บทที่ 3
การคัดเลือกสายพันธุ์พ่อแม่ที่ใช้ในการสร้างประชากรข้าวโพด

บทนำ

ข้าวโพด เป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญของประเทศไทย ความต้องการใช้ข้าวโพดมีมากขึ้น โดยเฉพาะในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ การพัฒนาพันธุ์ข้าวโพดตามความต้องการของเกษตรกรโดยมีทั้งการพัฒนาพันธุ์ข้าวโพดลูกผสม และสายพันธุ์แท้ รวมทั้งการปรับปรุงประชากรข้าวโพดสำหรับใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการพัฒนาพันธุ์ข้าวโพดลูกผสม งานวิจัยและพัฒนาพันธุ์ข้าวโพดนอกจากมีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้พันธุ์ที่มีผลผลิตสูงแล้วยังต้องมีความต้านทานต่อโรคที่สำคัญของข้าวโพด โรคใบไหม้แผลใหญ่ที่เกิดจากเชื้อรา *Exserohilum turcicum* (Pass) Leonard and Suggs เป็นปัญหาสำคัญของการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มากขึ้น ทำให้ผลผลิตลดลงถึง 30 - 40 เปอร์เซ็นต์ การป้องกันกำจัดโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้า วโพดที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดคือการใช้พันธุ์ต้านทานต่อโรค (เบญจพรรณและคณะ, 2546; Lipps and Mills, 2002; Pataky *et al*., 1998) การประเมินโรคในพันธุ์ข้าวโพด เพื่อเป็นการคัดเลือกพันธุ์ที่ต้านทานโรคไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์

วัตถุประสงค์ของการทดลองนี้คือ การคัดเลือกพันธุ์ข้าวโพดที่จะเป็นพันธุ์พ่อ และพันธุ์แม่เพื่อใช้ในการสร้างประชากร และการประเมินโรคใบไหม้แผลใหญ่ในประชากรข้าวโพด

สถาบันวิจัยพืชไร่เกษตร

อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 ข้าวโพดพันธุ์แท้ จำนวน 72 พันธุ์ และประชากรข้าวโพดลูกผสม Ki48 / Ki47

3.1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการเกษตรกรรม ได้แก่ ปุ๋ยเคมีสูตร 46-0-0 และสูตร 15-15-15

3.1.3 อุปกรณ์ที่ใช้ในการผสมข้าวโพด ได้แก่ ถุงกระดาษสีน้ำตาลสำหรับคลุมช่อดอกตัวผู้ ถุงกระดาษไขสีขาวสำหรับคุลมตัวเมีย คลิปหนีบกระดาษ และดินสอ 2B

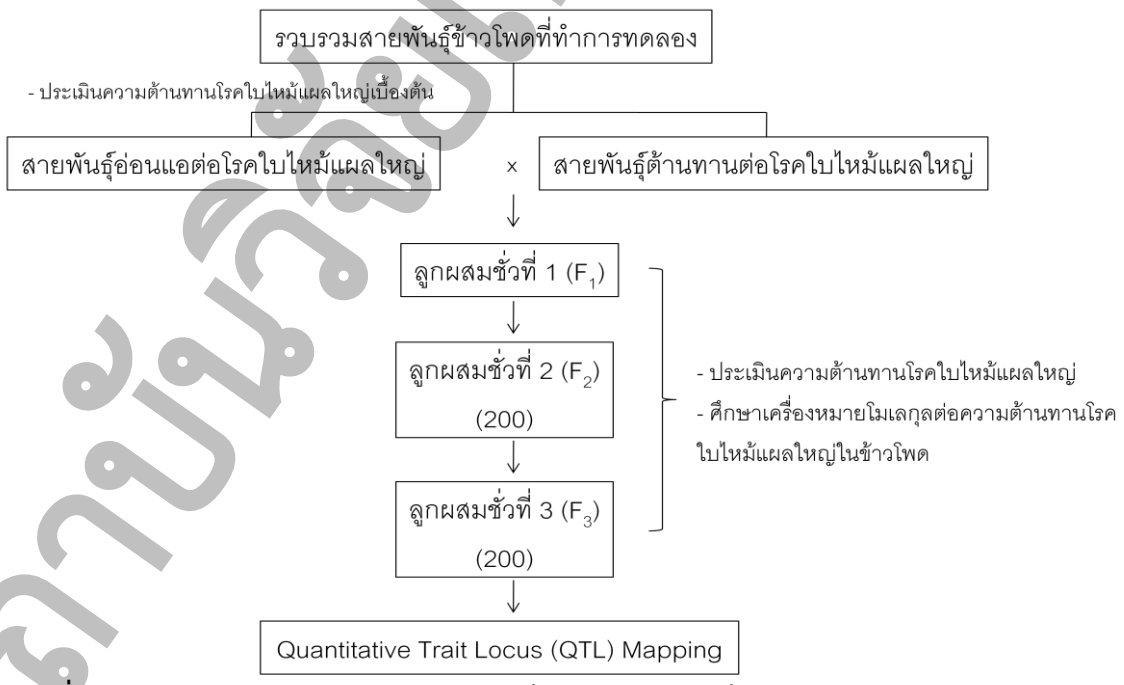
3.1.4 เชื้อรา *E. turcicum* สาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ จำนวน 4 ไอโซเลท จาก 4 แหล่งปลูกข้าวโพด

3.1.5 อุปกรณ์ห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้ปลอดเชื้อ จานเพาะเชื้อ หม้อนึ่งแรงดัน มีดผ่าตัด ปากคีบ บิ๊กเกอร์ เป็นต้น

3.1.6 สารเคมีสำหรับทำอาหารขยายเชื้อ น้ำผักผลไม้ V-8 ผงวุ้น และ แคลเซียมคาร์บอนเนต ($CaCO_3$)

3.1.7 อุปกรณ์สำหรับการทดสอบโรคใบไหม้แผลใหญ่ ได้แก่ ถาดหลุม ดินผสม ป้ายพลาสติก ถังพ่นเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่

3.2 วิธีการทดลอง



ภาพที่ 3.1 การรวบรวม การประเมิน และการสร้างประชากรของข้าวโพด

สถาบันวิจัยพืชไร่กาญจนบุรี

3.2.1 การคัดเลือกพันธุ์พ่อ และแม่ เพื่อใช้ในสร้างประชากรข้าวโพด

1) การรวบรวมข้าวโพดพันธุ์แท้ เพื่อใช้ในการสร้างประชากรข้าวโพด ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์ข้าวโพดพันธุ์แท้จาก 3 หน่วยงาน จำนวน 72 พันธุ์ และปลูกขยายเมล็ดพันธุ์ โดยปลูกแบบแถวเดี่ยว ยกร่องและให้น้ำแบบตามร่อง ระยะปลูกคือ ระหว่างแถว 75 เซนติเมตร ระหว่างต้น 25 เซนติเมตร ให้ปุ๋ยยูเรีย หรือ 46-0-0 อัตรา 30 - 50 กิโลกรัมต่อไร่ และปุ๋ยเคมี 15-15-15 อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ จากนั้นเมื่อข้าวโพดออกดอกทำการผสมตัวเอง (self) คือการนำเกสรตัวผู้ผสมกับตัวเมียในต้นเดียวกัน เพื่อให้ได้เมล็ดพันธุ์ที่มีปริมาณเพียงพอต่อการทำการทดลอง และการพัฒนาประชากร

3.2.2 การรวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพด

1) การรวบรวมเชื้อรา *E. turcicum* รวบรวมจากพื้นที่ปลูกข้าวโพดในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยการเก็บตัวอย่างใบข้าวโพดที่ติดเชื้อรา จำนวน 4 ไอโซเลท จาก 4 แหล่งปลูกข้าวโพด

2) ได้รับความอนุเคราะห์เชื้อรา *E. turcicum* สาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพด จาก รศ.ดร.ประสาทพร สมิตะมาน

3) การแยกเชื้อรา *E. turcicum* ให้ได้เชื้อราบริสุทธิ์โดยแยกเชื้อราให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคโดยการแยกสปอร์เดี่ยว (Single spore isolation) และการเลี้ยงเซลล์ปลายเส้นใย (Hyphal tip culture) เพื่อให้ได้กลุ่มของเชื้อราที่จะนำไปใช้ในการศึกษาทดลอง ในบางครั้งจำเป็นที่จะต้องเตรียมเชื้อราที่แยกได้ให้มีความสม่ำเสมอ เช่น การเตรียม Inoculums เพื่อใช้ ในการปลูกถ่ายเชื้อรา ดังนั้นการแยกเชื้อราอาจจำเป็นต้องใช้เทคนิคการแยกสปอร์เดี่ยว (Single spore isolation) กรณีของเชื้อราที่ชักนำให้เกิดการสร้างสปอร์ ได้ง่ายหรือสามารถแยกได้จากแผลของโรคโดยตรง หรือกรณีของเชื้อราที่ไม่สร้างสปอร์ หรือสร้างสปอร์ได้ยาก อาจใช้เทคนิคการเลี้ยงปลายเส้นใย (Hyphal tip culture) มาช่วยเพื่อให้ได้แหล่งเชื้อที่มีความสม่ำเสมอ (เกวลิน, 2555) ในการแยกเชื้อรานั้นต้องทำการชักนำให้เกิดการสร้างสปอร์ (Induce sporulation) ก่อนการแยกเชื้อรา

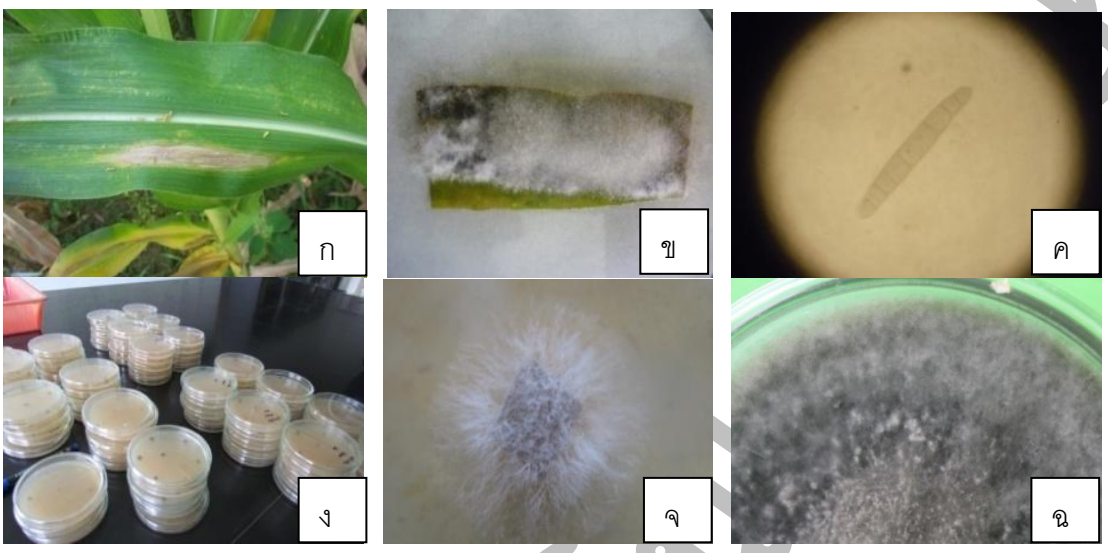
3.2.3 ขั้นตอนการแยกเชื้อรา *E. turcicum* ให้บริสุทธิ์

1) ตัดชิ้นพืชบริเวณแผล นำไปฆ่าเชื้อที่ผิวภายนอก (Surface sterilization) เพื่อเป็นการล้างสิ่งสกปรกและสิ่งแปลกปลอมอื่นๆ ออกไป โดยการใช้ปากคีบที่ฆ่าเชื้อแล้ว คีบชิ้นพืชแช่ในชิ้นส่วนของพืชล้างในแอลกอฮอร์ 95% นาน 10 วินาที แล้วทำการล้างแอลกอฮอร์ออกด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อทันทีนาน 10 วินาที

2) สลัดน้ำออกและวางชิ้นพืชลงบนกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อในจานเลี้ยงเชื้อ 1 - 2 ชิ้นต่อจาน นำไปบ่มเชื้อไว้ในตู้ปรับอุณหภูมิประมาณ 27 - 28 องศาเซลเซียส เวลา 5 - 7 วัน

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3) สังเกตลักษณะสปอร์ของเชื้อราที่เจริญขึ้น จากนั้นจึงย้ายไปเลี้ยงไว้บนอาหาร V-8 juice agar เพื่อชักนำให้เชื้อเกิดการสร้างสปอร์ต่อไป ดังแสดงในภาพที่ 3.1



ภาพที่ 3.2 ลักษณะแผลและการแยกเชื้อรา *E. turcicum*

ก. ลักษณะอาการของแผลที่เกิดบนใบข้าวโพด

ข. สปอร์เชื้อราที่เจริญขึ้นบนแผล

ค. ลักษณะสปอร์ของเชื้อ *E. turcicum*

ง. การเพิ่มปริมาณเชื้อโดยการนำชิ้นส่วนเลี้ยงบนจานเพาะเชื้อ

จ. ลักษณะของเชื้อที่เริ่มขยายจากชิ้นส่วนที่เลี้ยง

ฉ. ลักษณะของเชื้อที่ขยายเต็มจานเพาะเชื้อ

4) การขยายเชื้อรา *E. turcicum*

- สูตรอาหาร V-8 juice agar ประกอบด้วย

น้ำผักผลไม้ V-8	100	มิลลิลิตร
ผงวุ้น	20	กรัม
แคลเซียมคาร์บอนเนต ($CaCO_3$)	0.8	กรัม
น้ำสะอาด	1,000	มิลลิลิตร

สถาบันวิจัยพืชไร่

- การเตรียมอาหาร V-8 juice agar นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอร์นต่อตารางนิ้ว เทอาหารเลี้ยงเชื้อ ลงจานเพาะเชื้อ ปริมาณที่เทประมาณ 5 - 10 มิลลิลิตรต่อจานเพาะเชื้อ รอให้อาหารแข็งตัวใช้เวลา 30 - 60 นาที

- เลี้ยงเชื้อราบนอาหาร V-8 juice agar ตัดชิ้นส่วนเชื้อราที่ทำการแยกเชื้อในข้างต้น ขนาดประมาณ 0.5 มิลลิเมตร วางบนอาหารจำนวน 5 - 7 จุดต่อจานเพาะเชื้อ ควบคุมอุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อราที่ 27 - 28 องศาเซลเซียส

- การเพิ่มปริมาณเชื้อราที่บริสุทธิ์แล้วให้มีปริมาณมาก เพื่อให้เพียงพอต่อการปลูกถ่ายเชื้อ

3.2.3 การทดสอบโรคใบไหม้แผลใหญ่

1) การคัดเลือกสายพันธุ์พ่อแม่ที่ใช้ในการสร้างประชากรข้าวโพด โดยการทดสอบและประเมินระดับอาการเกิดโรค จำนวน 4 ไอโซเลท จาก 4 แหล่งปลูกข้าวโพด ร่วมเชื้อ ราสาเหตุโรคจาก รศ.ดร.ประสาทพร สมิตะมาน ทำการคัดเลือกสายพันธุ์พ่อแม่ ที่มีความต้านทาน (resistance) ต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ ที่ระดับการเกิดโรค 0 - 1 อย่างน้อยจำนวน 8 สายพันธุ์ และสายพันธุ์พ่อแม่ที่มีความอ่อนแอ (Susceptible) ต่อโรคใบไหม้แปลใหญ่ ที่ระดับการเกิดโรค 4 - 5 อย่างน้อยจำนวน 8 สายพันธุ์ จากสายพันธุ์ที่นำมาทดสอบทั้งหมด 72 สายพันธุ์

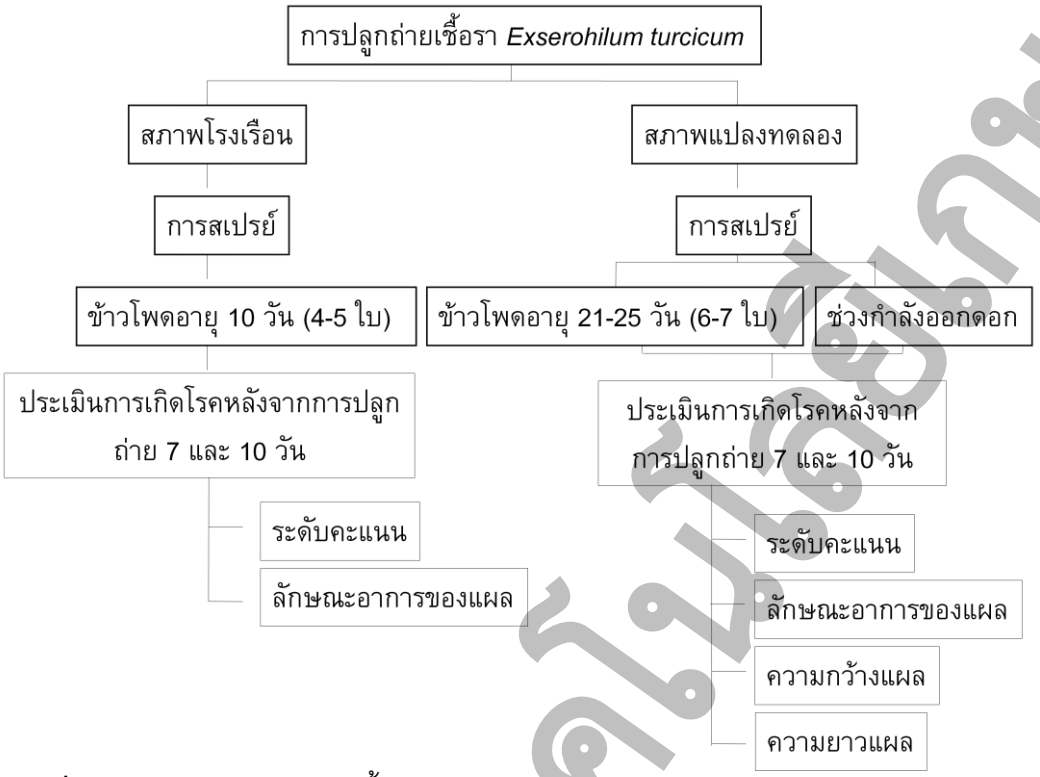
2) การคัดเลือกเชื้อรา *E. turcicum* สาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพดให้เหลืออย่างน้อยจำนวน 1 ไอโซเลท มาใช้ทำการทดสอบและการประเมินระดับอาการเกิดโรคในประชากรรุ่นต่อไป เนื่องจากพันธุกรรมของเชื้อราดังกล่าวไม่มีความแตกต่างกัน (สุกัญญา 2549)

3) การสร้างประชากรข้าวโพดลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) โดยการผสมข้าม (Crossing) (การนำเกสรตัวผู้ของต้นหนึ่งผสมกับตัวเมียอีกต้น) พันธุ์พ่อแม่ที่ทำการคัดเลือกที่มีความต้านทานและอ่อนแอต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ และประกอบกับการบันทึกลักษณะทางการเกษตร ได้แก่ จำนวนวันออกดอกเพศผู้ สีดอกเพศผู้ จำนวนวันออกไหม สีไหม ความสูงต้น และระบบราก เป็นต้น

ประชากร F_1 ถูกนำมาผสมตัวเอง โดยการผสมตัวเอง (self) คือการนำเกสรตัวผู้ผสมกับตัวเมียในต้นเดียวกัน เพื่อพัฒนาเป็นข้าวโพดลูกผสมชั่วที่ 2 (F_2) ซึ่งจะถูกนำมาใช้ในการประเมินลักษณะความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ เพื่อดูลักษณะการกระจายตัวของลักษณะดังกล่าวโดยใช้สถิติค่าความถี่ แสดงผลรวม ความถี่ ร้อยละ และการใช้กราฟฮิสโตแกรม (Histogram) หรือ กราฟแท่งแบบเฉพาะ โดยแกนตั้งจะเป็นตัวเลขแสดง “ความถี่” และมีแกนนอนเป็นข้อมูลของระดับอาการเกิดโรคใบไหม้แผลใหญ่ที่แสดงออกในรุ่นลูก จากนั้น สร้างประชากรจนถึงลูกผสมชั่วที่ 3 (F_3) เพื่อใช้ในการประเมินระดับอาการของโรคใบไหม้แผลใหญ่อีกครั้ง

สถาบันวิจัยพืชไร่กำแพงแสน

3.2.4 การปลูกถ่ายเชื้อ *E. turcicum*



ภาพที่ 3.3 เทคนิคการปลูกถ่ายเชื้อโรคใบไหม้แผลใหญ่ในสภาพโรงเรือนและสภาพแปลงทดลอง

1) การเตรียมสถานที่ที่ใช้ในการปลูกถ่ายเชื้อรา และการเตรียมต้นข้าวโพดสำหรับการทดสอบการประเมินโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในสภาพโรงเรือนและสภาพแปลงทดลอง

1.1) การเตรียมโรงเรือนและแปลงทดลอง เพื่อเป็นสถานที่ในการปลูกถ่ายเชื้อ

- การเตรียมโรงเรือน โดยการมุงตาข่ายพรางแสงประมาณร้อยละ 50 และติดสปริงเกอร์ด้านบนของโรงเรือน เพื่อเป็นการควบคุมอุณหภูมิและความชื้นภายในโรงเรือน จากนั้นปลูกเมล็ดข้าวโพดลงกระบะเพาะจำนวน 5 ซ้ำ ให้ข้าวโพดมีอายุ 10 วัน (4 - 5 ใบ) เพื่อการปลูกถ่ายเชื้อโรคโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในสภาพโรงเรือน เพาะเมล็ดข้าวโพดในถาดเพาะเมล็ด ขนาด 104 หลุม ใน 1 ถาดสามารถปลูกข้าวโพดได้จำนวน 12 สาย (ปลูก 1 หลุม เว้น 1 หลุม) วัสดุปลูกที่ใช้ คือ ดินดำ ขุยมะพร้าว แกลบดิบ และเปลือกถั่วลิสง อัตราส่วน 1:1:1:1 ในการปลูกในแต่ละถาดเพาะเมล็ด นอกจากปลูกพันธุ์ข้าวโพดที่ใช้ทดสอบแล้ว ได้ทำการปลูกพันธุ์มาตรฐานที่เป็นพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอด้วยเพื่อใช้เป็นพันธุ์ตรวจสอบ (ภาพที่ 3.4)

สถาบันวิจัยพืชไร่และกายภาพ

ภาพที่ 3.4 การเตรียมต้นข้าวโพดที่ใช้ในการประเมินความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ในสภาพโรงเรือน

- การเตรียมแปลงทดลอง โดยการไถด้วยผาน 7 จำนวน 1 ครั้ง และไถพรวนให้ดินละเอียดอีก 1 ครั้ง วัดระยะการปลูกระหว่างแถว 75 เซนติเมตร และระหว่างต้น 25 เซนติเมตร จากนั้นปลูกเมล็ดข้าวโพดจำนวน 10 ซ้ำ ให้ข้าวโพดมีอายุ 21 - 25 วัน (6 - 7 ใบ) เพื่อการปลูกถ่ายเชื้อโรคโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในสภาพแปลงทดลอง ปลูกพันธุ์มาตรฐานอ่อนแอภายในแปลงทดสอบ และปลูกเป็นแถวรอบแปลงทดสอบไว้ด้วย (ภาพที่ 3.5)

ภาพที่ 3.5 การเตรียมแปลงและต้นข้าวโพด เพื่อใช้ในการประเมินความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในสภาพแปลงทดลอง

2) การปลูกถ่ายเชื้อรา *E. turcicum* ลงบนต้นข้าวโพด ในสภาพโรงเรือน โดยใช้วิธีการสเปรย์เชื้อราให้ตกบนใบและต้นข้าวโพด อัตราที่ใช้อย่างน้อยคือ 5×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

- เตรียม spore suspension หรือ Inoculums ที่มีปริมาณสปอร์เชื้อ 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร โดยสปอร์ของเชื้อควรอยู่ในสภาพที่สมบูรณ์แข็งแรง และใช้ Tween-60 ใช้เป็นสารจับใบ

สถาบันวิจัยพืชไร่

- นำต้นกล้าข้าวโพดในถาดเพาะที่เตรียมไว้แล้ว ใส่เข้าไปในถุงพลาสติกบางใส ขนาดใหญ่ โดยให้มีพื้นที่พอสำหรับการฉีดพ่นเชื้อ ถุงพลาสติกไม่ควรมีขนาดเล็กเกินไป เพราะอาจทำให้ต้นกล้าข้าวโพดบอบช้ำและมีรอยแผลได้

- ทำการฉีดพ่นเชื้อที่เตรียมไว้ด้วยกระบอกฉีด ปริมาตร 100 มิลลิลิตรต่อ 1 ถาด เพาะ โดยฉีดพ่นต้นกล้าข้าวโพดภายในถุงพลาสติกให้ทั่วทั้งถาด

- ปิดปากถุงพลาสติก และนำไปวางไว้ในโรงเรือนที่เตรียมสภาพให้เหมาะสมแล้ว ควรทำการปลูกถ่ายเชื้อในช่วงเย็น เนื่องจากแสงแดดไม่จัดและอุณหภูมิไม่สูงเกินไป

- หลังการฉีดพ่นเชื้อ 12 ชั่วโมง นำถุงพลาสติกออก หลังจากนั้นทำการประเมินความรุนแรงของโรคที่ 7 และ 10 วัน

ภาพที่ 3.6 ขั้นตอนการดำเนินการปลูกถ่ายเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ในสภาพโรงเรือน

3) การปลูกถ่ายเชื้อรา *E. turcicum* ลงบนต้นข้าวโพด ในสภาพแปลงทดลอง โดยใช้วิธีการสเปรย์เชื้อราให้ตกบนใบและต้นข้าวโพด อัตราที่ใช้อย่างน้อยคือ 5×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

- การเตรียมแปลงทดสอบ โดยการไถด้วยผาน 7 จำนวน 1 ครั้ง และไถพรวนให้ดินละเอียดด้วยรถไถพรวนอีก 1 ครั้ง วัดระยะการปลูกข้าวโพด 75 x 25 เซนติเมตร

- การปลูก ข้าวโพดเมล็ด 2 เมล็ดต่อหลุม ไม่มีการถอนแยก

สถาบันวิจัยพืชไร่ศรี

- หลังจากปลูกฉีดพ่น อะลาคลอร์ (เป็นสารเคมีที่ใช้ฉีดพ่นวัชพืชก่อนพืชปลูกจะงอก) ใช้อัตรา 500 - 1,000 กรัม/ไร่ กำ จัดได้ดีเฉพาะวัชพืชใบแคบ การใช้สารเคมีกำจัดวัชพืชจะได้ผลดีแปลงต้องมีความชื้นก่อนพ่น

- ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 ใส่ 2 ระยะ คือ ครั้งที่ 1 ใส่ปุ๋ยเมื่อข้าวโพดอายุ 25-30 วัน และครั้งที่ 2 ใส่ปุ๋ยเมื่อข้าวโพดอายุ 40-45 วัน อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ ในแต่ละครั้ง

- การเตรียมต้นกล้าข้าวโพด อายุ 21-25 วัน (6-7 ใบ) เพื่อการปลูกถ่ายเชื้อโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในสภาพแปลงทดลอง ปลูกพันธุ์มาตรฐานอ่อนแอภายในแปลงทดสอบ และปลูกเป็นแถวรอบแปลงทดสอบไว้ด้วย

- การปลูกถ่าย (Inoculation) เชื้อรา *E. turcicum* ลงบนต้นข้าวโพดที่ใช้ในการวิจัยและการอ่านผลหลังจากการปลูกถ่ายเชื้อ ในสภาพแปลงทดลอง โดยมีขั้นตอนดังนี้

- เตรียม Inoculums ที่มีปริมาณสปอร์เชื้อ 10^5 โคนิเดียต่อมิลลิลิตร โดยสปอร์ของเชื้อควรอยู่ในสภาพที่สมบูรณ์แข็งแรง

- ทำการฉีดพ่นเชื้อที่เตรียมไว้ด้วยกระบอกฉีด ปริมาตร 1 มิลลิลิตรต่อต้น ให้ทั่วแปลงทดสอบ ควรทำการปลูกถ่ายเชื้อในช่วงเย็น เนื่องจากแสงแดดไม่จัดและอุณหภูมิไม่สูงเกินไป

- ควบคุมอุณหภูมิและความชื้นในแปลงโดยการให้น้ำทางสปริงเกอร์

ภาพที่ 3.7 ขั้นตอนการดำเนินการปลูกถ่ายเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ในสภาพแปลงทดลอง

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4) การประเมินระดับอาการเกิดโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในสภาพโรงเรือนและสภาพแปลงทดลอง หลังจากการปลูกถ่ายเชื้อโรคลงบนข้าวโพด ประมาณ 7 และ 10 วัน เริ่มบันทึกอาการของโรคหลังจากการปลูกถ่าย (การปลูกถ่ายเชื้อในสภาพแปลงทดลองจะอ่านผลอยู่ 2 ระยะ คือ อายุ 21 - 25 วัน (6 - 7 ใบ) และหลังข้าวโพดผสมประมาณ 20 วัน (อายุ 90 - 95 วัน)

เกณฑ์การประเมินระดับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ มี 2 เกณฑ์ คือ 1) การประเมินโดยคิดจากร้อยละของพื้นที่ใบที่ถูกเชื้อโรคเข้าทำลาย และ 2) การประเมินโดยคิดจากระดับคะแนนชนิดของแผล รายละเอียดมีดังนี้

1) การประเมินโดยคิดจากร้อยละของพื้นที่ใบที่ถูกเชื้อโรคเข้าทำลาย การประเมินระดับอาการเกิดโรคใบไหม้แผลใหญ่ให้คะแนนตามหลักเกณฑ์ Lipps *et al*., 1997

ความต้านทาน	ระดับคะแนน	อาการเกิดโรค
R	0	0 % ของพื้นที่ใบรวม ไม่พบอาการเกิดโรค
R	1	1 - 20 % ของพื้นที่ใบรวม อาการโรคบางใบ
MR	2	21 - 40 % ของพื้นที่ใบรวม อาการโรคกระจาย
MS	3	41 - 60 % ของพื้นที่ใบรวม อาการโรคเกือบทุกใบ
S	4	61 - 80 % ของพื้นที่ใบรวม อาการโรคทั่วทั้งต้น
S	5	81 - 100 % ของพื้นที่ใบรวม อาการโรครุนแรงทั่วทั้งต้น

ภาพที่ 3.8 แสดงระดับความรุนแรงของโรคใบไหม้แผลใหญ่

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2) การประเมิน โดยคิดจากระดับคะแนนชนิดของแผล จากระดับความรุนแรงการเกิดโรคของสายพันธุ์ข้าวโพดที่นำมาทดสอบ จำแนกปฏิกิริยาความต้านทานต่อโรคออกเป็น 4 กลุ่ม ตามค่าเฉลี่ย (ดัดแปลงจาก ศิวิไล, 2551) ได้แก่

Resistance (R) = ต้านทานต่อโรค ระดับการเกิดโรค 0.0 – 1.0

Moderate resistance (MR) = ต้านทานต่อโรคปานกลาง ระดับการเกิดโรค 1.1 – 2.0

Moderate susceptible (MS) = อ่อนแอต่อโรคปานกลาง ระดับการเกิดโรค 2.1 – 3.0

Susceptible (S) = อ่อนแอต่อโรค ระดับการเกิดโรค 3.1 – 5.0

3.3 การบันทึกข้อมูล

3.3.1 ข้อมูลลักษณะทางการเกษตร ได้แก่ จำนวนวันออกดอกเพศผู้ สีดอกเพศผู้ จำนวนวันออกไหม สีไหม ความสูงต้น และระบบราก

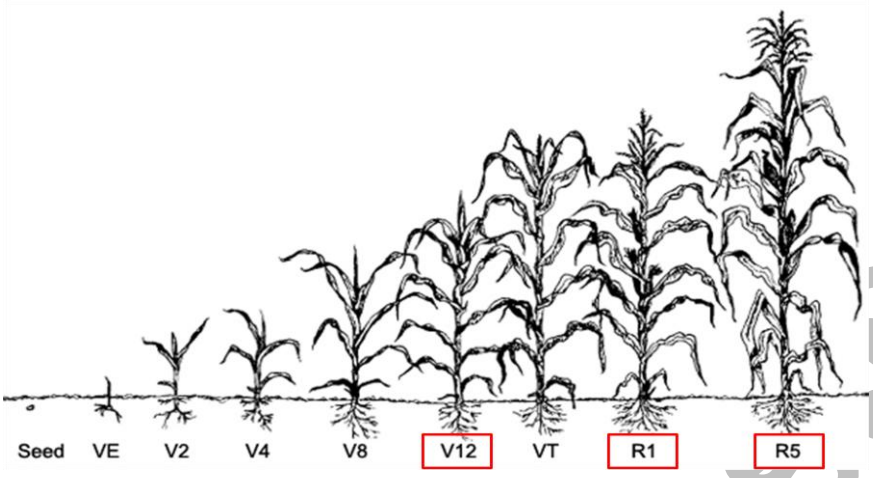
3.3.2 ข้อมูลการประเมินความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ในสภาพโรงเรือน ข้อมูลชนิดของแผล (Disease Size) หลังการปลูกถ่ายเชื้อ 7 วัน แทนด้วยสัญลักษณ์ DS7 และ 10 วัน แทนด้วยสัญลักษณ์ DS10

3.3.3 ข้อมูลการประเมินในสภาพแปลงทดลอง เก็บข้อมูล 3 ลักษณะ ได้แก่

1) ชนิดของแผล (Disease Size) หลังการปลูกถ่ายเชื้อ 45, 90 และ 100 วัน แทนด้วย DS1 DS2 และ DS3 (บันทึกผลครั้งที่ 1 2 และ 3) ตามลำดับ

2) ร้อยละของพื้นที่ใบที่เป็นโรค (Disease Long Area) หลังการปลูกถ่ายเชื้อ 45, 90 และ 100 วัน แทนด้วย DLA1 DLA2 และ DLA3 (บันทึกผลครั้งที่ 1 2 และ 3) ตามลำดับ (ภาพที่ 3.9)

สถาบันวิจัยพืชไร่ยโสธร



ภาพที่ 3.9 ระยะการเจริญเติบโตของข้าวโพด ที่ทำการเก็บข้อมูลระดับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในสภาพแปลงทดลอง
(ดัดแปลงจาก Purdue University. 2009. Corn Growth Stages. http://extension.entm.Purdue .edu/fieldcropsipm/corn-stages.php)

3) อัตราการเพิ่มขึ้นของโรค แทนด้วย DDS1 DDS2 และ DDS3 โดย

DDS1 คำนวณจากส่วนต่างระหว่างขนาดของบาดแผลจากผลการบันทึก ครั้งที่ 1 และ 2 (DS2-DS1)/DS2

DDS2 คำนวณจากส่วนต่างระหว่างขนาดของบาดแผลจากผลการบันทึก ครั้งที่ 1 และ 3 (DS3-DS1)/DS3

DDS3 คำนวณจากส่วนต่างระหว่างขนาดของบาดแผลจากผลการบันทึก ครั้งที่ 2 และ 3 (DS3-DS2)/DS2

3.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

3.4.1 การวิเคราะห์ค่าเฉลี่ย ร้อยละทางสถิติ ของระดับการเกิดโรคใบไหม้แผลใหญ่ของประชากรข้าวโพดแต่ละสายพันธุ์

3.4.2 วิเคราะห์อัตราการเพิ่มขึ้นของโรค คำนวณจาก

$$= \frac{\text{ขนาดแผลจากการบันทึกครั้งที่ n+1} - \text{ขนาดแผลจากการบันทึกที่ n}}{\text{ขนาดแผลจากการบันทึกครั้งที่ n+1}}$$

3.4.3 แสดงผลกราฟการกระการเกิดโรค

สถาบันวิจัยพืชไร่ภาษา

3.5 **สถานที่ทำการทดลอง**

งานพืชไร่-นา สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา ตำบลพิชัย อำเภอเมือง จังหวัดลำปาง

3.6 **ระยะเวลาในการทำการทดลอง**

ระยะเวลาการวิจัย 2 ปี ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม พ.ศ.2554 ถึง เดือนพฤษภาคม พ.ศ.2556

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร

ผลการทดลอง

1. การรวบรวมและคัดเลือกพันธุ์พ่อ และพันธุ์แม่ที่ใช้ในการสร้างประชากรข้าวโพด

1.1 การรวบรวมพันธุ์แท้ เพื่อใช้ในการสร้างประชากรข้าวโพด ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์ข้าวโพดพันธุ์แท้จาก 3 หน่วยงาน จำนวน 72 พันธุ์ (ตารางที่ 3.1)

1.1.1 ข้าวโพดพันธุ์แท้ Ki จำนวน 57 พันธุ์ และข้าวโพดพันธุ์แท้ Kei จำนวน 3 พันธุ์ จากศูนย์วิจัยข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ

1.1.2 ข้าวโพดพันธุ์แท้ CPSI จำนวน 6 พันธุ์ จาก บริษัท เจริญโภคภัณฑ์เมล็ดพันธุ์ จำกัด

1.1.3 ข้าวโพดพันธุ์แท้ NSC จำนวน 4 พันธุ์ จาก บริษัท พืชพันธุ์ตะวันเหนือ จำกัด

1.1.4 ข้าวโพดที่ใช้เป็นพันธุ์มาตรฐานอ่อนแอ (ไฮบริกซ์ 3) และพันธุ์มาตรฐานต้านทาน (อินทรี 2) ต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่

ตารางที่ 3.1 ข้อมูลความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ในเบื้องต้น ของข้าวโพดพันธุ์แท้จำนวน 72 พันธุ์ จากแหล่งพันธุกรรม

ลำดับ	พันธุ์	แหล่งพันธุกรรม	ลักษณะความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่	
			R (ต้านทาน)	S (อ่อนแอ)
1	Ki1 - Ki59	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	25	32
2	Kei	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	1	2
3	CPSI#1 - CPSI#6	บริษัท เจริญโภคภัณฑ์เมล็ดพันธุ์ จำกัด	3	3
4	NSC	บริษัท พืชพันธุ์ตะวันเหนือ จำกัด	-	4
5	ไฮบริกซ์ 3	พันธุ์มาตรฐานการค้า	-	1
6	อินทรี 2	พันธุ์มาตรฐานการค้า	1	-
	รวม		30	42

สถาบันวิจัยพืชไร่เกษตร

1.2 การรวบรวมเชื้อโรคใบไหม้แผลใหญ่

ในการดำเนินการรวบรวมเชื้อรา *E. turcicum* สาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพด ได้รับความอนุเคราะห์จากรศ.ดร.ประสาทพร สมิตะมาน เชื้อราดังกล่าวได้รับการทดสอบความรุนแรง (virulent) ของเชื้อในเบื้องต้น จึงทำการคัดเลือกเชื้อรา จำนวน 4 ไอโซเลท จาก 4 แหล่งปลูกข้าวโพด มาดำเนินงานวิจัย ตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 เชื้อรา *E. turcicum* ไอโซเลทจากภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 4 ไอโซเลท จาก 4 แหล่งปลูกข้าวโพด

ลำดับ	ไอโซเลท	แหล่งที่มา (จังหวัด)
1	MCC7	เชียงใหม่
2	KL1	เชียงใหม่
3	H5	เลย
4	AICL1	ลำปาง

เชื้อรา *E. turcicum* ที่ใช้ในการดำเนินงานวิจัย โคนิเดียมีลักษณะโค้งเล็กน้อย คล้ายพระจันทร์เสี้ยว หัวท้ายมีลักษณะเรียว ส่วยที่กว้างสุดอยู่ตรงกลางโคนีเดียมีผนังกัน (Septate hypha) ตั้งแต่ 5 - 7 อัน สีของโคนิเดียมีสีน้ำตาลอ่อนจนถึงน้ำตาลเข้มเมื่ออายุโคนิเดียมากขึ้น การสร้างโคนิเดียของเชื้อรา *E. turcicum* จะสร้างเพิ่มมากขึ้นเมื่อไม่มีแสง หรือเลี้ยงในความมืด

การแยกเชื้อ *E. turcicum* ให้ได้เชื้อบริสุทธิ์โดยแยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคนิคการแยกเชื้อราบริสุทธิ์โดยการแยกสปอร์เดี่ยว (Single spore isolation) และการเลี้ยงเซลล์ปลายเส้นใย (Hyphal tip culture) ในการแยกเชื้อรานั้นต้องทำการชักนำให้เกิดการสร้างสปอร์ (Induce sporulation) ก่อนการแยกเชื้อ

สถาบันวิจัยพืชไร่เขตร้อน

เลือกใบข้าวโพดที่เกิดแผลซึ่งเกิดจากเชื้อรา *E. turcicum* สีของแผลเป็นสีเทา

ตัดแผลให้มีขนาด 2 นิ้ว จากนั้นล้างด้วยแอลกอฮอร์ และน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ วางแผลบนกระดาษกรองที่ชื้น บ่ม 5 - 7 วัน เพื่อให้เกิดเส้นใยและสปอร์

หลังจากนั้นใช้เข้มปลายแหลมเขี่ยโคนิเดียจากแผลที่บ่มไว้ ให้ได้โคนิเดียเดี่ยว เพื่อนำไปเลี้ยงบนอาหาร V-8 juice agar

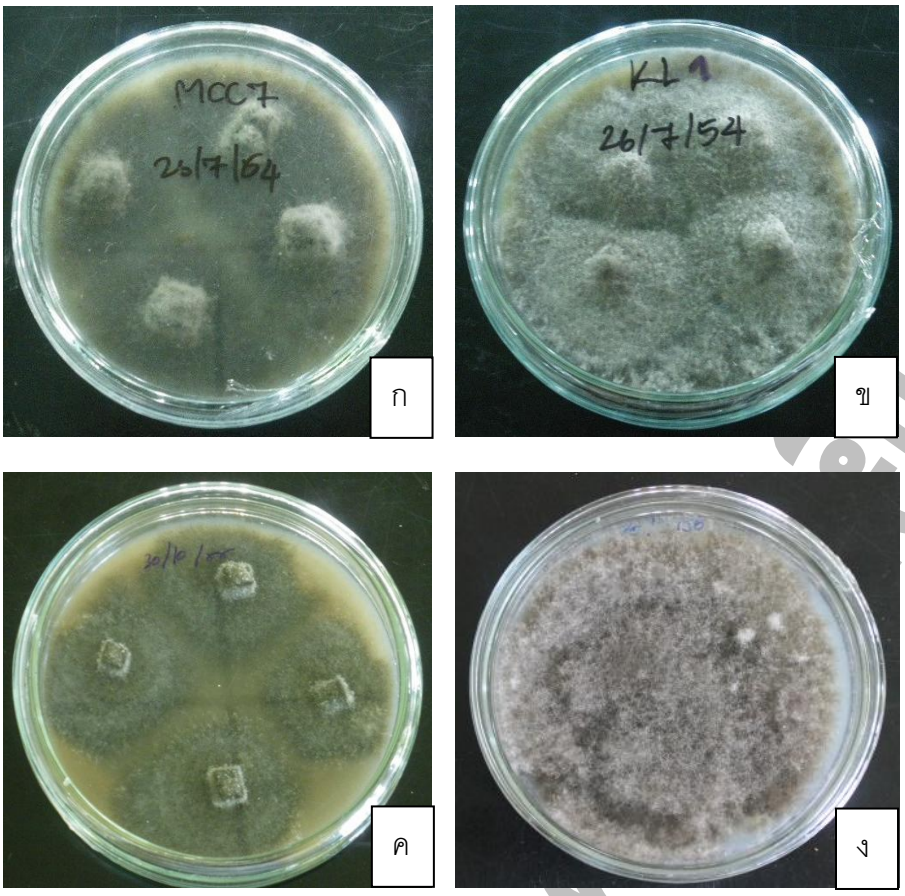
ภาพที่ 3.10 การแยกเชื้อราให้ได้เชื้อบริสุทธิ์โดยการตัดแผลจากใบ และใช้เทคนิคการแยกเชื้อราโดยการแยกสปอร์เดี่ยว (Single spore isolation)

ตัดชิ้นส่วนเชื้อย้ายไปเลี้ยงไว้บนอาหาร V-8 juice agar เพื่อชักนำให้เชื้อราเกิดการสร้างสปอร์

อุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อราที่ 27 - 28 องศาเซลเซียส การเพิ่มปริมาณเชื้อราที่บริสุทธิ์แล้วให้มีปริมาณมาก เพื่อให้เพียงพอต่อการปลูกถ่ายเชื้อรา

ภาพที่ 3.11 การขยายเชื้อรา เป็นการเพิ่มปริมาณเพื่อใช้ในการปลูกถ่ายเชื้อข้าวโพด

สถาบันวิจัยและพัฒนา



ภาพที่ 3.12 เชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ จำนวน 4 ไอโซเลท จาก 4 แหล่งปลูกข้าวโพด

ก. เชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ ไอโซเลท MCC7

ข. เชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ ไอโซเลท KI1

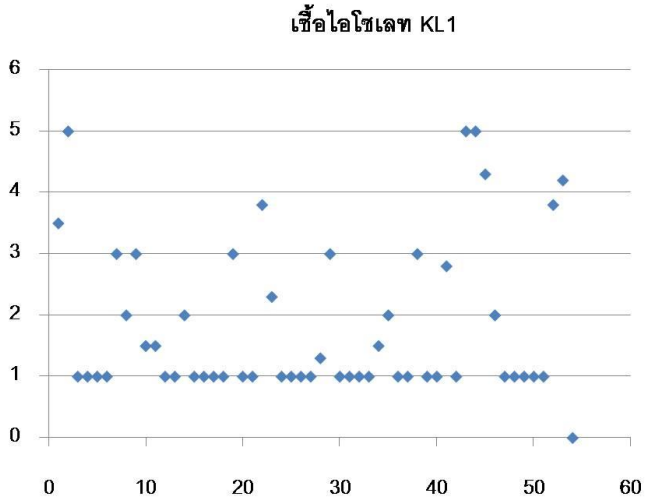
ค. เชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ ไอโซเลท H5

ง. เชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ ไอโซเลท AICL1

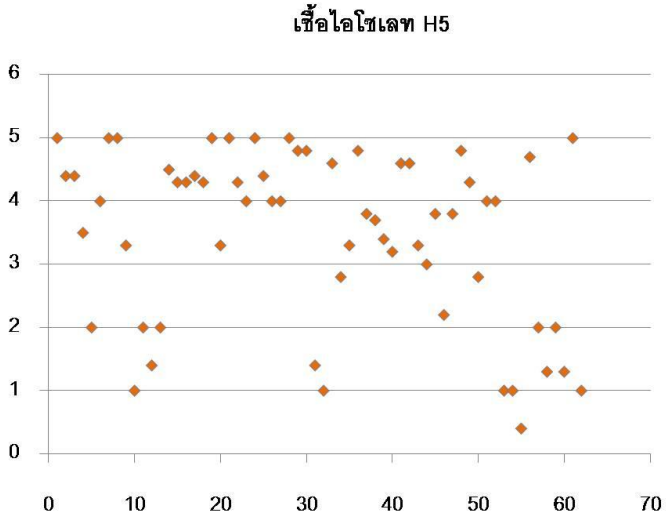
2. การทดสอบโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพดพันธุ์แท้

ผลการประเมินโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพดสายพันธุ์พ่อและแม่ในเบื้องต้น พบว่า การกระจายตัวของข้าวโพดสายพันธุ์แท้ที่ทำการประเมินโรค โดยใช้เชื้อจำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ เชื้อไอโซเลท KL1 มีการกระจายตัวของข้าวโพดพันธุ์แท้อยู่ที่ระดับ 1 เป็นส่วนมาก นั้นแสดงว่า ข้าวโพดแสดงความต้านทานต่อเชื้อไอโซเลทดังกล่าว (ภาพที่ 3.13) เชื้อไอโซเลท H5 มีการกระจายตัวของข้าวโพดพันธุ์แท้อยู่ที่ระดับ 3 – 5 นั้นแสดงว่าข้าวโพดพันธุ์แสดงความอ่อนแอต่อเชื้อ H5 เป็นส่วนมาก (ภาพที่ 3.14) ส่วนเชื้อไอโซเลท MCC7 มีการกระจายตัวของข้าวโพดพันธุ์แท้อยู่ที่ระดับ 1 เป็นส่วนมากเช่นเดียวกับเชื้อไอโซเลท KL1 (ภาพที่ 3.15)

สถาบันวิจัยพืชไร่เกษตร

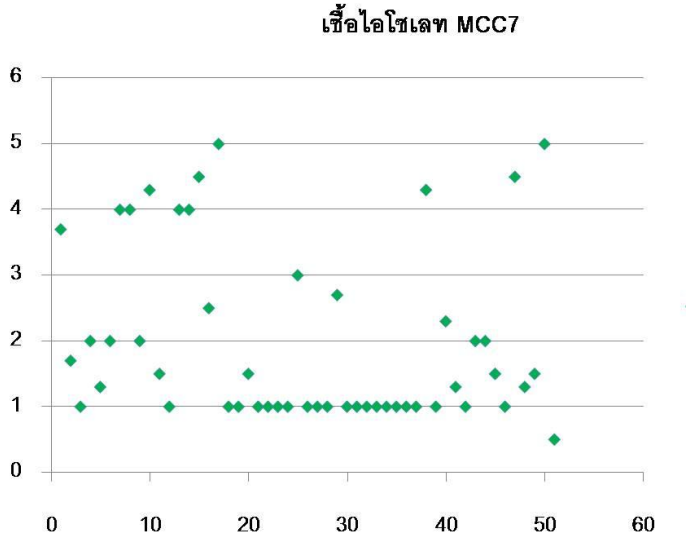


ภาพที่ 3.13 การกระจายตัวของระดับ การประเมินโรค ใบไหม้แผลใหญ่ ของข้าวโพดพันธุ์แท้ โดย เชื้อราไอโซเลท KL1 ในสภาพโรงเรือน



ภาพที่ 3.14 การกระจายตัวของระดับ การประเมินโรค ใบไหม้แผลใหญ่ ของข้าวโพดพันธุ์แท้ โดย เชื้อราไอโซเลท H5 ในสภาพโรงเรือน

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 3.15 การกระจายตัวของระดับ การประเมินโรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพดพันธุ์แท้ โดยเชื้อราไอโซเลท MCC7 ในสภาพโรงเรือน

จากนั้นคัดเลือกพันธุ์พ่อแม่เพื่อใช้ในการสร้างประชากร พบว่า จากข้าวโพดพันธุ์แท้ทั้งหมด 72 พันธุ์ ที่ทำการประเมินโรคใบไหม้แผลใหญ่เบื้องต้น โดยใช้เชื้อราจำนวน 2 ไอโซเลท คือ เชื้อไอโซเลท H5 และ MCC7 สามารถคัดเลือกพันธุ์ที่ใช้เป็นพันธุ์พ่อแม่หลักทั้งหมด จำนวน 16 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ต้านทาน จำนวน 8 พันธุ์ และพันธุ์อ่อนแอ จำนวน 8 พันธุ์ แต่พันธุ์ที่สนใจเพื่อใช้ในการทำวิจัย คือ Ki48 (ต้านทานต่อโรค) และ Ki47 (อ่อนแอต่อโรค) เนื่องจากพันธุ์ดังกล่าวมีลักษณะความต้านทานโรคที่ชัดเจน และพันธุ์ดังกล่าวยังมีสมรรถนะการผสม (combining ability) ที่ดีอีกด้วย กล่าวคือ ความสามารถของพันธุ์พ่อแม่ที่จะให้รุ่นลูกที่ดี (superior progenies)

3. การประเมินความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพดพันธุ์แท้ จำนวน 16 พันธุ์ ในสภาพโรงเรือน

การประเมินความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพดพันธุ์แท้ จำนวน 16 พันธุ์ ในสภาพโรงเรือน ใช้เกณฑ์การประเมินความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ คะแนนอ้างอิงจาก ศิวิไล , 2551 และ Lipps *et al*., 1997 และทำการทดสอบด้วยเชื้อ 2 ไอโซเลท คือ MMC7 (ไอโซเลทภาคเหนือ) และ H5 (ไอโซเลทภาคตะวันออกเฉียงเหนือ)

ผลการทดลอง พบว่า พันธุ์ข้าวโพดที่ ประเมินความต้านทานโรค แสดงความต้านทานโรคระดับปานกลาง และอ่อนแอ ต่อโรค เป็นส่วนใหญ่ (ตารางที่ 3.3) และเมื่อจัดแบ่งระดับความ

สถาบันวิจัยพืชไร่ยโสธร

ต้านทานเป็น 4 ระดับ พบว่า เชื้อไอโซเลท MCC7 มีความรุนแรงสูง ในการเข้าทำลายความต้านทานโรคของพันธุ์ข้าวโพด คิดเป็นร้อยละ 6.3 ที่แสดงระดับความต้านทาน (R) จำนวน 1 พันธุ์ ได้แก่ CPSI#3R ที่ระดับต้านทานปานกลาง (MR) คิดเป็นร้อยละ 43.8 ส่วนระดับอ่อนแอปานกลาง (MS) คิดเป็นร้อยละ 12.5 และที่ระดับอ่อนแอ (S) คิดเป็นร้อยละ 37.5 จำนวน 6 พันธุ์ ได้แก่ Ki11, Ki15, Ki24, Ki37, Ki47 และ CPSI#4S (ตารางที่ 3.4)

ตารางที่ 3.3 ระดับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ของข้าวโพดพันธุ์แท้ 16 พันธุ์ ที่ทดสอบในสภาพโรงเรือน กับ 2 เชื้อสาเหตุ จากภาคเหนือ (MCC7) และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (H5)

ลำดับ	สายพันธุ์	ความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่	
		เชื้อราไอโซเลท MCC7	เชื้อราไอโซเลท H5
1	Ki2	1.4	1.2
2	Ki5	1.4	0.5
3	Ki12	1.4	2.5
4	Ki34	1.4	0.6
5	Ki25	1.2	1.0
6	Ki48	1.4	1.3
7	Ki52	1.4	2.0
8	CPSI#3R	1.0	0.4
9	Ki3	2.8	3.4
10	Ki9	2.4	2.8
11	Ki24	3.2	2.8
12	Ki15	3.6	4.3
13	Ki37	4.2	4.6
14	Ki47	3.4	1.8
15	Ki11	3.3	-
16	CPSI#4S	3.8	4.7
17	ไฮบริกซ์3	5.0	4.2
18	อินทรี2	0.5	1.0

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีการเกษตร

ตารางที่ 3.4 จำนวนพันธุ์ข้าวโพดและร้อยละต่อจำนวนทั้งหมด ที่จัดระดับความต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ หลังการปลูกถ่ายด้วยเชื้อรา MCC7 และเชื้อรา H5

ระดับความต้านทาน	เชื้อราโรคใบไหม้แผลใหญ่			
	MCC7		H5	
	จำนวน	**%**	**จำนวน**	**%**
ต้านทาน (R)	1	6.3	4	26.7
ต้านทานปานกลาง (MR)	7	43.8	3	20.0
อ่อนแอปานกลาง (MS)	2	12.5	4	26.7
อ่อนแอ (S)	6	37.5	4	26.7
รวม	16	100.0	15	100.0

4. การประเมินความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพดพันธุ์แท้ จำนวน 16 พันธุ์ ในสภาพแปลงทดลอง

ผลการทดลอง พบว่า ระดับความต้านทานของข้าวโพด พันธุ์แท้ที่ทดสอบโรคส่วนใหญ่แสดงความต้านทานในระดับปานกลาง (MR) หากแบ่งระดับความต้านทานไว้ 4 ระดับ พบว่า ที่ระดับต้านทาน (R) ในแปลงที่ 1 (ฤดูแล้ง) มีจำนวน 1 พันธุ์ คิดเป็นเท่ากับ 6.2 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ CPSI#3R ในแปลงที่ 2 (ฤดูฝน) มีจำนวน 4 พันธุ์ ได้แก่ Ki5, Ki25, Ki34 และ CPSI#3R คิดเป็นเท่ากับ 26.6 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับต้านทานปานกลาง (MR) ในแปลงที่ 1 (ฤดูแล้ง) มีจำนวน 7 พันธุ์ คิดเป็นเท่ากับ 43.7 เปอร์เซ็นต์ ในแปลงที่ 2 คิดเป็นเท่ากับ 20 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ Ki2, Ki48 และ Ki52 ส่วนที่ระดับอ่อนแอปานกลาง (MS) ไม่มีพันธุ์ที่เป็นโรคระดับนี้ และที่ระดับอ่อนแอ (S) ในแปลงที่ 1 ในแปลงที่ 2 มีจำนวน 8 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวโพดพันธุ์ Ki3, Ki9, Ki11, Ki13, Ki15, Ki24, Ki47 และ CPSI#4S คิดเป็นเท่ากับ 50 เปอร์เซ็นต์ และ 53.3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงตารางที่ 3.5 และตารางที่ 3.6

สถาบันวิจัยพืชไร่เขตร้อน

ตารางที่ 3.5 ค่าเฉลี่ยและระดับคะแนนการเกิดโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพดสายพันธุ์แท้ 16 พันธุ์ หลังการปลูกถ่ายเชื้อไอโซเลท MCC7 ในสภาพแปลง ทั้ง 2 แปลง (ฤดูกาล)

ลำดับ	พันธุ์	แปลงที่ 1 (ฤดูแล้ง)		แปลงที่ 2 (ฤดูฝน)	
		ความต้านทานโรค	ระดับ	ความต้านทานโรค	ระดับ
1	Ki2	1.4	MR	1.2	MR
2	Ki5	1.4	MR	0.5	R
3	Ki12	1.4	MR	2.5	S
4	Ki34	1.4	MR	0.6	R
5	Ki25	1.2	MR	1.0	R
6	Ki48	1.4	MR	1.3	MR
7	Ki52	1.4	MR	2.0	MR
8	CPSI#3R	1.0	R	0.4	R
9	Ki3	2.8	S	3.4	S
10	Ki9	2.4	S	2.8	S
11	Ki24	3.2	S	2.8	S
12	Ki15	3.6	S	4.3	S
13	Ki37	4.2	S	4.6	S
14	Ki47	3.4	S	1.8	S
15	Ki11	3.3	S	-	-
16	CPSI#4S	3.8	S	4.7	S

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีการเกษตร

ตารางที่ 3.6 จำนวนสายพันธุ์ข้าวโพดและร้อยละต่อจำนวนทั้งหมด ที่จัดระดับความต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ หลังการปลูกถ่ายเชื้อราไอโซเลท MCC7 ในสภาพแปลง ทั้ง 2 แปลง (ฤดูกาล)

ระดับความต้านทาน	สภาพแปลงทดลอง			
	แปลงที่ 1 ฤดูแล้ง		แปลงที่ 2 ฤดูฝน	
	จำนวน	%	จำนวน	%
ต้านทาน (R)	1	6.2	4	26.6
ต้านทานปานกลาง (MR)	7	43.7	3	20.0
อ่อนแอปานกลาง (MS)	0	0.0	0	0.0
อ่อนแอ (S)	8	50.0	8	53.3
รวม	16	100.0	15	100.0

ภาพที่ 3.16 ลักษณะอาการของแผลโรคใบไหม้แผลใหญ่ที่เกิดที่ใบล่างของข้าวโพด ในสภาพแปลง

5. **การคัดเลือกข้าวโพดสายพันธุ์แท้ เพื่อสร้างประชากรสำหรับการสืบหาตำแหน่งยีน** / QTL

จากผลการประเมินความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในสภาพโรงเรือนและสภาพแปลงทดลอง ในข้าวโพดพันธุ์แท้จำนวน 16 พันธุ์ดังกล่าว ประกอบกับลักษณะทางการเกษตรที่สำคัญ สามารถคัดเลือกข้าวโพดได้ทั้งหมด 5 พันธุ์ ที่เหมาะสมต่อการสร้างประชากรสำหรับสืบหาตำแหน่งของยีนหรือ QTL ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มพันธุ์ต้านทาน จำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ Ki34, Ki48 และ Ki52 และกลุ่มพันธุ์อ่อนแอ จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ Ki15 และ Ki47

สถาบันวิจัยและพัฒนาการเกษตร

6. การสร้างประชากรข้าวโพดคู่ผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1)

ผลการคัดเลือกพันธุ์แท้ที่มีความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ตลอดจนพิจารณาลักษณะทางการเกษตรที่สำคัญ มาใช้เป็นข้อมูลเพื่อคัดเลือกพันธุ์ พ่อแม่ เพื่อการสร้างประชากรข้าวโพด สำหรับการสืบหาโมเลกุลเครื่องหมายที่วางตัวใกล้กับตำแหน่งยีนที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ พบว่าสายพันธุ์ Ki47 และ Ki48 เป็นพันธุ์พ่อแม่ที่เหมาะสมในการสร้างคู่ผสม เพื่อสร้างประชากรคู่ผสมชั่วที่ 1 (F_1) จากลักษณะการเกษตรดังกล่าว คู่ผสม Ki48 / Ki47 และคู่ผสมกลับ Ki47 / Ki48 มีลักษณะทางการเกษตร ได้แก่ วันออกดอกตัวผู้ วันออกไหม ความสูงต้น ความสูงฝัก และจำนวนใบ ใกล้เคียงกัน หรือไล่เลี่ยกันนั้นเอง ดังตารางที่ 3.7 เมื่อได้เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดชั่วที่ 1 ในทั้ง 2 ประชากรคู่ผสม ทำการปลูกข้าวโพดชั่วที่ 1 และผสมตัวเองในแต่ละคู่ผสม (self-pollinated) ให้ได้จำนวน 20 ฝักต่อคู่ผสม เพื่อสร้างประชากรต่อไปในการใช้หาตำแหน่งความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่

ตารางที่ 3.7 ลักษณะทางการเกษตร ของข้าวโพดคู่ผสม Ki48 / Ki47 และคู่ผสมกลับ Ki47 / Ki48 ลูกผสมชั่วที่ 1

ลักษณะทางการเกษตร	**คู่ผสม Ki48 / Ki47**	**คู่ผสม Ki47 / Ki48**
วันออกดอกตัวผู้	50 – 55 วัน	55 – 60 วัน
วันออกไหม	52 – 54 วัน	58 – 62 วัน
ความสูงฝัก	120 – 140 ซม.	120 – 140 ซม.
ความสูงต้น	210 – 220 ซม.	200 – 220 ซม.
จำนวนใบต่อต้น	12 – 13 ใบ	12 – 13 ใบ

สถาบันวิจัยพืชไร่กสิกร

ภาพที่ 3.17 ลักษณะฝัก เมล็ด ลำต้น ช่อดอกตัวผู้ ของข้าวโพดคู่ผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ 1

ภาพที่ 3.18 ลักษณะฝัก เมล็ด ลำต้น ช่อดอกตัวผู้ ของข้าวโพดคู่ผสม Ki47 / Ki48 ลูกผสมชั่วที่ 1

7. การประเมินความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในประชากรข้าวโพดประชากรคู่ผสมชั่วที่ 1 จำนวน 16 คู่ผสม ในสภาพโรงเรือน

การประเมินความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) จำนวน 16 คู่ผสม พร้อมพันธุ์มาตรฐาน 2 พันธุ์ข้าวโพด ในการประเมินด้วยเชื้อรา 2 ไอโซเลท คือ MMC7 ไอโซเลทภาคเหนือ และ H5 ไอโซเลทภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในระยะต้นกล้า ในสภาพโรงเรือน โดยมีกระบวนการเลี้ยงเชื้อและปลูกถ่ายเชื้อราสาเหตุโรค โดยระดับคะแนนของการเกิดโรค สามารถจำแนกปฏิกิริยาความต้านทานต่อโรคออกเป็น 4 กลุ่ม ตามค่าเฉลี่ย ได้แก่

R = ต้านทานต่อโรค ระดับการเกิดโรค 0.00 – 1.00

MR = ต้านทานต่อโรคปานกลาง ระดับการเกิดโรค 1.01 – 2.00

MS = อ่อนแอต่อโรคปานกลาง ระดับการเกิดโรค 2.01 – 3.00

สถาบันวิจัยพืชไร่

S = อ่อนแอต่อโรค ระดับการเกิดโรค 3.01 – 5.00

ผลการทดลอง พบว่า ข้าวโพดคู่ผสมชั่วที่ 1 ของ Ki48 / Ki47 และ คู่ผสมกลับ Ki47 / Ki48 มีระดับความต้านทานต่อเชื้อ ราทั้งสองไอโซเลทคือ เชื้อรา MCC7 และเชื้อรา H5 ในระดับต้านทานปานกลาง และระดับอ่อนแอปานกลางตามลำดับ และที่ระดับความต้านทาน (R) มีเพียงจำนวน 1 คู่ผสม ได้แก่ ข้าวโพดคู่ผสม Ki2 / Ki3 ที่สามารถแสดงความต้านทานต่อเชื้อ รา MCC7 แต่แสดงความต้านระดับอ่อนแอปานกลางต่อเชื้อรา H5

ส่วนคู่ผสมชั่วที่ 1ที่มีระดับต้านทานปานกลาง (MR) ต่อเชื้อทั้งสองเชื้อสาเหตุโรคมีจำนวน 5 คู่ผสม ได้แก่ ข้าวโพดคู่ผสมชั่วที่ 1 ของ Ki9 / Ki45, Ki12 / Ki24, Ki34 / Ki15, Ki11 / Ki52 และคู่ผสม CPSI#3R / CPSI#4S มีจำนวน 3 คู่ผสมแสดงระดับอ่อนแอ (S) ต่อเชื้อรา MCC7 ได้แก่ ข้าวโพดคู่ผสม Ki52 / Ki11, Ki37 / Ki25 และ CPSI#4S / CPSI#3R และระดับอ่อนแอ (S) ต่อเชื้อ H5 จำนวน 3 คู่ผสม ได้แก่ ข้าวโพดคู่ผสม Ki24 / Ki12, Ki25 / Ki37 และ Ki48 / Ki47 (ตารางที่ 3.8 และภาพที่ 3.19)

โดยคู่ผสมส่วนใหญ่แสดงระดับต้านทานปานกลาง (MR)ต่อเชื้อ รา MCC7 คิดเป็นร้อยละ 62.5 ส่วนระดับอ่อนแอปานกลาง (MS) คิดเป็นร้อยละ 12.5 และที่ระดับอ่อนแอ (S) คิดเป็นร้อยละ 18.8 ส่วนเชื้อรา H5 มีความรุนแรง ในการเข้าทำลายความต้านทานโรคของสายพันธุ์ข้าวโพด คิดเป็นร้อยละ 0.0 ที่แสดงระดับความต้านทาน (R) ที่ระดับต้านทานปานกลาง (MR) คิดเป็นร้อยละ 37.5 ส่วนระดับอ่อนแอปานกลาง (MS) คิดเป็นร้อยละ 43.8 และที่ระดับอ่อนแอ (S) คิดเป็นร้อยละ 18.8 (ตารางที่ 3.9)

ตารางที่ 3.8 ค่าเฉลี่ยระดับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ของข้าวโพดลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 16 คู่ผสม พร้อมพันธุ์มาตรฐาน 2 พันธุ์ ที่ทดสอบในสภาพโรงเรือน กับ 2 เชื้อสาเหตุ จากภาคเหนือ (MCC7) และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (H5)

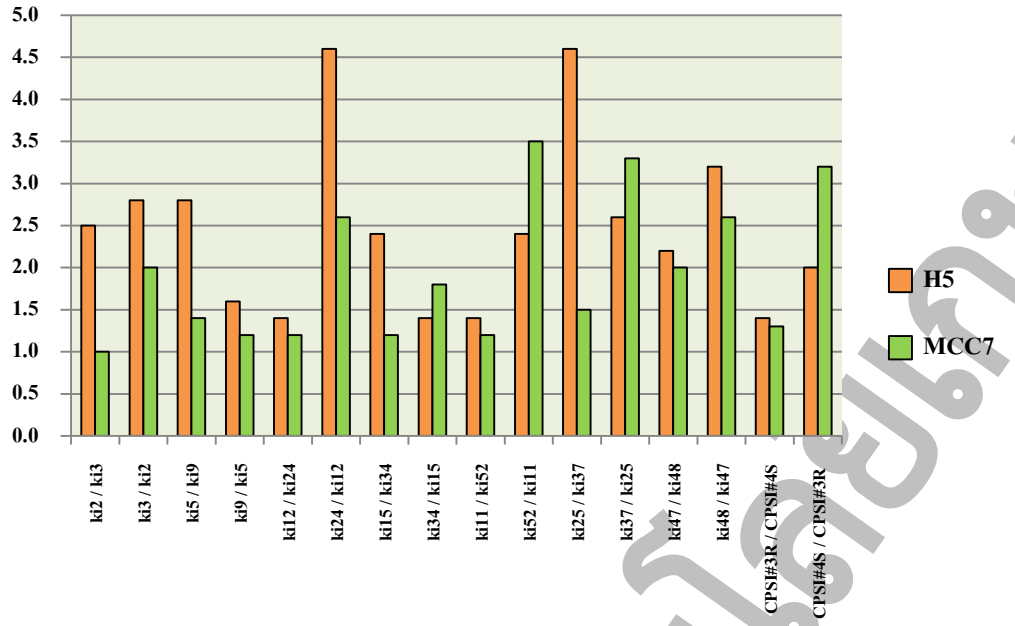
ลำดับ	สายพันธุ์	ระดับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่	
		เชื้อราไอโซเลท MCC7	เชื้อราไอโซเลท H5
1	Ki2 / Ki3	1.0	2.5
2	Ki3 / Ki2	2.0	2.8
3	Ki5 / Ki9	1.4	2.8
4	Ki9 / Ki5	1.2	1.6
5	Ki12 / Ki24	1.2	1.4

ลำดับ	สายพันธุ์	ระดับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่	
		เชื้อราไอโซเลท MCC7	เชื้อราไอโซเลท H5
6	Ki24 / Ki12	2.6	4.6
7	Ki15 / Ki34	1.2	2.4
8	Ki34 / Ki15	1.8	1.4
9	Ki11 / Ki52	1.2	1.4
10	Ki52 / Ki11	3.5	2.4
11	Ki25 / Ki37	1.5	4.6
12	Ki37 / Ki25	3.3	2.6
13	Ki47 / Ki48	2.0	2.2
14	Ki48 / Ki47	2.6	3.2
15	CPSI#3R / CPSI#4S	1.3	1.4
16	CPSI#4S / CPSI#3R	3.2	2.0
17	ไฮบริกซ์ 3	3.8	2.7
18	อินทรี 2	1.4	1.0

ตารางที่ 3.9 จำนวนสายพันธุ์ข้าวโพดและร้อยละต่อจำนวนทั้งหมด ที่จัดระดับความต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ ลูกผสมชั่วที่ 1 หลังการปลูกถ่ายด้วยเชื้อ MCC7 และ H5

ระดับความต้านทาน	เชื้อราโรคใบไหม้แผลใหญ่			
	MCC7	%	H5	%
ต้านทาน (R)	1	6.3	0	0.0
ต้านทานปานกลาง (MR)	10	62.5	6	37.5
อ่อนแอปานกลาง (MS)	2	12.5	7	43.8
อ่อนแอ (S)	3	18.8	3	18.8
รวม	16	100.0	16	100.0

สถาบันวิจัยพืชไร่เขตร้อน



ภาพที่ 3.19 แสดงการเปรียบเทียบระดับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ในสภาพโรงเรือน ของข้าวโพดลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1)

8. การประเมินความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในข้าวโพดประชากรคู่ผสม Ki48 / Ki47 **ชั่วที่** 2:3 **ในสภาพโรงเรือน และสภาพแปลงทดลอง**

8.1 การพัฒนาประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 (F2)

พัฒนาเป็นประชากร ลูกผสมชั่วที่ 2 (F_2) โดยไม่มีการคัดเลือก เพื่อสร้างเป็นประชากรสำหรับในการศึกษาพันธุกรรมความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ นำประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 (F_2) มาประเมินความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ทั้งในสภาพโรงเรือนและ สภาพแปลงทดลอง และ ทำการเก็บตัวอย่างใบเพื่อใช้สกัดดีเอ็นเอสำหรับการตรวจสอบ genotypes ซึ่งข้อมูลที่ได้ จะนำมาวิเคราะห์เพื่อดูความสัมพันธ์ซึ่งเป็นตัวกำหนดตำแหน่งของยีน

ปลูกประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 ทั้ง 2 ประชากรคู่ผสม และดำเนินการบันทึกข้อมูลลักษณะทางการเกษตรที่สำคัญ เช่น จำนวนวันออกดอกตัวผู้ จำนวนวันออกไหม ลักษณะมุมใบ ความสูง เป็นต้น และบันทึกลักษณะความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในสภาพแปลงทดลอง โดยข้อมูลลักษณะทางการเกษตรของประชากรข้าวโพดคู่ผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ 2 จำนวน 160 สายพันธุ์ และคู่ผสมกลับ Ki47 / Ki48 ลูกผสมชั่วที่ 2 จำนวน 55 สายพันธุ์ (ตารางที่ 3.10 ภาพที่ 3.20 และภาพที่ 3.21) มีรายละเอียดดังนี้

สถาบันวิจัยพืชไร่แห่งประเทศไทย

ลักษณะสีไหม พันธุ์ข้าวโพด Ki48 มีสีไหม สีขาว พันธุ์ข้าวโพด Ki47 สีไหมสีม่วง ลูกผสมชั่วที่ 2 ของคู่ผสม Ki48 / Ki47 และคู่ผสมกลับ Ki47 / Ki48 ประชากรส่วนใหญ่มีไหมสีขาว เหมือนกันทั้ง 2 ประชากร

ลักษณะสีดอกตัวผู้ พันธุ์ข้าวโพด Ki48 มีสีขาว พันธุ์ข้าวโพด Ki47 มีสีม่วง ลูกผสมชั่วที่ 2 ของคู่ผสม Ki48 / Ki47 และคู่ผสมกลับ Ki47 / Ki48 ประชากรส่วนใหญ่มีดอกตัวผู้สีม่วงขาว

ลักษณะทรงดอกตัวผู้ พันธุ์ข้าวโพด Ki48 มีลักษณะทรงดอกตัวผู้แตกแขนง มาก พันธุ์ข้าวโพด Ki47 มีลักษณะทรงดอกตัวผู้แตกแขนงปานกลาง ลูกผสมชั่วที่ 2 ของคู่ผสม Ki48 / Ki47 และคู่ผสมกลับ Ki47 / Ki48 ประชากรส่วนใหญ่แสดงลักษณะทรงดอกตัวผู้แตก

จำนวนวันออกไหม 100 เปอร์เซ็นต์ พันธุ์ข้าวโพด Ki48 มีจำนวนวันออกไหม 70 วัน สายพันธุ์ข้าวโพด Ki47 จำนวนวันออกไหม 60 วัน ลูกผสมชั่วที่ 2 ของคู่ผสม Ki48 / Ki47 และคู่ผสมกลับ Ki47 / Ki48 วันออกไหม อยู่ระหว่าง 57 – 70 วัน

จำนวนวันออกดอกตัวผู้ 100 เปอร์เซ็นต์ พันธุ์ข้าวโพด Ki48 มีจำนวนวันออกดอกตัวผู้ 68 วัน สายพันธุ์ข้าวโพด Ki47 จำนวนวันออกดอกตัวผู้ 52 วัน ลูกผสมชั่วที่ 2 ของคู่ผสม Ki48 / Ki47 และคู่ผสมกลับ Ki47 / Ki48 วันออกดอกตัวผู้ อยู่ระหว่าง 52 – 54 วัน

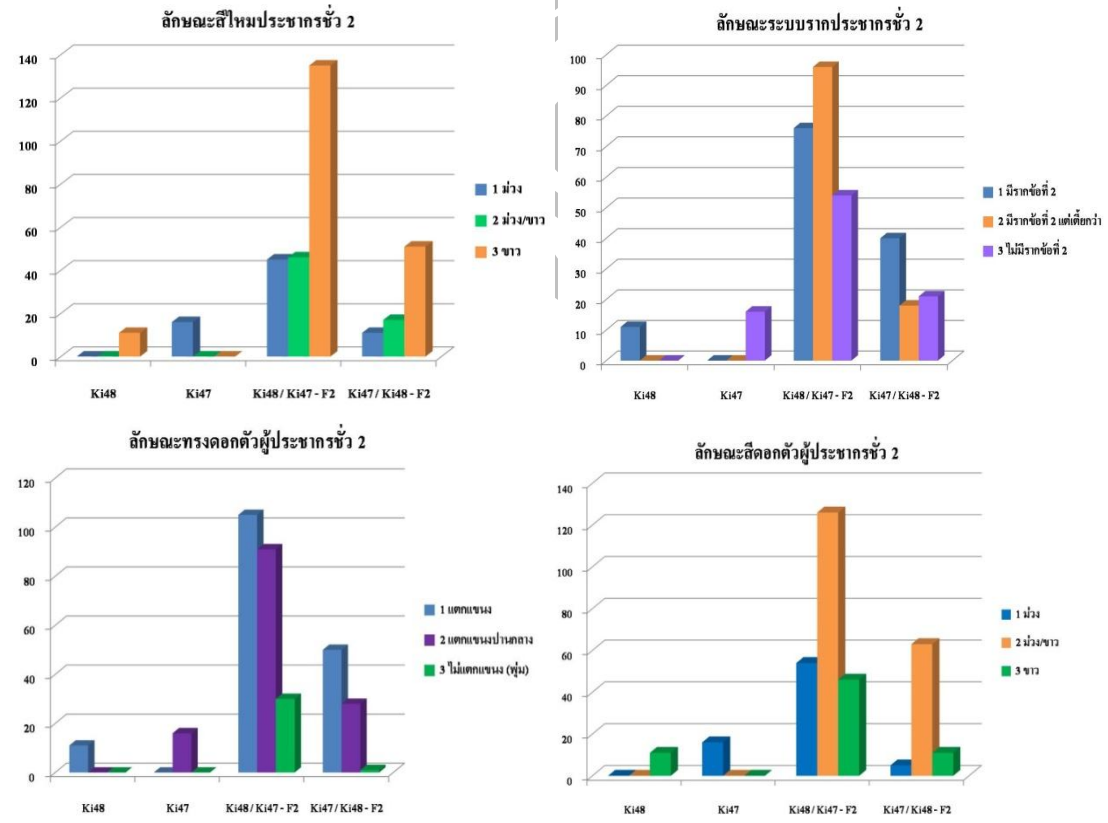
ลักษณะทรงใบ (องศามุมใบ) พันธุ์ข้าวโพด Ki48 ทรงใบ 30 องศา สายพันธุ์ข้าวโพด Ki47 ทรงใบ 45 องศา ลูกผสมชั่วที่ 2 ของคู่ผสม Ki48 / Ki47 มีทรงใบ อยู่ระหว่าง 30 - 70 องศา และคู่ผสมกลับ Ki47 / Ki48 ทรงใบ อยู่ระหว่าง 30 - 45 องศา

ระบบราก พันธุ์ข้าวโพด Ki48 มีรากข้อที่ 2 พันธุ์ข้าวโพด Ki47 ไม่มีรากข้อที่ 2 ลูกผสมชั่วที่ 2 ของคู่ผสม Ki48 / Ki47 และคู่ผสมกลับ Ki47 / Ki48 ประชากรส่วนใหญ่แสดงลักษณะมีรากข้อที่ 2

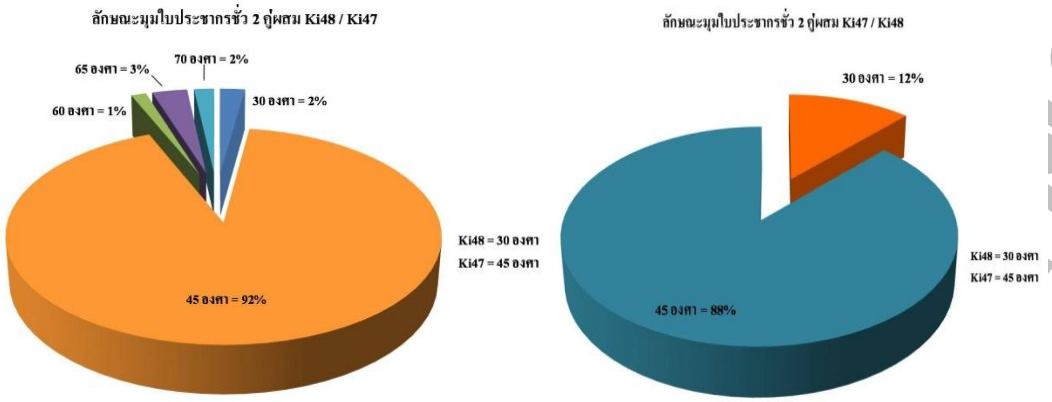
สถาบันวิจัยพืชไร่กำแพงแสน

ตารางที่ 3.10 ข้อมูลลักษณะทางการเกษตรบางลักษณะของประชากรข้าวโพดลูกผสมชั่วที่ 2 ของข้าวโพดคู่ผสม ข้าวโพด Ki48/Ki47 และคู่ผสมกลับ Ki47/Ki48

สายพันธุ์	สีไหม			สีดอกตัวผู้			ทรงดอกตัวผู้			ระบบราก		
	ม่วง	ม่วง/ขาว	ขาว	ม่วง	ม่วง/ขาว	ขาว	แตกแขนง	แตกแขนงปานกลาง	ไม่แตกแขนง (พุ่ม)	มีรากข้อที่ 2	มีรากข้อที่ 2 แต่เตี้ยกว่า	ไม่มีรากข้อที่ 2
Ki48	0	0	11	0	0	11	11	0	0	11	0	0
Ki47	16	0	0	16	0	0	0	16	0	0	0	16
Ki48 / Ki47 - F2	45	46	135	54	126	46	105	91	30	76	96	54
Ki47 / Ki48 - F2	11	17	51	5	63	11	50	28	1	40	18	21



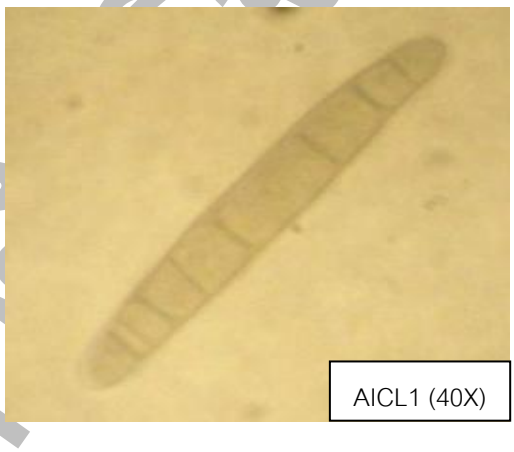
ภาพที่ 3.20 ลักษณะสีไหม ระบบราก ทรงดอกตัวผู้ และสีดอกตัวผู้ ของประชากรชั่วที่ 2 คู่ผสม Ki48 / Ki47 และคู่ผสมกลับ Ki47 / Ki48



ภาพที่ 3.21 ลักษณะมุมใบของประชากรชั่วที่ 2 คู่ผสม Ki48 / Ki47 และคู่ผสมกลับ Ki47 / Ki48

8.2 การคัดเลือกเชื้อรา *E. turcicum* เพื่อใช้ในการประเมินข้าวโพดประชากรคู่ผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ 2

เชื้อราที่ทำการคัดเลือก ใช้ คือ AICL1 (เป็นไอโซเลทที่แยกได้จากพื้นที่ในจังหวัดลำปาง เนื่องจากมีความเหมาะสมที่จะใช้แทนไอโซเลท MCC7 และ H5 ซึ่งเป็นเชื้อราที่อยู่ในกลุ่มเดียวกัน แต่ไอโซเลท AICL1 ให้ปริมาณ conidia หรือสปอร์มากกว่าทำให้ง่ายในการเตรียม spore suspension และการปลูกถ่ายเชื้อ ตลอดจนเป็นเชื้อมีความรุนแรง (virulence) ในการเข้าทำลาย และเพื่อเป็นการปรับวิธีการประเมินความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ให้เหมาะสม) ซึ่งเชื้อราไอโซเลทดังกล่าว มีลักษณะโคนีเดียมีสีน้ำตาลอ่อน มีขนาด ผนังกัน (Septate hypha) หลายอัน ตั้งแต่ 8 – 10 อัน (ภาพที่ 3.22) ตรงหรือโค้งเล็กน้อย อายุในการขยายเชื้อราสั้น 10 – 14 วัน ก็สามารถนำไปปลูกถ่ายลงบนต้นข้าวโพดได้

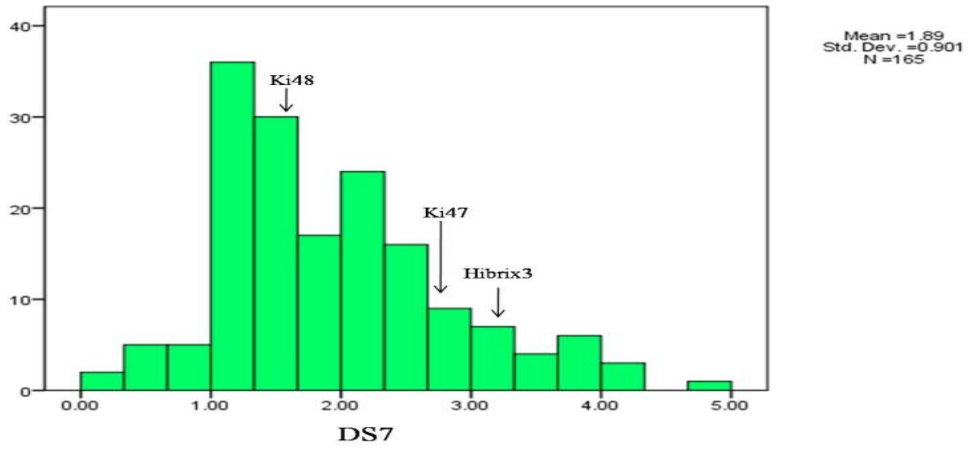


ภาพที่ 3.22 ลักษณะสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ ไอโซเลท AICL1

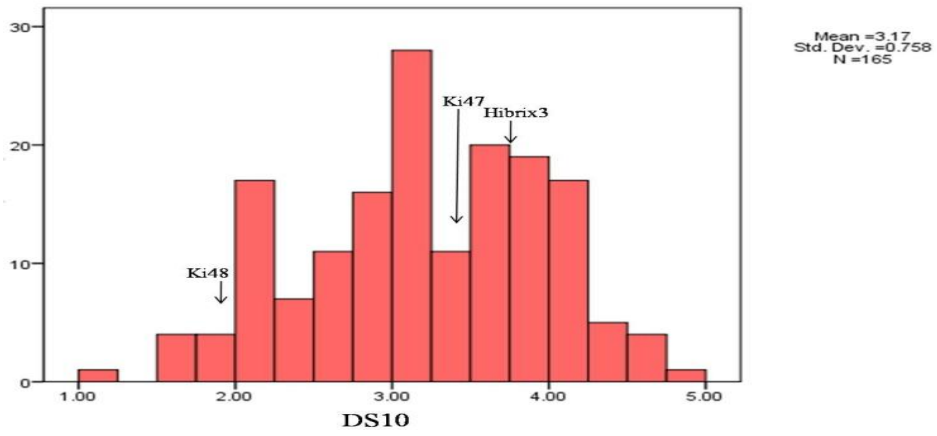
8.3 การประเมินความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในข้าวโพดประชากรคู่ผสม Ki48/Ki47 ชั่วที่ 2:3 ในสภาพโรงเรือน

ผลการประเมินความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในข้าวโพดประชากรคู่ผสม Ki48 / Ki47 ชั่วที่ 2:3 ในสภาพโรงเรือน และสภาพแปลง มีดังนี้

พบว่าประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 Ki48/Ki47 จำนวน 160 สายพันธุ์ ในระดับการเกิดโรคของข้าวโพด ที่ DS7 (แทนชนิดของแผลหลังการปลูกถ่ายเชื้อ 7 วัน) มีค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 1.89 ที่เป็นระดับ ต้านทานต่อโรคปานกลาง (MR) และมีระดับความต้านทานของของประชากรลูกผสม F_2 ที่มีความดีเด่นเหนือพ่อแม่ ดังนั้นจึงเกิดเป็นเส้นโค้งปกติ (Standard normal curve) แต่จะมีประชากรลูกผสมบางส่วนเบ้ไปทางสายพันธุ์ Ki48 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีความต้านทานโรค และที่ DS10 (ชนิดของแผลหลังการปลูกถ่ายเชื้อ 10 วัน)พบว่ามีค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 3.17 ที่เป็นระดับอ่อนแอต่อโรคปานกลาง (MS) และมีระดับความต้านทานของประชากรลูกผสม F_2 ที่มีความดีเด่นเหนือพ่อแม่ ดังนั้นจึงเกิดเป็นเส้นโค้งปกติ (Standard normal curve) แต่จะมีประชากรลูกผสมบางส่วน เบี่ยงเบนไปทางสายพันธุ์ Ki48 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ให้ความต้านทานโรค (ตารางภาคผนวกที่ 4ก ภาพที่ 3.23 และภาพที่ 3.24)



ภาพที่ 3.23 ข้อมูลระดับความต้านทานโรคไหม้แผลใหญ่ หลังจากทดสอบเชื้อรา 7 วัน ของประชากร F2:3 คู่ผสม Ki48/Ki47 ในการทดสอบสภาพโรงเรือน



ภาพที่ 3.24 ข้อมูลระดับความต้านทานโรคไหม้แผลใหญ่ หลังจากทดสอบเชื้อรา 10 วัน ของประชากร F2:3 คู่ผสม Ki48/Ki47 ในการทดสอบสภาพโรงเรือน

8.4 การประเมินความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในข้าวโพดประชากรคู่ผสม Ki48/Ki47 ชั่วที่ 2:3 ในสภาพแปลงทดลอง

ผลการทดสอบในสภาพแปลงทดลองของประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 ของ Ki48 / Ki47 ที่ร้อยละของพื้นที่ใบที่เป็นโรคหลังการปลูกถ่ายเชื้อ ที่ 45 (DLA1), 90 (DLA2) และ 100 วัน (DLA3) พบว่าการกระจายตัวของประชากรในระดับความต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่มีดังนี้ (ตารางภาคผนวกที่ 4ก ภาพที่ 3.25 ภาพที่ 3.26 และภาพที่ 3.27)

ในประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 ของ Ki48 / Ki47 ที่ระดับการเกิดโรคของข้าวโพด ที่ DLA1 มีค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 7.48 ที่เป็นระดับต้านทานต่อโรคมาก (R) และระดับความต้านทานของของประชากรลูกผสม F_2 มีการกระจายตัวของประชากรเป็นเส้นโค้งปกติ (Standard normal curve) แต่จะมีประชากรลูกผสมบางส่วนเบ้ไปทางสายพันธุ์ Ki48 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีความต้านทานโรค สายพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 ที่เป็นพันธุ์มาตรฐานที่อ่อนแอแสดงระดับความต้านทานปานกลาง

ที่ DLA2 มีค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 25.45 เป็นระดับต้านทานต่อโรคปานกลาง (MR) และสายพันธุ์ Ki48 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีความต้านทานโรคแสดงความต้านทาน ส่วนสายพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 ที่เป็นพันธุ์มาตรฐานที่อ่อนแอแสดงระดับความระดับอ่อนแอ

ที่ DLA3 มีค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 23.85 ที่เป็นระดับ ต้านทานต่อโรคปานกลาง สายพันธุ์ Ki48 แสดงความต้านทาน ส่วนสายพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 ที่เป็นพันธุ์มาตรฐานที่

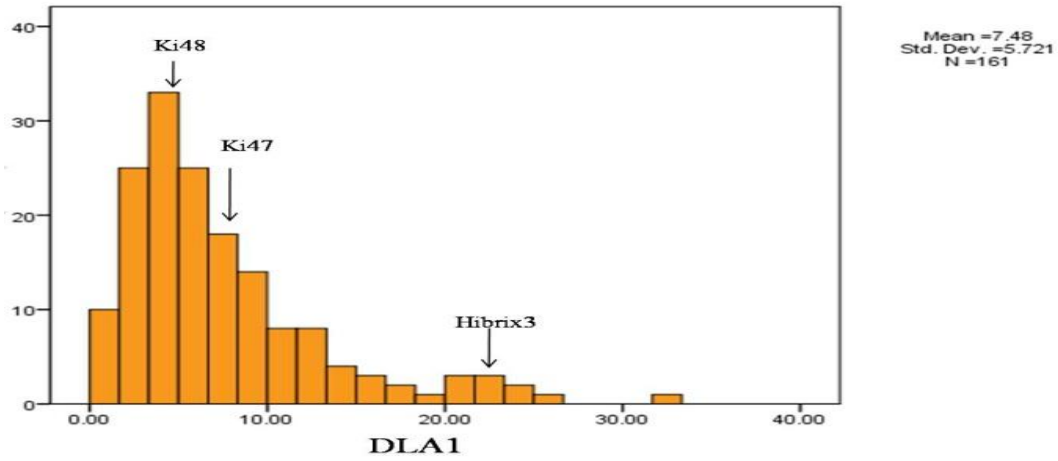
อ่อนแอแสดงระดับความระดับอ่อนแอ เมื่อพิจารณาข้อมูลจากค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากร และจากพันธุ์มาตรฐาน การประเมินโรคที่ 90 และ 100 วันมีความเหมาะสมกว่าที่ 45 วัน

ผลการทดสอบในสภาพแปลงทดลองของประชากรลูกผสมชั่วที่ 2 ของ Ki48 / Ki47 ที่ DS1, DS2 และ DS3 แทนชนิดของแผลหลังการปลูกถ่ายเชื้อที่ 45, 90 และ 100 วัน พบว่าการกระจายตัวของประชากรในระดับความต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่มีดังนี้ (ตารางภาคผนวกที่ 4ก ภาพที่ 3.28 ภาพที่ 3.29 และภาพที่ 3.30) ที่ระดับการเกิดโรคของข้าวโพด ที่ DS1 (แทนชนิดของแผลหลังการปลูกถ่ายเชื้อ 45 วัน) มีค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 0.79 ที่เป็นระดับต้านทานต่อโรคสูง (R) และมีระดับความต้านทานของของประชากรลูกผสม F_2 ที่มีความดีเด่นเหนือพ่อแม่ ดังนั้นจึงเกิดเป็นเส้นโค้งปกติ (Standard normal curve) แต่จะมีประชากรลูกผสมบางส่วนเบ้ไปทางสายพันธุ์ Ki48 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีความต้านทานโรคส่วนสายพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 ที่เป็นพันธุ์มาตรฐานที่อ่อนแอ แสดงระดับอ่อนแอปานกลาง

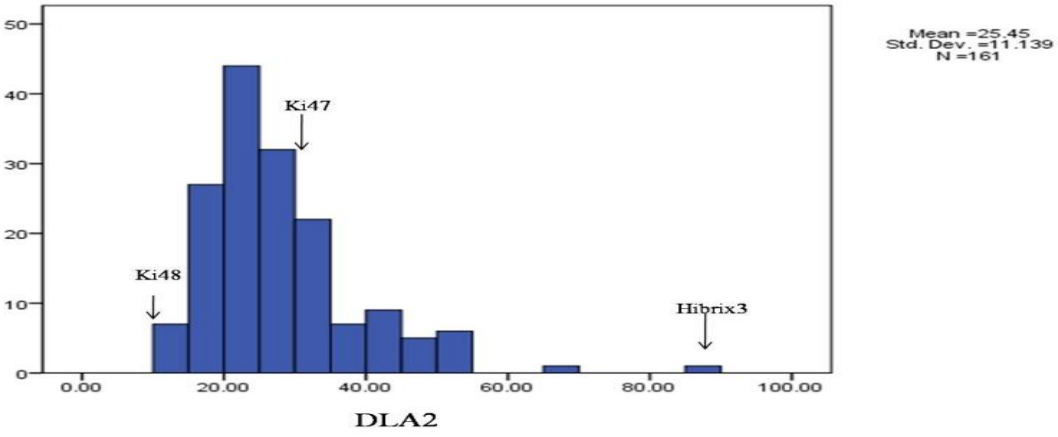
ที่ DS2 (แทนชนิดของแผลหลังการปลูกถ่ายเชื้อ 90 วัน) มีค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 2.84 ที่เป็นระดับ ต้านทานต่อโรคปานกลาง (MR) และมีการกระจายตัวในระดับความต้านทานของประชากรลูกผสม F_2 เป็นเส้นโค้งปกติ (Standard normal curve) สายพันธุ์ Ki48 แสดงระดับต้านทาน ส่วนสายพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 แสดงระดับความระดับอ่อนแอ

ที่ DS3 (แทนชนิดของแผลหลังการปลูกถ่ายเชื้อ 100 วัน) มีค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 3.66 ที่เป็นระดับอ่อนต่อโรคปานกลาง (MS) และมีการกระจายตัวในระดับความต้านทานของประชากรลูกผสม F_2 เป็นเส้นโค้งปกติ (Standard normal curve) สายพันธุ์ Ki48 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีความต้านทานโรคแสดงระดับต้านทานปานกลาง ส่วนสายพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 แสดงระดับความระดับอ่อนแอ

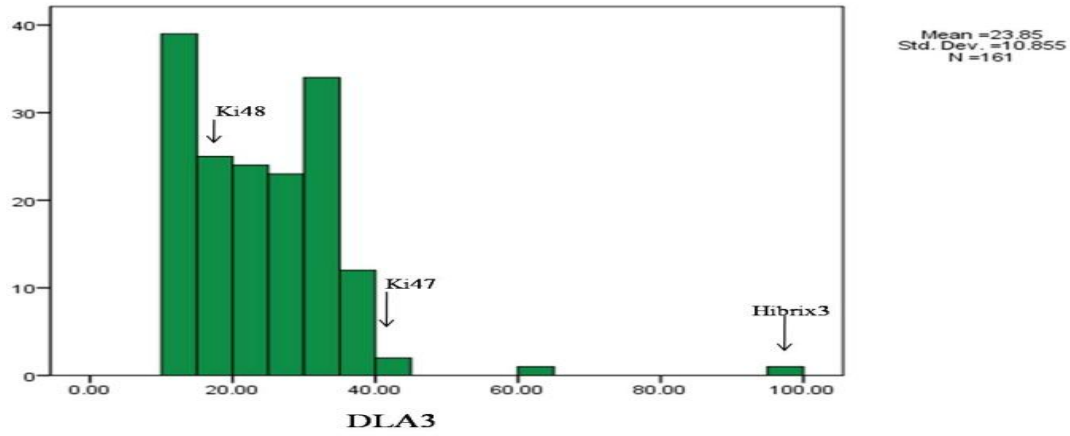
สถาบันวิจัยพืชไร่กำแพงแสน



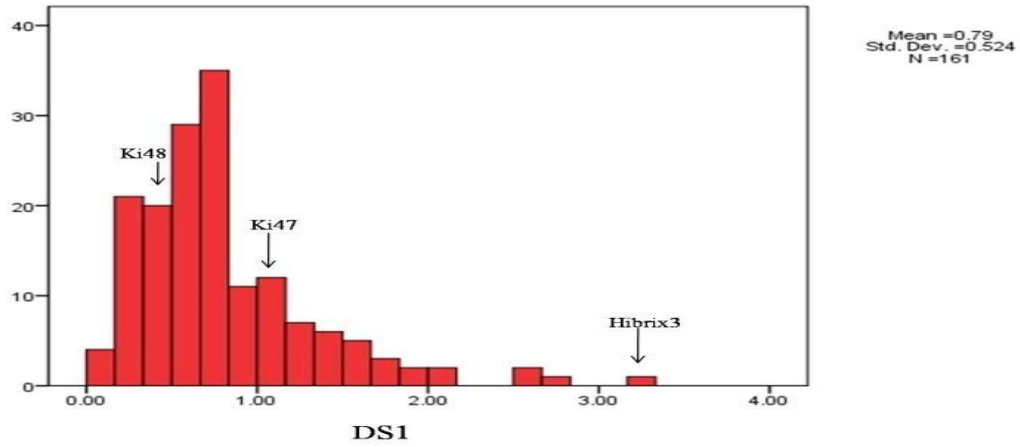
ภาพที่ 3.25 ข้อมูลระดับความต้านทานโรค หลังจากทดสอบโรค 45 วัน ของประชากร F2:3 คู่ผสม Ki48 / Ki47 จากร้อยละของพื้นที่ใบที่เป็นโรค ในสภาพแปลงทดลอง



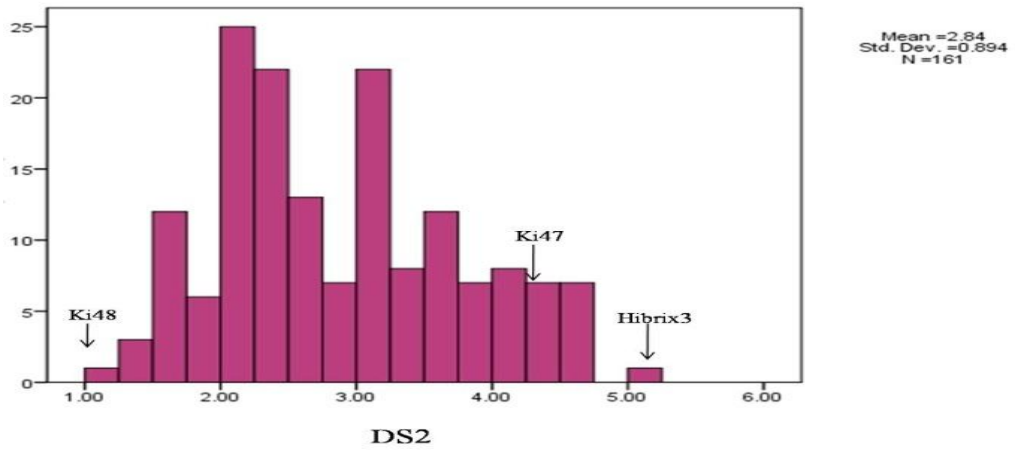
ภาพที่ 3.26 ข้อมูลระดับความต้านทานโรค หลังจากทดสอบโรค 90 วัน ของประชากร F2:3 คู่ผสม Ki48 / Ki47 จากร้อยละของพื้นที่ใบที่เป็นโรค ในสภาพแปลงทดลอง



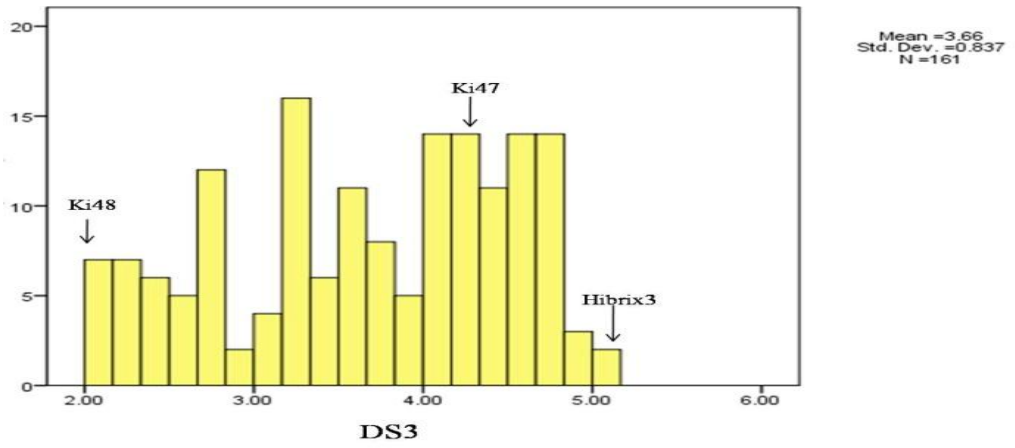
ภาพที่ 3.27 ข้อมูลระดับความต้านทานโรค หลังจากทดสอบโรค 100 วัน ของประชากร F2:3 คู่ผสม Ki48 / Ki47 จากร้อยละของพื้นที่ใบที่เป็นโรค ในสภาพแปลงทดลอง



ภาพที่ 3.28 ข้อมูลระดับความต้านทานโรค หลังการทดสอบโรค 45 วัน ของประชากร F2:3 คู่ผสม Ki48/Ki47 จากชนิดของแผลที่ใบ ในสภาพแปลงทดลอง



ภาพที่ 3.29 ข้อมูลระดับความต้านทานโรค หลังการทดสอบโรค 90 วัน ของประชากร F2:3 คู่ผสม Ki48/Ki47 จากชนิดของแผลที่ใบ ในสภาพแปลงทดลอง



ภาพที่ 3.30 ข้อมูลระดับความต้านทานโรค หลังการทดสอบโรค 100 วัน ของประชากร F2:3 คู่ผสม Ki48/Ki47 จากชนิดของแผลที่ใบ ในสภาพแปลงทดลอง

วิจารณ์ผลการทดลอง บทที่ 3

1. เชื้อราที่ทำการคัดเลือก เพื่อใช้ในการประเมินโรคใบไหม้แผลใหญ่ คือ AICL1 ไอโซเลทที่ได้จากพื้นที่ในจังหวัดลำปาง ซึ่งมีความเหมาะสมที่จะใช้แทนไอโซเลท MCC7 และ H5 ซึ่งเป็นเชื้อราที่อยู่ในกลุ่มเดียวกัน เนื่องจาก พันธุกรรมของเชื้อรา *E. turcicum* สาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพด มีความคล้ายคลึงกันดัง Simcox *et al*. (1995) กล่าวว่า ความหลากหลายของไอโซไซม์ race ชนิดต่างๆ ซึ่งเก็บรวบรวมจากแหล่งปลูกข้าวโพดในสหรัฐอเมริกา ไอโซเลทที่ใช้ทดสอบให้รูปแบบของไอโซไซม์คล้ายคลึง และ Weikert-Oliveira *et al.* (2002) กล่าวว่า ความแปรปรวนทางพันธุกรรมของเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้ เมื่อใช้เทคนิค RAPD พบว่าระดับความแตกต่างระหว่างสปีชีส์มีมากกว่าภายในสปีชีส์เดียวกัน เมื่อจัดกลุ่มเชื้อราแต่ละไอโซเลทมีความสัมพันธ์กับพืชอาศัย

2. การประเมินโรคใบไหม้แผลใหญ่ในข้าวโพด โดยใช้เทคนิคของ ศิวิไล และคณะ (2556) ซึ่งได้ศึกษา การประเมินพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ ประเมินความรุนแรงของโรคโดยให้ระดับ 1 – 5 ซึ่ง 1 หมายถึงเป็นโรคน้อย และ 5 หมายถึงเป็นโรคมาก ร่วมด้วยการใช้เทคนิคซึ่งดัดแปลงของ Lipps *et al*., 1997 สามารถประเมินโรคใบไหม้แผลใหญ่ของประชากรข้าวโพดที่ทำการวิจัย โดยได้พันธุ์แท้ที่ใช้เป็นพ่อแม่ คือ Ki48 ที่มีความต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ (R) และ Ki47 ที่มีความอ่อนแอต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ (S) สร้างประชาการข้าวโพดคู่ผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ 1 และสร้างประชากรข้าวโพดคู่ผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ 2 จำนวน 160 สายพันธุ์ จากนั้นทำการประเมินโรคในสภาพโรงเรือน และสภาพแปลงทดลอง เพื่อใช้ข้อมูลการประเมินความต้านทานต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในการระบุตำแหน่ง QTLs ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ในประชากรข้าวโพด

3. การประเมินโรคในสภาพโรงเรือน คู่ผสม Ki48 /Ki47 และคู่ผสมกลับ Ki47 / Ki48 ลูกผสมชั่วที่ 2 จำนวน 160 สายพันธุ์ ในระดับการเกิดโรคของข้าวโพด ที่การประเมินโรค DS7 (ชนิดของแผลหลังการปลูกถ่ายเชื้อ 7 วัน) ค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 1.89 เป็นระดับต้านทานต่อโรคปานกลาง (MR) และที่ DS10 (ชนิดของแผลหลังการปลูกถ่ายเชื้อ 10 วัน) มีค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 3.17 เป็นระดับอ่อนแอต่อโรคปานกลาง (MS) และมีระดับความต้านทานที่มีความดีเด่นเหนือพันธุ์พ่อแม่

4. การประเมินโรคในสภาพแปลงทดลอง คู่ผสม Ki48 /Ki47 และคู่ผสมกลับ Ki47 / Ki48 ลูกผสมชั่วที่ 2 จำนวน 160 สายพันธุ์ ที่การประเมินโรค DLA1, DLA2 และ DLA3 (ร้อยละของพื้นที่ใบที่เป็นโรคหลังการปลูกถ่ายเชื้อ ที่ 45, 90 และ 100 วัน) พบว่า ที่ DLA1 ค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 7.48 เป็นระดับต้านทานต่อโรค (R) สายพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 ที่เป็นพันธุ์มาตรฐานที่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

อ่อนแอแสดงระดับความต้านทานปานกลาง (MR) ที่ DLA2 ค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 25.45 เป็นระดับต้านทานต่อโรคปานกลาง (MR) สายพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 ที่เป็นพันธุ์มาตรฐานที่อ่อนแอแสดงระดับความระดับอ่อนแอ (S) ที่ DLA3 ค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 23.85 เป็นระดับต้านทานต่อโรคปานกลาง (MR) สายพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 ที่เป็นพันธุ์มาตรฐานที่อ่อนแอแสดงระดับความระดับอ่อนแอ (S) เมื่อพิจารณาข้อมูลจากค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรและจากพันธุ์มาตรฐาน การประเมินโรคที่ 90 และ 100 วันมีความเหมาะสมกว่าที่ 45 วัน เนื่องจากระยะเวลาในการเกิดโรคที่ 90 และ 100 วัน เป็นระยะที่ข้าวโพดอยู่ในช่วงออกดอกและช่วงผสม จึงทำให้ข้าวโพดอ่อนแอกว่าระยะ 45 วัน ซึ่งอยู่ในระยะเจริญเติบโต

ที่การประเมินโรค DS1, DS2 และ DS3 (ชนิดของแผลหลังการปลูกถ่ายเชื้อที่ 45, 90 และ 100 วัน) พบว่า ที่ DS1 ค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 0.79 เป็นระดับต้านทานต่อโรค (R) ประชากรมีความดีเด่นเหนือพ่อแม่ สายพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 ที่เป็นพันธุ์มาตรฐานที่อ่อนแอแสดงระดับอ่อนแอปานกลาง (MS) ที่ DS2 ค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 2.84 เป็นระดับต้านทานต่อโรคปานกลาง (MR) สายพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 ที่เป็นพันธุ์มาตรฐานที่อ่อนแอแสดงระดับอ่อนแอ (S) ที่ DS3 ค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 3.66 เป็นระดับอ่อนต่อโรคปานกลาง (MS) สายพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 ที่เป็นพันธุ์มาตรฐานที่อ่อนแอแสดงระดับอ่อนแอ (S)

สถาบันวิจัยเทคโนโลยีการเกษตร

สรุป บทที่ 3

1. การคัดเลือกพันธุ์ข้าวโพด เป็นพันธุ์พ่อ และพันธุ์แม่ที่ใช้ในการสร้างประชากรข้าวโพด

1.1) การรวบรวม สายพันธุ์ข้าวโพด และคัดเลือกพันธุ์พ่อ และพันธุ์แม่ที่ใช้ในการสร้างประชากรข้าวโพด สามารถรวบรวมพันธุ์แท้ได้ทั้งหมด 72 พันธุ์ รวมพันธุ์มาตรฐาน

1.2) การรวบรวมเชื้อโรคใบไหม้แผลใหญ่ การทดสอบโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในข้าวโพดพันธุ์แท้ได้จำนวน 4 ไอโซเลท จากแหล่งปลูกข้าวโพด 4 แหล่งปลูก คือ KL1, H5, MCC7 และ AICL1

1.3) การประเมินความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพดพันธุ์แท้ จำนวน 16 พันธุ์ ในสภาพโรงเรือน และสภาพแปลงทดสอบ ได้แก่พันธุ์ต้านทานจำนวน 8 พันธุ์ คือที่ ระดับความต้านทาน (R) ได้แก่ Ki5, Ki25, Ki34 และ CPSI#3R ที่ระดับต้านทานปานกลาง (MR) ได้แก่ Ki2, Ki48 และ Ki52 ที่ระดับต้านทานอ่อนแอปานกลาง (MS) ได้แก่ Ki12 และพันธุ์อ่อนแอจำนวน 8 พันธุ์ คือ และที่ระดับต้านทานอ่อนแอ (S) ได้แก่ Ki3, Ki9, Ki11, Ki13, Ki15, Ki24, Ki47 และ CPSI#4S

2. การสร้างประชากร ข้าวโพด

2.1) คัดเลือกข้าวโพดพันธุ์แท้ เพื่อสร้างประชากรสำหรับการสืบหาตำแหน่งยีน / QTLs แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มพันธุ์ต้านทาน จำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ Ki34, Ki48 และ Ki52 และกลุ่มพันธุ์อ่อนแอ จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ Ki15 และ Ki47

2.2) การสร้างประชากร ข้าวโพดคู่ผสม Ki48 / Ki47 ลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) เพื่อใช้ในการประเมินโรคในสภาพโรงเรือน ซึ่งพันธุ์ Ki47 และ Ki48 เป็นพันธุ์พ่อแม่ที่เหมาะสมในการสร้างคู่ผสมจากลักษณะทางการเกษตรที่ดี เมื่อได้เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดชั่วที่ 1 ทำการปลูกข้าวโพดชั่วที่ 1 และผสมตัวเองให้ได้จำนวน 20 ฝักต่อคู่ผสม เพื่อสร้างประชากรต่อไปในการใช้หาตำแหน่งความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่

3. การประเมินโรคใบไหม้แผลใหญ่ในประชากรข้าวโพด

3.1) การประเมินความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในประชากรข้าวโพดประชากรคู่ผสมชั่วที่ 1 จำนวน 16 คู่ผสม ในสภาพโรงเรือน ที่ระดับความต้านทาน (R) จำนวน 1 คู่ผสม ได้แก่ Ki2 / Ki3 ที่ระดับต้านทานปานกลาง (MR) จำนวน 5 คู่ผสม ได้แก่ Ki9 / Ki45, Ki12 / Ki24, Ki34 / Ki15, Ki11 / Ki52 และ คู่ผสม CPSI#3R / CPSI#4S ที่ระดับอ่อนแอ (S) จำนวน 6 คู่ผสม ได้แก่ Ki52 / Ki11, Ki37 / Ki25, CPSI#4S / CPSI#3R, Ki24 / Ki12, Ki25 / Ki37 และ Ki48 / Ki47

สถาบันวิจัยพืชไร่แห่งชาติ

3.2) การประเมินความต้านทานโรคใบไหม้แผลใหญ่ ในข้าวโพดประชากรคู่ผสม Ki48 / Ki47 ชั่วที่ 2:3 จำนวน 160 สายพันธุ์

3.2.1 การประเมินโรคในสภาพโรงเรือน ที่การประเมินโรค DS7 (ชนิดของแผลหลังการปลูกถ่ายเชื้อ 7 วัน) ค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 1.89 เป็นระดับต้านทานต่อโรคปานกลาง (MR) และที่ DS10 (ชนิดของแผลหลังการปลูกถ่ายเชื้อ 10 วัน) มีค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 3.17 เป็นระดับอ่อนแอต่อโรคปานกลาง (MS) และมีระดับความต้านทานที่มีความดีเด่นเหนือพันธุ์พ่อแม่

3.3.2 การประเมินโรคในสภาพแปลงทดลอง ที่การประเมินโรค DLA1, DLA2 และ DLA3 (ร้อยละของพื้นที่ใบที่เป็นโรคหลังการปลูกถ่ายเชื้อ ที่ 45, 90 และ 100 วัน) พบว่า ที่ DLA1 ค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 7.48 เป็นระดับต้านทานต่อโรค (R) ที่ DLA2 ค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 25.45 เป็นระดับต้านทานต่อโรคปานกลาง (MR) และที่ DLA3 ค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 23.85 เป็นระดับต้านทานต่อโรคปานกลาง (MR)

ที่การประเมินโรค DS1, DS2 และ DS3 (ชนิดของแผลหลังการปลูกถ่ายเชื้อที่ 45, 90 และ 100 วัน) พบว่า ที่ DS1 ค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 0.79 เป็นระดับต้านทานต่อโรค (R) ที่ DS2 ค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 2.84 เป็นระดับต้านทานต่อโรคปานกลาง (MR) และที่ DS3 ค่าความต้านทานเฉลี่ยทั้งประชากรเท่ากับ 3.66 เป็นระดับอ่อนต่อโรคปานกลาง (MS)

สถาบันวิจัยพืชไร่เขตร้อน