การตรวจสอบความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อรา สาเหตุโรคไหม้ข้าวในประเทศไทย

Determination of Pathotype Diversity of Rice Blast Fungal Population in Thailand

พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ [1] พยอม โคเบลลี่[1] อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ[2]
ถนอมจิตร์ ฤทธิ์มนตรี[3] กุลชนา เกศสุวรรณ[4] ชนสิริน กลิ่นมณี[5] สงวน เที่ยงดีฤทธิ์ [1]
Poonsak Mekwatanakarn[1] Payorm Cobelli[1] Acharaporn Na Lampang Noenplab[2]
Thanomjit Rithmontree[3] Kulchana Ketsuwan[4] Chanasirin Klinmanee[5] Sangaun Thieng Deerith[1]

Abstract

Rice blast disease is the major disease in rainfed lowland area of Thailand. The causal fungus of this disease is *Pyricularia grisea* Sacc. Variation of this fungus was higher than other rice pathogens. This report used near isogenic lines (NILs) to detect the variation, pathothype and virulence spectrum of the fungus in Thailand during 2002 - 2005. Trap blast nurseries consisted of 9 Thai local cultivars and 18 NILs were conducted at Ubon Ratchathani Rice Research Center, Khon Kaen Rice Research Center, Phrae Rice Research Center, Phitsanulok Rice Research Center, and Phatthalung Rice Research Center. Single conidia was isolated from infected rice leaves. Virulence spectrum of blast populations were screened on 18 NILs. Two thousand four hundred seventy six isolates were classified into 623 pathotypes that could be devided into two groups; 145 common pathotypes and 340 rare pathotypes diversity index of blast population was high (0.83). Common pathotypes had virulence spectrum less than rare pathotypes. Site-specific and season-specific pathogen populations were found in this study. High pathogen diversity was found at Ubon Ratchathani Rice Research Center. Some resistant genes had potential to prevent infection from some pathotypes. However, many pathotypes could be compatible with a single resistant gene. The resistant genes *Pi 1* group (*Pi 1*, *Pi 1(t)*^{LAC}, *Pi 1(t)*^{TTP}, *Pi 1*^{CL}), *Pi k* group (*Pi k, Pi kp, Pi kh*) *Pi ta*^{2}, *Pi 5* and *Pi 9* were effective resistance against many pathotypes. Combinations of resistant genes *Pi 1* - *Pi 9* and *Pi ta*^{2} - *Pi 1*^{CL} were the most effective resistant gene pairs against blast populations in Thailand. This finding can be implemented in breeding for blast resistance in the Thai breeding program.

Keywords: rice blast disease, *Pyricularia grisea* Sacc., pathotype, near-isogenic lines, diversity

---

1) ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี ตู้ ป.ณ. 66 อ. เมือง จ. อุบลราชธานี 34000
Ubon Ratchathani Rice Research Center, Muang, Ubon Ratchathani 34000
2) ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก อ. วังทอง จ. พิษณุโลก 65130
Phitsanulok Rice Research Center, Wang Thong, Phitsanulok 65130
3) ศูนย์วิจัยข้าวขอนแก่น อ. เมือง จ. ขอนแก่น 40000
Khon Kaen Rice Research Center, Muang, Khon Kaen 40000
4) ศูนย์วิจัยข้าวแพร่, อ. เมือง จ. แพร่ 54000
Phrae Rice Research Center, Muang, Phrae 54000
5) ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง อ. เมือง จ. พัทลุง 93000
Phatthalung Rice Research Center, Muang, Phatthalung 93000

Bureau of Rice Research and Development

บทคัดย่อ

โรคไหม้ข้าวเป็นโรคที่มีความสำคัญ ทำให้ผลผลิตของข้าวเสียหายมาก เกิดจากเชื้อรา (*Pyricularia grisea* Sacc.) ซึ่งมีความแปรปรวนมากกว่าเชื้อราชนิดอื่น งานวิจัยนี้ได้นำวิธีการใช้พันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทานเดี่ยวมาจำแนกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าว และความรุนแรงของเชื้อต่อพันธุ์ข้าวมาตรฐาน ดำเนินการทดลองปี พ.ศ. 2545 - 2548 โดยปลูกพันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทานโรคไหม้ที่แตกต่างกันจากแหล่งต่าง ๆ ในแปลงทดลองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี และสถานีทดลองข้าวขอนแก่น ในภาคเหนือที่ศูนย์วิจัยข้าวแพร่ ภาคเหนือตอนล่างที่ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก และภาคใต้ที่ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง เก็บตัวอย่างเชื้อโรคไหม้ที่เข้าทำลายใบข้าวและคอรวงในพันธุ์ทดสอบมาตรฐาน โดยวิธีการแยกเชื้อให้ได้สปอร์เดี่ยว แล้วนำเชื้อบริสุทธิ์ไปทดสอบความรุนแรงในการเข้าทำลายของเชื้อบนพันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทานเดี่ยว 18 สายพันธุ์ จากเชื้อจำนวน 2,476 ไอโซเลท สามารถจำแนกเชื้อได้ 623 สายพันธุ์ แบ่งออกเป็น 145 สายพันธุ์ที่พบประจำ และ 340 สายพันธุ์ที่หายาก ประชากรโรคไหม้ข้าวในประเทศไทยมีความหลากหลายสูงมีค่า 0.83 ยีนต้านทานในข้าวบางพันธุ์แสดงความต้านทานได้เฉพาะพื้นที่และฤดูปลูกข้าว สายพันธุ์ที่พบประจำมีความรุนแรงน้อยกว่าสายพันธุ์ที่หายาก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบเชื้อเข้าทำลายมากที่สุด โดยเฉพาะในศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี สายพันธุ์เชื้อโรคไหม้ที่พบทั่วไปเป็นประจำทุกภาคของประเทศไทย มีความหลากหลายของเชื้อสูง ยีนต้านทานโรคไหม้ที่มีศักยภาพแสดงความต้านทานต่อเชื้อโรคไหม้ทั่วประเทศ ได้แก่ กลุ่ม *Pi 1* (*Pi 1*, *Pi 1(t)*^{LAC}, *Pi 1(t)*^{TTP}, *Pi 1*^{CL}), กลุ่ม *Pi k* (*Pi k, Pi kp, Pi kh*) ยีนต้านทานที่ดีคือ *Pi ta*^{2}, *Pi 5* และ *Pi 9* คู่ของยีนที่แสดงความต้านทานได้ดีที่สุด ได้แก่ *Pi 1 - Pi 9* และ *Pi ta*^{2} *- Pi 1*^{CL} โดยเชื้อเข้าทำลายคู่ของยีนได้น้อยมาก ควรใช้คู่ของยีนเหล่านี้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานต่อโรคไหม้ และใช้เชื้อที่มีความหลากหลายทั้งทางด้านความรุนแรงและสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน ประกอบการทดสอบและคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้

คำสำคัญ: โรคไหม้ข้าว เชื้อราสาเหตุ สายพันธุ์เชื้อ ยีนต้านทานเดี่ยว ความหลากหลายของเชื้อ

Bureau of Rice Research and Development

คำนำ

โรคไหม้ข้าว (rice blast disease) เป็นโรคที่มีความสำคัญ ทำให้ผลผลิตของข้าวเสียหายได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เชื้อนี้สามารถเข้าทำลายพืชตระกูลหญ้าได้หลายชนิด ตั้งแต่ข้าว (*Oryza sativa* L.) ข้าวสาลี (*Triticum aestivum*) และพืชตระกูลมิลเล็ท (*Eleusine* spp., *Echinochloa* spp., *Panicum* spp. และ *Setaria* spp.) (Asuyama, 1965; Kato *et al*., 1977) เชื้อรานี้มีการสืบพันธุ์แบบไม่ใช้เพศซึ่งพบทั่วไป เชื้อที่เข้าทำลายข้าวมีชื่อเรียกว่า *Pyricularia grisea* Sacc. และเรียกชื่อเชื้อโรคไหม้ข้าวในระยะสืบพันธุ์แบบใช้เพศว่า *Magnaporthe grisea* Barr. (Rossman *et al*., 1990)

เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวสามารถเข้าทำลายข้าวได้ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงระยะออกรวง เชื้อเข้าทำลายข้าวได้ทุกส่วนของต้นข้าว ตั้งแต่ใบ ลำต้น ข้อ และคอรวง ความเสียหายของข้าวในระยะคอรวงจะทำให้น้ำหนักเมล็ดและขนาดเมล็ดลดลง และมีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดน้อยลงด้วย (Goto, 1965) นอกจากนี้ยังเพิ่มท้องไข่ ทำให้คุณภาพของเมล็ดลดลง (Katsube and Koshimizu, 1970) ความเสียหายจากโรคนี้ทำให้ผลผลิตลดลงได้ 0.4 - 100 เปอร์เซ็นต์ ประเทศไทยพบการระบาดของโรคไหม้ในระยะข้าวออกรวงในปี พ.ศ. 2535 พื้นที่ 1.2 ล้านไร่ ทำให้ผลผลิตข้าวเสียหาย 60 เปอร์เซ็นต์ คิดเป็นปริมาณ 650,000 ตัน (Disthaporn, 1994)

เชื้อรานี้มีความแปรปรวนของเชื้อมากกว่าเชื้อราชนิดอื่น เชื้อมีการเปลี่ยนแปลงได้อย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาไม่กี่ชั่วอายุ (Ou, 1980) สังเกตได้จากการเปลี่ยนแปลงการเข้าทำลายพันธุ์ข้าวต้านทานทดสอบ เชื้อมีการกลายพันธุ์ทำให้เกิดสายพันธุ์เชื้อใหม่ ๆ (Giatgong and Frederiksen, 1967; Correa Victoria and

Zeigler, 1993) รูปร่างเชื้อที่แปลกไปตลอดจนความรุนแรงของเชื้อ (Chumley and Valent, 1990; Valent and Chumley, 1994) เชื้อซึ่งเกิดการกลายพันธุ์ดื้อต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ในอัตราสูงถึง 10^{-6}- 10^{-7} นอกจากนี้ยังพบว่ามี transposable elements ทำให้เชื้อเกิดการเปลี่ยนแปลงได้รวดเร็ว (Farman *et al*., 1996 a,b) มีการเกิด parasexual recombination ของเชื้อรานี้ (Zeigler *et al.,*1997) รายงานการตรวจสอบเชื้อราโรคไหม้ในประเทศไทยนี้ พบว่ามี mating type ที่แตกต่างกัน ได้แก่ MAT 1-1 และ MAT 1-2 ซึ่งเชื้อสามารถผสมพันธุ์กันได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ (Mekwatanakarn *et al*., 1999)

วิธีการศึกษาและจำแนกเชื้อที่นิยมปฏิบัติคือการปลูกเชื้อลงบนพันธุ์ข้าวมาตรฐานซึ่งใช้จำแนกเชื้อ (Ou, 1980) แต่วิธีนี้มีความแม่นยำน้อย เนื่องจากพันธุ์ข้าวที่ใช้ทดสอบมียีนต้านทานมากกว่าหนึ่งยีนต่อพันธุ์ ทำให้เกิดความแปรปรวนในการทดสอบ อีกทั้งเชื้อที่ใช้ทดสอบมีความแปรปรวนทำให้ยากแก่การสรุปผล ด้วยเหตุนี้การนำวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพมาใช้ในการจำแนกเชื้อราโรคนี้ จะให้ผลที่แม่นยำกว่าการใช้วิธีการทดสอบบนพันธุ์ข้าวมาตรฐาน การใช้ลายพิมพ์เอกลักษณ์ ดีเอ็นเอ ในการจำแนกประชากรของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวจึงมีการศึกษากันอย่างกว้างขวางในอเมริกา (Levy *et al*., 1991) โคลัมเบีย (Levy *et al*., 1993) ฟิลิปปินส์ (Chen *et al*., 1995) จีน (Shen *et al*., 1997), อินเดีย (Kumar *et al*., 1995; Sivaraj *et al*., 1996), ยุโรป (Roumen *et al*., 1997) และ ไทย (Mekwatanakarn *et al*., 2000)

งานวิจัยการศึกษาประชากรเชื้อโรคไหม้ในประเทศไทยของ Mekwatanakarn และคณะ (2000) พบว่า เชื้อโรคไหม้ในประเทศไทยมีความแปรปรวนและหลากหลายมากกว่าแหล่งปลูกข้าวอื่นๆ ของโลก เชื้อแตกต่างกันไปตามแหล่งปลูกข้าว ฤดูปลูก และระยะการเจริญเติบโตของข้าว ด้วยเหตุนี้การติดตามความหลากหลายและความรุนแรงของเชื้อโรคไหม้ในแต่ละแหล่งปลูกข้าวจึงเป็นสิ่งจำเป็น เพื่อทราบการเปลี่ยนแปลงประชากรโรคไหม้ และใช้เป็นข้อมูลในการเลือกใช้ยีนต้านทานในการพัฒนาข้าวต้านทานโรคไหม้ต่อไป

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ เพื่อศึกษาชนิดประชากรของโรคไหม้ตามฐานพันธุกรรม (pathotype) ของข้าวในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้ โดยใช้ความแตกต่างของความรุนแรงของเชื้อต่อพันธุ์ข้าวมาตรฐานที่มียีนต้านทานเดี่ยวๆ เพื่อการวางแผนในการเลือกใช้ยีนต้านทานต่อโรคไหม้ให้เหมาะสมในแต่ละพื้นที่ของประเทศไทย

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. พันธุ์ข้าวทดสอบโรคไหม้

- พันธุ์ข้าวไทยที่มียีนต้านทานที่ต่างกัน จำนวน 9 พันธุ์ คือ เจ้าแดง กำผาย เหมยนอง 62 เอ็น กข7 กข23 หางยี 71 สุพรรณบุรี 60 ขาวตาแห้ง 17 และขาวดอกมะลิ 105

- สายพันธุ์ข้าว near isogenic line (NILs) มียีนต้านทานเดี่ยว ที่มีพื้นฐานพันธุกรรมมาจากพันธุ์ CO39 และ LTH จำนวน 18 พันธุ์/สายพันธุ์ คือ C101A51, C101LAC, C104LAC, C101PKT, C102PKT, C104PKT, C101TTP, C103TTP, C105TTP-4-L23, CO39, F128-1, F145-2, IRBLk-Ka, IRBLkp-K60, IRBLkh-K3, IRBL1-CL, IRBL5-M และ IRBL9-W

2. ปุ๋ยเคมี สูตร 16-16-8 และแอมโมเนียมซัลเฟต (21% N)

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar และอาหารสำหรับสร้างสปอร์ rice polish agar

4. ชุดเครื่องมือเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ ตู้ปลอดเชื้อ หม้อนึ่งความดัน (autoclave) ตู้บ่มเชื้อ (incubator) กล้องจุลทรรศน์ ชุดไฟกระตุ้นการสร้างสปอร์

5. ชุดเครื่องมือสำหรับปลูกเชื้อ ได้แก่ สเปรย์พ่นเชื้อ (Badger-150®) ถังปั๊มลม

6. ตู้ความชื้น (dew chamber) และห้องพัฒนาโรคที่ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น

7. กระบะปลูกข้าวพลาสติกขนาด กว้าง x ยาว x สูง (24x37x12 ซม.)

วิธีการ

การทดลองที่ 1 การปลูกพันธุ์ข้าวทดสอบโรคไหม้

ปลูกข้าวพันธุ์/สายพันธุ์ที่มียีนต้านทานโรคไหม้แบบยีนเดี่ยวที่แตกต่างกันจากสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) จำนวน 18 พันธุ์/สายพันธุ์ จากพันธุ์ข้าวพื้นเมือง

Bureau of Rice Research and Development

และพันธุ์ข้าวแนะนำของกรมการข้าว จำนวน 9 พันธุ์ โดยปลูกทดสอบแบบสภาพที่ดอน (upland short row technique) ปลูกข้าวพันธุ์ทดสอบสายพันธุ์ละ 1 แถว ยาว 50 ซม. ใช้เมล็ด 5 กรัมต่อแถว ระยะระหว่างแถว 10 ซม. ทุกๆ 10 สายพันธุ์ ปลูกพันธุ์อ่อนแอเปรียบเทียบ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 หรือ กข23 และพันธุ์ต้านทานเปรียบเทียบ พันธุ์หางยี 71 ในแปลงขนาด 1.2 X 25 ม. ใส่ปุ๋ยรองพื้นสูตร 16-16-8 อัตรา 40 กก./ไร่

เมื่อข้าวอายุได้ 20 วัน ใส่ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต อัตรา 10 กก./ไร่ ก่อนปลูกพันธุ์ทดสอบ 3 สัปดาห์ ทำการปลูกข้าวล่อเชื้อซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอจำนวน 7 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์พระราชทาน ดอยวน กข2 กข4 ขาวตาแห้ง 17 กข23 และ ขาวดอกมะลิ 105 ในแปลงล่อเชื้อ เพื่อเพิ่มปริมาณสปอร์ของเชื้อโรคไหม้ให้มีปริมาณมากพอในการเข้าทำลายพันธุ์ทดสอบ

เมื่อข้าวอายุได้ 30 วัน ตรวจให้คะแนนการเกิดโรคไหม้ตามมาตรฐานการให้คะแนนการเกิดโรค Standard Evaluation System for Rice (IRRI, 1996) คะแนน 0 = ข้าวต้านทานต่อโรคไหม้ และ 9 = ข้าวอ่อนแอต่อโรคไหม้

การทดลองที่ 2 การตรวจสอบความรุนแรงของเชื้อ

นำเชื้อโรคไหม้ที่แยกบริสุทธิ์มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อราสูตรสร้างสปอร์ (rice polish agar) 5 วัน เมื่อเชื้อเจริญเต็มอาหารวุ้นแล้วจึงนำใบข้าวที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ววางทับเส้นใย แล้วบ่มเชื้อต่อที่ 25 °ซ. อีก 2 วัน จากนั้นนำเชื้อไปกระตุ้นให้สร้างสปอร์ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนต์ที่ 25 °ซ. เป็นเวลา 3 - 4 วัน แล้วนำมาล้างสปอร์ในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ โดยเตรียมน้ำสปอร์ (spore suspension) ให้ได้ความเข้มข้นที่ 5 x 104 สปอร์/ซีซี (ดัดแปลงจาก Chen *et al*., 1995) เพื่อใช้ปลูกเชื้อลงบนใบข้าวที่มีอายุ 21 วัน ต่อไป

พันธุ์ข้าวสำหรับทดสอบการเข้าทำลายของเชื้อใช้สายพันธุ์ข้าว near-isogenic line ที่มียีนต้านทานโรคไหม้ที่มีพื้นฐานพันธุกรรมมาจากพันธุ์ CO39 (Mackill and Bonman, 1992) และ LTH (Ling *et al*., 1995) ซึ่งมียีนต้านทานที่ต่างกันตามสายพันธุ์ต่างๆ มีดังแสดงใน Table 1

ปลูกข้าวทดสอบในกระบะขนาด 24x37x12 ซม. บรรจุดิน 10 กก. โดยใส่ปุ๋ยสูตร 16-16-8 รองพื้นจำนวน 6 กรัม เมื่อข้าวอายุได้ 12 วัน ใส่ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต จำนวน 6 กรัม ปลูกเชื้อโรคไหม้ด้วยสเปรย์พ่นเชื้อ (Badger-150®) ใช้แรงดันลมคงที่ 1.5 กก./ตร.ซม. พ่นน้ำสปอร์ที่ความเข้มข้น 5 x 104 สปอร์/ซีซี จำนวน 30 ซีซี เมื่อข้าวอายุได้ 21 วัน ให้คะแนนการเกิดโรคหลังปลูกเชื้อ 7 วัน ใช้มาตรฐานคะแนนการเกิดโรคระดับ 0 - 5 (Mackill and Bonman, 1992) คะแนน 0 = ข้าวไม่เกิดโรค และ 5 = ข้าวอ่อนแอต่อโรค

ส่วนการให้คะแนนการเกิดโรค เพื่อจัดข้อมูลให้เป็น

Table 1 Resistant gene of near-isogenic lines (NILs)

NILs	Resistant gene	NILs	Resistant gene
1. C101A51	*Pi z-5*	10. CO39	*Pi a*
2. C101LAC	*Pi 1*	11. F128-1	*Pi ta*^{2}
3. C104LAC	*Pi 1(t)*^{LAC}	12. F145-2	*Pi b*
4. C101PKT	*Pi 4*^{a}*(t)*	13. IRBLk-Ka	*Pi k*
5. C102PKT	*Pi 4*^{a}*(t)*^{PKT}	14. IRBLkp-K60	*Pi kp*
6. C104PKT	*Pi 3*	15. IRBLkh-K3	*Pi kh*
7. C101TTP	*Pi 4*^{a}*(t)*^{TTP}	16. IRBL1-CL	*Pi 1*^{CL}
8. C103TTP	*Pi 1(t)*^{TTP}	17. IRBL5-M	*Pi 5*
9. C105TTP-4-L23	*Pi 4*^{b}*(t)*	18. IRBL9-W	*Pi 9*
HY71	resistant check		
KMDL105	susceptible check		

Bureau of Rice Research and Development

binary data จะคิดจากการเกิดโรคระดับ 0 - 3 ถือว่าเชื้อไม่สามารถเข้าทำลายยีนต้านทานได้ (incompatible) และ ระดับ 4 - 5 ถือว่าเชื้อเข้าทำลายยีนต้านทานได้ (compatible) โดยข้อมูลการเกิดโรคที่แปลงเป็น binary data จะใช้ในการวิเคราะห์ความหลากหลายของเชื้อ (Shannon diversity index) (Groth and Roelfs, 1987) และการจำแนกสายพันธุ์เชื้อ (pathotype) (Andrivon and de Vallavieille-Pope, 1993)

เวลาและสถานที่

ดำเนินการทดลองในสภาพแปลงทดลองตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2545 สิ้นสุดเดือนธันวาคม 2548

ภาคเหนือ : ศูนย์วิจัยข้าวแพร่ และศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ : ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี และสถานีทดลองข้าวขอนแก่น

ภาคใต้ : ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง

แปลงเกษตรกร : ในภาคต่างๆ

ดำเนินการทดสอบโรคไหม้ในห้องปฏิบัติการ ณ ห้องควบคุมอุณหภูมิและความชื้น ที่ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การปลูกพันธุ์ข้าวทดสอบโรคไหม้

จากการปลูกข้าวพันธุ์ที่มียีนต้านทานต่อโรคไหม้ข้าวที่แตกต่างกันจากชุดข้าวไทย 9 พันธุ์ และชุดข้าว NILs จำนวน 18 พันธุ์/สายพันธุ์ ในพื้นที่ทดสอบโรคไหม้ที่ศูนย์วิจัยข้าวภาคเหนือตอนบนและตอนล่าง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ พบว่า แหล่งทดสอบโรคไหม้ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี มีความรุนแรงและมีความหลากหลายของเชื้อโรคไหม้มากที่สุด การเข้าทำลายของเชื้อต่อพันธุ์ทดสอบในแต่ละปีมีความแตกต่างกัน ไม่พบยีนต้านทานเดี่ยวใดที่สามารถต้านทานเชื้อได้ดีทุกฤดูกาลที่ทดสอบ โดยเฉพาะในปี พ.ศ. 2547 ที่ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี พบว่าเชื้อมีความรุนแรงมากที่สุด ชุดข้าวทดสอบปฏิกิริยาของโรคไหม้ทั้งชุดข้าวไทยและชุดข้าว NILs แสดงความแตกต่างของปฏิกิริยาที่เชื้อเข้าทำลายในแปลงทดสอบ เช่นปฏิกิริยาในปี พ.ศ. 2545 ของพันธุ์เหมยนอง 62 เอ็ม หางยี 71 และสุพรรณบุรี 60 ในชุดข้าวไทย และ พันธุ์ C101A51 C103TTP F128-1 และ IRBL9-W ในชุดข้าว NILs พบความแตกต่างของปฏิกิริยาขนาดของแผลที่เกิดขึ้น ซึ่งเกิดจากสายพันธุ์ของเชื้อที่เข้าทำลายที่แตกต่างกัน เห็นได้จากพันธุ์ข้าวมียีนต้านทานต่อโรคไหม้ที่แตกต่างกันยอมให้เชื้อบางสายพันธุ์เข้าทำลายได้ Mekwatanakarn และคณะ (2000) รายงานว่าพันธุ์ข้าวอ่อนแอจะพบจำนวนเชื้อสายพันธุ์ (lineage) เข้าทำลายมากกว่าพันธุ์ต้านทาน (Table 2)

ในปี พ.ศ. 2545 - 2548 ที่ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี พบเชื้อเข้าทำลายพันธุ์มาตรฐาน ทั้งชุดข้าวไทยและ NILs ที่แตกต่างกัน ในแต่ละฤดูปลูกและชุดข้าวที่ทดสอบ โดยพบเชื้อเข้าทำลายพันธุ์ทดสอบมาตรฐานชุดข้าวไทยมากที่สุดในปี พ.ศ. 2547 และทำลายน้อยสุดในปี พ.ศ. 2548 ในขณะที่พันธุ์ทดสอบมาตรฐานข้าวชุด NILs เชื้อเข้าทำลายใกล้เคียงกันยกเว้นปี พ.ศ. 2546 ที่เชื้อเข้าทำลายข้าวชุด NILs ได้น้อยที่สุด พันธุ์ชุดข้าวไทยทุกพันธุ์มีปฏิกิริยาการเกิดโรคที่แตกต่างกันในแต่ละฤดูปลูก ยกเว้นพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 แสดงปฏิกิริยาอ่อนแอสูงสุดระดับ 9 เกือบทุกปี ยกเว้นปี พ.ศ. 2548 ส่วนพันธุ์ข้าวชุด NILs แสดงปฏิกิริยาที่แตกต่างกันในแต่ละฤดูปลูก เมื่อเปรียบเทียบกับพื้นที่ทดสอบโรคไหม้ที่ศูนย์วิจัยข้าวขอนแก่น จะเห็นได้ว่าเชื้อมีความแตกต่างกันในแต่ละฤดูปลูกและมีความรุนแรงของโรคน้อยกว่าพื้นที่ทดสอบโรคไหม้ที่ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี พันธุ์เหล่านี้ได้นำไปแยกเชื้อบริสุทธิ์ เพื่อจำแนกสายพันธุ์โดยการทดสอบในพันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทานเดี่ยวในการทดลองที่สอง นอกจากนี้พบว่าเชื้อโรคไหม้ในธรรมชาติมีความแปรปรวนมาก (Fig. 1)

ปี พ.ศ. 2545 - 2548 โรคไหม้ที่ตรวจพบในแปลงทดสอบโรคไหม้ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก พบเชื้อเข้าทำลายพันธุ์ข้าวทดสอบชุดข้าวไทย และชุดข้าวทดสอบ NILs มีความแตกต่างกันทั้งสองฤดูปลูก โดยเฉพาะปี พ.ศ. 2545 พบโรคไหม้มีความรุนแรงมากที่สุด (Table 2)

การที่ประชากรเชื้อโรคไหม้ในประเทศไทย โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี พบว่า มีความหลากหลายและแปรปรวนมากกว่าแหล่งอื่น อาจเนื่องมาจากเชื้อมีวิวัฒนาการร่วมกับพันธุ์ข้าวที่มีความหลากหลาย และอาจเกิดจากการกลายพันธุ์ของเชื้อเอง โดยเห็นได้จากแปลงปลูกข้าวใน

Bureau of Rice Research and Development

Table 2 Blast reaction of Thai rice cultivars and near-isogenic lines at 5 sites in Thailand between 2002 - 2005

Cultivars	Blast reaction													
	KKN				UBN			PRE	PSL				PTL	
	2003	2004	2005	2002	2003	2004	2005	2003	2002	2003	2004	2005	2002	2003
1. Jaow Daeng	2	1	1	7	3	9	1	5	9	-	0	0	-	1
2. Kamphai	3	8	8	9	6	9	3	6	5	-	7	7	-	4
3. MN 62 M	4	2	1	4	4	5	2	1	4	-	4	4	7	4
4. RD7	3	-	6	5	5	9	3	-	4	-	-	-	-	1
5. HY71	4	4	3	3	3	7	2	4	6	-	7	4	5	1
6. SPR60	4	1	1	5	2	4	2	1	7	-	0	0	5	-
7. KTH17	0	2	1	9	4	9	3	5	9	9	5	5	-	1
8. KDML105	6	9	8	9	9	9	6	9	9	8	9	9	5	9
9. RD23	6	1	1	4	4	8	3	1	9	0	4	1	7	4
10. C101A51	3	5	1	7	2	1	3	6	9	4	4	4	5	4
11. C101LAC	0	6	4	9	4	8	5	4	7	5	4	4	-	-
12. C104LAC	-	4	4	6	4	3	5	1	1	5	1	1	-	-
13. C101PKT	7	2	4	8	4	9	5	1	9	6	4	4	7	4
14. C102PKT	0	3	2	9	5	9	5	4	9	7	6	6	-	4
15. C104PKT	3	3	2	9	5	7	5	4	9	7	6	6	-	4
16. C101TTP	0	2	3	8	4	6	6	1	9	7	4	4	7	4
17. C103TTP	6	5	4	6	3	9	6	3	6	4	4	4	5	7
18. C105TTP-4-L23	6	2	3	5	5	4	6	1	9	7	4	4	5	8
19. CO39	6	6	3	9	6	4	6	3	9	9	9	9	5	5
20. F128-1	3	2	1	4	4	1	6	1	9	4	5	5	5	1
21. F145-2	0	9	6	4	6	9	8	5	-	9	5	5	-	1
22. IRBLk-ka	-	2	4	4	4	-	7	2	5	1	1	1	-	1
23. IRBLkp-K60	-	1	3	6	4	8	7	0	4	1	1	-	-	-
24. IRBLkh-K3	-	1	4	6	4	7	7	1	4	1	0	0	-	-
25. IRBL1-CL	-	4	6	7	4	7	8	5	-	1	1	1	-	-
26. IRBL5-M	-	3	5	9	5	9	8	5	-	1	9	9	-	-
27. IRBL9-W	-	6	5	4	4	3	9	2	4	1	7	7	-	-

KKN = Khon Kaen Rice Research Center UBN = Ubon Ratchathani Rice Research Center
PRE = Phrae Rice Research Center PSL = Phitsanulok Rice Research Center
PTL = Phatthalung Rice Research Center - = Ungerminated seed

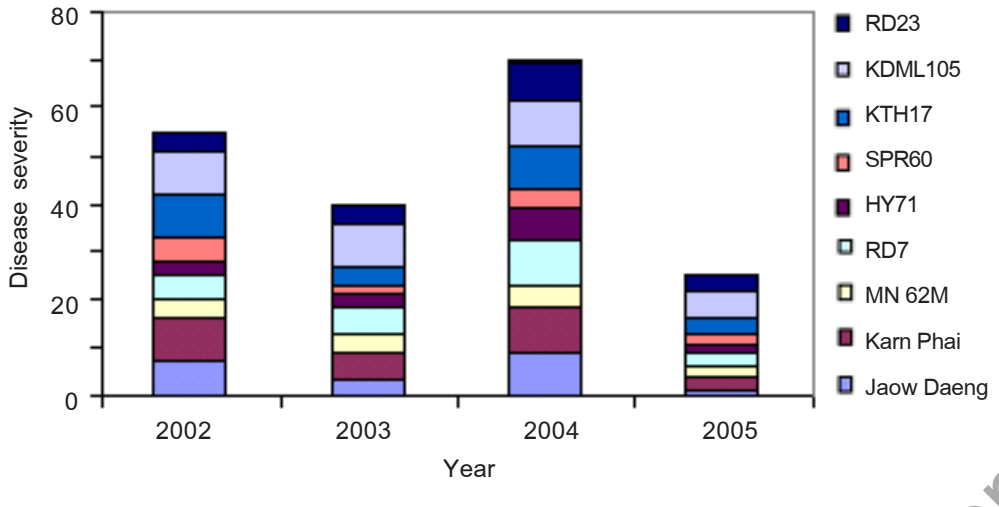
ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานีพบสายพันธุ์ของเชื้อมากกว่าในแปลงเกษตรกร

2. การตรวจสอบความรุนแรงของเชื้อ

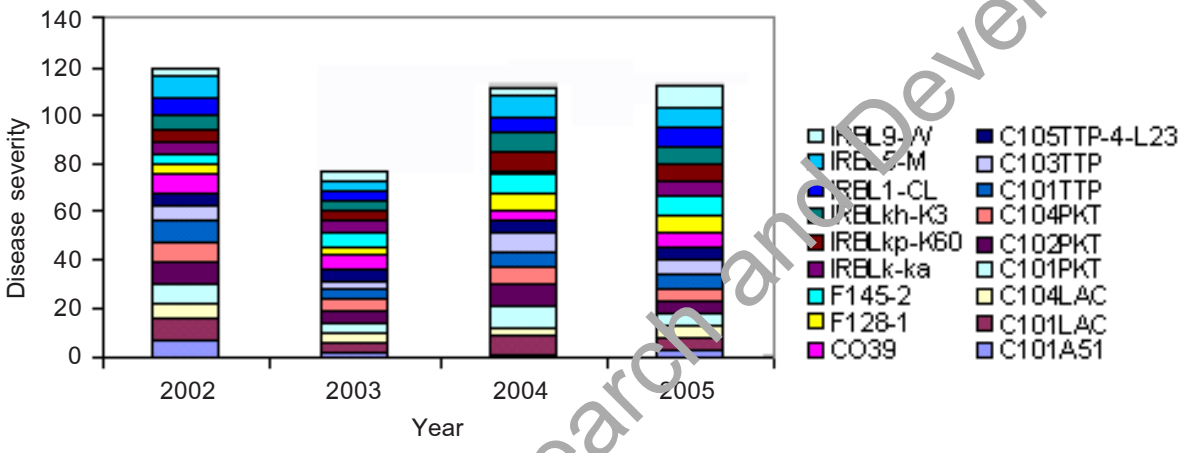
2.1 ความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อโรคไหม้ข้าว (pathotype diversity)

การทดสอบการเข้าทำลายยีนต้านทาน ในพันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทานเดี่ยว 18 สายพันธุ์ เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวทั้งระยะกล้าและระยะออกรวงที่เก็บมาจาก ภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคใต้ในฤดูปลูกปี 2545 - 2547 จำนวน 2,476 ไอโซเลท สามารถจำแนกสายพันธุ์เชื้อได้ 623 สายพันธุ์ มีสายพันธุ์เชื้อที่พบเป็นประจำ จำนวน 145 สายพันธุ์ ซึ่งพบมากถึง 80% ของประชากรเชื้อโรคไหม้ที่ตรวจสอบ และมีความรุนแรงของเชื้อ 2.88 (Compatible pathotype (Cp)) ในขณะที่สายพันธุ์ที่หายากและนานๆ จะพบครั้งมีจำนวนมากถึง 444 สายพันธุ์ มีความรุนแรง 5.33 ซึ่งมากกว่าสายพันธุ์เชื้อโรคไหม้ที่พบประจำทุกสายพันธุ์ ดัชนีความหลาก

Bureau of Rice Research and Development



(a) Thai local cultivars



(b) Near Isogenic Lines

Fig. 1 Disease severity of Thai local cultivars (a) and NILs (b) infected by *P. grisea* Sacc. from blast nursery at Ubon Ratchathani site during 2002 - 2005

หลายของสายพันธุ์เชื้อโรคไหม้ของประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในประเทศไทยมีสูงถึง 0.83 (Table 3)

ภาคเหนือ ได้ตรวจเชื้อในระยะกล้าในแปลงทดสอบศูนย์วิจัยข้าวแพร่ และแปลงเกษตรกร ปี พ.ศ. 2545 สามารถจำแนกเชื้อได้จำนวน 24 สายพันธุ์ จากเชื้อทั้งหมด 85 ไอโซเลท โดยพบสายพันธุ์เชื้อที่พบประจำ 6 สายพันธุ์ มีความรุนแรงของเชื้อ 4.5 (Cp) ส่วนเชื้อที่หายากจำนวน 18 สายพันธุ์ มีความรุนแรงของเชื้อ 6.88 (Cp) ซึ่งมากกว่าสายพันธุ์ที่พบประจำ ประชากรของเชื้อในภาคเหนือมีความหลากหลายสูง ซึ่งมีดัชนีความหลากหลายเท่ากับ 0.81 เชื้อที่เก็บมาจากศูนย์วิจัยข้าวแพร่ มีความรุนแรง และความหลากหลายน้อยกว่าเชื้อที่พบในแปลงเกษตรกร ซึ่งต่างจากพื้นที่ที่ทดสอบโรคไหม้พื้นที่อื่น อาจเนื่องมาจากช่วงเวลาที่ทดสอบโรค การจัดการแปลงทดสอบโรคไหม้ และสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม ทำให้ปริมาณของสปอร์โรคไหม้ที่มีอยู่ในธรรมชาติไม่สามารถเพิ่มปริมาณในแปลงล่อเชื้อได้มากพอ ซึ่งพันธุ์ข้าวในแปลงล่อเชื้อเหล่านี้ให้สายพันธุ์เชื้อที่หลากหลายสายพันธุ์ในการเข้าทำลายได้อยู่แล้ว ดังนั้นเมื่อการเกิดโรคในแปลงล่อเชื้อไม่ดีพอ ปริมาณสปอร์ที่สร้างจากข้าวดักเชื้อในแปลงล่อเชื้อน้อย จึงทำให้โอกาสที่เชื้อโรคไหม้เข้าทำลายข้าวในแปลงทดสอบของศูนย์วิจัยข้าวแพร่น้อยกว่าในแปลงเกษตรกร (Table 3)

ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้ตรวจสอบสายพันธุ์

Bureau of Rice Research and Development

เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 1,546 ไอโซเลท ในแปลงทดสอบโรคศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี ฤดูปลูกปี 2545 - 2547 ทั้งในระยะกล้าและระยะออกรวง สามารถจำแนกเชื้อได้ 313 สายพันธุ์ ซึ่งประกอบด้วยสายพันธุ์ที่พบประจำ 92 สายพันธุ์ และสายพันธุ์ที่หายาก 221 สายพันธุ์ เชื้อที่พบประจำมีความรุนแรง 3.58 (Cp) ซึ่งน้อยกว่าสายพันธุ์ที่หายากมีความรุนแรง 5.40 (Cp) ประชากรของเชื้อในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีความหลากหลายสูงถึง 0.85 ความหลากหลายของเชื้อที่พบในแต่ละระยะของการเจริญเติบโตของข้าวในแต่ละปีมีความแตกต่างกัน ดัชนีความหลากหลายของเชื้อที่พบในระยะข้าวออกรวงทั้งปี พ.ศ. 2545 และ 2547 สูงกว่าเชื้อที่พบในระยะกล้า ในขณะที่ความหลากหลายของเชื้อที่พบในระยะกล้าและออกรวง ในปี พ.ศ. 2546 ไม่แตกต่างกัน สำหรับความรุนแรงของเชื้อที่พบเป็นประจำและเชื้อที่หายากในปี พ.ศ. 2545 - 2547 เชื้อที่พบในระยะกล้ามีความรุนแรงมากกว่าเชื้อที่พบในระยะออกรวง ยกเว้นเชื้อที่พบประจำ ในปี พ.ศ. 2547 ความรุนแรงของเชื้อทั้งในระยะกล้าและออกรวงใกล้เคียงกัน

แปลงเกษตรกรภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ฤดูปลูก

Table 3 Pathotype diversity and virulent level of blast populations from different regions of Thailand during 2002 - 2005

Region/Year	Growth stage	Number of isolate	Number of pathotype	Common pathotype	Cp	Rare pathotype	Cp	Pathotype diversity
North	LB	80	24	6	4.5	18	6.33	0.81
2003	LB	64	14	5	1.8	7	3.67	0.72
Farmer field	LB	16	11	2	1.5	9	6.33	0.87
Northeast	LB & NB	1546	313	92	3.58	221	5.4	0.85
2002	LB	109	69	16	4.9	53	6.83	0.88
	NB	14	12	2	1.33	10	4.29	0.93
2003	LB	113	64	15	4.5	49	5.31	0.84
	NB	196	62	16	3	46	3.78	0.82
2004	LB	417	146	49	4.59	97	6.92	0.78
	NB	134	100	15	5.13	85	5.64	0.91
2005	LB	563	91	29	1.6	63	5	0.79
Farmer field	LB & NB	405	90	31	2.26	67	3.65	0.88
2002	LB	26	14	2	2	19	3.21	0.93
	NB	13	12	1	3	11	3.82	0.96
2003	LB	30	20	4	3.75	16	4.15	0.87
	NB	166	45	17	2.82	28	4.21	0.71
2004	LB	23	22	1	1	21	4.52	0.98
2005	LB	147	11	2	1	9	2	0.82
Central	LB	118	72	22	2.99	50	5.06	0.83
2002	LB	47	36	6	5	30	8.23	0.9
2003	LB	63	25	9	2.22	16	3.44	0.75
2004	LB	48	22	11	3.73	11	4.45	0.68
2005	LB	27	13	2	1	11	4.1	1
South	LB	327	124	36	5.61	88	6.22	0.8
2002	LB	35	17	5	7.8	12	8.17	0.78
2003	LB	292	113	33	5.45	80	6.84	0.8
Total population	LB & NB	2476	623	145	2.88	444	5.33	0.83

Cp = Compatible number per pathotype

LB = Leaf blast NB = Neck blast

Bureau of Rice Research and Development

ปี พ.ศ. 2545 - 2548 จากการตรวจสอบเชื้อทั้งในระยะกล้า และออกรวง จำนวน 405 ไอโซเลท สามารถจำแนกเชื้อได้ 90 สายพันธุ์ พบเชื้อที่ตรวจพบประจำ 31 สายพันธุ์ มีความรุนแรง 2.26 (Cp) และพบเชื้อหายาก 67 สายพันธุ์ ซึ่งมีความรุนแรง 3.65 (Cp) ส่วนความหลากหลายของประชากรเชื้อคือ 0.88 ในปี พ.ศ. 2545 พบสายพันธุ์เชื้อที่พบเป็นประจำในระยะกล้า และออกรวง จำนวน 2 และ 1 สายพันธุ์ ซึ่งมีความรุนแรงของเชื้อ 2 และ 3 (Cp) ตามลำดับ ในขณะที่ ปี พ.ศ. 2547 พบเพียง 1 สายพันธุ์ พบความรุนแรงน้อยระดับ 1 (Cp) โดยเข้าทำลายได้เฉพาะยีนต้านทาน Pi a ในพันธุ์ CO39 เท่านั้น (Table 3)

ภาคกลาง ตรวจสอบเชื้อโรคไหม้ในระยะกล้า ปี พ.ศ. 2545 - 2548 จำนวน 118 ไอโซเลท สามารถจำแนกสายพันธุ์เชื้อได้ 72 สายพันธุ์ ในจำนวนนี้เป็นสายพันธุ์ที่พบประจำ 22 สายพันธุ์ โดยมีค่าความรุนแรง ระดับ 4 (Cp) และพบสายพันธุ์ที่หายาก 50 สายพันธุ์ มีค่าระดับความรุนแรงของเชื้ออยู่ที่ 6.56 (Cp) ประชากรของเชื้อโรคไหม้นี้มีความหลากหลายสูงคือ 0.80 ประชากรของเชื้อที่พบประจำในภาคกลางนี้มีความรุนแรงน้อยกว่าเชื้อที่หายาก เช่นเดียวกันกับภาคอื่นๆ ความรุนแรงของเชื้อเปลี่ยนแปลงไปตามฤดูปลูกโดยเฉพาะในปี พ.ศ. 2545 พบเชื้อ

มีความรุนแรงมากที่สุด คือระดับ 5 (Cp) ของเชื้อที่พบประจำ และค่าความรุนแรงระดับ 8.23 (Cp) ของเชื้อที่หายาก และมีความหลากหลายของเชื้อสูงมีค่าเท่ากับ 0.90 (Table 3)

ภาคใต้ ดำเนินการตรวจสอบเชื้อที่เก็บมาจากแปลงทดสอบโรคไหม้ที่ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง ปี พ.ศ. 2545 - 2546 ของข้าวในระยะกล้า จำนวน 327 ไอโซเลท สามารถจำแนกสายพันธุ์เชื้อโรคไหม้ได้ 124 สายพันธุ์ ซึ่งประกอบด้วยสายพันธุ์ที่พบประจำ 36 สายพันธุ์ เชื้อมีค่าความรุนแรง 5.61 (Cp) และสายพันธุ์ที่หายาก 88 สายพันธุ์ มีค่าความรุนแรงเท่ากับ 6.22 (Cp) และมีความหลากหลายของสายพันธุ์ของประชากรภาคใต้เท่ากับ 0.80 ความรุนแรงของเชื้อในปี พ.ศ. 2545 มากกว่าเชื้อที่พบในปี พ.ศ. 2546 (Table 3)

2.2 ยีนต้านทานกับความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคไหม้

ความรุนแรงของสายพันธุ์เชื้อโรคไหม้ ในแต่ละภาคมีความแตกต่างกัน แต่ภาคใต้มีแนวโน้มความรุนแรงมากที่สุด เชื้อจากทุกภาคสามารถเข้าทำลายยีนต้านทาน *Pi 4^{b}(t)*, *Pi a* และ *Pi b* ส่วนเชื้อจากภาคใต้สามารถเข้าทำลายยีนต้านทาน *Pi 4^{a}(t)*, *Pi 4^{a}(t)^{PKT}*, *Pi 3*, และ *Pi 4^{a}(t)^{TTP}* และพบมากกว่าภาคอื่น โดยพบ 48 - 63

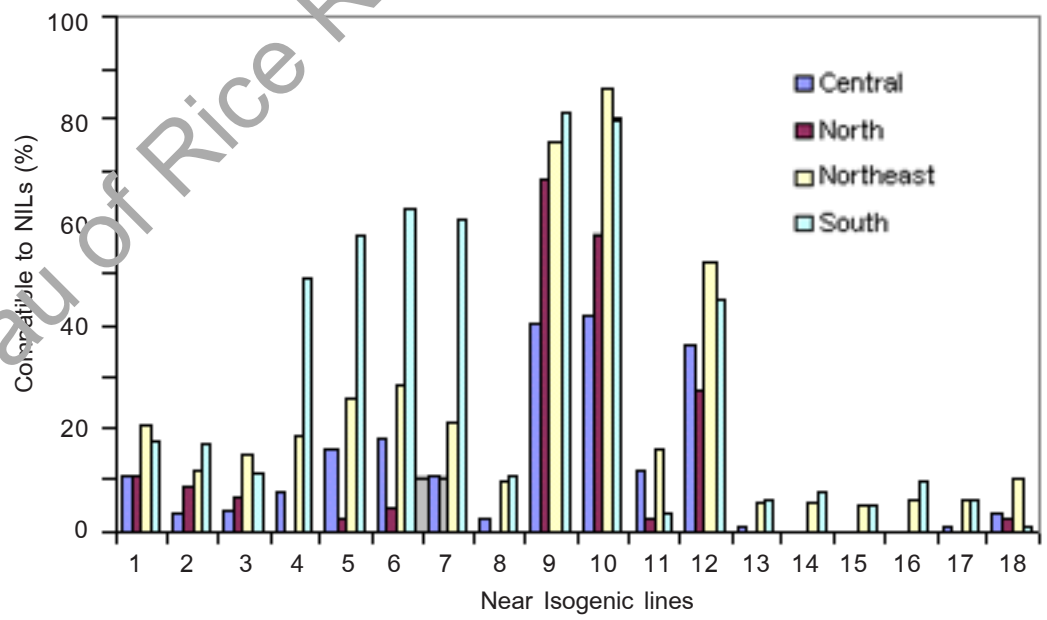


Fig. 2 Disease severity percentage of 18 NILs infected by *P. grisea* Sacc. from trap blast nurseries at 4 different regions of Thailand during 2002 - 2005

Bureau of Rice Research and Development

เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้พบเชื้อสามารถเข้าทำลายยีนต้านทาน *Pi k, Pi kp, Pi kh, Pi 1^{CL}* และ *Pi 5* ซึ่งพบมากในเชื้อที่มาจากภาคใต้และภาคตะวันออกเฉียงเหนือเท่านั้น ในขณะที่เชื้อในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีความรุนแรงรองลงมา แต่พบเชื้อสามารถเข้าทำลายได้ทุกยีนต้านทานทั้ง 18 ยีน ส่วนเชื้อในภาคกลางสามารถเข้าทำลายยีนต้านทานส่วนใหญ่ แต่พบน้อยมากที่จะเข้าทำลายยีนต้านทาน *Pi k, Pi kp, Pi kh, Pi 1^{CL}* และ *Pi 5* สำหรับเชื้อในภาคเหนือสามารถเข้าทำลายยีนต้านทานทั้ง 18 ยีน ได้น้อยที่สุด (Fig. 2)

2.3 ความหลากหลายต่อพันธุ์ข้าวและการกระจายตัวของสายพันธุ์เชื้อโรคไหม้

สายพันธุ์เชื้อโรคไหม้ที่พบประจำทุกภาคในประเทศไทยมีจำนวน 10 สายพันธุ์ โดยสายพันธุ์ P1536 พบมากที่สุดมีจำนวนมากถึง 170 ไอโซเลท สามารถเข้าทำลายพันธุ์ข้าวได้มากถึง 45 พันธุ์/สายพันธุ์ ซึ่งมีความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อต่อการเข้าทำลายพันธุ์ข้าวสูงถึง 0.92 สายพันธุ์นี้มีความรุนแรงน้อยเข้าทำลายยีนต้านทานได้เพียง 2 ยีนเท่านั้น สายพันธุ์ P0 และ P1664 พบมากรองลงมามีจำนวน 159 และ 151 ไอโซเลท ตามลำดับ สายพันธุ์ P0 ไม่มีความรุนแรงในการเข้าทำลายยีนต้านทาน แต่มีความหลากหลายของเชื้อ 0.66 พบเชื้อมาจาก 57 พันธุ์/สายพันธุ์ ในขณะที่สายพันธุ์ P1664 มีความรุนแรงน้อยสามารถเข้าทำลายยีนต้านทานได้ 3 ยีน และมีความหลากหลาย 0.68 พบเชื้อสายพันธุ์นี้มาจาก 53 สายพันธุ์ สำหรับสายพันธุ์ P9856, P62976, P63104 และ P2[illegible]98 มีความรุนแรงสูงระดับ 4 - 7 (Cp) และมีความหลากหลายสูงเช่นเดียวกัน (Table 3)

จากการศึกษาประชากรเชื้อโรคไหม้ในประเทศไทยของ Mekwatanakarn และคณะ (2000) พบว่า เชื้อโรคไหม้ในประเทศไทยมีความแปรปรวนและหลากหลายมากกว่าแหล่งปลูกข้าวอื่นๆ ของโลก เชื้อมีความแตกต่างไปตามแหล่งปลูกข้าว ฤดูปลูก ระยะการเจริญเติบโตของข้าว ความแปรปรวนของเชื้อโรคไหม้ข้าวนี้อาจเกิดได้จากหลายสาเหตุ ซึ่งสาเหตุหลักคือการกลายพันธุ์ของเชื้อ (mutation) โอกาสที่เชื้อจะเกิดการกลายพันธุ์มีสูงเนื่องจากสร้างสปอร์ (conidia) ปริมาณมากนับล้านๆ สปอร์บนใบข้าวที่เป็นโรคปลิวไปในอากาศ แสง UV ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ในการสร้างเม็ดสี melanin ที่น้อยลงซึ่งมีผลต่อการเข้าทำลายข้าว การกลายพันธุ์อยู่ในช่วง 0.01 - 0.1% ของเชื้อที่รอดจากการได้รับแสง UV (Bell and Wheeler, 1986) และยังพบการกลายพันธุ์ของเชื้อโรคไหม้ให้มีความต้านทานต่อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl ในอัตราความถี่ 10^{6} - 10^{7} (Chumley and Valent, 1990) จะเห็นได้ว่าเชื้อโรคไหม้เกิดการกลายพันธุ์เพียงเล็กน้อย (0.01 - 0.1%) เมื่อเทียบกับจำนวนสปอร์ที่เชื้อโรคไหม้สร้างขึ้นในปริมาณมาก ทำให้โอกาสที่จะพบเชื้อใหม่เปลี่ยนแปลงตามฤดูปลูกข้าวและสถานที่ที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ เชื้อโรคไหม้อาจเกิดการปรับตัวเข้ากับพันธุ์ข้าวที่หลากหลาย ทำให้มีโอกาสเกิดเชื้อสายพันธุ์ใหม่ได้เช่นเดียวกัน อีกทั้งตัวเชื้อเองสามารถเกิดการรวมตัวของยีนแบบ parasexual recombination ซึ่งเกิดจากการแลกเปลี่ยนหน่วยพันธุกรรมของเชื้อในระยะของการแบ่งเซลล์แบบ mitosis แสดงว่าการเกิด parasexual ทำให้เชื้อที่พบในธรรมชาติเกิดการแปรปรวนได้หลายแบบ (Zeigler *et al.*, 1997) อีกประการหนึ่งที่ทำให้เชื้อโรคไหม้เกิดการแปรปรวนได้แก่ การเคลื่อนย้ายประชากร (migration) จากแหล่งหนึ่งไปสู่แหล่งปลูกข้าวอีกที่หนึ่ง ทำให้ตรวจพบสายพันธุ์เชื้อโรคไหม้ที่แตกต่างจากที่มีอยู่เดิม

ผลงานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่า พื้นที่ทดสอบโรคไหม้ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานีเป็นแหล่งที่มีความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวมากที่สุด ซึ่งมีความเหมาะสมที่จะใช้เป็นพื้นที่ทดสอบความต้านทานของสายพันธุ์ข้าวต่อโรคไหม้ โดยเฉพาะเป็นตัวแทนประชากรเชื้อโรคไหม้ในสภาพนาน้ำฝนในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ผลการทดสอบและคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้ในแปลงทดสอบโรคไหม้ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี มีแนวโน้มที่จะมีความต้านทานในพื้นที่ต่างๆ ของสภาพนาน้ำฝนภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

2.4 ยีนต้านทานที่มีต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรคไหม้

เมื่อเปรียบเทียบความรุนแรงของการเข้าทำลายโดยเชื้อโรคไหม้กับคู่ของยีนต้านทานที่สามารถแสดงความต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าว พบว่า ค่า

Bureau of Rice Research and Development

Table 4 Common pathotype diversity and virulent level of *P. grisea* Sacc. collected from trap blast nursery from different region of Thailand during 2002 -2005

Pathotype	Number	Pathotype diversity	Compatible/ pathotype (Cp)	Number of cultivars
P0	159	0.66	0	57
P128	84	0.66	1	38
P512	50	0.84	1	30
P640	33	0.9	2	20
P1024	22	0.91	1	16
P1536	170	0.92	2	45
P1664	151	0.68	3	53
P9856	19	0.85	4	14
P62976	37	0.74	6	20
P63104	54	0.76	7	31
P263808	28	0.81	4	12

Table 5 Frequency percentage of *P. grisea* isolates compatible to Pi genes (diagonal), observed and expected frequency percentages of compatibility for diallele pairs of these genes among 5 sites in Thailand

Expected		Observed																	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1. *Pi z5*	1	18.7	4.6	7	6.2	8.2	8.7	8.1	2.5	16.4	17.9	2.3	12.7	1.4	1	0.8**	1	1	3.3
2. *Pi 1*	2	15.9	13	4	5.4	6.2	6.5	6.1	4.6	11.6	12.1	1.3	7.6	3.7	3.8	3.1	4.2	3.6	0.5**
3. *Pi 1(t)*^{LAC}	3	16.4	13.5	14	7.2	7.6	8.5	7.4	1.3	12.5	13	2.4	9.9	0.8**	0.8**	0.8**	0.7**	0.9*	3.1
4. *Pi 4a(t)*	4	21.4	18.5	19	24	20.8	21.3	19.7	3.2	22.2	22.4	4.1	14.5	2.2	2.4	1.8	2.4	2.1	2.5
5. *Pi 4a(t)*^{PKT}	5	25.9	23	23.5	28.5	33	34.1	24.1	4.1	30.5	30.7	6	18.2	2.7	2.4	1.6	2.7	2.3	3.4
6. *Pi 3*	6	27.4	24.5	25	30	34.5	36	25.5	4.3	32.6	34	6.6	20.4	2.7	2.8	1.9	3	2.8	3.5
7. *Pi 4a(t)*^{TTP}	7	23.9	21	21.5	26.5	31	32.5	29	4.1	27.3	27.9	4.8	17	2.4	2.4	1.6	2.9	2.4	2.6
8. *Pi 1(t)*^{TTP}	8	14	11.2	11.7	16.7	21.2	22.7	19.2	9.3	8.1	7.8	1.2	4.8	3.4	3.7	3.3	4.2	3.7	0.7**
9. *Pi 4b*	9	47.3	44.5	45	50	54.5	56	52.5	42.6	75.9	72	9.8	43.9	5.2	5.1	4.2	5.1	5.1	6.8
10. *Pi a*	10	50.7	47.8	48.3	53.3	57.8	59.3	55.8	46	79.3	82.6	10.2	46.9	5.5	5.3	4.3	5.8	5.5	7.5
11. *Pi ta*^{2}	11	15.9	13	13.5	18.5	23	24.5	21	11.2	44.5	47.8	13	8.2	0.8*	0.6**	0.6**	0.5**	0.8**	2.5
12. *Pi b*	12	34.1	31.5	32	37	41.5	43	39.5	29.7	63	66.3	31.5	50	4.2	4.1	3.2	3.8	3.9	7
13. *Pi k*	13	12.9	9.4	9.9	14.9	19.4	20.9	17.4	7.6	40.9	44.2	9.4	27.9	5.8	4.3	3.1	3.6	3.4	0.9*
14. *Pi kp*	14	12.3	9.4	9.9	14.9	19.4	20.9	17.4	7.6	40.9	44.2	9.4	27.9	5.8	5.8	3.8	3.9	3.5	1
15. *Pi ku*	15	11.6	8.8	9.3	14.3	18.8	20.3	16.8	6.9	40.2	43.6	8.8	27.3	5.2	5.2	4.5	3.9	3	0.8**
16. *Pi 11*	16	12.6	9.7	10.2	15.2	19.7	21.2	17.7	7.9	41.2	44.5	9.7	28.2	6.1	6.1	5.5	6.4	3.9	0.8**
17. *Pi 5*	17	12.3	9.5	10	15	19.5	21	17.5	7.6	40.9	44.3	9.5	28	5.9	5.9	5.2	6.2	5.9	0.9*
18. *Pi 9*	18	13.4	10.6	11.1	16.1	20.6	22.1	18.6	8.7	42	45.4	10.6	29.1	7	7	6.3	7.3	7	8.1

* Significant different at $p \leq 0.05$ by Chi-square test with df (1)

** Significant different at $p \leq 0.01$ by Chi-square test with df (1)

Bureau of Rice Research and Development

สังเกต (observed) มีค่าน้อยกว่าค่าคาดหมาย (expected) ในทุกๆ ยีนต้านทาน ยีนต้านทานเดี่ยวที่สามารถแสดงความต้านทานเชื้อได้น้อยกว่า 10 % ได้แก่ *Pi 1(t)^{TTP}, Pi k, Pi kp, Pi kh, Pi 1^{CL}, Pi 5* และ *Pi 9* ส่วนคู่ของยีนที่แสดงความต้านทานได้ดีที่สุดซึ่งพบเชื้อเข้าทำลายได้เพียง 0.5 % ของเชื้อทั้งหมด ได้แก่ คู่ของยีน *Pi 1 - Pi 9* และ *Pi ta ^{2} - Pi 1^{CL}* รองลงมาได้แก่ คู่ของยีนที่เชื้อเข้าทำลายได้เพียง 0.6 % ได้แก่ *Pi ta ^{2} - Pi kp* และ *Pi ta ^{2} - Pi kh* และคู่ของยีนที่เชื้อเข้าทำลายได้ไม่เกิน 0.7 % ได้แก่ *Pi 1(t)^{LAC} - Pi 1^{CL}* และ *Pi 1(t)^{TTP} - Pi 9* คู่ของยีนที่น่าสนใจที่แสดงความต้านทานต่อเชื้อได้ดีพอสมควรซึ่งเชื้อเข้าทำลายได้เพียง 0.8 % ได้แก่ คู่ของยีน *Pi z5 - Pi kh, Pi 1(t)^{LAC} - Pi k, Pi 1(t)^{LAC} - Pi kp, Pi 1(t)^{LAC} - Pi kh, Pi ta^{2} - Pi k* และ *Pi ta^{2} - Pi 5* นอกจากนี้ยังมีคู่ของยีนต้านทานเชื้อโรคไหม้ที่พบเชื้อเข้าทำลายได้ 0.9 % คือคู่ของยีน *Pi 1(t)^{LAC} - Pi 5, Pi k - Pi 9* และ *Pi 5 - Pi 9* (Table 5) การนำคู่ของยีนต้านทานเหล่านี้ไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อประชากรโรคไหม้ในประเทศไทย น่าจะเป็นแนวทางที่ให้ผลคุ้มค่าในระยะยาว โดยสามารถลดการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรค และลดมลภาวะที่มีผลต่อสิ่งแวดล้อมด้วย

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

1. แหล่งปลูกข้าวศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานีเป็นแหล่งที่มีความแปรปรวน และมีความหลากหลายของเชื้อโรคไหม้มากที่สุด เหมาะสำหรับใช้เป็นพื้นที่ในการทดสอบและคัดเลือกพันธุ์ต้านทานต่อโรคไหม้ ชุดข้าวไทยที่แสดงความต้านทานต่อบางสายพันธุ์ของเชื้อในบางแหล่งปลูกข้าว ได้แก่ กุพรรณบุรี 60 หางยี 71 และ เหมยนอง 62 เอ็ม ซึ่งสามารถใช้เป็นแหล่งพันธุกรรมความต้านทานโรคไหม้ข้าวในการปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานต่อโรคไหม้ต่อไป

2. เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าว ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือเชื้อมีความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อมากที่สุด โดยเฉพาะศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานีเป็นแหล่งที่พบสายพันธุ์เชื้อโรคไหม้ (pathotype) มากที่สุด ส่วนเชื้อในภาคเหนือเป็นหน่วยย่อยของเชื้อภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ประโยชน์จากการค้นพบนี้ คือ การปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อต้านทานโรคไหม้ของทั้งสองภาค สามารถใช้ข้อมูลการทดสอบโรคไหม้ร่วมกันในการพิจารณาสายพันธุ์ข้าวที่ต้านทานโรคไหม้ในสภาพนาน้ำฝน อันจะเป็นประโยชน์กับโครงการวิจัยและพัฒนาพันธุ์ข้าวนาสวนนาน้ำฝนในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

3. พบคู่ของยีนที่แสดงความต้านทานต่อโรคไหม้ได้ดี นักปรับปรุงพันธุ์ข้าวสามารถนำไปใช้เป็นพ่อ-แม่ ในการผสมพันธุ์ให้ต้านทานต่อโรคไหม้ โดยมีคู่ของยีนที่แสดงความต้านทานได้ดีพบเชื้อเข้าทำลายได้เพียง 0.5% ของเชื้อทั้งหมด คือ คู่ของยีน *Pi 1 - Pi 9* และ *Pi ta ^{2} - Pi 1^{CL}* คู่ของยีนที่เชื้อเข้าทำลายได้เพียง 0.6% คือ *Pi ta ^{2} - Pi kp* และ *Pi ta ^{2} - Pi kh* และคู่ของยีนที่เชื้อเข้าทำลายได้เพียง 0.7 % คือ *Pi 1(t)^{LAC} - Pi 1^{CL}* และ *Pi 1(t)^{TTP} - Pi 9* ดังนั้น คู่ของยีนเหล่านี้น่าจะนำมาใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อโรคไหม้ โดยใช้โมเลกุลเครื่องหมายมาคัดเลือกสายพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคไหม้ ซึ่งสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการคัดเลือก โดยช่วยลดระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้ให้เร็วขึ้นต่อไป

เอกสารอ้างอิง

Andrivon, D. and C. de Vallavieille-Pope. 1993. Racial diversity and complexity in regional populations of *Erysiphe graminis* f. sp. hordei in France over a 5-year period. Plant Pathology 42 : 443-464.

Asuyama, H. 1965. Morphology, taxonomy, host range, and life cycle of *Pyricularia oryzae*. pp. 9-22. *In :* The Rice Blast Disease - Proceedings of a Symposium at IRRI. John Hopkins Press, Baltimore, Maryland, USA.

Bell, A.A. and M.H. Wheeler. 1986. Biosynthesis and functions of fungal melanins. Annual Rev. Phytopathol. 24 : 441-451.

Chen, D.H., R.S. Zeigler, H. Leung and R.J. Nelson. 1995. Population structure of *Pyricularia grisea* at two screening sites in the Philippines. Phytopathology 85 : 1011-1020.

Chumley, F.G. and B. Valent. 1990. Genetic analysis of melanin deficient, nonpathogenic mutants of *Magnaporthe grisea*. Mol. Plant Microbe Interaction 3 : 135-143.

Correa Victoria, F.J. and R.S. Zeigler. 1993. Pathogenic variability in *Pyricularia grisea* at a rice blast "hot spot" breeding site in eastern Colombia. Plant Dis.

Bureau of Rice Research and Development

77 : 1029-1035.

Disthaporn, S. 1994. Current rice blast epidemics and their management in Thailand. pp. 333-342. *In:* R.S. Zeigler, S.A. Leong and P.S. Teng. (eds.). Rice Blast Disease. CAB International, Wallingford, Oxon, U.K.

Farman, M.L., S. Taura and S.A. Leong. 1996a. The *Magnaporthe grisea* DNA fingerprinting probe MGR586 contains the 3' end of an inverted repeat transposon. Mol. Gen. Genet. 251 : 675-681.

Farman, M.L., Y. Tosa, N. Nitta and S.A. Leong. 1996b. MAGGY, a retrotransposon in the genome of the rice blast fungus, *Magnaporthe grisea*. Mol. Gen. Genet. 251 : 665-674.

Giatgong, P. and R.A., Frederiksen. 1967. Variation in pathogenicity of *Piricularia oryzae*. Phytopathology 57: 460 (Abstract).

Goto, K. 1965. Estimating losses from rice blast in Japan. pp. 195-202. *In :* The Rice Blast Disease - Proceedings of a Symposium at IRRI. John Hopkins Press, Baltimore, Maryland, USA.

Groth, J. V. and A.P. Roelfs. 1987. The concept and measurement of phenotypic diversity in *Puccinia graminis* on wheat. Phytopathology 77 : 1395-1399.

International Rice Research Institute. 1996. Standard Evaluation System for Rice. 4th ed., International Rice Research Institute, P.O. Box 933, Manila, The Philippines. 54 p.

Kato, H., T. Yamaguchi and N. Nishihara. 1977. Seed transmission, pathogenicity and control of ragi blast fungus and susceptibility of ragi to *Pyricularia* spp. from grasses, cereals and miloga. Ann. Phytopath. Soc. Jap. 43 : 392-401.

Katsube, T. and Y. Koshimizu. 1970. Influence of blast disease on harvests of rice plants. 1. Effect of panicle infection on yield components and quality. Bull. Tohoku Agric. Expt. Sta. 39 : 55-96.

Kumar, J., R.J. Nelson and R.S. Zeigler. 1995. Population structure of *Magnaporthe grisea* in the central Himalayas of India. Phytopathology 85 : 1201 (Abstr.)

Levy, M., J. Romao, M.A. Marchetti and J.E. Hamer. 1991. DNA fingerprinting with a dispersed repeated sequence resolves pathotype diversity in the rice blast fungus. Plant Cell 3 : 95-102.

Levy, M., F.J. Correa Victoria, R.S. Zeigler, S. Xu and J.E. Hamer. 1993. Genetic diversity of the rice blast fungus in a disease screening nursery in Colombia. Phytopathology 83 : 1427-1433.

Ling, Z.Z., T.V. Mew, J. Wang, C. Lei and N. Huang. 1995. Development of near-isogenic lines as international differentials of the blast pathogen. International Rice Research Notes 20 (1) : 13.

Mackill, D.J. and J.M. Bonman. 1992. Inheritance of blast resistance in near-isogenic lines of rice. Phytopathology 82 : 746-749.

Mekwatanakarn, P., W. Kositratana, T. Phromraksa and R.S. Zeigler. 1999. Sexually fertile *Magnaporthe grisea* rice pathogens in Thailand. Plant Dis. 83 : 939-943.

Mekwatanakarn, P., W. Kositratana, M. Levy and R.S. Zeigler. 2000. Pathotype and avirulence gene diversity of *Pyricularia grisea* in Thailand as determined by rice lines near-isogenic for major resistance genes. Plant Dis. 84 : 60-70.

Ou, S.H. 1980. Pathogen variability and host resistance in rice blast disease. Annu. Rev. Phytopathology 18 : 167-187.

Rossman, A.Y., R.J. Howard and B. Valent. 1990. *Pyricularia grisea*, The correct name for the rice blast disease fungus. Mycologia 82 : 509-512.

Roumen, E., M. Levy and J.L. Nottegham. 1997. Characterization of the European pathogen population of *Magnaporthe grisea* by DNA fingerprinting and pathotype analysis. European J. Pl. Path. 103 : 363-371.

Shen, Y., J. Manry and P. Zhu. 1997. Genetic diversity and pathotype virulence of the rice blast fungus in China, p. 138. *In :* General Meeting of the International Program on Rice Biotechnology. Rockefeller Foundation, Malacca, Malaysia. (Abstr.).

Sivaraj, R., S. Gnanamanickam and M. Levy. 1996. Studies on the genetic diversity of *Pyricularia grisea*: a molecular approach for management of rice blast, pp. 958-961. *In :* G.S. Khush (ed.). Rice Genetics III: Proceedings of the Third Rice Genetics Symposium. International Rice Research Institute, Manila, Philippines.

Valent, B. and F.G. Chumley. 1994. Avirulence genes and mechanisms of genetic instability in the rice blast fungus. pp. 111-134. *In :* R.S. Zeigler, S.A. Leong and P.S. Teng (eds.). Rice Blast Disease. Commonwealth Agriculture Bureaux International, Wallingford, UK.

Zeigler, R.S., R.P. Scott, H. Leung, A.A. Bordeos, J. Kumar and R.J. Nelson.1997. Evidence of parasexual exchange of DNA in the rice blast fungus challenges its clonality. Phytopathology 87 : 284-287.

Bureau of Rice Research and Development