548) ซึ่งมีผลกระทบต่อมนุษย์และสภาพแวดล้อมเป็นอย่างมาก เป็นสาเหตุสำคัญในการทำให้สมดุลธรรมชาติเสียหายอย่างรุนแรง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการทำลายศัตรูธรรมชาติที่สำคัญในนาข้าว นอกจากนี้การใช้สารฆ่าแมลงอย่างต่อเนื่องมีผลทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามารถต้านทาน (resistance) ต่อสารฆ่าแมลงได้อย่างรวดเร็ว และเร่งการกลับมากระบาดใหม่ (resurgence) ให้เกิดได้เร็วมากขึ้น (วีรยุทธ และคณะ, 2556; Heinrichs and Mochida, 1984) การควบคุมโดย

ใช้ข้าวพันธุ์ต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลนั้นเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการป้องกันกำจัดแมลงที่ได้รับการยอมรับว่าเป็นอย่างมาก และเป็นวิธีการที่ปลอดภัยต่อสภาพแวดล้อม

ปัจจุบันมีการค้นพบยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากข้าวพื้นบ้าน ข้าวป่า และหญ้าต่าง ๆ อย่างต่อเนื่อง โดยมียีนต้านทานที่มีคุณลักษณะเด่นไม่น้อยกว่า 21 ชนิด ที่ถูกถ่ายทอดลงสู่ข้าวพันธุ์ต่าง ๆ อย่างไรก็ตามระดับความต้านทานของข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ดังกล่าวเหล่านั้นมักลดลงอย่างรวดเร็วและกลายเป็นพันธุ์อ่อนแอในที่สุด ทั้งนี้เป็นผลจากในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมาการปรับปรุงพันธุ์มักนิยมใช้ยีนเด่นเพียงชนิดเดียวเป็นหลักในการพัฒนาพันธุ์ข้าวต้านทาน กลไกการสร้างความต้านทานไม่ซับซ้อนมาก ทำให้เพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลสามารถปรับตัวเข้าลงทำลายได้ง่ายและรวดเร็วมก การรวบยีน (gene pyramiding) คือการรวมยีนต้านทานแมลงจากข้าวหลายสายพันธุ์ให้อยู่ในสายพันธุ์เดียว เป็นแนวทางที่สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลให้สูงขึ้น ยาวนานขึ้น และครอบคลุมมากขึ้น (Sharma *et al.*, 2004)

ในช่วงระยะเวลาที่ผ่านมาคณะผู้วิจัยได้ดำเนินการปรับปรุงพันธุ์ข้าวลูกผสมกลับ จำนวน 2 สาย

โดยวิธี MAS ตั้งแต่ พ.ศ. 2545 สายแรกเป็นการพัฒนาข้าวลูกผสมพันธุ์ราตูฮีนติ/ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นแหล่งผู้ให้ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด *Bph3* กับพันธุ์ชัยนาท 1 และ สายที่สองเป็นข้าวลูกผสมพันธุ์อาบาญา/ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นแหล่งผู้ให้ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด *Qbph6* และ *Qbph12* กับพันธุ์ชัยนาท 1 และทำการคัดเลือกลูกผสมกลับรุ่น BC₄F₃₋₄ ที่มีคุณสมบัติต้านทานดีที่สุดสายละ 1 สายพันธุ์ คือ R8-24-1-183-84-227 และ A12-26-201-436 ตามลำดับ (เจตน์ และคณะ, 2552ก, ข; พุฒิพงษ์ และคณะ, 2555) โดยข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์มีพื้น (background) ความเป็นข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 สูงถึงร้อยละ 96.875 ทางทฤษฎี นอกจากนี้ข้าว A12-26-201-436 ยังมีคุณสมบัติต้านทานต่อแมลงบั่วได้ในระดับหนึ่งด้วย (วีรเทพ และคณะ, 2557) ดังนั้นหากผสมข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์เข้าด้วยกัน ลูกผสมที่เกิดขึ้น ควรมียีนต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลทั้ง 3 ชนิดรวมเข้าไว้ด้วยกันและมีประสิทธิภาพในการต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ดีขึ้นกว่าสายพันธุ์พ่อและแม่ ในการนี้คณะผู้วิจัยจึงได้ทำการสร้างลูกผสม F1 ซึ่งเป็นการรวบยอยอดยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจำนวน 3 ชนิดจากข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC₄F₃₋₄ ((ราตูฮีนติ/ขาวดอกมะลิ 105) × ชัยนาท 1) และ ((อาบาญา/ขาวดอกมะลิ 105) × ชัยนาท 1) และศึกษาปฏิกิริยาของข้าวสายพันธุ์ลูกผสมดังกล่าวกับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเก็บรวบรวมจากนาเขตชลประทานของภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทยขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

การสร้างลูกผสมเพื่อรวบยอยอดยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล 3 ชนิดจากข้าวสายพันธุ์ผสมกลับ BC₄F₃₋₄ [(ราตูฮีนติ/ขาวดอกมะลิ 105) × ชัยนาท 1] และ [(อาบาญา/ขาวดอกมะลิ 105) × ชัยนาท 1]

ทำผสมข้าวสายพันธุ์ผสมกลับ BC₄F₃₋₄ [(ราตูฮีนติ/ขาวดอกมะลิ 105) × ชัยนาท 1] คือ R8-24-1-183-84-227 กับ BC₄F₃₋₄ [(อาบาญา/ขาวดอกมะลิ 105) × ชัยนาท 1] คือ A12-26-201-436 คัดเลือกเมล็ดพันธุ์ที่มีความสมบูรณ์

การเตรียมเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

รวบรวมประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จากพื้นที่นาชลประทานของภาคเหนือตอนล่าง คือจังหวัดพิษณุโลก พิจิตร กำแพงเพชร ตาก และเพชรบูรณ์ ทำการเลี้ยงเพื่อคัดกรองเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ไม่สมบูรณ์บนข้าวพันธุ์ไทซุงเนทีฟ 1 (TN1) ซึ่งอ่อนแอต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล จากนั้นทำการเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ผ่านการคัดกรองแล้วให้มีปริมาณเพียงพอบนข้าวพันธุ์ TN1 ในโรงเรือนทดลอง

ทดสอบปฏิกิริยาข้าวลูกผสมต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากพื้นที่ภาคเหนือตอนล่าง

ทำการสุ่มคัดเลือกและเพาะเมล็ดพันธุ์ลูกผสมที่ได้จำนวน 50 เมล็ด ในกระบะเพาะทดสอบ ในสภาพทรงเลี้ยงแมลงในโรงเรือน โดยใช้พันธุ์ข้าว PTB33 เป็นพันธุ์มาตรฐานต้านทาน (resistant check) พันธุ์ TN1 เป็นพันธุ์มาตรฐานไม่ต้านทาน (susceptible check) และมีพันธุ์เปรียบเทียบต่าง ๆ ดังนี้ สายพันธุ์พ่อ คือ A12-26-201-436, สายพันธุ์แม่คือ R8-24-1-183-84-227, ชัยนาท 1, ราตูฮีนติ, ขาวดอกมะลิ 105, อาบาญา, ราตูฮีนติ × ขาวดอกมะลิ 105

ปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงไปบนข้าวทดสอบ ตรวจสอบการกระจายตัวของแมลง โดยปิดบริเวณแถวข้าวทดสอบเพื่อให้แมลงมีการเคลื่อนย้ายกระจายตัวให้ทั่วบริเวณแถวข้าวทดสอบในกระบะเพาะ โดยให้มีจำนวนเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลเฉลี่ยประมาณ 5 ตัวต่อต้น ทำการตรวจผลปฏิกิริยาของข้าวพันธุ์และสายพันธุ์ต่าง ๆ ต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เมื่อปล่อยเพลี้ยลงทำลายข้าวได้ 13, 18, 22, 29 และ 33 วัน โดยใช้มาตรฐานตาม Standard Evaluation System for Rice (IRRI, 1988) และวิเคราะห์ข้อมูลจัดทำ dendrogram เปรียบเทียบปฏิกิริยาของข้าวพันธุ์และสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่มีต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล ด้วย hierarchical cluster analysis ใช้วิธีการจัดกลุ่มแบบ between-groups linkage

ผลการทดลอง

การผสมข้าวสายพันธุ์ R8-24-1-183-84-227 กับ A12-26-201-436 ได้เมล็ดพันธุ์ลูกผสม F1 จำนวน 292 เมล็ด และทำการสุ่มคัดเลือกเมล็ดพันธุ์ ทำการเพาะกล้า ได้เมล็ดที่งอกเป็นต้นกล้าจำนวน 50 เมล็ด จำนวน 2 ชุด ให้หมายเลขเมล็ดพันธุ์ R8-227 A12-436-001 จนถึง R8-227 A12-436-100

ผลการทดสอบปฏิกิริยาข้าวลูกผสมต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลจากพื้นที่นาชลประทานของภาคเหนือตอนล่าง โดยใช้พันธุ์ข้าว PTB33 เป็นพันธุ์มาตรฐาน ด้านทาน พันธุ์ TN1 เป็นพันธุ์มาตรฐานไม่ด้านทาน และพันธุ์เปรียบเทียบต่าง ๆ คือ R8-24-1-183-84-227, A12-26-201-436, ชัยนาท 1, ราตุนีเนติ, ขาวดอกมะลิ 105, อาบาญา, ราตุนีเนติ x ขาวดอกมะลิ 105 (ตารางที่ 1) พบว่า

ที่ 13 วัน หลังทำการปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลาย ข้าวพันธุ์มาตรฐานไม่ด้านทาน TN1 มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 7 ซึ่งเสียหายสูงสุดในกลุ่มพันธุ์ข้าวที่ทดสอบ ข้าวมีลักษณะเหลือง มีอาการแห้งแล้ว 75 เปอร์เซ็นต์ และ พันธุ์มาตรฐานด้านทาน PTB33

มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 3 ยังแสดงความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดได้สูงสุด ข้าวมีสีเขียวสด มีใบที่ 1 และ 2 เหลืองเล็กน้อยเท่านั้น ข้าวลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 5 ใบข้าวทั้งหมดเหลืองอย่างเด่นชัด ต้นข้าวเหี่ยวหรือตาย 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเทียบเท่ากับข้าวพันธุ์ชัยนาท 1, อาบาญา, ราตุนีเนติ x ขาวดอกมะลิ 105 และสายพันธุ์แม่ R8-24-1-183-84-227 ส่วนสายพันธุ์พ่อคือ A12-26-201-436 มีระดับปฏิกิริยากับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระดับ 6 ขณะที่ ขาวดอกมะลิ 105 มีระดับปฏิกิริยากับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระดับ 7 ซึ่งเท่ากับ TN1 ซึ่งเป็นระดับที่สูงสุด

ที่ 17 วัน คะแนนระดับปฏิกิริยาข้าวพันธุ์มาตรฐานไม่ด้านทาน TN1 มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 8 ต้นข้าว 90 เปอร์เซ็นต์ เหี่ยวและมีบางส่วนตาย ต้นข้าวเหลือง เตี้ยและแกร็นมาก ข้าวพันธุ์ที่ด้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้สูงเป็น ข้าวพันธุ์ราตุนีเนติ มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 3 ซึ่งจัดว่ามีระดับความเสียหายต่ำสุดของกลุ่มข้าวทั้งหมดที่ทดสอบ ส่วนข้าวพันธุ์มาตรฐานด้านทานที่เป็นตัวแทน คือ PTB33 มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 4 มีระดับความต้านทานต่อ

Table 1 Reaction pattern and damage score of R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) and 9 standard rice varieties responded to brown planthopper collected from lower northern Thailand at 13, 17, 22, 29 and 33 days after BPH release

Varieties/ Accessions	Reaction score of rice varieties responded to brown planthopper after BPH release (days)					Damage score at last
	13	17	22	29	33	check
CNT1	5	6	7	7	8	HS
Rathu Heenati	3	3	4	4	3	MR
KDML105	7	8	9	9	9	HS
A-12-26-201-436	6	8	8	6	5	MS
TN1	7	8	9	9	9	HS
PTB33	3	4	5	4	3	MR
Abhaya	5	7	8	8	8	HS
Rathu Heenati/KDML105	5	6	6	6	6	MS
R8-24-1-183-84-227	5	6	7	7	7	S
R8-24-1-183-84-227/ A12-26-201-436 (F1)	5	5	5	4	3	MR

เพ็ลยกระโดตสีน้ำตาลต่ำกว่าพันธุ์ราตยูเินติเล็กน้อย ข้าวลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) มีคะแนนระดับปฏิกิริยาในระดับ 5 แสดงถึงมีระดับความต้านทานที่ดีกว่าสายพันธุ์แม่และพ่อคือ R8-24-1-183-84-227 และ A12-26-201-436 ซึ่งมีคะแนนระดับปฏิกิริยาต่อเพ็ลยกระโดตสีน้ำตาลที่ระดับ 6 และ 8 ตามลำดับ ส่วนพันธุ์เปรียบเทียบกับอื่น ๆ พบว่า พันธุ์ชัยนาท 1 และ ราตยูเินติ x ขาวดอกมะลิ 105 มีคะแนนระดับปฏิกิริยาในระดับ 6 เช่นเดียวกับสายพันธุ์แม่ R8-24-1-183-84-227 ส่วนอาบาญา นั้นมีคะแนนระดับปฏิกิริยาในระดับ 7 ซึ่งสูงขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับที่ 13 วัน ที่เหลือคือ ขาวดอกมะลิ 105 และ A12-26-201-436 มีคะแนนระดับปฏิกิริยาในระดับ 7

ที่ 22 วัน หลังทำการปล่อยเพ็ลยกระโดตสีน้ำตาลลงทำลาย ข้าวพันธุ์มาตรฐานไม่ต้านทาน TN1 ถึงจุดที่มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 9 สภาพต้นข้าวแห้งตายหมด 100 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ ขาวดอกมะลิ 105 มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วจนถึงระดับ 9 สภาพข้าวแห้งตายหมดไม่แตกต่างจาก TN1 ข้าวพันธุ์ต้านทานที่เป็นมาตรฐานเปรียบเทียบกับว่าข้าวพันธุ์ราตยูเินติมีปฏิกิริยาที่แสดงความต้านทานต่อเพ็ลยกระโดตสีน้ำตาลได้อยู่ที่ระดับ 4 ดีกว่าข้าวพันธุ์ PTB33 ขณะที่ลูกผสม ราตยูเินติ x ขาวดอกมะลิ 105 แสดงผลความต้านทานระดับ 6 อยู่ระหว่าง ราตยูเินติ กับ ขาวดอกมะลิ 105 แต่ R8-24-1-183-84-227 ซึ่งเป็นลูกผสมระหว่างพ่อคือ ราตยูเินติ x ขาวดอกมะลิ 105 กับแม่คือ ชัยนาท 1 กลับแสดงผลระดับความต้านทานที่ระดับ 7 เทียบเท่ากับแม่ คือ ชัยนาท 1 และมีระดับต่ำกว่าพ่อ ราตยูเินติ x ขาวดอกมะลิ 105 ส่วนข้าวในสายอาบาญา ประกอบด้วย อาบาญา และ A12-26-201-436 นั้นแสดงผลความต้านทานในระดับ 8 สภาพต้นข้าวใกล้เคียงกันคือ ต้นข้าว 85 เปอร์เซ็นต์ เหี่ยวและตาย ต้นข้าวที่เหลือเตี้ยแคระแกร็นชัดเจน อย่างไรก็ตาม ข้าวลูกผสม R8-24-1-183-84-227/ A12-26-201-436 (F1) กลับมีคุณสมบัติที่แสดงความต้านทานเพ็ลยกระโดตสีน้ำตาลได้ในระดับ 5 ซึ่งดีกว่าสายพันธุ์พ่อและแม่ที่อยู่ระดับ 8 และ 7 อย่างชัดเจนมาก

ที่ 29 วัน หลังทำการปล่อยเพ็ลยกระโดตสีน้ำตาลลงทำลาย ข้าวพันธุ์มาตรฐานไม่ต้านทาน TN1 และ ขาวดอกมะลิ 105 ยังคงคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 9 สภาพต้นข้าวแห้งตายหมด 100 เปอร์เซ็นต์ และข้าวต้านทานต่อการลงทำลายของเพ็ลยกระโดตสีน้ำตาลมากที่สุดมี 2 พันธุ์ คือ ราตยูเินติ มีคะแนนระดับปฏิกิริยาเท่ากับ 4 และ PTB33 ที่มีการฟื้นตัวจากเดิมที่ 22 วันอยู่ที่ระดับ 5 เป็นระดับ 4 ข้าวลูกผสม ราตยูเินติ x ขาวดอกมะลิ 105 มีระดับความต้านทานเท่ากับ 6 อยู่กึ่งกลางระหว่างพันธุ์พ่อและแม่ แสดงว่าการนำข้าวพันธุ์ราตยูเินติ ผสมกับ ขาวดอกมะลิ 105 นั้นข้าวลูกผสมที่ได้มีคุณลักษณะที่ต้านทานต่อเพ็ลยกระโดตสีน้ำตาลได้ดีขึ้น ในขณะที่ R8-24-1-183-84-227 นั้นมีปฏิกิริยาที่แสดงระดับความต้านทานเท่ากับ 7 ส่วน อาบาญา มีปฏิกิริยาที่แสดงระดับความต้านทานเท่ากับ 8 แต่ A12-26-201-436 มีปฏิกิริยาที่แสดงระดับความต้านทานเท่ากับ 6 ซึ่งเป็นผลการฟื้นตัวจากระดับ 8 เมื่อ 22 วัน อย่างไรก็ตามข้าวลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) มีปฏิกิริยาที่แสดงระดับความต้านทานที่ฟื้นตัวจากระดับ 5 ที่ 22 วัน เป็นระดับ เท่ากับ 4 ซึ่งดีกว่าการแสดงออกของพ่อและแม่ที่อยู่ระดับ 6 และ 7 อย่างชัดเจน และระดับปฏิกิริยาที่แสดงความต้านทานนี้เทียบเท่ากับของพันธุ์ต้านทานมาตรฐานคือ PTB33 และ ราตยูเินติ

ที่ 33 วัน หลังทำการปล่อยเพ็ลยกระโดตสีน้ำตาลลงทำลาย ข้าวพันธุ์มาตรฐานไม่ต้านทาน TN1 และ ขาวดอกมะลิ 105 สภาพต้นข้าวแห้งตายหมด ระดับปฏิกิริยาต่อการลงทำลายของเพ็ลยกระโดตสีน้ำตาลเท่ากับ 9 รองลงมาคือพันธุ์ชัยนาท 1 อาบาญา และ R8-24-1-183-84-227 มีระดับปฏิกิริยาต่อเพ็ลยกระโดตสีน้ำตาลเท่ากับ 8, 8 และ 7 ตามลำดับ ซึ่งไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับที่ 22 และ 29 วัน ตามลำดับ เช่นเดียวกับข้าวลูกผสม ราตยูเินติ x ขาวดอกมะลิ 105 ที่ยังคงระดับปฏิกิริยาต่อเพ็ลยกระโดตสีน้ำตาลเท่ากับ 6 ไม่เปลี่ยนแปลงตั้งแต่ที่ 17, 22, 29 วัน ขณะที่ A12-26-201-436 ฟื้นตัวอย่างต่อเนื่องจากระดับปฏิกิริยาต่อเพ็ลยกระโดตสีน้ำตาลที่ 6 เมื่อ 29 วันเป็นระดับ 5 ที่ 33 วัน อย่างไรก็ตาม ข้าวลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) มีปฏิกิริยาที่แสดงระดับความต้านทาน

ที่พื้นตัวอย่างต่อเนื่องจากระดับ 4 ที่ 29 วัน เป็นระดับเท่ากับ 3 ซึ่งดีกว่าการแสดงออกของพ่อและแม่ที่อยู่ระดับ 5 และ 7 อย่างชัดเจน และระดับปฏิกริยาที่แสดงความต้านทานนี้เทียบเท่ากับของพันธุ์ต้านทานมาตรฐาน คือ PTB33 และ ราตูฮีเนติ

เมื่อพิจารณาระดับความต้านทานจากระดับปฏิกริยาตอบสนองต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลที่ 33 วัน หลังการปลดปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลายข้าว ซึ่งเป็นผลจากการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และการฟื้นตัวของข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ พบว่า ข้าวที่มีระดับความต้านทานดีที่สุดเทียบกับพันธุ์ต้านทานมาตรฐาน PTB33 ซึ่งอยู่ที่ระดับ ค่อนข้างต้านทาน (MR) คือ ราตูฮีเนติ และ ข้าวลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) รองลงมาจัดอยู่ในระดับ ค่อนข้างอ่อนแอ (MS) ประกอบด้วยข้าว A12-26-201-436, ราตูฮีเนติขาวดอกมะลิ 105 ถัดมาคือระดับอ่อนแอ (S) คือ R8-24-1-183-84-227 กลุ่มสุดท้ายคือระดับอ่อนแอมาก (HS) เทียบเท่ากับพันธุ์มาตรฐานอ่อนแอ TN1 คือ ขาวดอกมะลิ 105, อาบาญา และชยันนาท 1

เมื่อทำการวิเคราะห์ในภาพรวมของความเชื่อมโยงของปฏิกริยาของข้าวพันธุ์ต่าง ๆ ด้วย dendrogram ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ผลจากระดับปฏิกริยา

ตอบสนองต่อการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล และการฟื้นตัวของข้าวแต่ละพันธุ์/สายพันธุ์ตลอดระยะเวลา 33 วันหลังการปลดปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลายข้าว พบว่า สามารถจัดกลุ่มพันธุ์ข้าวได้เป็น 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีปฏิกริยารุนแรงที่สุดหรืออีกนัยคือ อ่อนแอที่สุด คือ TN1 และ ขาวดอกมะลิ 105 กลุ่มที่มีปฏิกริยาได้ตอบปานกลาง คือ ชยันนาท 1, R8-24-1-183-84-227, อาบาญา, ราตูฮีเนติขาวดอกมะลิ 105, A12-26-201-436 และกลุ่มที่มีปฏิกริยาได้ตอบต่ำสุดหรืออีกนัยคือทนทานหรือต้านทานต่อการลงทำลายของเพลี้ยมากที่สุด คือ ราตูฮีเนติ, PTB33 และข้าวลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) (ภาพที่ 1)

วิจารณ์

การรวบยอดยีน เป็นวิธีการรวมยีนที่มีคุณลักษณะสำคัญที่ต้องการซึ่งเป็นอิสระต่อกันในหลากหลายสายพันธุ์ให้ปรากฏแสดงออกในสายพันธุ์เดียว (Xu, 2010) ซึ่งในการศึกษาค้นคว้าได้นำหลักการของการรวบยอดยีนนี้เพื่อปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น

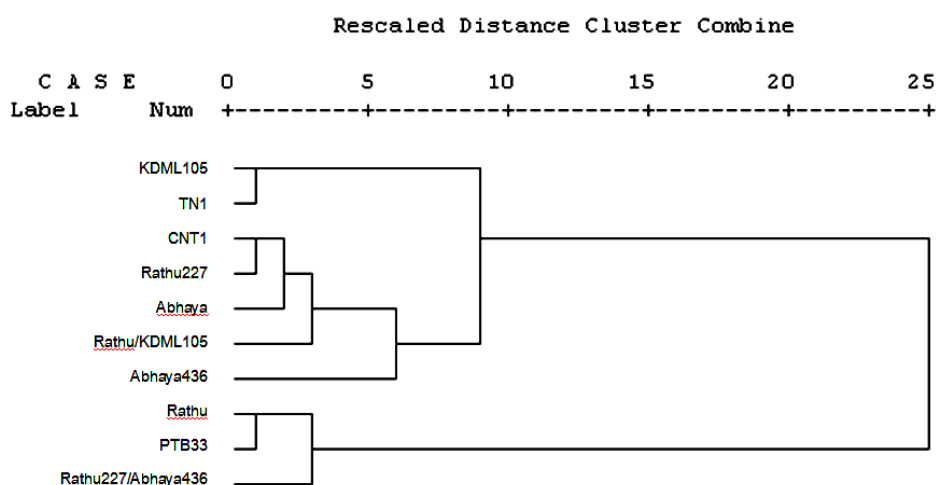


Figure 1 Dendrogram presents the relationship of R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) (Rathu227/Abhaya436) and 9 standard rice varieties: Rathu Heenati (Rathu), KDML105, Abhaya A-12-26-201-436 (Abhaya436), Taichung Native 1 (TN1), PTB33, Abhaya, Rathu Heenati/KDML105 (Rathu/KDML105), Chai Nat 1 (CNT1) and R8-24-1-183-84-227 (Rathu227) responded to brown planthopper population in lower northern Thailand

โดยทำการรวมยีน 3 ชนิดคือ *Qbph6*, *Qbph12* และ *Bph3* (จีรเทพ และคณะ, 2550; เจตน์ และคณะ, 2552ก, ข; Jain et al., 2007) จากข้าวลูกผสมกลับ BC₄F₃₋₄ ที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ 2 สายพันธุ์ คือ สายแรกเป็นการพัฒนาข้าวลูกผสมพันธุ์ราตูลีเนติ/หอมดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นแหล่งผู้ให้ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด *Bph3* กับพันธุ์ชัยนาท 1 และ สายที่สองเป็นข้าวลูกผสมพันธุ์อาบาญา/ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นแหล่งผู้ให้ยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด *Qbph6* และ *Qbph12* กับพันธุ์ชัยนาท 1 และคัดเลือกลูกผสมกลับรุ่น BC₄F₃₋₄ ที่มีคุณสมบัติต้านทานดีที่สุดสายละ 1 สายพันธุ์ คือ R8-24-1-183-84-227 และ A12-26-201-436 ตามลำดับ โดยยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด *Bph3* จาก R8-24-1-183-84-227 เป็นยีนที่แสดงออกถึงระดับความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้อย่างเด่นชัดตั้งแต่วัยระยะแรกที่ถูกเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลาย และสามารถแสดงออกในคุณลักษณะต้านทานได้ในข้าวทุกสายพันธุ์ที่มียีนนี้ปรากฏอยู่ ดังเช่น ข้าวพันธุ์ราตูลีเนติ ข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับราตูลีเนติ/ขาวดอกมะลิ 105 และ ข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับราตูลีเนติ/ขาวดอกมะลิ 105/ชัยนาท 1 (R8-24-1-183-84-227) ส่วนยีน *Qbph6* และ *Qbph12* นั้นเป็นยีนที่มีความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ในระดับกลางแต่มีความสามารถในการทำให้ข้าวฟื้นตัวจากการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะกล้าได้ดี (พุฒิพงษ์ และคณะ, 2554)

Heinrichs (1986) และ Bosque-Perez and Buddenhagen (1992) พบว่าการรวมยีนต้านทานในระดับกลางหรือจากการแสดงออกของยีนหลาย ๆ ชนิดร่วมกันมักให้ผลในการต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ยาวนานกว่า คงทนกว่าคุณลักษณะต้านทานที่ได้จากยีนเด่นเพียงชนิดเดียว ซึ่งสอดคล้องกับผลการรวมยีนในครั้งนี้ กล่าวคือ ลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) ที่ได้รับในรุ่นที่ 1 แสดงปฏิกิริยาต่อการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในภาคเหนือตอนล่าง ได้ในระดับที่ดีกว่าพ่อและแม่ หรืออีกนัยคือมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ย

กระโดดสีน้ำตาลได้ดีกว่าสายพันธุ์พ่อและแม่อย่างชัดเจน และที่สำคัญคือมีความสามารถในการฟื้นตัวจากความเสียหายที่เกิดจากการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะกล้าได้อย่างรวดเร็ว และสามารถแสดงความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้ในระดับที่ไม่แตกต่างจากพันธุ์ต้านทานมาตรฐานเปรียบเทียบคือ PTB33 ที่ 29 และ 33 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลาย สอดคล้องกับการค้นพบของ Sharma et al. (2004) ว่า การรวมยีนต้านทานสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้สูงขึ้น ยาวนานขึ้น และครอบคลุมได้มากขึ้น เช่น การรวมยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลชนิด *Bph1* และ *Bph2* ลงในข้าว japonica ทำให้ข้าวมีความต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้สูงมากกว่าพันธุ์เดิมที่มีเพียงยีนเดียวได้อย่างชัดเจน อย่างไรก็ตาม ในส่วนนี้คณะผู้วิจัยกำลังดำเนินการศึกษาแนวทางในการทดสอบข้าวลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) นี้กับเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระดับชีวชนิดต่อไป

สรุป

ในการศึกษาปฏิกิริยาของข้าวสายพันธุ์ลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) ที่มียีนต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล *Qbph6*, *Qbph12* และ *Bph3* จากพ่อและแม่ รวบรวมเข้าไว้ด้วยกัน พบว่าข้าวสายพันธุ์ลูกผสม R8-24-1-183-84-227/A12-26-201-436 (F1) แสดงปฏิกิริยาตอบสนองต่อการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในภาคเหนือตอนล่าง ได้ในระดับที่ดีกว่าพ่อและแม่ หรืออีกนัยคือมีความต้านทานต่อการเข้าทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในภาคเหนือตอนล่างได้ดีกว่าสายพันธุ์พ่อและแม่อย่างชัดเจน และมีความสามารถในการฟื้นตัวจากความเสียหายที่เกิดจากการลงทำลายของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในระยะกล้าได้อย่างรวดเร็ว จนอยู่ในระดับที่ไม่แตกต่างจากพันธุ์ต้านทานมาตรฐานเปรียบเทียบคือ PTB33 ที่ 29 และ 33 วันหลังปล่อยเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลลงทำลาย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ มหาวิทยาลัยนเรศวร และ ศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติภาคเหนือ ต่อดอนล่าง ที่ให้การสนับสนุนการวิจัยเป็นอย่างดีทั้งใน ส่วนของ งบประมาณ เครื่องมือ ข้อมูล และอุปกรณ์

เอกสารอ้างอิง

- เจตน์ คชฤกษ์ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ สุรเดช ปาละ-วิสุทธิ และศิริพร กออินทร์ศักดิ์. 2552ก. การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวปรับปรุง BC_4F_1 ด้วยยีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Qbph6* และ *Qbph 12*) โดยเทคนิคโมเลกุลเครื่องหมาย. วารสารสิ่งแวดล้อมนเรศวร 2(1): 37-51.
- เจตน์ คชฤกษ์ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ สุรเดช ปาละ-วิสุทธิ และศิริพร กออินทร์ศักดิ์. 2552ข. การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวปรับปรุง ราตยีนเนติ/ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ชัยนาท 1 รุ่น BC_4F_1 ที่มียีนต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลแบบ *Bph3* โดยเทคนิคการคัดเลือกด้วยดีเอ็นเอเครื่องหมาย. วารสารเกษตร 25(2): 135-143.
- ปริดา เสียงใหญ่ และ พันนิภา ยาใจ. 2552. การวิจัยและพัฒนาการจัดการเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล. หน้า 255-266. ใน: เอกสารประกอบการประชุมข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2552. สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร. วันที่ 9-11 มิถุนายน 2552 ณ โรงแรมซีปรีช จอมเทียน พัทยา, ชลบุรี.
- พุดพิงษ์ เพ็งฤกษ์ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ ไสว บุรณพานิชพันธุ์ จิราพร กุลสาริน เจตน์ คชฤกษ์ สุรเดช ปาละวิสุทธิ และภมร ปัตตาวะตัง. 2554. ความหลากหลายทางชีวชนิดของเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย. วารสารเกษตร 27(1): 27-37.
- พุดพิงษ์ เพ็งฤกษ์ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ ไสว บุรณพานิชพันธุ์ จิราพร กุลสาริน สุรเดช ปาละวิสุทธิ และเจตน์ คชฤกษ์ 2555.

ปฏิกิริยาของข้าวลูกผสมกลับ BC_4F_{3-4} ระหว่างอาบาญา/ขาวดอกมะลิ105 กับชัยนาท 1 ต่อประชากรเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล. วารสารเกษตร 28(2): 113-123.

วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ สุรเดช ปาละวิสุทธิ ศิริพร กออินทร์ศักดิ์ และ ธาณี ศีรวงศ์ชัย. 2550. การคัดเลือกดีเอ็นเอเครื่องหมายแบบ SSR ของยีนต้านทานต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล (*Nilaparvata lugens* (Stål), Delphacidae, Homoptera) ชนิด *Qbph6* และ *Qbph12* จากข้าวสายพันธุ์ปรับปรุง Abhaya และพันธุ์ชัยนาท 1. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 25(1): 47-55.

วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ สมชาย ธนสินชัยกุล สุรเดช ปาละวิสุทธิ เจตน์ คชฤกษ์ และ คณิตา เกิดสุข. 2557. ปฏิกิริยาของข้าวสายพันธุ์ลูกผสมกลับ BC_4F_{3-4} ((อาบาญา/ขาวดอกมะลิ 105) x ชัยนาท 1) กับแมลงบั่วในภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย. วารสารเกษตร 30(3): 151-159.

วีรยุทธ สร้อยนาค วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ ไสว บุรณพานิชพันธุ์ และสมชาย ธนสินชัยกุล. 2556. ประสิทธิภาพของสารฆ่าแมลงบางชนิดต่อเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลในภาคเหนือตอนล่างของประเทศไทย. วารสารเกษตร 29(3): 231-238.

สุวัฒน์ รวยอารีย์. 2544. เรียนรู้การจัดการศัตรูข้าวโดยวิธีผสมผสาน. เอกสารวิชาการ. กองกัญและสัตววิทยา กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพฯ.

สำนวน ฉิมพกา และ วีรเทพ พงษ์ประเสริฐ. 2548. ปัจจัยที่มีผลต่อการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดศัตรูข้าวของเกษตรกร อำเภอตะพานหิน จังหวัดพิจิตร. วารสารเกษตรนเรศวร 8(1): 77-94.

Bosque-Perez, N. A. and I. W. Buddenhagen. 1992. The development of host-plant resistance to insect pests: outlook for the tropics. pp. 235-249. In: S. B. J. Menken,

- J. H. Visser and P. Harrewijn (eds.). Proceedings of 8th International Symposium Insect-Plant Relationships. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Heinrichs, E. A. 1979. Control of leafhopper and planthopper vectors of rice viruses. pp. 529-558. In: K. Moramrosch and K.F. Arris (eds.). Leafhopper Vectors and Planthopper Disease Agents. Academic Press, New York.
- Heinrichs, E. A. 1986. Prospectives and directions for the continued development of insect-resistant rice varieties. Agriculture, Ecosystems and Environment 18: 9-36.
- Heinrich, E. A. and O. Mochida. 1984. From secondary to major pest status: the case of insecticide-induced rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, resurgence. Protection and Ecology 7: 201-218.
- IRRI. 1988. Standard Evaluation System for Rice. International Rice Research Institute, Los Banos, Philippines. 54 p.
- Jairin, J., K. Phengrat, S. teangdeerith, A. Vanavichit and T. Toojinda. 2007. Mapping of a broad-spectrum brown planthopper resistance gene, *Bph3*, on rice chromosome 6. Molecular Breeding 19: 35-44.
- Renganayaki, K., K. F. Allan, S. Sadasivam, S. Pammi, S. E. Harrington, S. R. McCouch, S. M. Kumar and A. S. Reddy. 2002. Mapping and progress toward map-based cloning of brown planthopper biotype-4 resistance gene introgressed from *Oryza officinalis* into cultivated rice, *O sativa*. Crop Science 42: 2112-2117.
- Rivera, C. T., S. H. Ou and T. T. Lida. 1966. Grassy stunt disease of rice and its transmission by *Nilaparvata lugens* (Stal). Plant Disease Report 50: 453-456.
- Sharma, P. N., A. Toriia, S. Takumi, N. Mori and C. Kakamura. 2004. Marker-assisted pyramiding of brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stal) resistance genes *Bph1* and *Bph2* on rice chromosome 12. Hereditas 140: 61-69.
- Xu, Y. 2010. Molecular Plant Breeding. CAB International, Wallingford. 717 p.