

ความหลากหลายของลักษณะสัณฐานวิทยาและความสามารถในการก่อโรค
ของเชื้อรา *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker สาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาล
ของข้าวในประเทศไทย

Morphological and Pathological Diversity of *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker
Causing Brown Spot of Rice in Thailand

อริษา จิตติกรกุล¹⁾ พยอมน โคเบลลี²⁾ สมใจ สาลีโท³⁾ รุจิรัตน์ วงศ์จันทร์แดง⁴⁾ ธนาภา สมใจ⁵⁾ ดวงกมล บุญช่วย⁶⁾ ชนสิริน กลิ่นมณี⁵⁾
อัญชลี ตาคำ⁷⁾ ศุภลักษณ์า สนคองนอก²⁾ มาสุทล สัมพูพิง⁸⁾ พุทธชาติ ศรีพนม⁴⁾ วีรดา หวังสมบุญดี⁹⁾
Arisa Jittikomkul¹⁾ Payorm Cobelli²⁾ Somjai Saleeto³⁾ Rujirat Wongchandaeng⁴⁾ Thanapa Somjai⁵⁾ Duangkamon Boonchuy⁶⁾
Chanasirin Klinmanee⁵⁾ Anchalee Takham⁷⁾ Suphalaksana Sonkhongnok²⁾ Marsuton Sanyapeung⁸⁾ Putchat Sripanom⁴⁾
Teerada Wangsomboondee⁹⁾

Abstract

Brown spot of rice caused by the fungus *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker. Nowadays, it becomes a major disease of rice. The most effective method to control brown spot is the used of resistant varieties. However, morphological and pathological diversity information of the pathogen is the major key for a successful rice breeding program for brown spot resistance. The aim of this research was to examine the morphological and pathological diversity of *B. oryzae* in Thailand. Thus, this information is important for planning the brown spot resistance improvement of rice varieties. The experiments were conducted in Nong Khai Rice Research Center, Ubon Ratchathani Rice Research Center, Chai Nat Rice Research Center, Phatthalung Rice Research Center, Chiang Mai Rice Research Center, Thailand Rice Science Institute and Division of Rice Research and Development during 2018-2021. Survey and sampling of rice brown spot samples were conducted during November 2018 to July 2019 from total of 26 provinces in Thailand. One hundred eighty-eight isolates of *B. oryzae* were isolated from diseased leaf samples. Morphological diversity of the 77 isolates of *B. oryzae* were divided into 7 groups base on morphological characteristics at 10-day-

¹⁾ ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี อ.เมือง จ.อุบลราชธานี 34000 โทรศัพท์ 0-4534-4104

Ubon Ratchathani Rice Research Center, Mueang, Ubon Ratchathani 34000 Tel. 0-4534-4104

²⁾ กองวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว จตุจักร กรุงเทพฯ 10900 โทรศัพท์ 0-2579-7892

Division of Rice Research and Development, Rice Department, Chatuchak, Bangkok 10900 Tel. 0-2579-7892

³⁾ ศูนย์วิจัยข้าวนครราชสีมา อ.พิมาย จ.นครราชสีมา 30100 โทรศัพท์ 0-4447-1583

Nakhon Ratchasima Rice Research Center, Phimai, Nakhon Ratchasima, 30100 Tel. 0-4447-1583

⁴⁾ ศูนย์วิจัยข้าวหนองคาย อ.รัตนวาปี จ.หนองคาย 43120 โทรศัพท์ 0-8645-87310

Nong Khai Rice Research Center, Rattana Wapi, Nong Khai, 43120 Tel. 0-8645-87310

⁵⁾ ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง อ.เมือง จ.พัทลุง 93000 โทรศัพท์ 0-7484-0111

Phatthalung Rice Research Center, Mueang, Phatthalung 93000 Tel. 0-7484-0111

⁶⁾ ศูนย์วิจัยข้าวชัยนาท อ.เมือง จ.ชัยนาท 17000 โทรศัพท์ 0-5601-9771

Chai Nat Rice Research Center, Mueang, Chai Nat 17000 Tel. 0-5601-9771

⁷⁾ ศูนย์วิจัยข้าวเชียงใหม่ อ.สันป่าตอง จ.เชียงใหม่ 50120 โทรศัพท์ 0-5321-1335

Chiang Mai Rice Research Center, San Pa Tong, Chiang Mai 50120 Tel. 0-5321-1335

⁸⁾ ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี 12110 โทรศัพท์ 0-2577-1688

Pathum Thani Rice Research Center, Thanyaburi, Pathum Thani 12110 Tel. 0-2577-1688

⁹⁾ ภาควิชาพฤกษศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมวัน กรุงเทพฯ 10330 โทรศัพท์ 0-2218-5485

Department of Botany, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Pathumwan, Bangkok 10330 Tel. 0-2218-5485

old culture on PDA medium. Conidia morphology could differentiate the fungus into 4 groups. Fifty varieties of rice were tested for pathological diversity with 40 isolates of *B. oryzae* under greenhouse condition and 16 pathogenesis groups were observed. Group 1 comprised of 25 fungal isolates were severe pathogenesis on 50 varieties of rice. The results indicated that the pathogen isolates from Northeast and Central of Thailand had more morphological and pathological diversity.

Keywords: rice, brown spot disease, *Bipolaris oryzae*, diversity, pathogenicity

บทคัดย่อ

โรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าวเกิดจากเชื้อรา *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker ปัจจุบันจัดเป็นโรคที่มีความสำคัญมากโรคหนึ่ง การใช้พันธุ์ต้านทานเป็นวิธีการป้องกันกำจัดที่มีประสิทธิภาพสูง อย่างไรก็ตาม ความหลากหลายของลักษณะทางสัณฐานวิทยา และความสามารถในการก่อโรคของประชากรเชื้อสาเหตุโรค เป็นข้อมูลสำคัญสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อโรคใบจุดสีน้ำตาล งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความหลากหลายของลักษณะสัณฐานวิทยาและความสามารถในการก่อโรคของเชื้อรา *B. oryzae* ในประเทศไทย สำหรับการวางแผนปรับปรุงพันธุ์ข้าว ดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยข้าวหนองคาย อุบลราชธานี ชัยนาท พัทลุง และเชียงใหม่ สถาบันวิทยาศาสตร์ข้าวแห่งชาติ และกองวิจัยและพัฒนาข้าว ระหว่างปี พ.ศ. 2561-2564 โดยการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าว ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2561 ถึงกรกฎาคม 2562 รวม 26 จังหวัด แยกได้เชื้อรา จำนวน 188 ไอโซเลท และศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ จำนวน 77 ไอโซเลท สามารถจัดกลุ่มความหลากหลายของลักษณะเส้นใยของเชื้อ เมื่ออายุ 10 วัน บนอาหาร PDA ได้ 7 กลุ่ม ส่วนลักษณะโคนินเดีย จำแนกเป็น 4 กลุ่ม การทดสอบความสามารถในการก่อโรคบนข้าว 50 พันธุ์ ของเชื้อรา *B. oryzae* จำนวน 40 ไอโซเลท จำแนกได้ 16 กลุ่ม โดยในกลุ่มที่ 1 พบว่า เชื้อ 25 ไอโซเลท มีความสามารถในการก่อโรครุนแรง โดยข้าวทดสอบ จำนวน 50 พันธุ์ แสดงปฏิกิริยาอ่อนแอต่อเชื้อดังกล่าว และพบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและความสามารถในการก่อโรคของเชื้อมีความหลากหลาย โดยเฉพาะไอโซเลทที่แยกจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคกลางของประเทศไทย

คำสำคัญ: ข้าว โรคใบจุดสีน้ำตาล *Bipolaris oryzae* ความหลากหลาย การก่อโรค

คำนำ

เชื้อรา *Bipolaris oryzae* (Breda de Haan) Shoemaker 1959 (synonym: *Helminthosporium oryzae* Breda de Haan 1900, *Drechslera oryzae* (Breda de Haan) Subram. & B.L. Jain 1966) ระยะ teleomorph คือ *Cochliobolus miyabeanus* (S. Ito & Kurib.) Drechsler ex Dastur 1942 (Manamgoda *et al.*, 2012, 2014) เป็นเชื้อสาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาล (brown spot disease) และโรคเมล็ดดำ (dirty panicle disease) ของข้าว (*Oryza sativa* L.) พบรายงานครั้งแรกจากประเทศญี่ปุ่น เมื่อปี ค.ศ. 1900 (พ.ศ. 2443) ต่อมาพบการระบาดในพื้นที่ที่มีการปลูกข้าวทั่วโลก เช่น สหรัฐอเมริกา บราซิล เวเนซุเอลา เม็กซิโก ปานามา โคลอมเบีย ออสเตรเลีย นิวซีแลนด์ ฟิจิ อียิปต์ แอฟริกาใต้ บังกลาเทศ ภูฏาน อินเดีย เนปาล ปากีสถาน อิหร่าน จีน

เกาหลีใต้ อินโดนีเซีย เนการาบรูไนดารุสซาลาม มาเลเซีย เมียนมาร์ ไทย เป็นต้น (Farr and Rossman, 2013)

เชื้อรา *B. oryzae* ทำความเสียหายให้แก่ข้าวทางตะวันตกเฉียงใต้ของเบงกอล ส่วนหนึ่งของบริติชอินเดีย ในระหว่างสงครามโลกครั้งที่ 2 (Mukherjee, 2015) ปัจจุบันคือรัฐเบงกอลตะวันตก ประเทศอินเดีย และประเทศบังกลาเทศ ทำให้ผลผลิตข้าวลดลงร้อยละ 50-90 ในปี ค.ศ. 1942 (พ.ศ. 2485) และเป็นสาเหตุหนึ่งที่น่าไปสู่ปัญหาความอดอยากในเหตุการณ์ "The Great Bengal Famine" ทำให้มีประชากร 2.1-3 ล้านคน เสียชีวิตจากการอดอาหารในปี ค.ศ. 1943-1944 (พ.ศ. 2486-2487) (Padmanabhan, 1973; Scheffer, 1997)

ในประเทศไทยพบรายงานการระบาดของโรคใบจุดสีน้ำตาลทั่วทุกภาคของประเทศ ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบการระบาดของโรครุนแรงในจังหวัดอุบลราชธานี

เมื่อปี พ.ศ. 2520 ทำให้ผลผลิตข้าวเสียหาย 100 เปอร์เซ็นต์ ไม่สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ (สถาบันวิจัยข้าว, 2539) ส่วนในภาคกลางพบการระบาดเป็นประจำในจังหวัด นครนายก และปราจีนบุรี (สมคิด, 2532)

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการระบาดของโรคข้าวกับการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศในแปลงทดลองของศูนย์วิจัยข้าวฉะเชิงเทราที่ปลูกข้าวอย่างต่อเนื่อง ในปี พ.ศ. 2554-2556 พบการทำลายของโรคใบจุดสีน้ำตาลในข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 และพิษณุโลก 2 ทุกระยะการเจริญเติบโตของข้าว ตั้งแต่ระยะกล้าจนออกรวง (วรรณพรหม และคณะ, 2557) นอกจากนี้เป็นสาเหตุโรคข้าวแล้ว เชื้อรา *B. oryzae* ยังมีพืชอาศัยอื่นที่หลากหลาย เช่น ข้าวป่า (*Oryza australiensis*, *O. latifolia*) ข้าวฟ่างหางหมา (*Setaria italica*) ข้าวสาลี (common wheat; *Triticum aestivum*) หญ้ากีนี่ (*Panicum maximum*) หญ้าข้าวหนก (*P. colonum*) หญ้าไซ (*Leersia hexandra*) หญ้าตีนกา (*Eleusine indica*) ข้าวป่ายักษ์ (*Zizania palustris*) หน่อไม้ (*Z. latifolia*) (Farr and Rossman, 2013) เป็นต้น

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *B. oryzae* บนอาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะที่หลากหลาย Kumar และคณะ (2016) ศึกษาความหลากหลายของเชื้อรา *B. oryzae* 116 ไอโซเลท ที่แยกจากใบและเมล็ดข้าวที่เป็นโรคใบจุดสีน้ำตาลในประเทศอินเดีย จัดกลุ่มด้วยลักษณะสัณฐานวิทยาของเส้นใยและรูปแบบการเจริญบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) ได้ 8 กลุ่ม ได้แก่ 1) เส้นใยสีดำ เจริญได้จำกัด 2) เส้นใยสีดำ พุคคล้ายสำลี (cottony) 3) เส้นใยสีดำ พุเป็นปุย (fluffy) 4) เส้นใยสีเทา เจริญได้จำกัด 5) เส้นใยสีเทา พุคล้ายสำลี 6) เส้นใยสีเทา พุเป็นปุย 7) เส้นใยสีเทาปนขาว พุคล้ายสำลี และ 8) เส้นใยสีขาว พุคล้ายสำลี Valamathi และ Ladhakshmi (2018) ศึกษาสัณฐานวิทยาเส้นใยของเชื้อรา *B. oryzae* ในประเทศอินเดีย บนอาหาร PDA สามารถจำแนกเชื้อ 17 ไอโซเลท ออกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ 1) เส้นใยสีดำและพุเป็นปุย 2) เส้นใยสีเทา พุเป็นปุย และมีจุดสีขาว 3) เส้นใยสีเทาและพุเป็นปุย และ 4) เส้นใยสีเทา เจริญได้จำกัด

ในอดีตโรคใบจุดสีน้ำตาลเป็นโรคที่ไม่มีความสำคัญ แต่ปัจจุบันพบการระบาดที่รุนแรงเพิ่มมากขึ้น เนื่องจาก

การเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ และประชากรเชื้อรา *B. oryzae* มีลักษณะผันแปรทางสรีรวิทยาบางประการ จากการปรับตัวตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมต่างๆ จนเกิดเป็นกลุ่มพันธุ์ (race) ที่มีลักษณะจำเพาะ มีภาวะก่อโรคที่แตกต่างกัน และมีความเป็นไปได้ที่เชื้อรา *B. oryzae* มีการปรับตัวจนสามารถก่อให้เกิดอาการรุนแรงขึ้นในข้าวสายพันธุ์ต้านทานโรค เช่น กข6 กข8 กข13 หางยี 71 เหลืองใหญ่ 148 เป็นต้น ด้วยเหตุนี้ โรคใบจุดสีน้ำตาลจึงเป็นโรคที่ต้องมีการเฝ้าระวังอย่างต่อเนื่อง เพื่อป้องกันการระบาดรุนแรงที่อาจจะเกิดขึ้น (ศิริรัตน์, 2550) ความเข้าใจเกี่ยวกับความหลากหลายของประชากรเชื้อรา *B. oryzae* คือขั้นตอนสำคัญในการหากลยุทธ์ในการจัดการโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าวที่มีประสิทธิภาพ (Sunder et al., 2014) งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความหลากหลายของเชื้อรา *B. oryzae* สาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าว ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา และความสามารถในการก่อโรค เพื่อเป็นข้อมูลสำคัญสำหรับปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสำรวจและแยกเชื้อรา *Bipolaris oryzae* สาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาล

สำรวจโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าวในเขตภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ และภาคใต้ ของประเทศไทย รวม 26 จังหวัด ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2561 ถึงเดือนกรกฎาคม 2562 ตามระบบสถิติ (systematic survey) เก็บตัวอย่างใบข้าวที่แสดงอาการของโรคใบจุดสีน้ำตาล นำมาแยกเชื้อราสาเหตุโรคให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ ด้วยเทคนิค tissue transplanting ตามวิธีการของพยอม และคณะ (2562)

2. การจำแนกเชื้อรา *Bipolaris oryzae* และการพิสูจน์โรคตามวิธี Koch's postulation

จำแนกชนิดเชื้อราที่แยกจากอาการโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าวโดยใช้คู่มือการจำแนกชนิด (species) ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ Manamgoda และคณะ (2014) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (compound microscope) ที่กำลังขยาย 400X (Nazari et al., 2015) พิสูจน์การเป็นเชื้อสาเหตุโรคตามวิธีการของ Koch

(Koch's postulation) โดยตัวแทนเชื้อรา *B. oryzae* จำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ BO2018_030_DRRD ตัวแทนจากภาคกลาง (จังหวัดกาญจนบุรี) BO2019_002_CMIRRC ตัวแทนจากภาคเหนือ (จังหวัดเชียงใหม่) BO2019_004_UBNRRC ตัวแทนจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (จังหวัดอุบลราชธานี) และ BO2018_003_DRRD ตัวแทนจากภาคใต้ (จังหวัดกระบี่) ปลูกเชื้อด้วยวิธีฉีดพ่นสปอร์แขวนลอยของเชื้อราที่มีความเข้มข้น 1.5×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร (ดัดแปลงจาก Nazari และคณะ (2015)) บนใบข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML105) อายุ 30 วัน จำนวน 3 กอ กอละ 1 ต้น ที่ปลูกในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 นิ้ว เปรียบเทียบกับต้นที่ฉีดพ่นด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อเป็นกรรมวิธีควบคุม สังเกตอาการโรคและแยกเชื้อ (re-isolation) หลังปลูกเชื้อ 7-21 วัน และปลูกเชื้อซ้ำ (re-inoculation) อีกครั้งบนข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 สังเกตและบันทึกการเกิดโรคหลังจากปลูกเชื้อ 7-21 วัน

3. การศึกษาความหลากหลายทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Bipolaris oryzae*

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *B. oryzae* จำนวน 77 ไอโซเลท (Table 1) ที่เป็นตัวแทนเชื้อจากภาคกลางเหนือ ตะวันออกเฉียงเหนือ และใต้ และแยกได้จากข้าวหลากหลายพันธุ์ โดยเลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA บ่มเชื้อภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง สลับกับบ่มในที่มืด อุณหภูมิ 28 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 10-15 วัน บันทึกสีและการเจริญของเส้นใย

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของโคนิเดียที่เลี้ยงบนอาหาร PDA หรือ rabbit food agar (RFA) ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ อุณหภูมิ 25 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง สลับกับที่มืด อุณหภูมิ 28 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง เมื่อครบ 5 วัน หากไม่มีการสร้างสปอร์ ทำการกระตุ้นการสร้างสปอร์ตามวิธีการของพยอม และคณะ (2562) โดยชุบเส้นใยเชื้อที่เจริญบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยเข็มเขี่ยปลายโค้งแหลมที่เฝาจันร้อนแดงให้เป็นลายตารางละเอียด 4 ทิศทาง บ่มเชื้อเป็นเวลา 3-4 วัน หากไม่พบการสร้างสปอร์ภายหลังการชุบครั้งแรก ให้ชุบเชื้อซ้ำจนกว่าเชื้อจะสร้างสปอร์ ตรวจสอบลักษณะสี จำนวน

pseudoseptum รูปทรงของโคนิเดียและก้านชูโคนิเดีย ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง วัดขนาดโคนิเดียไอโซเลทละ 30 โคนิเดียที่กำลังขยาย 400X (Nazari *et al.*, 2015)

4. การทดสอบการเกิดโรคของข้าวต่อเชื้อรา *Bipolaris oryzae* ในสภาพเรือนทดลอง

ปลูกเชื้อทดสอบปฏิกิริยาการเกิดโรคของข้าวไทยจำนวน 50 พันธุ์โดยใช้เชื้อรา *B. oryzae* 40 ไอโซเลท เป็นตัวแทนเชื้อจากภาคกลางเหนือ ตะวันออกเฉียงเหนือ และใต้ และเป็นตัวแทนเชื้อที่มีลักษณะสัณฐานวิทยาของเส้นใยและโคนิเดียจากทุกกลุ่ม (Table 2) ใช้พันธุ์หายปี 71 (HY71) เหนียวสันป่าตอง (NSPT) และเหมยหนอง 62 เอ็ม (Muey Nawng 62M) เป็นพันธุ์ต้านทานเปรียบเทียบกับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML105) กข15 (RD15) และกข6 (RD6) เป็นพันธุ์อ่อนแอเปรียบเทียบกับปลูกเชื้อบนข้าวอายุ 30 วัน ตามกรรมวิธีในข้อ 2. พันธุ์ละ 3 กอ กอละ 1 ต้น (ดัดแปลงจาก Nazari และคณะ (2015)) บันทึกปฏิกิริยาการเกิดโรคหลังปลูกเชื้อ 7-21 วัน ตามระบบของ The Standard Evaluation System (IRRI, 2014) และนำระดับคะแนนการเกิดโรคมาจัดกลุ่มลักษณะความต้านทาน/อ่อนแอ เมื่อระดับคะแนน 0-1 = ต้านทานมาก (HR; highly resistant) 2 = ต้านทาน (R; resistant) 3 = ค่อนข้างต้านทาน (MR; moderately resistant) 4-6 = ค่อนข้างอ่อนแอ (MS; moderately susceptible) 7 = อ่อนแอ (S; susceptible) และ 8-9 = อ่อนแอมาก (HS; highly susceptible)

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสำรวจและแยกเชื้อรา *Bipolaris oryzae* สาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาล

การสำรวจโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าว พบโรคตั้งแต่วะยะแตกกอจนถึงระยะเก็บเกี่ยว ลักษณะอาการใบจุดสีน้ำตาลของข้าว สามารถจำแนกได้ 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1) แผลสีน้ำตาล วี มีขอบแผลสีเหลืองชัดเจน กลุ่มที่ 2) แผลสีน้ำตาล วี ไม่มีขอบเขต กลุ่มที่ 3) แผลสีน้ำตาลกลมเล็ก มีขอบแผลสีเหลืองชัดเจน และกลุ่มที่ 4) แผลสีน้ำตาลไม่มีขอบเขต กลางแผลสีเทา (Fig. 1)

การแยกเชื้อได้เชื้อราบริสุทธิ์จากใบข้าวที่แสดงอาการโรคใบจุดสีน้ำตาล รวม 188 ไอโซเลท จากแหล่ง

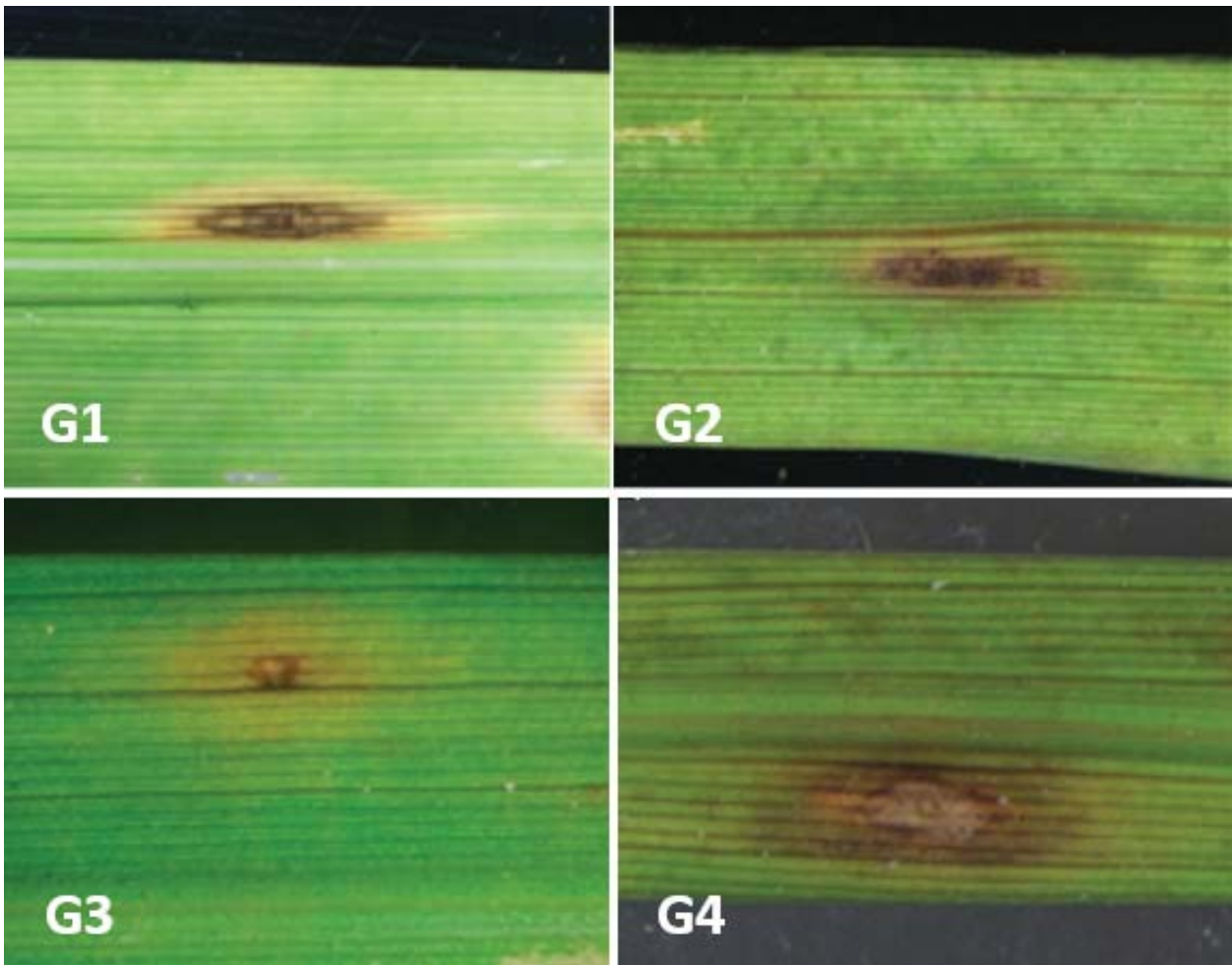


Fig. 1 Symptoms of brown spot on KDML105 rice leaves G1: oval brown lesions and surrounded by a yellow margin, G2: irregular brown lesion, G3: small, circular, brown lesions and surrounded by a yellow margin, and G4: irregular brown lesion that have a gray center

ปลูกข้าวในภาคกลางพบ 22 ไอโซเลท ในข้าวพันธุ์ กข31 กข41 กข49 กข57 กข61 สุพรรณบุรี 1 ปทุมธานี 1 BKN05044-29-5-3-1-1 และ SPR08080-20-11-6 ภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบ 149 ไอโซเลท ในข้าวพันธุ์ กข15 กข22 กข49 ขาวดอกมะลิ 105 ปทุมธานี 1 ชัยนาท 1 สังข์หยดพัทลุง อีแดงเล้าแตก ลี้นก สันป่าตอง 1 หอม-สกลนคร และพิษณุโลก ภาคเหนือพบ 10 ไอโซเลท ในข้าวพันธุ์พิษณุโลก 2 สันป่าตอง 1 และ กข43 และภาคใต้พบ 7 ไอโซเลท ในข้าวพันธุ์ กข7 กข69 กข71 ขาวดอกมะลิ 105 พิษณุโลก 2 ชัยนาท 1 และเล็บนกปัตตานี

2. การจำแนกเชื้อรา *Bipolaris oryzae* และการพิสูจน์โรคตามวิธี Koch's postulation

บนอาหาร PDA เชื้อรามีลักษณะเส้นใยสีขาวในระยะแรก ต่อมาเมื่อเชื้อราอายุ 5 วัน เส้นใยเริ่มเปลี่ยนเป็น

สีขาวปนเทาหรือสีขาวปนน้ำตาล ส่วนมากฟูคล้ายสำลี และเส้นใยเป็นสีเทาเข้ม สีน้ำตาลเข้ม หรือสีดำเมื่ออายุ 10-15 วัน การศึกษาเชื้อรามีได้กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง พบว่า มีก้านชูโคนิเดีย (conidiophore) สีน้ำตาล ชูขึ้นเป็นแบบก้านตรงและอยู่เดี่ยวๆ (arising singly and simple) มีผนังกั้นหลายผนัง (multi-septate) ก้านชูโคนิเดีย คดไปคดมา (flexuous) บางครั้งพบด้านบนของก้านชูโคนิเดียจะงอคล้ายเข่า (geniculate) (Fig. 2A) โคนิเดียสีน้ำตาล รูปทรงคล้ายเรือ (navicular) หรือฐานกว้างปลายเรียว (obclavate) และโค้ง (Fig. 2B) เซลล์ปลายของโคนิเดียสามารถงอกได้ทั้งสองด้าน (bipolar germination) (Fig. 2C) โคนิเดียมีขนาดตั้งแต่ 16-30 x 63-164 ไมครอน มี 3-14 pseudoseptum และสามารถสังเกตเห็น hilum ได้ชัดเจนในโคนิเดียที่เจริญสมบูรณ์



Fig. 2 Morphology of *Bipolaris oryzae*; A: flexuous conidiophore and conidia of *B. oryzae*, B: a conidia of *B. oryzae* and C: germinating at both ends of a conidia

ลักษณะสัณฐานวิทยาของเส้นใยบนอาหาร ก้านชูโคนิเดีย และโคนิเดีย สอดคล้องกับลักษณะของเชื้อรา *B. oryzae* ตามรายงานของ Manamgoda และคณะ (2014) จึงจำแนกเชื้อราดังกล่าวเป็น เชื้อรา *B. oryzae* ขนาดโคนิเดียของเชื้อราใกล้เคียงกับรายงานของศิริวัฒน์ (2550) ที่แยกเชื้อรา *B. oryzae* จากข้าวในจังหวัดพระนครศรีอยุธยา ซึ่งพบโคนิเดียขนาด 14-22 x 63-153 ไมครอน ในขณะที่ Manamgoda และคณะ (2014) รายงานว่า *B. oryzae* มีขนาดโคนิเดีย 10-22 x 50-155 ไมครอน และมี 6-12 pseudoseptum

การพิสูจน์การเป็นเชื้อสาเหตุโรคตามวิธี Koch's postulation พบว่า ตัวแทนเชื้อรา *B. oryzae* จำนวน 4

ไอโซเลท คือ BO2018_030_DRRD, BO2019_002_CMIRRC, BO2019_004_UBNRRC และ BO2018_003_DRRD ทำให้ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 แสดงอาการแผลสีน้ำตาลรี มีขอบแผลสีเหลืองชัดเจน (Fig. 3A-B) เหมือนกับอาการโรคใบจุดสีน้ำตาลที่พบในสภาพแปลง (Fig. 3C) หลังปลูกเชื้อ 7-21 วัน ในขณะที่ข้าวที่พ่นด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อไม่แสดงอาการ เมื่อนำใบข้าวที่แสดงอาการใบจุดสีน้ำตาลมาแยกเชื้อบนอาหาร PDA พบว่า เชื้อรามีลักษณะเส้นใยและโคนิเดียเช่นเดียวกับที่แยกได้ครั้งแรก และเมื่อปลูกเชื้อซ้ำ พบว่า ใบข้าวแสดงอาการใบจุดสีน้ำตาลเหมือนครั้งแรกที่ปลูกเชื้อ จึงพิสูจน์ได้ว่าเชื้อรา 4 ไอโซเลท ดังกล่าวเป็นเชื้อสาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาล

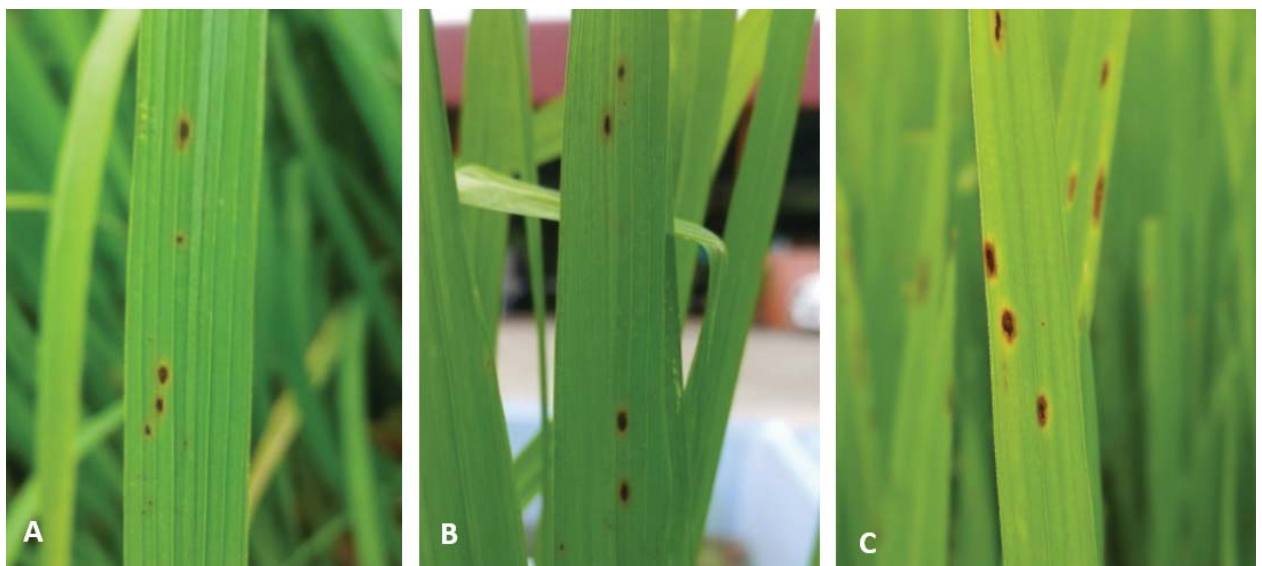


Fig. 3 Symptom of brown spot on rice leaves; A-B: oval brown lesions and surrounded by a yellow margin on KDML105, 14 days after inoculation, C: oval brown lesions and surrounded by a yellow margin on KDML105 in rice field

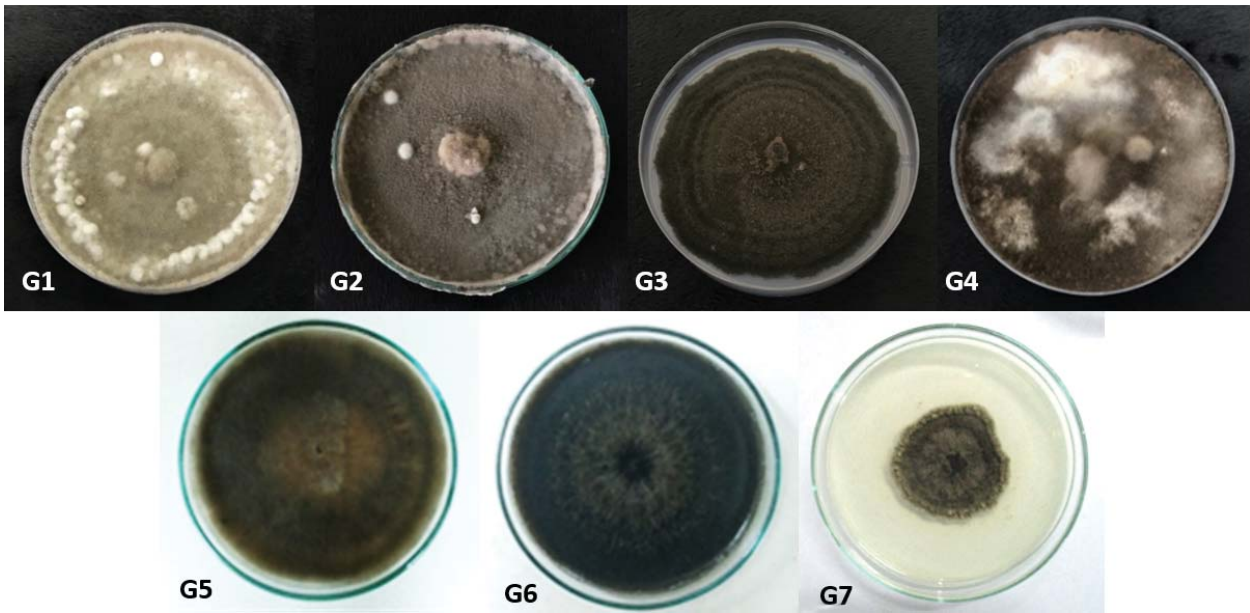


Fig. 4 Seven different groups of *Bipolaris oryzae* based on morphological characteristics at 10- day-old on PDA; G1: whitish grey mycelium, cottony, G2: greyish black mycelium, cottony, G3: brownish black mycelium, zonate colony, G4: brownish white mycelium, cottony, G5: brownish black mycelium, G6: dark brownish to black mycelium, and G7: brownish black mycelia, with suppressed growth

3. ความหลากหลายทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Bipolaris oryzae*

เส้นใยเชื้อรา *B. oryzae* อายุ 10 วัน บนอาหาร PDA จำนวน 77 ไอโซเลท มีลักษณะแตกต่างกัน จำแนกเป็น 7 กลุ่ม (Fig. 4) ได้แก่

กลุ่มที่ 1 เส้นใยสีขาวปนเทา ฟุคคล้ายสำลี (Fig. 4G1) พบ 18 ไอโซเลท จากจังหวัดกาญจนบุรี กรุงเทพมหานคร นครนายก สระบุรี พระนครศรีอยุธยา เชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน อุบลราชธานี กระบี่ และพัทลุง

กลุ่มที่ 2 เส้นใยสีเทาปนดำ ฟุคคล้ายสำลี (Fig. 4G2) พบ 10 ไอโซเลท จากจังหวัดยโสธร ร้อยเอ็ด อุบลราชธานี และพัทลุง

กลุ่มที่ 3 เส้นใยสีน้ำตาลปนดำ สร้างเส้นใยเป็นวงรอบ (Fig. 4G3) พบ 7 ไอโซเลท จากจังหวัดสระบุรี อุบลราชธานี ร้อยเอ็ด บึงกาฬ อุตรดิตถ์ และสกลนคร

กลุ่มที่ 4 เส้นใยสีน้ำตาลปนขาว ฟุคคล้ายสำลี (Fig. 4G4) พบ 6 ไอโซเลท จากจังหวัดอุบลราชธานี ยโสธร นครศรีธรรมราช และพัทลุง

กลุ่มที่ 5 เส้นใยสีน้ำตาลปนดำ (Fig. 4G5) พบ 18 ไอโซเลท จากจังหวัดอุบลราชธานี ยโสธร และร้อยเอ็ด

กลุ่มที่ 6 เส้นใยสีน้ำตาลเข้มปนดำ (Fig. 4G6) พบ 8 ไอโซเลท จากจังหวัดกาญจนบุรี หนองคาย หนองบัวลำภู ชัยภูมิ มหาสารคาม ขอนแก่น อุตรดิตถ์ อุบลราชธานี ยโสธร และร้อยเอ็ด

กลุ่มที่ 7 เส้นใยสีน้ำตาลปนดำ เจริญเติบโตช้า (Fig. 4G7) พบ 10 ไอโซเลท จากจังหวัดกาญจนบุรี หนองคาย หนองบัวลำภู มหาสารคาม ขอนแก่น ชัยภูมิ และเชียงใหม่ อย่างไรก็ตาม เชื้อรา *B. oryzae* สาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าวที่พบระบาดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีความหลากหลายของลักษณะเส้นใยบนอาหาร จำแนกได้ 7 กลุ่ม โดยเฉพาะเชื้อไอโซเลทจากจังหวัดอุบลราชธานี พบความหลากหลายของลักษณะเส้นใยมากถึง 6 กลุ่ม ไอโซเลทจากจังหวัดยโสธรและร้อยเอ็ด พบจังหวัดละ 4 กลุ่ม ในขณะที่เชื้อจากภาคกลาง ภาคใต้ และภาคเหนือ จำแนกได้ 4 3 และ 2 กลุ่ม ตามลำดับ (Table 1) ลักษณะเส้นใยกลุ่มที่ 1 พบกระจายมากถึง 11 จังหวัด และกลุ่มที่ 7 พบใน 8 จังหวัด แต่ส่วนใหญ่พบมากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

การศึกษาความหลากหลายทางสัณฐานวิทยาของโคนินเดีย สามารถจัดกลุ่มได้ 4 กลุ่ม (Fig. 5) ได้แก่



Fig. 5 Conidial morphology of *Bipolaris oryzae*; G1: pale brown conidium, navicular with 3-12 pseudoseptum, G2: dark brown conidium, navicular with 3-12 pseudoseptum, G3: dark brown conidium, cylindrical with 3-9 pseudoseptum, and G4: dark brown conidium, fusiform with 6-14 pseudoseptum

กลุ่มที่ 1 โคนิเดียมสีน้ำตาล รูปทรงโค้ง คล้ายเรือ ขนาด 17-28 x 76-135 ไมครอน มี 3-12 pseudoseptum (Fig. 5G1) พบ 23 ไอโซเลท จากจังหวัดกาญจนบุรี กรุงเทพมหานคร นครนายก สระบุรี พระนครศรีอยุธยา เชียงราย เชียงใหม่ ลำพูน ยโสธร ร้อยเอ็ด กระบี่ และพัทลุง

กลุ่มที่ 2 โคนิเดียมสีน้ำตาลเข้ม รูปทรงโค้ง คล้ายเรือ ขนาด 18-30 x 73-164 ไมครอน มี 3-12 pseudoseptum (Fig. 5G2) พบ 28 ไอโซเลท จากจังหวัดกาญจนบุรี สระบุรี อุบลราชธานี ยโสธร ร้อยเอ็ด ชัยภูมิ มหาสารคาม ขอนแก่น อุดรธานี สกลนคร นครศรีธรรมราช และพัทลุง

กลุ่มที่ 3 โคนิเดียมสีน้ำตาลเข้ม ทรงกระบอก ขนาดสั้นกว่ากลุ่มอื่น คือ 16-20 x 63-88 ไมครอน มี 3-9 pseudoseptum (Fig. 5G3) พบ 19 ไอโซเลท จากจังหวัดพระนครศรีอยุธยา อุบลราชธานี ยโสธร ร้อยเอ็ด หนองคาย บึงกาฬ และหนองบัวลำภู

กลุ่มที่ 4 โคนิเดียมสีน้ำตาลเข้ม ทรงกระสวย หัวท้ายค่อนข้างเรียวยาว ขนาดค่อนข้างยาว คือ 17-23 x 112-135 ไมครอน มี 6-14 pseudoseptum (Fig. 5G4) พบ 7 ไอโซเลท จากจังหวัดสระบุรี ยโสธร และร้อยเอ็ด

การจำแนกตามแหล่งที่มาของเชื้อ พบว่า เชื้อไอโซเลทจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง มีความหลากหลายทางลักษณะสัณฐานวิทยาของโคนิเดียม พบกระจายมากถึง 4 กลุ่ม โดยจังหวัดยโสธรและร้อยเอ็ดพบลักษณะโคนิเดียมกระจายทั้ง 4 กลุ่ม รองลงมา คือ จังหวัดอุบลราชธานี และสระบุรี พบจังหวัดละ 3 กลุ่ม (Table 1) โคนิเดียมกลุ่มที่ 1 พบกระจายมากถึง 13 จังหวัด ในขณะที่

กลุ่มที่ 4 พบได้น้อยสุด คือ พบในจังหวัดสระบุรี ยโสธร และร้อยเอ็ด

อนึ่ง เชื้อรา *B. oryzae* ที่แยกจากโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าวในประเทศไทยมีความหลากหลายทั้งลักษณะสัณฐานวิทยาของเส้นใยบนอาหาร PDA และลักษณะของโคนิเดียมด้านสี รูปทรง ขนาด และจำนวน pseudoseptum สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kumar และคณะ (2016) ที่พบว่า เชื้อรา *B. oryzae* สาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าวในประเทศอินเดีย มีลักษณะสัณฐานวิทยาของเส้นใยและรูปแบบการเจริญบนอาหาร PDA ที่หลากหลายมากถึง 8 กลุ่ม และสอดคล้องกับรายงานของ Subramanian และ Bhat (1978) ที่พบว่า ลักษณะโคนิเดียมของเชื้อรา *B. oryzae* มีความแปรปรวนสูงภายในสปีชีส์ ซึ่งลักษณะสัณฐานวิทยาของเส้นใยและโคนิเดียมของเชื้อรา *B. oryzae* ไม่มีความสัมพันธ์กัน โดยลักษณะเส้นใยแต่ละกลุ่มสามารถพบโคนิเดียมได้ 2-4 กลุ่ม (Table 1)

4. การเกิดโรคของข้าวต่อเชื้อรา *Bipolaris oryzae* ในสภาพเรือนทดลอง

การทดสอบปฏิกิริยาของข้าว 50 พันธุ์ ต่อการเกิดโรคใบจุดสีน้ำตาล โดยตัวแทนเชื้อรา *B. oryzae* จำนวน 40 ไอโซเลท พบว่า ข้าวแสดงอาการโรคที่ระดับคะแนน 1-9 คือ ระดับต้านทานมาก ถึงระดับอ่อนแอมาก เมื่อจัดกลุ่มความหลากหลายของลักษณะความรุนแรงของโรคสามารถจำแนกได้ 16 กลุ่ม (Table 2) ได้แก่

กลุ่มที่ 1 ข้าว 50 พันธุ์ มีลักษณะค่อนข้างอ่อนแอจนถึงอ่อนแอมาก มี 25 ไอโซเลท (Table 1, 2) จากจังหวัด

Table 1 Seventy-seven isolates of *Bipolaris oryzae* that isolated from rice brown spot disease

No.	Isolate code	Location	GPS	Rice variety	Rice growth stage	Mycelium group	Conidial group	Severity group
1	BO2018_003_DRRD	Krabi	N:07.71412 E:099.07280	Khao Dawk Mali 105	Heading	group 1	group 1	group 14
2	BO2018_026_DRRD	Kanchanaburi	N:14.2115239 E:99.7694226	BKN05044-29-5-3-1-1	Harvesting	group 1	group 2	group 1
3	BO2018_027_DRRD	Kanchanaburi	N:14.2114940 E:99.7694602	SPR08080-20-11-6	Harvesting	group 1	group 2	group 1
4	BO2018_030_DRRD	Kanchanaburi	N:14.2114940 E:99.7694600	RD31	Harvesting	group 1	group 1	group 6
5	BO2018_031_DRRD	Kanchanaburi	N:14.2115645 E:99.7693227	RD31	Mature grain	group 7	group 2	group 1
6	BO2018_033_DRRD	Kanchanaburi	N:14.087821 E:99.708077	Supan Buri 1	Mature grain	group 1	group 1	group 13
7	BO2019_001_DRRD	Bangkok	N:13.824589 E:100.747063	Pathum Thani 1	Booting	group 1	group 1	group 1
8	BO2019_076_DRRD	Nakhon Nayok	N:14.185102 E:101.229998	Pathum Thani 1	Tillering	group 1	group 1	group 1
9	BO2019_081_DRRD	Nakhon Nayok	N:14.185001 E:101.230135	Pathum Thani 1	Tillering	group 1	group 1	group 1
10	BO2019_096_DRRD	Saraburi	N:14.396174 E:100.864061	RD49	Tillering	group 6	group 4	group 1
11	BO2019_101_DRRD	Saraburi	N:14.39241 E:100.863566	RD31	Tillering	group 3	group 1	group 1
12	BO2019_116_DRRD	Saraburi	N:14.381252 E:100.807196	RD57	Tillering	group 1	group 3	group 1
13	BO2019_122_DRRD	Phra Nakhon Si Ayutthaya	N:14.368345 E:100.785871	RD31	Tillering	group 1	group 1	group 1
14	BO2019_212_DRRD	Nakhon Si Thammarat	N:8.23468 E:100.050043	Phitsanulok 2	Heading	group 4	group 1	ND ^{iv}
15	BO2019_245_DRRD	Phatthalung	N:7.789166 E:100.051178	RD71	Heading	group 4	group 1	ND
16	BO2019_257_DRRD	Phatthalung	N:7.686518 E:100.117786	Chai Nat 1	Tillering	group 4	group 2	ND
17	BO2019_001_CMIRRC	Chiang Rai	N:19.478022 E:100.003123	Phitsanulok 2	Tillering	group 1	group 1	ND
18	BO2019_002_CMIRRC	Chiang Mai	N:18.825817 E:99.129809	San-pah-tawng 1	Tillering	group 1	group 1	ND
19	BO2019_003_CMIRRC	Chiang Mai	N:18.748660 E:99.173030	RD43	Tillering	group 7	group 1	ND
20	BO2019_004_CMIRRC	Chiang Mai	N:18.879991 E:99.056071	San-pah-tawng 1	Tillering	group 7	group 1	ND
21	BO2019_005_CMIRRC	Lamphun	N:18.463947 E:98.915890	San-pah-tawng 1	Heading	group 1	group 1	group 16
22	BO2019_006_CMIRRC	Lamphun	N:18.472356 E:98.928081	San-pah-tawng 1	Heading	group 1	group 1	ND
23	BO2019_007_CMIRRC	Lamphun	N:18.504470 E:98.948721	San-pah-tawng 1	Heading	group 1	group 1	group 15
24	BO2019_001_UBNRRR	Ubon Ratchathani	N:15.350224 E:104.684966	Khao Dawk Mali 105	Tillering	group 5	group 3	ND
25	BO2019_004_UBNRRR	Ubon Ratchathani	N:15.350224 E:104.684966	Khao Dawk Mali 105	Tillering	group 5	group 3	group 1
26	BO2019_005_UBNRRR	Ubon Ratchathani	N:15.350224 E:104.684966	Khao Dawk Mali 105	Tillering	group 1	group 3	group 1

Table 1 cont.

No.	Isolate code	Location	GPS	Rice variety	Rice growth stage	Mycelium group	Conidial group	Severity group
27	BO2019_009_UBNRRRC	Ubon Ratchathani	N:15.350224 E:104.684966	Khao Dawk Mali 105	Tillering	group 6	group 2	ND
28	BO2019_013_UBNRRRC	Ubon Ratchathani	N:15.350224 E:104.684966	Khao Dawk Mali 105	Tillering	group 5	group 2	ND
29	BO2019_014_UBNRRRC	Ubon Ratchathani	N:15.350224 E:104.684966	Khao Dawk Mali 105	Tillering	group 5	group 2	ND
30	BO2019_017_UBNRRRC	Ubon Ratchathani	N:15.350224 E:104.684966	Khao Dawk Mali 105	Tillering	group 5	group 2	ND
31	BO2019_019_UBNRRRC	Ubon Ratchathani	N:15.393822 E:104.841371	Lee Nok ^{2f}	Tillering	group 5	group 2	ND
32	BO2019_021_UBNRRRC	Ubon Ratchathani	N:15.393822 E:104.841371	Lee Nok	Tillering	group 5	group 2	ND
33	BO2019_023_UBNRRRC	Ubon Ratchathani	N:15.393822 E:104.841371	Lee Nok	Tillering	group 5	group 2	ND
34	BO2019_025_UBNRRRC	Ubon Ratchathani	N:15.393822 E:104.841371	Lee Nok	Tillering	group 4	group 2	ND
35	BO2019_026_UBNRRRC	Ubon Ratchathani	N:15.393822 E:104.841371	Lee Nok	Tillering	group 3	group 1	group 1
36	BO2019_027_UBNRRRC	Ubon Ratchathani	N:15.393822 E:104.841371	Lee Nok	Tillering	group 1	group 2	group 1
37	BO2019_029_UBNRRRC	Ubon Ratchathani	N:15.393822 E:104.841371	Lee Nok	Tillering	group 5	group 2	ND
38	BO2019_030_UBNRRRC	Ubon Ratchathani	N:15.393822 E:104.841371	Lee Nok	Tillering	group 5	group 2	group 1
39	BO2019_032_UBNRRRC	Ubon Ratchathani	N:15.393822 E:104.841371	Lee Nok	Tillering	group 5	group 2	ND
40	BO2019_073_UBNRRRC	Yasothon	N:15.52763 E:104.26194	Chai Nat 1	Tillering	group 5	group 2	ND
41	BO2019_074_UBNRRRC	Yasothon	N:15.52763 E:104.26194	Chai Nat 1	Tillering	group 5	group 1	ND
42	BO2019_084_UBNRRRC	Yasothon	N:15.52763 E:104.26194	Chai Nat 1	Tillering	group 5	group 3	ND
43	BO2019_098_UBNRRRC	Yasothon	N:15.52763 E:104.26194	Chai Nat 1	Tillering	group 6	group 4	ND
44	BO2019_099_UBNRRRC	Yasothon	N:15.52763 E:104.26194	Chai Nat 1	Tillering	group 6	group 4	ND
45	BO2019_103_UBNRRRC	Yasothon	N:15.52763 E:104.26194	Chai Nat 1	Tillering	group 6	group 4	ND
46	BO2019_109_UBNRRRC	Yasothon	N:15.52763 E:104.26194	Chai Nat 1	Tillering	group 4	group 3	ND
47	BO2019_111_UBNRRRC	Yasothon	N:15.52763 E:104.26194	Chai Nat 1	Tillering	group 4	group 3	ND
48	BO2019_113_UBNRRRC	Yasothon	N:15.52763 E:104.26194	Chai Nat 1	Tillering	group 6	group 2	ND
49	BO2019_118_UBNRRRC	Yasothon	N:15.53064 E:104.25668	RD15	Heading	group 2	group 2	ND
50	BO2019_149_UBNRRRC	Roi Et	N:16.161214 E:103.775638	RD49	Heading	group 6	group 1	group 1
51	BO2019_161_UBNRRRC	Roi Et	N:16.161214 E:103.775638	RD49	Heading	group 3	group 4	ND
52	BO2019_162_UBNRRRC	Roi Et	N:16.161214 E:103.775638	RD49	Heading	group 2	group 4	group 7

Table 1 cont.

No.	Isolate code	Location	GPS	Rice variety	Rice growth stage	Mycelium group	Conidial group	Severity group
53	BO2019_163_UBNRRRC	Roi Et	N:16.161214 E:103.775638	RD49	Heading	group 2	group 4	group 1
54	BO2019_166_UBNRRRC	Roi Et	N:16.161214 E:103.775638	RD49	Heading	group 5	group 3	ND
55	BO2019_167_UBNRRRC	Roi Et	N:16.161214 E:103.775638	RD49	Heading	group 5	group 3	ND
56	BO2019_175_UBNRRRC	Roi Et	N:16.02402 E:103.91318	RD49	Tillering	group 5	group 2	group 9
57	BO2019_177_UBNRRRC	Roi Et	N:16.02402 E:103.91318	RD49	Tillering	group 2	group 2	ND
58	BO2019_183_UBNRRRC	Roi Et	N:16.02402 E:103.91318	RD49	Tillering	group 6	group 2	group 8
59	BO2019_188_UBNRRRC	Roi Et	N:16.02402 E:103.91318	RD49	Tillering	group 3	group 3	ND
60	BO2019_192_UBNRRRC	Roi Et	N:16.02402 E:103.91318	RD49	Tillering	group 2	group 3	ND
61	BO2019_216_UBNRRRC	Yasothon	N:15.52763 E:104.26194	Chai Nat 1	Tillering	group 5	group 3	ND
62	BO2019_217_UBNRRRC	Yasothon	N:15.53064 E:104.25668	RD15	Heading	group 2	group 3	group 1
63	BO2019_219_UBNRRRC	Ubon Ratchathani	N:15.393822 E:104.841371	Lee Nok	Tillering	group 2	group 3	group 10
64	BO2019_220_UBNRRRC	Ubon Ratchathani	N:15.350224 E:104.684966	Khao Dawk Mali 105	Tillering	group 2	group 3	ND
65	BO2019_012_NKIRRC	Nong Khai	N:18.16336 E:103.16915	RD22	Tillering	group 7	group 3	group 4
66	BO2019_295_NKIRRC	Bueng Kan	N:18.08644 E:103.44278	Pathum Thani 1	Heading	group 3	group 3	group 5
67	BO2019_386_NKIRRC	Nong Bua Lam Phu	N:17.11471 E:102.219	Edanglaothak	Harvesting	group 7	group 3	group 11
68	BO2019_608_NKIRRC	Chaiyaphum	N:16.22204 E:101.58420	San-pah-tawng 1	Harvesting	group 7	group 2	group 1
69	BO2019_731_NKIRRC	Maha Sarakham	N:16.26223 E:103.01310	Edanglaothak	Harvesting	group 7	group 2	group 1
70	BO2019_858_NKIRRC	Khon Kaen	N:16.32431 E:102.32014	Phisanulok	Harvesting	group 7	group 3	group 1
71	BO2019_887_NKIRRC	Khon Kaen	N:16.35840 E:102.71095	RD22	Harvesting	group 7	group 2	group 1
72	BO2019_908_NKIRRC	Chaiyaphum	N:16.24291 E:102.14510	San-pah-tawng 1	Harvesting	group 7	group 2	group 3
73	BO2019_971_NKIRRC	Udon Thani	N:17.37132 E:102.5839	RD22	Harvesting	group 3	group 2	group 1
74	BO2019_1023_NKIRRC	Sakon Nakhon	N:17.36862 E:101.78771	RD49	Harvesting	group 3	group 2	group 2
75	BO2019_004_PTLRCC	Phatthalung	N:5.64742640 E:102.03922494	RD7	Heading	group 2	group 1	group 1
76	BO2019_007_PTLRCC	Phatthalung	N:5.70148226 E:101.93007126	Leb Nok Pattani	Tillering	group 2	group 1	group 1
77	BO2019_008_PTLRCC	Phatthalung	N:5.64671642 E:102.03851785	RD69	Harvesting	group 1	group 1	group 1

Remarks: ¹ND = No detected, ²Local variety in Northeastern Thailand

กาญจนบุรี กรุงเทพมหานคร (เขตคลองสามวา) นครนายก สระบุรี พระนครศรีอยุธยา อุบลราชธานี ร้อยเอ็ด ยโสธร ชัยภูมิ มหาสารคาม ขอนแก่น อุดรธานี และพัทลุง

กลุ่มที่ 2 ข้าวพันธุ์ กข57 กข59 กข61 กข71 ปทุมธานี 1 พิษณุโลก 2 และเหนียวอุบล 2 มีลักษณะด้านทาน พันธุ์ กข21 กข31 และเหมยหนอง 62 เอ็ม มีลักษณะค่อนข้างต้านทาน มี 1 ไอโซเลท คือ BO2019_1023_NKIRRC จากจังหวัดสกลนคร

กลุ่มที่ 3 ข้าวพันธุ์ กข12 กข31 และสุพรรณบุรี 2 มีลักษณะค่อนข้างต้านทาน มี 1 ไอโซเลท คือ BO2019_908_NKIRRC จากจังหวัดชัยภูมิ

กลุ่มที่ 4 ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 มีลักษณะด้านทาน มี 1 ไอโซเลท คือ BO2019_012_NKIRRC จากจังหวัดหนองคาย

กลุ่มที่ 5 ข้าวพันธุ์เหนียวอุบล 2 มีลักษณะค่อนข้างต้านทาน มี 1 ไอโซเลท คือ BO2019_295_NKIRRC จากจังหวัดบึงกาฬ

กลุ่มที่ 6 ข้าวพันธุ์ กข49 กข51 ชิวแม่จัน เหนียวสันป่าตอง และเหมยหนอง 62 เอ็ม มีลักษณะด้านทาน พันธุ์ กข6 กข14 กข15 กข18 กข20 กข33 กข41 กข53 กข55 กข59 พิษณุโลก 80 ขาวตาแห้ง 17 สกลนคร สุพรรณบุรี 2 ข้าวเจ้าหอมสุพรรณบุรี แพร่ 1 เหนียวอุบล 2 ฉะเชิงเทรา 3 และหอมกระดังงา 59 มีลักษณะค่อนข้างต้านทาน มี 1 ไอโซเลท คือ BO2018_030_DRRD จากจังหวัดกาญจนบุรี

กลุ่มที่ 7 ข้าวพันธุ์ กข33 กข55 ขาวตาแห้ง 17 ก.ว.ก.1 ก.ว.ก.2 ฉะเชิงเทรา หางยี่ 71 มีลักษณะด้านทานมาก พันธุ์ กข20 กข57 กข69 มีลักษณะด้านทาน พันธุ์ กข49 กข61 มีลักษณะค่อนข้างต้านทาน มี 1 ไอโซเลท คือ BO2019_162_UBNRRC จากจังหวัดร้อยเอ็ด

กลุ่มที่ 8 ข้าวพันธุ์ ฉะเชิงเทรา มีลักษณะด้านทาน พันธุ์ กข43 และ กข69 และปทุมธานี 1 มีลักษณะค่อนข้างต้านทาน มี 1 ไอโซเลท คือ BO2019_183_UBNRRC จากจังหวัดร้อยเอ็ด

กลุ่มที่ 9 ข้าวพันธุ์ กข12 มีลักษณะด้านทานมาก พันธุ์ หางยี่ 71 มีลักษณะด้านทาน พันธุ์ กข22 กข71 สกลนคร สุพรรณบุรี 2 และ ก.ว.ก.2 มีลักษณะค่อนข้างต้านทาน มี 1 ไอโซเลท คือ BO2019_175_UBNRRC จาก

จังหวัดร้อยเอ็ด

กลุ่มที่ 10 ข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 60 ก.ว.ก.1 ก.ว.ก.2 กข69 และหางยี่ 71 มีลักษณะด้านทานมาก พันธุ์ กข22 กข43 กข71 ปทุมธานี 1 และสันป่าตอง 1 มีลักษณะด้านทาน พันธุ์ กข12 กข18 กข20 และ กข61 มีลักษณะค่อนข้างต้านทาน มี 1 ไอโซเลท คือ BO2019_163_UBNRRC จากจังหวัดร้อยเอ็ด

กลุ่มที่ 11 ข้าวพันธุ์ กข12 กข21 สุพรรณบุรี 60 ชิวแม่จัน แพร่ 1 ฉะเชิงเทรา และหางยี่ 71 มีลักษณะด้านทานมาก พันธุ์ ก.ว.ก.2 มีลักษณะด้านทาน มี 1 ไอโซเลท คือ BO2019_219_UBNRRC จากจังหวัดอุบลราชธานี

กลุ่มที่ 12 ข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 มีลักษณะด้านทาน พันธุ์ กข41 กข47 และ กข57 มีลักษณะค่อนข้างต้านทาน มี 1 ไอโซเลท คือ BO2019_386_NKIRRC จากจังหวัดหนองบัวลำภู

กลุ่มที่ 13 ข้าวพันธุ์เหนียวอุบล 2 มีลักษณะค่อนข้างต้านทาน มี 1 ไอโซเลท คือ BO2018_033_DRRD จากจังหวัดกาญจนบุรี

กลุ่มที่ 14 ข้าวพันธุ์ กข20 กข41 และ กข43 มีลักษณะค่อนข้างต้านทาน มี 1 ไอโซเลท คือ BO2018_003_DRRD จากจังหวัดกระบี่

กลุ่มที่ 15 ข้าวพันธุ์ หางยี่ 71 เหนียวสันป่าตอง และเหมยหนอง 62 เอ็ม มีลักษณะด้านทาน พันธุ์ กข12 กข14 กข18 กข 20 กข22 กข29 กข49 กข51 กข53 กข 59 กข65 กข75 ปทุมธานี 1 ชัยนาท 1 พิษณุโลก 2 พิษณุโลก 80 สกลนคร สุพรรณบุรี 1 สุพรรณบุรี 2 สุพรรณบุรี 60 ข้าวเจ้าหอมสุพรรณบุรี ก.ว.ก.1 ก.ว.ก.2 สันป่าตอง 1 แพร่ 1 และเหนียวอุบล 2 มีลักษณะค่อนข้างต้านทาน มี 1 ไอโซเลท คือ BO2019_007_CMIRRC จากจังหวัดลำพูน

กลุ่มที่ 16 ข้าวพันธุ์ กข61 มีลักษณะด้านทานมาก พันธุ์ กข10 กข12 กข14 กข22 กข29 กข33 กข41 กข47 กข49 กข51 กข53 กข55 กข57 กข65 กข69 กข71 สกลนคร สุพรรณบุรี 1 สุพรรณบุรี 2 ข้าวเจ้าหอมสุพรรณบุรี ชิวแม่จัน เหมยหนอง 62 เอ็ม และขาวดอกมะลิ 105 มีลักษณะค่อนข้างต้านทาน มี 1 ไอโซเลท คือ BO2019_005_CMIRRC จากจังหวัดลำพูน

ความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อและความสามารถในการเกิดโรค พบว่า เชื้อส่วนใหญ่ที่มี

เส้นใยเป็นสีขาวปนเทา สีเทาปนดำ และสีน้ำตาลปนดำ และมีลักษณะโคนเดี่ยวเป็นรูปทรงโค้ง หรือทรงกระบอก มีการเกิดโรครุนแรง โดยพบว่าข้าวจำนวน 50 พันธุ์ ทุกพันธุ์ แสดงปฏิกิริยาอ่อนข้างอ่อนแอถึงอ่อนแอมากต่อเชื้อดังกล่าว และพบว่าลักษณะอาการที่พบในแปลงกับความรุนแรงในการเกิดโรคกับข้าวพันธุ์ทดสอบ มีเชื้อ 25 ไอโซเลท ในกลุ่มความรุนแรงของโรคกลุ่มที่ 1 ที่ทำให้ข้าว 50 พันธุ์ แสดงความอ่อนแอนั้นมีหลากหลายอาการในสภาพธรรมชาติ มีรูปแบบอาการทั้ง 4 กลุ่ม ซึ่งจากการศึกษาของ Magar (2015) ในประเทศเนปาล ที่ประเมินความต้านทานของข้าว 14 พันธุ์ ต่อโรคใบจุดสีน้ำตาลในสภาพแปลงนา พบว่า ไม่มีพันธุ์ข้าวที่ต้านทาน หรือต้านทานมากต่อโรคนี้ มีเพียงพันธุ์ HJ-G1 และ HJ-G2 ที่ค่อนข้างต้านทาน

อย่างไรก็ตาม การคัดเลือกหาแหล่งของยีนต้านทานเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าว เป็นแนวทางหนึ่งในการจัดการโรคที่มีประสิทธิภาพในอนาคต แม้พันธุ์ข้าวทดสอบ 50 พันธุ์จะอ่อนแอ (MS-HS) ต่อเชื้อรา *B. oryzae* 25 ไอโซเลท แต่ยังมีข้าวบางพันธุ์ที่ยังต้านทานต่อเชื้อบางไอโซเลท ซึ่งมีแนวโน้มที่จะนำไปใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานโรคใบจุดสีน้ำตาล ได้แก่ พันธุ์เฉียงพัทลุง ต้านทานมากต่อเชื้อไอโซเลท BO2019_162_UBNRRC, BO2019_219_UBNRRC และ BO2019_005_CMIRRC พันธุ์หางยี 71 ต้านทานมากต่อเชื้อไอโซเลท BO2019_162_UBNRRC, BO2019_163_UBNRRC และ BO2019_219_UBNRRC พันธุ์สุพรรณบุรี 60 ต้านทานมากต่อเชื้อไอโซเลท BO2019_163_UBNRRC และ BO2019_219_UBNRRC พันธุ์ ก.วก.1 และก.วก.2 ต้านทานมากต่อเชื้อไอโซเลท BO2019_162_UBNRRC และ 2019_163_UBNRRC พันธุ์ กข12 ต้านทานมากต่อเชื้อไอโซเลท BO2019_175_UBNRRC และ BO2019_219_UBNRRC พันธุ์แพรว 1 ต้านทานมากต่อเชื้อไอโซเลท BO2019_219_UBNRRC และ BO2019_005_CMIRRC

นอกจากนี้ ยังมีพันธุ์ กข21 และซิวแม่จัน ต้านทานมากต่อเชื้อไอโซเลท BO2019_219_UBNRRC พันธุ์ กข18 กข20 กข61 สันป่าตอง 1 เหนียวอุบล 2 และไข่มดริน 3 ต้านทานมากต่อเชื้อไอโซเลท BO2019_005_CMIRRC พันธุ์ กข69 ต้านทานมากต่อเชื้อไอโซเลท BO2019_163_

UBNRRC พันธุ์ กข33 กข55 และขาวตาแห้ง 17 ต้านทานมากต่อเชื้อไอโซเลท BO2019_162_UBNRRC

สรุปผลการทดลอง

1. เชื้อรา *Bipolaris oryzae* มีความหลากหลายทั้งลักษณะทางสัณฐานวิทยา และความสามารถในการเกิดโรคบนข้าวทดสอบจำนวน 50 พันธุ์ พบเส้นใยที่หลากหลายมากกว่าโคนเดี่ยว โดยสามารถจัดกลุ่มได้ 7 กลุ่ม ตามสี และลักษณะการเจริญของเส้นใย โดยไอโซเลทจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีความหลากหลายของเส้นใยมากกว่าภาคอื่น จำแนกได้ถึง 7 กลุ่ม โดยเฉพาะเชื้อไอโซเลทจากจังหวัดอุบลราชธานี จำแนกได้มากถึง 6 กลุ่ม

2. ลักษณะสัณฐานวิทยาของโคนเดี่ยวตามสี รูปทรงขนาด และจำนวน pseudoseptum จำแนกได้ 4 กลุ่ม เชื้อไอโซเลทจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง มีความหลากหลายทางลักษณะสัณฐานวิทยาของโคนเดี่ยว โดยเฉพาะจังหวัดยโสธรและร้อยเอ็ดพบลักษณะโคนเดี่ยวทั้ง 4 กลุ่ม ส่วนจังหวัดอุบลราชธานีและสระบุรี พบ 3 กลุ่ม

3. ปฏิกิริยาของข้าว 50 พันธุ์ ต่อการเกิดโรคใบจุดสีน้ำตาล โดยตัวแทนเชื้อรา *B. oryzae* จำนวน 40 ไอโซเลท จำแนกความหลากหลายในการเกิดโรคบนข้าวได้ 16 กลุ่ม โดยกลุ่มที่ 1 ข้าวทั้ง 50 พันธุ์ ค่อนข้างอ่อนแอ จนถึงอ่อนแอมาก พบมากถึง 25 ไอโซเลท

ข้อมูลความหลากหลายของลักษณะทางสัณฐานวิทยา และความสามารถในการเกิดโรค ของประชากรเชื้อสาเหตุโรคจากการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ มีความสำคัญต่อการวางแผนการใช้ยีนต้านทาน ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว ให้มีความจำเพาะต่อประชากรเชื้อสาเหตุโรคที่พบระบาด เพื่อสร้างความต้านทานต่อโรคข้าวที่สำคัญอย่างมีประสิทธิภาพและยั่งยืนต่อไป

คำขอขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากเงินรายได้ จากการดำเนินงานวิจัยและส่งเสริมด้านข้าว กรมการข้าว ครั้งที่ 1 ปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 ภายใต้โครงการ “แหล่งพันธุกรรมยีนต้านทาน ความหลากหลายทางลักษณะการทำให้เกิดโรค และพันธุกรรมของประชากรเชื้อสาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาล และใบขีดโปร่งแสง เพื่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าว”

เอกสารอ้างอิง

- พยอม โคเบลลี, ศุภลักษณ์นา หล้าจันทิก, ธีรดา หวังสมบุญรัตน์, เมธวดี เดชหาญ และพิชามญช์ พัฒนวิทย์. 2562. เทคนิคอย่างง่ายเพื่อการกระตุ้นการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *Bipolaris oryzae* (Bredda de Haan) Shoemaker สาเหตุโรคใบจุดสีน้ำตาลของข้าว. หน้า 154-165. ใน: การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ครั้งที่ 36 ประจำปี 2562. กองวิจัยและพัฒนาข้าว, กรมการข้าว. 12-15 พฤษภาคม 2562. ณ โรงแรมแกรนด์ ฟอรัจน์, จังหวัดนครศรีธรรมราช.
- วรรณพรพรณ จันลาภา, ทัสดาว เกตุเนตร, อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ และสมหมาย ศรีวิสุทธิ. 2557. ผลของการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อการระบาดของโรคข้าวในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. หน้า 73-83. ใน: การประชุมวิชาการข้าว กลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคกลาง ตะวันออก และตะวันตก ประจำปี 2556. สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว, กรมการข้าว. 26-28 มีนาคม 2557. ณ โรงแรมเอกไพลินริเวอร์แคว, จังหวัดกาญจนบุรี.
- ศิริรัตน์ ศิริพรวิศาล. 2550. รายงานวิจัยเรื่อง การศึกษาความหลากหลายของรา *Bipolaris oryzae* และความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรคใบจุดสีน้ำตาลในพื้นที่เพาะปลูกข้าวนาปรัง จังหวัดพระนครศรีอยุธยา. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 52 หน้า.
- สถาบันวิจัยข้าว. 2539. ข้าว: ความรู้คู่ชาวนา. เอกสารวิชาการครบรอบ 80 ปี ศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี, กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 191 หน้า.
- สมคิด ดิสถาพร. 2532. ชาวนาปราบโรคข้าว. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา, กรมวิชาการเกษตร. 116 หน้า.
- Farr, D.F. and A.Y. Rossman. 2013. Fungal databases, systematic mycology and microbiology laboratory. ARS, USDA. Available source: <http://nt.ars-grin.gov/fungal-databases>. (January 8, 2020)
- IRRI. 2014. Standard Evaluation System for Rice. 5th ed. International Rice Research Institute, DAPO Box 7777, Metro Manila 130, Philippines. 57 p.
- Kumar, A., I.S. Solanki, J. Akthar and V. Gupta. 2016. Morpho-molecular diversity of *Bipolaris oryzae* causing brown spot of paddy. Indian J. Agri. Sci. 86(5): 55-60.
- Magar, P.B. 2015. Screening of rice varieties against brown leaf spot disease at Jyotinagar, Chitwan, Nepal. Int. J. Appl. Sci. Biotechnol. 3(1): 56-60.
- Manamgoda, D.S., A.Y. Rossman, L.A. Castlebury, P.W. Crous, H. Madrid, E. Chukeatirote and K.D. Hyde. 2014. The genus *Bipolaris*, Studies of Mycology 79: 221-288.
- Manamgoda, D.S., L. Cai, E.H.C. McKenzie, P.W. Crous, H. Madrid, E. Chukeatirote, R.G. Shivas, Y.P. Tan and K.D. Hyde. 2012. A phylogenetic and taxonomic re-evaluation of the *Bipolaris* - *Cochliobolus* - *Curvularia* Complex. Fungal Diversity 56: 131-144.
- Mukherjee, J. 2015. Hungry Bengal: War, Famine and the End of Empire. New York, NY: Oxford University Press. 329 p.
- Nazari, S., M. Javan-nikkhah, K.B. Fotouhifar, V. Khosravi and A. Alizadeh. 2015. *Bipolaris* species associated with rice plant: pathogenicity and genetic diversity of *Bipolaris oryzae* using rep-PCR in Mazandaran province of Iran. J. Crop Prot. 4(4): 497-508.
- Padmanabhan, S.Y. 1973. The Great Bengal Famine. Ann. Rev. Phytopathology 11: 11-26.
- Scheffer, R.P. 1997. The Nature of Disease in Plants. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 325 p.
- Subramanian, C.V. and V.R. Bhat. 1978. Taxonomy of *Drechslera oryzae* (Breda de Haan) Subramanian & Jain a reappraisal. pp. 136-148. In: Subramanian, C.V. (ed.), Taxonomy of Fungi. Proceeding of the International Symposium on Taxonomy of Fungi (1973). University of Madras.
- Sunder, S., R. Singh and R. Agarwal. 2014. Brown spot of rice: an overview. Indian Phytopath 67(3): 201-215.
- Valarmathi, P. and D. Ladhakshmi. 2018. Morphological characterization of *Bipolaris oryzae* causing brown spot disease of rice. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 7(2): 161-170.