Thesis Title Physiological and Molecular Variation in a Gall

Midge Resistant Local Rice Variety, Muey Nawng

Author Mr. Prateep Oupkaew

Degree Doctor of Philosophy (Agronomy)

Thesis Advisory Committee Prof. Dr. Benjavan Rerkasem Chairperson

Assoc. Prof. Dr. Sansanee Jamjod Member

Assoc. Prof. Dr. Jiraporn Tayutivutikul Member

ABSTRACT

Rice gall midge is an important insect pest of rice, that can be adversely affect rice in growing regions in South, Southeast Asia and Africa. In Thailand, the damage of rice form the gall midge has been reported particularly in the North and Northeast. The damage to rice crop by gall midge can lead to yield losses. To control the gall midge with chemicals is costly with possible harmful impact to the environment. Resistant varieties offer one solution for the control of gall midge infestation. Rice varieties with resistance to the gall midge have been released. These include modern semi-draft RD4 and RD9 and one, Muey Nawng 62 M selected from a local gall midge resistant variety. However, RD4 and RD9 have been found to be no longer resistant to gall midge in farmers' fields. Moreover, Muey Nawng 62 M has been susceptible to some populations of gall midge. However, the local rice variety Muey Nawng is still widely recognized as gall midge resistant in infested areas of Northern Thailand. Since local rice varieties are genetically diverse, response to gall midge can be expected to vary with rice genotypes as well as the gall midge population. So, the

objectives of this study were to assess the extent of gall midge damage and its impact on rice in farmer's field and to determine genotypic variation in farmers' accessions of Muey Nawng, a local rice variety generally recognized for gall midge resistance. This study was also conducted to evaluated genetic diversity in different of Muey Nawng accessions collected from different farmers in different provinces of Northern Thailand.

A field survey was conducted at Mae Moot village, Mae Win sub district, Mae Wang district, Chiang Mai province where farmers maintained that the problem of gall midge damage is common. This study assessed the characteristics of geographic, climate condition and host plants of the rice gall midge in farmers' rice field. The results show that the village's rice fields were in the foothills and surrounded by forested mountains. The temperature ranged in 25.5 – 27.7 °C and the rainfall was more than 1000 mm during the wet season. After rice was harvested, the gall midge was found in four host plants; Leersia hexandra Sw. (swamp rice grass), Echinochloa colona (L.) Link (jungle rice), Paspalum scrobiculatum Linn. (rice grass paspalum) and Ischaemum rugosum salisb. (wrinkle duck-beak). The Leersia hexandra Sw. was most abundant in this village. Moreover, a field study in the Mae Moot was evaluated the prevalence of the gall midge in fields of four common farmers' rice varieties: Muey Nawng, Phrae 1, RD6 and Nahng Gao and the degree to which they were damaged by gall midge infestation. The results showed that the number of gall midges in rice in their response to fluctuated over time was different between rice varieties. The number of gall midges fluctuated in two cycles: the first gall cycle was from 4 - 8 weeks after transplanting and the second gall cycle was from 8 - 12 weeks after transplanting. The number of productive tillers of the four rice varieties varied

from 8.9 – 12.7 tillers hill⁻¹ and number of panicles from 7.5 - 12.5 panicles hill⁻¹. However, the percentage of gall midge infestation measured as % of tillers and hills with silver shoot, of Muey Nawng and Phrae 1 were much lower than RD6 and Nahng Gao. The highest percentage of gall midge infestation showed in 10 - 12 weeks after transplanting. Muey Nawng also had the higher straw dry weight and grain yield than other varieties. The high percentage of gall midge infestation in RD6 and Nahng Gao were associated with higher number of unproductive tillers and percentage of unfilled grain. The results supported farmers' observation that the local Muey Nawng is resistant to gall midge infestation.

Twenty accessions of Muey Nawng were collected from different farmer's seed in three provinces: Chiang Mai, Nan and Mae Hong Son. The experiment of gall midge infestation in field condition at Mae Moot village found the reaction to gall midge infestation among the accessions varied from no gall midge infestation to high gall midge infestation in the same level as susceptible check San-pah-tawng 1. The differentiation among the twenty Muey Nawng accessions was found in the number of productive tillers hill⁻¹, panicles hill⁻¹, unproductive tillers hill⁻¹, grain yield, unfilled grain and plant height. Two gall midge resistant Muey Nawng accessions (MN1 and MN6), one moderate resistant Muey Nawng accession (MN20) and two gall midge susceptible Muey Nawng accessions (MN8 and MN9) identified in farmer's field and three checks (susceptible RD6, KDML105 and resistant Muey Nawng 62 M) were evaluated in one location where gall midge is absent and one location where gall midge infestation is heavy in susceptible varieties and lighting was provided to accentuate infestation by the gall midge. In the gall midge absent location, RD6 was the highest yielding; RD6 and KDML105 also had the highest number of productive

tillers and panicles. In the presence of gall midge, however, the top yielding were gall midge resistant MN1, MN6 and Muey Nawng 62 M, while susceptible RD6 yielded only two thirds of MN6, followed by KDML105 with 68% and susceptible MN8 and MN9 at 74% of MN6. The impact of gall midge infestation on susceptible varieties was also seen in greater number of unproductive tillers and percentage of unfilled grain.

An experiment tested reaction of the twenty Muey Nawng accessions to six populations of gall midge from six provinces: Tak, Chiang Mai, Chiang Rai, Ubon Ratchathani, Nong Khai and Lampang, in comparison with five check varieties: Muey Nawng 62 M, RD4, RD9 (resistant), RD1 and San-pah-tawng 1 (susceptible) in greenhouse condition. The results show that the interaction between local Muey Nawng accessions and gall midge populations was highly significant. The resistant reactions of Muey Nawng accessions varied form highly susceptible to highly resistant. The infestation of gall midge populations from different locations was different among rice varieties. Only one Muey Nawng accession was resistant to all six gall midge populations.

The genetic variation of twenty Muey Nawng accessions was determined the morphological character and DNA analysis by microsatellite method. The result showed genetic variation among and within accessions of Muey Nawng. The genetic variation within accessions was found in color of husk and apiculus of seed, seed width, length and thickness, color of leaf blade, leaf sheath, ligule and days to flowering. Moreover, the genetic variation seed of quality within accessions was found in percentage of glutinous and non-glutinous and alkaline spreading value. DNA analysis of twenty Muey Nawng accessions was conducted to determined

genetic diversity by microsatellite method in four microsatellite loci. The genetic variation of polymorphic allele frequency was in 15 alleles (3.75 alleles per locus). Genetic diversity of Muey Nawng was revealed by high average gene diversity (H_S =0.173) and total gene diversity (H_T =0.283). Moreover, high genetic differentiation among accessions of Muey Nawng (Fst = 0.40) indicated that most genetic variation was partitioned into among individuals within accessions for 60 % and the rest 40 % was among accessions.

In conclusion, the infestation by rice gall midge at a given location depends on the time in the life cycle of the gall midge and rice varieties. Rice varieties differ markedly in their resistant to gall midge. Moreover, the rice gall midge infestation on susceptible varieties produced the highest the number of silver shoots and unproductive tillers, unfilled grain and the lowest the grain yield. The local Muey Nawng at Mae Moot village was resistant to gall midge and was the highest the straw dry weight and grain yield, confirming its popularity in this gall midge infested However, the resistance to gall midge was found to vary among the accessions of Muey Nawng which varied from no gall midge infestation to high gall midge infestation. The response of different gall midge populations from different locations were differed in twenty Muey Nawng accessions. Moreover, the morphological character and DNA analysis found the genetic variation within and among accessions of Muey Nawng. Gall midge resistance in the local rice variety Muey Nawng has been confirmed and can be used to overcome the problem of gall midge. However, the genetic variation in Muey Nawng, including in the resistance and susceptibility to different gall midge populations found in this study indicates that

not all accessions of Muey Nawng are equally resistant to all populations of rice gall midge.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Copyright[©] by Chiang Mai University All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ความแปรปรวนในลักษณะทางสรีระและอณูชีวภาพ

ของข้าวพื้นเมืองพันธุ์เหมยนองซึ่งต้านทานต่อบั่ว

ผู้เขียน

นายประทีป อูปแก้ว

ปริญญา วิทยาศาสตรคุษฎีบัณฑิต (พืชไร่)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ศ. คร. เบญจวรรณ ฤกษ์เกษม ประธานกรรมการ

รศ. คร. ศันสนีย์ จำจด

กรรมการ

รศ. คร.

จิราพร ตยุติวุฒิกุล

กรรมการ

บทคัดย่อ

แมลงบั่วเป็นแมลงศัตรูที่สำคัญของค้นข้าว มีการเข้าทำลายในแถบภูมิภาคเอเชียใค้และ
ตะวันออกเฉียงใต้ และแอฟริกา ในประเทศไทยพบการเข้าทำลายของแมลงบั่วทั่วไปโดยเฉพาะใน
ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ การเข้าทำลายของแมลงบั่วทำให้ผลผลิตข้าวเสียหาย ในการ
ป้องกันกำจัดแมลงบั่วนั้น สามารถใช้สารฆ่าแมลงได้แต่มีราคาสูงและมีผลกระทบต่อ
สภาพแวคล้อม หรือการใช้พันธุ์ข้าวที่ด้านทานต่อแมลงบั่วซึ่งมีประสิทธิภาพเช่นกัน
พันธุ์ข้าวที่ด้านทานต่อแมลงบั่วมี 3 พันธุ์คือ กข4 กข9 และเหมยนอง 62 เอิ่ม (คัดเลือกจากพันธุ์พื้น เมืองที่ด้านทานต่อแมลงบั่ว แต่ปัจจุบัน ข้าวพันธุ์ปรับปรุงที่เคยด้านทานต่อแมลงบั่วในประเทศ
ไทยคือ กข4 และ กข9 กลับไม่ต้านทานต่อแมลงบั่วและไม่เป็นที่นิยมของเกษตรกร ส่วนพันธุ์เหมย
นอง 62 เอิ่มนั้น ด้านทานต่อแมลงบั่วบางแหล่งเท่านั้น แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากข้าวพันธุ์พื้นเมืองมี
พันธุกรรมที่หลากหลาย และการสำรวจภาคสนามพบว่า ข้าวเหมยนองพันธุ์พื้นเมืองซึ่งเป็นข้าว

เหนียวที่นิยมปลูกและพบได้ทั่วไปในพื้นที่ภาคเหนือนั้นสามารถเจริญเติบโตและให้ผลผลิตได้ดีใน แหล่งที่มีการเข้าทำลายของแมลงบั่ว ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินขอบเขตการ เข้าทำลายของแมลงบั่วและผลกระทบต่อพันธุ์ข้าวในสภาพแปลงของเกษตรกร และประเมินความ แปรปรวนของข้าวเหมยนองที่ต้านทานต่อแมลงบั่ว รวมทั้งประเมินความความหลากหลายของ ตัวอย่างเชื้อพันธุ์ข้าวเหมยนองจากแหล่งต่างกัน

จากการสำรวจพื้นที่ที่มีการเข้าทำลายของแมลงบั่ว ที่บ้านแม่มต ๓. แม่วิน อ. แม่วาง จ. เชียงใหม่ ได้ประเมินลักษณะสภาพภูมิประเทศ สภาพอากาศ และพืชอาศัยของแมลงบั่ว พบว่า ้ลักษณะพื้นที่นาของเกษตกรจะเป็นที่ราบระหว่างเชิงเขา มีป่าล้อมรอบแปลงนา ส่วนสภาพ ภูมิอากาศ พบว่ามีอุณหภูมิเฉลี่ย 25.5 - 27.7 องศาเซลเซียส และปริมาณน้ำฝนมากกว่า 1,000 ้มิลลิเมตร ในช่วงเดือนฤดูฝน ซึ่งมีรายงานว่าเหมาะสมต่อการเข้าทำลายต้นข้าวของแมลงบั่ว จาก การสำรวจหลังฤคการทำนาพบพืชอาศัยของแมลงบั่ว 4 ชนิค คือหญ้าไทร (Leersia hexandra Sw., swamp rice grass) หญ้านกสีชมพ (Echinochloa colona (L.) Link, jungle rice) หญ้าปล้องหิน (Paspalum scrobiculatum Linn., rice grass paspalum) และหญ้าแดง (Ischaemun rugosum salisb., wrinkle duck-beak) โดยพืชอาศัยที่พบมากที่สุด คือ หญ้าไทร เมื่อสำรวจจำนวนและการเข้าทำลาย ของแมลงบั่วในแปลงของเกษตรกรที่พันธุ์ข้าวนิยมปลูกในหมู่บ้านแม่มูต 4 พันธุ์คือ เหมยนอง แพร่ 1 กข 6 และนางเก๋า พบว่าจำนวนแมลงบั่วมีความแปรปรวนตามเวลาและพันธุ์ข้าว โดยพบจำนวน แมลงบั่วเพิ่มขึ้นและลดลงประมาณ 2 รอบ ช่วงแรกสัปดาห์ที่ 4 - 8 หลังจากปักดำ และช่วงที่สอง สัปดาห์ที่ 8 - 12 หลังจากปักดำ นอกจากนี้พบว่าก่อนข้าวออกรวง นั้นทุกพันธุ์มีความแปรปรวนมี จำนวนต้นดีประมาณ 8.9 - 12.7 ต้นต่อกอ และมีจำนวนรวงประมาณ 7.5 – 12.5 รวงต่อกอ แต่เมื่อ ประเมินเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของแมลงบั่วพบว่าข้าวพันธ์เหมยนองและแพร่ 1 มีเปอร์เซ็นต์น้อย

กว่าพันธุ์นางเก๋าและกง 6 โดยเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายจะพบสูงสุดระหว่างสัปดาห์ที่ 10 - 12 หลังจากปักคำ ศึกษาการด้านทานต่อการเข้าทำลายของแมลงบั่วในสภาพแปลง โดยนำพันธุ์ข้าวที่ นิยมปลูกในหมู่บ้าน 4 พันธุ์ของเกษตรกรมาปลูกเปรียบเทียบในพื้นที่บ้านแม่มูต นอกจากนี้ยัง พบว่า พันธุ์เหมยนองและแพร่ 1 มีเปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของแมลงบั่วน้อย และพันธุ์เหมยนอง สามารถสร้างน้ำหนักแห้งฟางและผลผลิตมากกว่าทั้ง 3 พันธุ์ ส่วนพันธุ์นางเก๋าและกง 6 มี เปอร์เซ็นต์การเข้าทำลายของแมลงบั่วสูง ส่งผลให้มีจำนวน ต้นที่ไม่สามารถสร้างรวงต่อกอและ น้ำหนักเมล็ดลีบที่สูงไปด้วย จากการประเมินชี้ให้เห็นว่าข้าวเหมยนองมีความสำคัญเป็นอย่างมาก กับพื้นที่ที่บั่วเข้าทำลาย

แต่เมื่อนำเมล็คพันธุ์ข้าวเหมขนอง 20 ตัวอย่างเชื้อพันธุ์ จากเมล็คพันธุ์ของเกษตรกร จาก 3 จังหวัดทางภาคเหนือ คือ เชียงใหม่ น่าน และแม่ฮ่องสอน มาปลูกทดสอบการเข้าทำลายของแมลง บั่วในสภาพแปลงในพื้นที่ บ้านแม่มูต กลับพบว่าประชากรของข้าวเหมขนองแสดงความด้านทาน ต่อแมลงบั่วแตกต่างกัน โดยพบเชื้อพันธุ์ข้าวเหมขนองไม่มีบั่วเข้าทำลาย ไปจนถึงมีเปอร์เซ็นต์การ เข้าทำลายสูงเท่ากับพันธุ์อ่อนแอคือ สันป่าตอง 1 ความแตกต่างนี้ยังส่งผลให้ข้าวเหมขนองแต่ละ ตัวอย่างเชื้อพันธุ์ มีความแตกต่างในจำนวนต้นดีต่อกอ จำนวนรวงต่อก่อ จำนวนต้นดีที่ไม่สามารถ สร้างรวงได้ต่อกอ น้ำหนักผลผลิต น้ำหนักเมล็ดลืบ น้ำหนักแห้งและความสูง อย่างไรก็ตามเมื่อนำ ตัวอย่างเชื้อพันธุ์ข้าว เหมขนองที่มีความแตกต่างในการด้านทานต่อแมลงบั่วที่ได้จากการประเมิน เบื้องต้น 2 ประชากร ที่ด้านทานต่อแมลงบั่ว (MN1และ MN6) 1 ประชากรที่ด้านทานปานกลาง (MN20) และ 2 ประชากร (MN8 และ MN9) ที่ไม่ด้านทานต่อแมลงบั่ว มาปลูกเปรียบเทียบกับ พันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐานคือ กข 6 ขาวดอกมะลิ 105 (อ่อนแอต่อแมลงบั่ว) และเหมขนอง 62 เอ็ม (ด้านทานต่อแมลงบั่ว) ในพื้นที่ไม่มีบั่วเข้าทำลายและที่มีบั่วเข้าทำลายโดยเพิ่มการเข้าทำลายของ

แมลงบั่วด้วยแสงไฟ พบว่าในพื้นที่ที่ไม่มีบั่วเข้าทำลาย กบ 6 และ ขาวดอกมะลิ 105 สามารถสร้าง จำนวนต้นดีและจำนวนรวงต่อกอสูงสุด ส่วนผลผลิตจะมากที่สุดในพันธุ์ กบ6 แต่ในพื้นที่ที่มีบั่วเข้า ทำลาย ผลผลิตจะมากสุดที่พันธุ์ที่ด้านทานใน MN1 MN6 และเหมยนอง 62 เอ็ม ในขณะที่ผลผลิต ของพันธุ์กบ6 เหลือ 2 ใน 3 ส่วนของ MN6 รองลงมาคือ ขาวดอกมะลิ 105 เหลือ 68 % และพันธุ์ อ่อนแอใน MN8 และ MN9 เหลือ 74 % ของ MN6

การที่แมลงบั่วในแต่ละแหล่งมีความแตกต่างของชีวชนิดนั้น ส่งผลให้มีการเข้าทำลายของ
แมลงบั่วแตกต่างกันในข้าวแต่ละพันธุ์ จึงทำการทดสอบการเข้าทำลายของแมลงบั่วจาก 6 แหล่ง ใน
20 ตัวอย่างเชื้อพันธุ์ข้าวพันธุ์พื้นเมืองทนบั่ว เหมยนองในสภาพโรงเรือน แมลงบั่วที่ใช้มาจาก
จังหวัด ตาก เชียงใหม่ เชียงราย อุบลราชธานี หนองคาย และลำปาง ใช้พันธุ์ เหมยนอง 62 เอ็ม กข4
กข9 (พันธุ์ด้านทาน) กข 1 และสันป่าตอง 1 (พันธุ์อ่อนแอ) เป็นพันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐาน พบว่ามี
ปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่าง ตัวอย่างเชื้อพันธุ์ข้าว เหมยนองพื้นเมืองกับประชากรแมลงบั่วในการเข้า
ทำลาย โดยที่ ตัวอย่างเชื้อพันธุ์ข้าว เหมยนองพื้นเมืองมีระดับการต้านทานตั้งแต่อ่อนแอที่สุดถึง
ด้านทานดีที่สุด ส่วนแมลงบั่วแต่ละแหล่งนั้นจะมีสักยภาพการเข้าทำลายต่างกันระหว่างพันธุ์ข้าว
ใต้พบตัวอย่างเชื้อพันธุ์ข้าวเหมยนอง 1 ตัวอย่างที่มีความด้านทานต่อแมลงบั่วจากทั้ง 6 แหล่ง

เมื่อนำข้าวเหมยนอง 20 ตัวอย่างเชื้อพันธุ์ มาประเมินความหลากหลายทางค้านสันฐานและ ทาง DNA โดย Microsatellite Method พบว่าข้าวเหมยนองมีความหลากหลายภายในประชากรและ ระหว่าง ตัวอย่างเชื้อพันธุ์ข้าว เหมยนอง พบความหลากหลายภายในลักษณะสัณฐานของ ตัวอย่างเชื้อพันธุ์ข้าว เหมยนองคือ สีเปลือกเมล็ด สียอดเมล็ด ความกว้าง ความยาว ความหนาของ เมล็ด สีกาบใบ สีแผ่นใบ สีของหน่อ สีลิ้นใบและจำนวนวันในการออกดอก นอกจากนี้ยังพบความ หลากภายในของลักษณะคุณภาพของเมล็ดคือ เปอร์เซ็นต์ข้าวเหนียว ข้าวเจ้า และค่าการสลายตัวใน

ด่าง แต่เมื่อนำ DNA ของข้าวเหมยนองมาประเมิน โดยใช้เครื่องหมาย โมเลกุล Microsatellite โดยใช้ จำนวน marker 4 ตำแหน่ง พบว่าความหลากหลายจากการจำแนก polymorphic alleles ใค้ทั้งหมด 15 alleles คิดเป็น 3.75 alleles/ locus ข้าวเหมยนองมีความหลากหลายทางพันธุกรรมในระดับสูง โดยมีค่าความหลากหลายเฉลี่ย (average gene diversity, H_s) เท่ากับ 0.173 และค่าความหลากหลาย รวม (total gene diversity, H_r) เท่ากับ 0.283 นอกจากนี้ค่าความแตกต่างระหว่างประชากร (genetic differentiation, F_{sr}) มีค่าเท่ากับ 0.40 แสดงว่าความหลากหลายส่วนใหญ่เป็นความหลากหลายที่ เกิดขึ้นระหว่างต้นถึง 60 % และ ที่เหลืออีก 40 % เป็นความหลากหลายระหว่างประชากร

จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงการเข้าทำลายของแมลงบั่วขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าวและเวลาวงจร
ชีวิตของแมลงบั่ว พันธุ์ข้าวจะมีความด้านทานต่อแมลงบั่วแตกต่างกัน โดยการเข้าทำลายของแมลง
บั่วในพันธุ์อ่อนแอทำให้เพิ่มจำนวนหลอดบั่ว จำนวนด้นที่ไม่สามารถสร้างรวง น้ำหนักเมล็ดลืบ
และผลผลิตลดลง พันธุ์ข้าวเหมยนองพื้นเมืองที่บ้านแม่มูตมีความด้านทานต่อแมลงบั่ว อีกทั้งยังมี
ความสามารถสร้างน้ำหนักแห้งฟางและผลผลิตที่สูงด้วย อย่างไรก็ตามข้าวเหมยนองในแต่ละแหล่ง
จะมีความด้านทานต่อแมลงบั่วที่แตกต่างกัน ตั้งแต่ไม่มีการเข้าทำลายแดกต่างกันในแต่ละ
ตัวอย่างเชื้อพันธุ์ข้าว เหมยนอง ตัวอย่างเชื้อพันธุ์ข้าว เหมยนองมีความหลากหลายทางพันธุกรรม
ระหว่างและภายในประชากรในลักษะทางสัณฐานวิทยาและทาง DNA ซึ่งความแปรปรวนทาง
พันธุกรรมของ ตัวอย่าง เชื้อพันธุ์ข้าว เหมยนองสามารถใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมสำหรับลักษณะ
ด้านทานต่อการเข้าทำลายของแมลงบั่วที่ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ต่อไป อย่างไรก็ตามความหลาก
หลายในข้าวเหมยนองแสดงความด้านทานและอ่อนแอต่อประชากรของแมลงบั่วที่แตกต่างกันที่
พบในการศึกษานี้ แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างเชื้อพันธุ์ข้าวข้าวเหมยนองไม่ทั้งหมดที่มีความต่านทาน

ที่เท่าเทียมกันต่อประชากรของแมลงบั่วทั้งหมด



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Copyright[©] by Chiang Mai University All rights reserved