

บทที่ 1

บทนำ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นอาหารหลักและเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญของประเทศไทย สามารถทำรายได้ให้ประเทศเป็นอันดับหนึ่ง โดยมีพื้นที่ปลูกข้าวประมาณ 61,955 และ 57,920 ล้านไร่ คิดเป็นมูลค่า 65,088 และ 86,805 ล้านบาทในปี 2540 และ 2541 ตามลำดับ (ศูนย์สถิติการเกษตร) จากการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ได้พันธุ์ที่มีผลผลิตต่อพื้นที่สูงขึ้น ตลอดจนการใช้ปุ๋ยเคมี ปริมาณที่เพิ่มขึ้นเพื่อเพิ่มผลผลิต ทำให้เกิดการแพร่ระบาดของโรคและแมลง โดยเฉพาะโรคใบไหม้ของข้าว (rice blast disease) ซึ่งเป็นโรคที่สำคัญโรคหนึ่งโดยพบได้ทั่วไปในพื้นที่ที่มีการปลูกข้าว การระบาดและระดับความรุนแรงของโรคจะแตกต่างกันตามพื้นที่ สภาพแวดล้อม ความอุดมสมบูรณ์ของดิน สายพันธุ์ข้าว อัตราเมล็ดพันธุ์ และปริมาณการใช้ปุ๋ยในโตรเจน ในการแพร่ระบาดเชื้อราสามารถแพร่กระจายโดยติดไปกับเมล็ด (seed borne) เศษซากพืช (debris borne) หรือกระจายไปตามกระแสลม (air borne) (ทัศนีย์, 2541) เชื้อราสามารถเข้าทำลายข้าวได้ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงระยะเก็บเกี่ยว โดยเข้าทำลายในส่วนของ ใบ ลำต้น ข้อคอลำต้นและคอรวง โรคไหม้ที่ระบาดในระยะคอรวงจะทำให้ข้าวมีปริมาณและคุณภาพของผลผลิตลดลงโดยมีขนาดและเปอร์เซ็นต์การคิดเมล็ดลดลง ความเสียหายจากการเข้าทำลายของโรคนี้ทำให้ผลผลิตลดลงตั้งแต่ 0.4-100 เปอร์เซ็นต์ (คารา, 2543) แม้ว่าจะมีการพัฒนาพันธุ์ข้าวที่ต้านทานโรคไหม้ แต่ในระยะเวลาที่ไม่นานนักพบว่าพันธุ์ดังกล่าวจะเปลี่ยนเป็นพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรค

ในประเทศไทยโรคใบไหม้ของข้าวที่เกิดจากเชื้อ *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. เป็นโรคที่มีการระบาดเป็นพื้นที่กว้างและต่อเนื่องมาโดยตลอด รายงานการระบาดในปี พ.ศ. 2529 2530 2531 2532 และ 2533 พบว่ามีการระบาดคิดเป็นพื้นที่ 500,000 144,781 408,421 297,518 และ 823,645 ไร่ ตามลำดับ และในปี พ.ศ. 2535-2536 พบว่าได้เกิดโรคไหม้คอรวงระบาดอย่างรุนแรงในเขตภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คิดเป็นผลผลิตประมาณ 650,000 ตัน (ทัศนีย์, 2541) นอกจากนี้สมคิด (2536) ได้รายงานเพิ่มเติมเกี่ยวกับ "โรคไหม้คอรวงข้าว" ในเขตภาคเหนือ ตอนบนและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้ทำความเสียหายถึง 12 จังหวัด (เชียงใหม่ เชียงราย พะเยา ลำปาง ลำพูน ตาก กำแพงเพชร พิจิตร พิษณุโลก พิจิตร เพชรบูรณ์ แม่ฮ่องสอน และศรีสะเกษ) คิดเป็นพื้นที่เสียหายถึง 1,366,735 ไร่ การระบาดรุนแรงดังกล่าวเกิดขึ้นเนื่องจากสภาวะแห้งแล้งที่ยาวนาน การปลูกข้าวที่ล่าช้ากว่ากำหนดของเกษตรกร และการใช้ปุ๋ยปริมาณมาก ตลอดจนสภาพแวดล้อมที่

เหมาะสมกับการเกิดโรค (อากาศเย็นและฝนตกติดต่อกันหลายวัน) และเชื้ออานวยต่อการแพร่ระบาดของเชื้อ

กรณีศึกษาในจังหวัดเชียงใหม่เนื่องจากมีสภาพอากาศที่มีอุณหภูมิค่อนข้างต่ำและความชื้นสูง ตลอดจนเกษตรกรมีการปลูกข้าวต่อเนื่องตลอดทั้งปีโดยเฉพาะเขตชลประทาน หรือปลูกสลับกับพืชชนิดอื่น จึงเป็นสาเหตุทำให้เกิดการระบาดของโรคไหม้ต่อเนื่องและรุนแรงในบางปีเมื่อมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการระบาดของโรค รวมทั้งความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราสาเหตุของโรค

ในการศึกษาความหลากหลายของเชื้อราโรคใบไหม้สามารถทำได้โดยหลายวิธี เช่น การศึกษาทางอนุโมเลกุล การทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค ลักษณะของ mating type auxotrophic mutant melanin deficiency drug resistant และ isozyme polymorphism การศึกษาดังกล่าวทำให้ได้ข้อมูลเกี่ยวกับความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อรา รวมทั้งความหลากหลายของเชื้อราในแต่ละท้องถิ่น นอกจากนี้ข้อมูลดังกล่าวยังสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการศึกษาเกี่ยวกับ gene cloning fungal transformation และ genomic-mitochondria DNA-RFLP analysis ได้ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการคัดพันธุ์ต้านทานโรค (Xia *et al.*, 1993)

ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราโรคใบไหม้ทางอนุโมเลกุลโดยวิธีต่างๆ เช่น การใช้ RAPD-DNA กับ primer J-06 และ MGR586-RFLP ซึ่งเป็นที่นิยมใช้ในหลายประเทศ แต่มีข้อจำกัดเนื่องจากวิธีการดังกล่าวใช้เวลานานและสิ้นเปลืองแรงงาน ทำให้ไม่สะดวกในการนำมาวิเคราะห์ในกรณีที่มีตัวอย่างจำนวนมาก นอกจากนี้ MGR586 มีส่วนของลำดับเบสที่เหมือนเชื้อราโรคใบไหม้ของข้าวเพียง 45-50 ชุดต่อจีโนม และมีส่วนที่เหมือนเชื้อราโรคไหม้ของวัชพืชเพียง 1 ใน 3 ส่วนเท่านั้น จึงมีการนำเอา *Pot2* primer ซึ่งมีลำดับเบสใกล้เคียงกับเชื้อราโรคใบไหม้มากกว่า probe ชนิดอื่นๆ และมีความเฉพาะเจาะจงสูง *Pot2* primer ชนิดนี้แยกได้จาก *Magnaporthe grisea* ที่มีองค์ประกอบของ MGR586 และ *Fot 1* ที่ได้จาก *Fusarium oxysporum* และ primer เหล่านี้สามารถเข้าสู่กับลำดับเบสของเชื้อราโรคใบไหม้ได้แต่มีลำดับของเบสที่แตกต่างกัน *Pot2* primer มีขนาด 1857 bp (*Pot2*-1 5' CGGAAGCCCTAAAGCTGTTT 3' และ *Pot2*-2 5' CCCTCATTCGTCACACGTTC 3') มีลำดับเบสที่ประกอบด้วยส่วนของ *M. grisea* ที่เข้าทำลายข้าวและวัชพืชในสัดส่วนใกล้เคียงกัน การนำเอา *Pot2* primer มาใช้ร่วมกับเทคนิค Repetitive element-based Polymorphism Chain Reaction (rep-PCR) ซึ่ง *Pot2* rep-PCR เป็นวิธีการที่มีประสิทธิภาพมาก เพราะเป็นการรวมเทคนิคจาก PCR แบบธรรมดาเข้ากับวิธี Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) ที่เคยใช้ในการศึกษา fingerprint ของแบคทีเรียในดิน แบคทีเรียโรคพืช และเชื้อรา จากการศึกษา DNA fingerprint ทำให้ทราบกลุ่มประชากรของเชื้อ ซึ่งเป็นประโยชน์

ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความต้านทานต่อโรคใบไหม้เพิ่มมากขึ้น ฉะนั้นจึงจำเป็นต้องใช้วิธีการที่มีประสิทธิภาพกว่าคือ การ *Pot2* rep-PCR ที่มีความเฉพาะเจาะจงกับเชื้อมากกว่าวิธีอื่นที่กล่าวมาแล้ว (George *et al.*, 1998)

นอกจากได้ศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพและความสัมพันธ์ของเชื้อรากับพืชอาศัยแล้ว ยังพบว่าเชื้อรามีความสามารถในการทำให้เกิดโรคและระดับความรุนแรงของโรคที่แตกต่างกัน ซึ่งความสามารถและระดับความรุนแรงจะแตกต่างกันไปในแต่ละพื้นที่และสายพันธุ์ข้าวที่ใช้ในการเพาะปลูก ในการศึกษาที่สมบูรณ์จำเป็นต้องศึกษาทั้งทางด้านอนุโมเลกุลและความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อรา ซึ่งทำให้ได้ข้อมูลที่สามารถสรุปความหลากหลายระดับเซลล์และพัฒนาการของเชื้อราได้ (Nicholas, 1995)

ในการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโดยส่วนใหญ่ใช้วิธีการปลูกเชื้อด้วยสปอร์ มักประสบปัญหาเกี่ยวกับสภาพของฤดูกาลและการชักนำให้เชื้อสร้างสปอร์ ดังนั้นจึงมีการศึกษาวิธีการในการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานที่สะดวกขึ้นโดยการปลูกเชื้อด้วยสารพิษ ซึ่งพบว่ามีประสิทธิภาพเหมือนวิธีการปลูกเชื้อด้วยสปอร์ (Ram *et al.*, 1997) จากการศึกษาของ Nicholas (1995) พบว่าเชื้อราโรคใบไหม้สามารถสร้างสารพิษได้หลายชนิดเมื่อเลี้ยงเชื้อราในอาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น pyricularine pyricularic acid coumarin pyrichalasin H pyricularol pyriculariol tyrosol picolinic acid และ tenuazonic acid รวมทั้ง endoxylanase ซึ่งสามารถทำลายเซลล์ต้นข้าวในสภาพเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ กล่าวได้ว่าสารพิษเหล่านี้เกี่ยวข้องกับความสามารถในการทำให้เกิดโรค

การทดลองนี้มุ่งที่จะศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราโรคใบไหม้ในจังหวัดเชียงใหม่ โดยการใช้เทคโนโลยีชีวภาพทางด้านอนุโมเลกุล และความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับข้าวชุดทดสอบของ international differential series host เพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลสำหรับการศึกษาเชื้อราโรคใบไหม้ในจังหวัดเชียงใหม่และใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว

วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อศึกษาความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราโรคใบไหม้ในจังหวัดเชียงใหม่ ตลอดจนความสามารถในการทำให้เกิดโรคโดยใช้ crude extract toxins (CET) ของเชื้อรากับข้าวชุดทดสอบ international differential series host

ประโยชน์ที่จะได้รับจากการศึกษา

ทราบข้อมูลเกี่ยวกับความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราโรคใบไหม้ในจังหวัดเชียงใหม่ และความแตกต่างของเชื้อราโรคใบไหม้ในแต่ละอำเภอที่ศึกษา รวมทั้งสามารถนำมาใช้เป็นฐานข้อมูลสำหรับการศึกษาเชื้อราโรคใบไหม้ในจังหวัดเชียงใหม่และใช้ประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานโรคใบไหม้เพื่อลดการใช้สารเคมีป้องกันโรค