วารสารแก่นเกษตร THAIJO

Content List Available at ThaiJo

Khon Kaen Agriculture Journal

Journal Home Page : https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agkasetkaj

การกระจายตัวของสายพันธุ์เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ในภาคกลางของประเทศไทย

Geographic distribution of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* pathotype in central region of Thailand

จารุวี อันเซตา[1], ธีรยุทธ ตู้จินดา[2], คนึงนิตย์ เหรียญวรากร[1] และ สุจินต์ ภัทรภูวดล[1]*

Jaruvee Ancheta[1], Theerayut Toojinda[2] Kanungnit Reanwarakorn[1] and Sujin Patarapuwadol[1]*

[1] *ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม 73140*
[1] *Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140*
[2] *ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ จังหวัดปทุมธานี 12120*
[2] *National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology Development Agency, Pathum Thani 12120*

บทคัดย่อ: โรคขอบใบแห้งของข้าวเกิดจากเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) ในการศึกษานี้เก็บรวบรวมเชื้อ Xoo จาก 11 จังหวัด ในภาคกลางระหว่าง พ.ศ. 2551-2563 นำเชื้อ 278 สายพันธุ์ มาทดสอบปฏิกิริยาการเกิดโรคกับข้าวสายพันธุ์คู่แฝด จำนวน 11 สายพันธุ์ ที่มียีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง *Xa1*, *Xa3*, *Xa4*, *xa5*, *Xa7*, *xa8*, *Xa10*, *Xa11*, *xa13*, *Xa14* และ *Xa21* โดยสามารถจัดจำแนกเชื้อได้ 34 pathotype และแบ่งกลุ่มเชื้อออกเป็น 9 กลุ่มใหญ่ (I - IX) โดยพบเชื้อ pathotype 9 (SSSRRSSSSSS) มากที่สุด (40.3%) และจัดอยู่กลุ่มที่ I ผลการศึกษาพบว่า จังหวัดสุพรรณบุรีมีความหลากหลายของเชื้อสูงสุด จำนวน 20 pathotype และเชื้อกระจายอยู่ใน 8 กลุ่ม ในขณะที่จังหวัดนนทบุรี อ่างทอง และพระนครศรีอยุธยา มีความหลากหลายของเชื้อน้อยที่สุด จำนวน 2 pathotype เมื่อพิจารณาถึงยีนต้านทานโรค แม้ว่าข้าวที่มียีนต้านทาน *xa5* ยังมีความต้านทานแบบกว้าง (23.3%) ต่อประชากรเชื้อในภาคกลาง ซึ่งในการศึกษาครั้งนี้พบว่ามีบางพื้นที่ในภาคกลางที่เชื้อพัฒนาปรับตัวให้สามารถเข้าทำลายข้าวที่มียีน *xa5* ในจังหวัดชัยนาท นครนายก นนทบุรี ปทุมธานี ราชบุรี และสุโขทัย ซึ่งเชื้อจัดอยู่ในกลุ่มที่ I และ IX นอกจากนี้ยังพบเชื้อที่ก่อโรครุนแรงใน pathotype 15 (SSSSSSSSSSS) ที่จัดอยู่ในกลุ่มที่ IX ที่สามารถเข้าทำลายข้าวที่มียีนต้านทานในการทดสอบทั้งหมดได้สูงสุด ดังนั้นจำเป็นต้องมีการตรวจติดตาม และค้นหายีนต้านทานที่สามารถควบคุมเชื้อกลุ่มนี้ ในส่วนของยีนที่พบความต้านทานแบบกว้างรองลงมาจาก *xa5* ได้แก่ ยีน *Xa7 Xa21* และ *Xa14* ตามลำดับ ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายของประชากรเชื้อในแหล่งปลูกข้าวในภาคกลาง และรูปแบบการกระจายตัวของสายพันธุ์เชื้อในแต่ละพื้นที่ที่แตกต่างกัน ดังนั้นการศึกษานี้จึงสามารถใช้เป็นแนวทางในการคัดเลือกยีนและพันธุ์ข้าวต้านทานที่เหมาะสมต่อโปรแกรมการปรับปรุงพันธุ์ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งสำหรับแหล่งปลูกข้าวในภาคกลางได้

คำสำคัญ: โรคขอบใบแห้งข้าว; *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*; pathotype; geographic distribution

ABSTRACT: Bacterial leaf blight disease caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo). In this study, the strains of Xoo were collected from 11 provinces in the central region during 2008 – 2020. Two hundred seventy-eight strains were tested based on interactions with 11 near-isogenic lines harboring Xoo resistance genes *Xa1*, *Xa3*, *Xa4*, *xa5*, *Xa7*, *xa8*, *Xa10*, *Xa11*, *xa13*, *Xa14*, and *Xa21*. The isolates were separated into 34 pathotype, 9 groups (I-IX). The pathotype 9 (SSSRRSSSSSS) was the most dominant (40.3 %) and belonged to group I. The results showed that the

* Corresponding author: agrsujp@ku.ac.th

Received: date; February 10, 2021 Accepted: date; August 3, 2021 Published: date; February 5, 2022

Xoo population from Suphan Buri province was the most diverse and composed of 20 pathotypes clustered into eight groups. While Xoo population was the least diverse and composed of 2 pathotypes in Nonthaburi, Ang Thong, and Phra Nakhon Si Ayutthaya province. Even though rice varieties with *xa5* resistance gene have been proved to confer broad-spectrum resistance against the Xoo central region population (23.3%), this study found that the pathotype in group I and IX can break the resistance of *xa5* gene some central regions in Chai Nat, Nakhon Nayok, Nonthaburi, Pathum Thani, Ratchaburi, and Sukhothai province. Moreover, pathotype 15 (SSSSSSSSSSS) in group IX was found as the most aggressive pathotype that can infect all resistant rice varieties in this study. Therefore, monitoring and resistant gene searching for resistance gene are considerable to control this group of pathotype. Apart from *xa5,* the resistance gene *Xa7*, *Xa21,* and *Xa14* also exhibited highly effective broad-spectrum resistance genes respectively. In conclusion, this study showed the diversity of the Xoo population of rice-growing areas in the central region and the difference in geographic distribution patterns of pathotype in each area. This study can be used as a guideline for selection the bacterial leaf blight-resistant genes and suitable rice varieties for breeding programs for the rice-growing areas in the central region.

Keywords: bacterial blight; *Xanthompnas oryzae* pv. *oryzae*; pathotype; geographic distribution

บทนำ

โรคขอบใบแห้ง (bacterial leaf blight) เป็นโรคข้าวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) สามารถเข้าทำลายข้าวได้ทุกระยะการเจริญเติบโตทำความเสียหายได้ตั้งแต่ 2-47 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับสภาพอากาศ ฤดูการปลูก พันธุ์ข้าว และระยะการเจริญเติบโต (Reddy and Shang, 1989) หากเกิดโรคในระดับรุนแรงจะทำให้ผลผลิตลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ (Mew, 1989) ประเทศไทยมีรายงานความเสียหายของผลผลิตข้าวจากโรคขอบใบแห้งในข้าวพันธุ์ กข6 กข12 กข15 และขาวดอกมะลิ 105 ทำให้ผลผลิตข้าวลดลง 10-30 เปอร์เซ็นต์ โดยเฉพาะพื้นที่ปลูกข้าวในเขตชลประทานที่มีการปลูกข้าวระยะปักดำถี่ หรือหว่านข้าวในนาหนาแน่นเกินไป มีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราสูง และใช้พันธุ์ข้าวเดียวในการเพาะปลูกสามารถทำให้เกิดโรคขอบใบแห้งระบาดรุนแรงได้ (พยอม และธีรดา, 2560) รวมทั้งการปลูกข้าวอย่างต่อเนื่องภายใต้สภาพฟ้าอากาศที่เปลี่ยนแปลงไปในลักษณะร้อน และแห้งขึ้น มีฝนตกไม่สม่ำเสมอหนักและแล้งเป็นบางช่วงสามารถทำให้เกิดการระบาดของโรคขอบใบแห้งได้ถึงระดับวิกฤต (อัจฉราพร และคณะ, 2557) การใช้พันธุ์ข้าวต้านทานเป็นวิธีการจัดการโรคขอบใบแห้งที่มีประสิทธิภาพ แต่เนื่องจากเชื้อ Xoo มีความหลากหลายทางพันธุกรรมเกิดจากหลายปัจจัย เช่น การกลายพันธุ์ การรวมกันของยีนเป็นสายพันธุ์ใหม่ และการเคลื่อนย้ายของเชื้อโดยมีผลจากการปรับตัวให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อม และพันธุ์ข้าว (Leach et al., 1995)

ความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อ Xoo ในระดับ physiological race หรือ pathotype ซึ่งจัดจำแนกสายพันธุ์โดยใช้ปฏิกิริยาการเกิดโรคของเชื้อ Xoo กับข้าวที่มียีนต้านทานโรคขอบใบแห้ง โดยยีนก่อโรคของเชื้อ Xoo (Avirulence gene) มีปฏิสัมพันธ์อย่างเฉพาะเจาะจงกับยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งในข้าว (*Xa* gene) ซึ่งเป็นไปตามทฤษฎี gene for gene (Leach and White, 1996) ประเทศไทยมีรายงานการศึกษาความรุนแรง และจัดกลุ่ม pathotype ของเชื้อ Xoo ในช่วงปี ค.ศ. 1974-1978 ได้เป็น 4 กลุ่ม โดยทดสอบปฏิกิริยาการตอบสนองต่อข้าวสายพันธุ์ DV85 ที่มียีนต้านทาน *xa5* กับ *Xa7* และพันธุ์ข้าว IR1545-399 ที่มียีน *xa5* โดยพบว่าข้าวที่มียีน *xa5* จะสามารถต้านทานการเข้าทำลายของเชื้อ Xoo ได้ทุกไอโซเลท (Eamchit and Mew, 1982) ต่อมาการประเมินความหลากหลาย และการจัดกลุ่มเชื้อ Xoo โดยทดสอบการเกิดโรคในชุดข้าวสายพันธุ์คู่แฝด (Near Isogenic Lines) ที่มียีนที่แตกต่างกันเพียง 1 ยีน ของสถาบันข้าวนานาชาติ (International Rice Research Institute; IRRI) จำนวน 9 สายพันธุ์ ที่มียีน *xa3, Xa4, xa5, Xa7, xa8, Xa10, xa13, Xa14* และ *Xa21* กับเชื้อ Xoo จำนวน 90 ไอโซเลท จากแหล่งปลูกข้าวในภาคกลาง ได้แก่ นครปฐม ชัยนาท และสุพรรณบุรี ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ กาฬสินธุ์ ขอนแก่น ร้อยเอ็ด หนองบัวลำภู สุรินทร์ อุดรธานี และอุบลราชธานี และภาคเหนือ ได้แก่ ลำปาง พะเยา เชียงราย เชียงใหม่ และแพร่ สามารถจัดกลุ่มเชื้อได้ 25 กลุ่ม โดยยีน *xa5* สามารถต้านทานต่อเชื้อทุกกลุ่มที่นำมาทดสอบ (แสงชัย, 2552) ในขณะที่ปริศนา และคณะ (2558) ได้ทำการประเมินความหลากหลายในการก่อโรคของสายพันธุ์เชื้อ Xoo จำนวน 60 ไอโซเลท เก็บรวบรวมเชื้อจากพื้นที่ปลูกข้าว 26 จังหวัด โดยทดสอบกับสายพันธุ์ข้าว NILs จำนวน 11 สายพันธุ์ที่มียีน *Xa1, Xa3, Xa4, xa5, Xa7, xa8, Xa10, Xa11, xa13, Xa14* และ *Xa21* สามารถจัดกลุ่มเชื้อได้ 13 pathotype โดยพบว่ายีน *xa5* ยังคงมีความต้านทานต่อเชื้อเกือบทุกกลุ่มที่ทำการทดสอบ ยกเว้น pathotype 11 และ 12 ที่เข้าทำลายยีน *xa5* ได้ จากการศึกษา

ที่ผ่านมา พบว่าข้อมูลการศึกษาความหลากหลาย และจัดกลุ่ม pathotype เชื้อ Xoo นั้นมีอยู่อย่างจำกัดไม่ครอบคลุมในพื้นที่ปลูกข้าวในภาคกลาง โดยภาคกลางนั้นมีพื้นที่เหมาะแก่การทำการเกษตรรวมถึงเป็นพื้นที่ปลูกข้าวที่สำคัญ เกษตรกรปลูกพันธุ์ข้าวที่มีอายุสั้นให้ผลผลิตเร็วโดยพันธุ์ข้าวที่นิยมปลูกส่วนใหญ่จะเป็นพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรคขอบใบแห้ง เนื่องจากอยู่ในเขตชลประทานจึงสามารถทำนาได้ตลอดทั้งปีส่งผลให้เกิดการแพร่กระจายของโรคอย่างต่อเนื่องทุกปี (กรมการข้าว, 2560)

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการกระจายตัว การประเมินความรุนแรงในการเกิดโรค และจัด pathotype ของประชากรเชื้อ Xoo ในพื้นที่ปลูกข้าวภาคกลางซึ่งจะทำให้ทราบถึงข้อมูลของยีนต้านทานของข้าวต่อเชื้อแต่ละ pathotype และข้อมูลที่ได้สามารถนำไปใช้ในการติดตามเฝ้าระวังการเปลี่ยนแปลงของกลุ่มประชากรเชื้อเพื่อพัฒนาระบบแนะนำพันธุ์ข้าวสำหรับการปลูก และปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งที่เหมาะสมในแต่ละพื้นที่ของภาคกลางต่อไป

วิธีการศึกษา

การรวบรวม การเก็บตัวอย่าง การแยกเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

รวบรวมเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) สาเหตุโรคขอบใบแห้งจากข้าวในช่วงปี พ.ศ. 2551-2556 จากพื้นที่ปลูกข้าวในภาคกลาง 9 จังหวัด ได้แก่ ชัยนาท นครนายก นครปฐม นนทบุรี ราชบุรี สุโขทัย สุพรรณบุรี อ่างทอง และอุทัยธานี จำนวน 61 ไอโซเลท ในปี พ.ศ. 2561-2563 ทำการสำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคขอบใบแห้งเพิ่มอีก 8 จังหวัด ได้แก่ นครนายก นครปฐม สุพรรณบุรี ชัยนาท พระนครศรีอยุธยา ปทุมธานี อ่างทอง และอุทัยธานี จำนวน 217 ไอโซเลท โดยกำหนดพื้นที่สำรวจแบบสุ่มกระจายทั่วทั้งแปลงเป็นจำนวน 10 จุด ต่อแปลง ในลักษณะตัวอักษร W ตามวิธีของ Delp et al. (1986) สุ่มเก็บตัวอย่างใบข้าวที่แสดงอาการโดยพิจารณาลักษณะอาการโรคโดยเปรียบเทียบอาการกับคู่มือ Compendium of Rice Disease (Webster and Gunnell, 1992) บันทึกข้อมูลรายละเอียด ได้แก่ พันธุ์ข้าว อายุ วันเดือนปีที่เก็บ สถานที่เก็บ พิกัด แยกเชื้อโดยนำตัวอย่างใบข้าวที่ผ่านการทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่น และแอลกอฮอล์ 70 % ตัดเป็นชิ้นเล็กๆใส่ลงในหลอดบรรจุน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ ปริมาณ 500 ไมโครลิตร เขย่า และวางทิ้งไว้ 15 นาที ใช้ลูปแตะน้ำแช่ตัวอย่างมา cross streak บนอาหาร Nutrient agar (NA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน คัดเลือกโคโลนีเดี่ยวที่มีลักษณะคล้ายเชื้อ Xoo มีลักษณะกลมนูน สีเหลืองอ่อน ผิวเรียบ มีเมือก ขอบเรียบเป็นมันวาว ทำซ้ำจนกระทั่งได้เชื้อบริสุทธิ์ จากนั้นทำการเก็บรักษาเชื้อใน 20% กลีเซอรอล (วิชัย, 2549) คัดเลือกตัวแทนอย่างน้อย 1-5 ไอโซเลทต่อแปลง โดยพิจารณาจากเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (disease incidence) และเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรค (disease severity) รวมทั้งประวัติการระบาดของโรคขอบใบแห้งในแปลงสำรวจ จากในช่วงปี พ.ศ. 2551-2563 จำนวน 278 ไอโซเลท ตรวจสอบยืนยันเชื้อ Xoo ด้วยการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ย้อมสีแกรม และตรวจสอบด้วยเทคนิคพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์ XOR-F (5’GCATGACGTCATCGTCCTGT-3’) และไพรเมอร์ XOR-R2 (5’-CTCGGAGCTATATGCCGTGC-3’) ที่จำเพาะเจาะจงต่อเชื้อ Xoo (Adachi and Takashi, 2000) และทดสอบความสามารถในการเกิดโรคบนพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นข้าวพันธุ์อ่อนแอ

การจำแนก pathotype เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* จากความรุนแรงในการเกิดโรคกับสายพันธุ์ข้าวคู่แฝด

ประเมินความรุนแรงในการเกิดโรคของเชื้อ Xoo จำนวน 278 ไอโซเลท บนข้าวสายพันธุ์คู่แฝด (NILs) ที่มียีนต้านทานโรคแบบยีนเดี่ยว จำนวน 11 สายพันธุ์ ได้แก่ IRBB1 (*Xa1*), IRBB3 (*Xa3*), IRBB4 (*Xa4*), IRBB5 (*xa5*), IRBB7 (*Xa7*), IRBB8 (*xa8*), IRBB10 (*Xa10*), IRBB11(*Xa11*), IRBB13 (*xa13*), IRBB14 (*Xa14*) และ IRBB21 (*Xa21*) และข้าวสายพันธุ์อ่อนแอ ได้แก่ IR24 และ TN1 โดยเตรียมเซลล์แขวนลอยเชื้อ Xoo ที่เลี้ยงบนอาหาร NA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ประมาณ 48 ชั่วโมง ปรับความเข้มข้นโดยวัดค่า Optical Density (OD) ให้ได้ค่า 0.2 ด้วยเครื่องสเปคโทรโฟโตมิเตอร์ Model: Spectronic 20 Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 600 นาโนเมตร จะเทียบเท่าปริมาณเชื้อ 10^8 CFU/ml วางแผนการทดลองแบบ Split plot design ในการทดสอบรูปแบบปฏิกิริยาโดยให้ชุดข้าวสายพันธุ์คู่แฝดเป็น main plot และสายพันธุ์เชื้อ Xoo เป็น subplot ปลูกข้าว 3 ต้นต่อกระถาง ทำการปลูกเชื้อด้วยวิธี Clipping method (Kauffman et al., 1973) ใช้กรรไกรจุ่มเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย ตัดปลายใบข้าวที่มีอายุ 30 วันโดยตัดต้นละ 3 ใบจากส่วนยอด ประเมินหลังปลูกเชื้อแล้ว 10 วัน (ปริศนา และคณะ, 2558) โดยวัดความยาวแผลของใบข้าวที่เกิดจากเชื้อเข้าทำลายโดยความยาวแผลน้อยกว่าหรือเท่ากับ 5 เซนติเมตร ปฏิกิริยาที่เกิดจัดเป็นระดับต้านทาน (resistance; R) ต่อเชื้อ หากความยาว

แผลมากกว่า 5 เซนติเมตร จัดอยู่ในระดับอ่อนแอ (susceptible; S) ต่อเชื้อ จากนั้นนำผลการประเมินปฏิกิริยาบนข้าวสายพันธุ์คู่แฝดจำนวน 11 พันธุ์ต่อเชื้อที่ปลูกนำมาจัด physiological race หรือ pathotype ของเชื้อตามวิธีของ Noda et al. (2001)

การศึกษากระจายตัวของ pathotype เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ในภาคกลางของประเทศไทย

นำข้อมูลการจำแนก pathotype เชื้อ Xoo มาศึกษาการกระจายตัวในพื้นที่ที่เก็บรวบรวมได้ โดยการสร้างแผนที่การกระจายตัวของเชื้อในภาคกลางจากข้อมูลการสำรวจโรค

การจัดกลุ่มเชื้อ (Pathotype) ตามปฏิกิริยาความสัมพันธ์ระหว่างยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งข้าวต่อเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

แปลงข้อมูลจากผลการประเมินความยาวแผลที่เกิดจากความรุนแรงของการเกิดโรคกับข้าวสายพันธุ์คู่แฝดให้เป็นแบบ binary data หากความยาวแผล ≤ 5 เซนติเมตร ให้ค่าเป็น 1 และความยาวแผล > 5 เซนติเมตร ให้ค่าเป็น 0 (Tekete et al., 2020) ทำการวิเคราะห์จัดกลุ่มข้อมูลจากการประเมินความต้านทาน และอ่อนแอต่อโรคโดยหาค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน (similarity coefficient) ด้วยวิธี Jaccard coefficient ใช้โปรแกรม Numeric Taxonomy System (NTSYS) pc. version 1.8 (Adhikari et al.,1995) จากนั้นสร้างแผนผังความสัมพันธ์ (Phylogenic tree) ตามวิธี Neighbor Joining (NJ) แสดงการจัดกลุ่มในรูปของ Dendrogram

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การรวบรวม การเก็บตัวอย่าง การแยกเชื้อ และการตรวจยืนยันเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ จำนวน 278 ไอโซเลท โดยเก็บรวบรวมเชื้อในช่วงปี พ.ศ. 2551-2563 จากพื้นที่ปลูกข้าว ในภาคกลางของประเทศไทย จำนวน 11 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดชัยนาท นครนายก นครปฐม นนทบุรี ปทุมธานี ราชบุรี สุโขทัย สุพรรณบุรี พระนครศรีอยุธยา อ่างทอง และอุทัยธานี ตรวจสอบยืนยันเชื้อ Xoo ด้วยการย้อมสีแกรม พบว่าเชื้อที่ศึกษาติดสีแกรมลบ มีรูปร่างเป็นท่อนสั้น ขนาดประมาณ 0.4 - 0.6 x 0.7 - 2.0 ไมโครเมตร การเจริญบนอาหาร NA มีลักษณะโคโลนี กลมนูน มันวาว ผิวขอบเรียบ และสีเหลืองฟางข้าว ผลการตรวจเชื้อแบคทีเรียด้วยวิธี Bio-PCR ด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะกับเชื้อ Xoo สอดคล้องกับรายงานของ Adachi and Takashi (2000) โดยเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกสามารถเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอที่มีขนาด 470 คู่เบส **(Table 1)** เมื่อทดสอบการก่อโรคหลังจากปลูกเชื้อ เป็นเวลา 10 วัน พบว่า เชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกมาทั้งหมด 278 ไอโซเลท ทำให้ข้าวแสดงอาการใบแห้ง (leaf blight) ตรงกับที่รายงานไว้โดย Mew (1989) โดยแผลเริ่มช้ำที่ขอบใบห่างจากปลายใบลงมาเล็กน้อยมีสีเทา ต่อมาแผลขยายขนาดตามความยาวของใบ และขอบแผลที่ต่อกับส่วนที่ไม่เป็นโรคจะมีลักษณะเป็นคลื่น แผลเปลี่ยนเป็นสีเหลืองจากนั้นจะขยายใหญ่ขึ้นเปลี่ยนเป็นสีฟางข้าว **(Figure 1)**

Table 1 Summary of morphological study, PCR detection and pathogenicity tests of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolates collected from 11 provinces in the central region of Thailand

Year (Isolate)[1/]	Province	Infected rice varieties	Gram's stain	PCR	Pathogenicity
2551 (5)	CNT, STI, SPB	KDML 105, Phitsanulok 2	negative	+	+
2552 (7)	CNT, NYK, NBI, UTI	Phitsanulok 2, Suphan Buri 3, non-glutinous rice	negative	+	+
2555 (39)	CNT, NYK, RBR, STI	RD31, RD41, RD47, Phitsanulok 2	negative	+	+
2556 (10)	CNT, STI, SPB	RD31, RD41, RD47, Phitsanulok 2	negative	+	+
2561 (137)	SPB, NPT, NYK	RD41, RD47, RD49, RD61, KDPL 105, Pathum Thani 1	negative	+	+
2562 (48)	CNT, PTE, AYA, SPB	RD41, RD57, RD61, KDML 105, Pathum Thani 1, Non-glutinous rice (hybrid rice)	negative	+	+
2563 (32)	ATG, UTI	RD41, RD49, RD57, Pathum Thani 1	negative	+	+

Remark: CNT = Chai Nat, NYK = Nakhon Nayok, NPT = Nakhon Pathom, NBI = Nonthaburi, PTE = Pathom Thani, RBR = Ratchaburi, STI = Sukhothai SPB = Suphan Buri, AYA = Ayutthaya, ATG = Ang Thong, UTI = Uthai Thani

[1/] Number of isolates

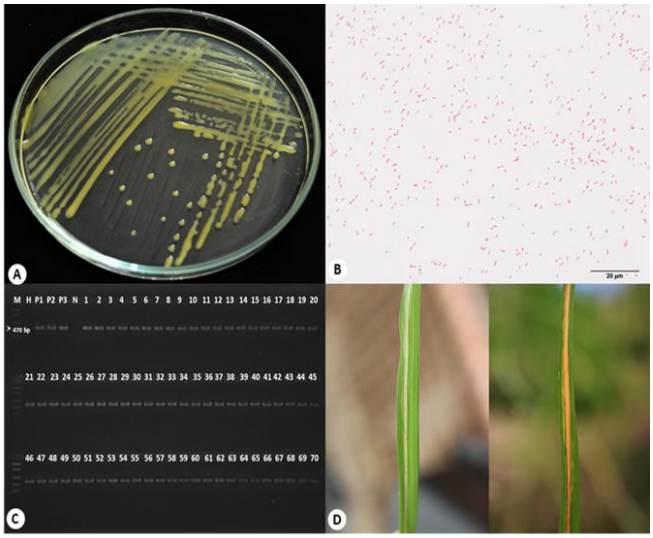

Figure 1 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* morphological study, PCR detection and pathogenicity tests

(A) Colonies of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolate 61XOSPSJ9-18 on nutrient agar (B) Gram's stain reaction of isolate 61XOSPSJ9-18 (C) Agarose gel electrophoresis of PCR products from Xoo using primers XOR-F and XOR-R2. Line H, N are Negative control (TS8203, H_2O), Line P1-P3 are Positive control (SK1-2, SK2-3, Xoo-RD), Line 1-70 are the PCR products from isolation of bacterial leaf blight (D) pathogenicity test isolate 61XOSPSJ9-18 in susceptible varieties (KDML 105) by clipping method.

การจำแนก pathotype เชื้อ *Xanthomonas. oryzae* pv. *oryzae* จากความรุนแรงในการเกิดโรคกับสายพันธุ์ข้าวคู่แฝด

การจัดจำแนก pathotype ด้วยความสัมพันธ์ของเชื้อ Xoo จำนวน 278 ไอโซเลท โดยการประเมินระดับความรุนแรงในการเกิดโรคกับข้าวสายพันธุ์คู่แฝด (NILs) ที่มียีนต้านทาน *Xa1*, *Xa3*, *Xa4*, *xa5*, *Xa7*, *xa8*, *Xa10*, *Xa11*, *xa13*, *Xa14* และ *Xa21* จำนวน 11 สายพันธุ์ พบว่าสามารถจัดจำแนกได้ 34 pathotype ซึ่งเชื้อ Xoo ทุก pathotype สามารถเกิดโรครุนแรงกับข้าวพันธุ์อ่อนแอได้แก่ ข้าวพันธุ์ TN1 และ IR24 มีความยาวแผลเฉลี่ย 18.2 และ 15.9 เซนติเมตร ตามลำดับ โดยประชากรเชื้อ Xoo ส่วนใหญ่จัดอยู่ใน Pathotype 9 (SSSRRSSSSSS) มีจำนวนถึง 112 ไอโซเลท ถัดมาคือ pathotype 30 (SSSRRSSSSRS) จำนวน 50 ไอโซเลท pathotype 10 (SSSRSSSSSSS) จำนวน 39 ไอโซเลท pathotype 8 (SSSRRSSSSSR) จำนวน 18 ไอโซเลท pathotype 7

(SSSRRSSSSRR) จำนวน 14 ไอโซเลท และpathotype 20 (SRSRRSSSSRS) จำนวน 6 ไอโซเลท ส่วน pathotype อื่น ๆ มีจำนวน 1 - 4 ไอโซเลทเท่านั้น โดยข้าวที่มียีน *xa5* จะต้านทานต่อการเกิดโรคของเชื้อจำนวน 28 pathotype จากทั้งหมด 34 pathotype ยกเว้นใน pathotype 11 (SSSSRSSSSSS) pathotype 12 (SSSSSSSRRSS) pathotype 13 (SSSSSSSRSSS) pathotype 14 (SSSSSSSSRSS) pathotype 15 (SSSSSSSSSSS) และ pathotype 33 (SSSSSSSSSSR) โดยเฉพาะใน pathotype 15 (SSSSSSSSSSS) ที่สามารถเข้าทำลายข้าวที่มียีนต้านทานทั้งหมดที่ทำการทดสอบได้ **(Table 2)**

การศึกษาการกระจายตัวของ pathotype เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ในภาคกลางของประเทศไทย

การกระจายตัวของกลุ่ม pathotype ของเชื้อ Xoo ที่รวบรวมจาก 11 จังหวัด พบว่า จังหวัดสุพรรณบุรี มีการกระจายตัวของกลุ่ม pathotype สูงสุด จำนวน 20 pathotype ได้แก่ pathotype 1, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 25, 28, 30 และ 32 รองลงมา ได้แก่ จังหวัดสุโขทัย มีจำนวน 10 pathotype ได้แก่ pathotype 2, 8, 9, 13, 14, 15, 24, 26, 29 และ 31 จังหวัดนครนายก มีจำนวน 7 pathotype ได้แก่ pathotype 7, 9, 10, 11, 27, 30 และ 33 จังหวัดชัยนาท มีจำนวน 6 pathotype ได้แก่ pathotype 7, 8, 9, 10, 22 และ 30 ลำดับถัดมาประกอบด้วย 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดนครปฐม ปทุมธานี และอุทัยธานี จำนวน 4 pathotype โดยจังหวัดนครปฐม pathotype 7, 8, 9 และ 30 จังหวัดปทุมธานี pathotype 12, 14, 31 และ 34 จังหวัดอุทัยธานี pathotype 8, 9, 10 และ 30 จังหวัดราชบุรี จำนวน 3 pathotype ได้แก่ pathotype 9, 10 และ 11 จังหวัดนนทบุรี อ่างทอง และพระนครศรีอยุธยา จำนวน 2 pathotype โดยจังหวัดนนทบุรี ประกอบด้วย pathotype 10 และ 15 จังหวัดอ่างทอง ประกอบด้วย pathotype 9 และ 10 และจังหวัดพระนครศรีอยุธยา ประกอบด้วย pathotype 8 และ 9 **(Table 2)** และ **(Figure 2A)** เมื่อวิเคราะห์ความถี่ในการพบเชื้อ Xoo ในแต่ละ pathotype พบว่า เชื้อโดยส่วนใหญ่จัดอยู่ใน pathotype 9 มากที่สุด (40.3%) รองลงมา ได้แก่ pathotype 30 (18.0%), pathotype 10 (14.0%), pathotype 8 (6.5%), pathotype 7 (5.0%), pathotype 20 (2.2%), pathotype 14, 31 (1.4%) และ pathotype 28 (1.1%) ส่วน pathotype อื่น ๆ มีสมาชิก 1 - 2 ไอโซเลท อยู่ระหว่าง 0.4% ถึง 1.7% **(Figure 2B)**

Table 2 Pathogenic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* and their distribution in central region of Thailand

[illegible]	Differential rice	[illegible]	Distribution

	IRBB1	IRBB3	IRBB4	IRBB5	IRBB7	IRBB8	IRBB10	IRBB11	IRBB13	IRBB14	IRBB21	IR24	TN1												
1	R[1/]	S[2/]	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	1	0.4	-	-	-	-	-	-	-	SPB	-	-	-
2	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	1	0.4	-	-	-	-	-	-	STI	-	-	-	-
3	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	1	0.4	-	-	-	-	-	-	-	SPB	-	-	-
4	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	1	0.4	-	-	-	-	-	-	-	SPB	-	-	-
5	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	R	S	S	1	0.4	-	-	-	-	-	-	-	SPB	-	-	-
6	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S	1	0.4	-	-	-	-	-	-	-	SPB	-	-	-
7	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	14	5.0	CNT	NYK	NPT	-	-	-	-	SPB	-	-	-
8	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	18	6.5	CNT	-	NPT	-	-	-	STI	SPB	AYA	-	UTI
9	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	112	40.3	CNT	NYK	NPT	-	-	RBR	STI	SPB	AYA	ATG	UTI
10	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	39	14.0	CNT	NYK	-	NBI	-	RBR	-	SPB	-	ATG	UTI
11	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	2	0.7	-	NYK	-	-	-	RBR	-	-	-	-	-
12	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	1	0.4	-	-	-	-	PTE	-	-	-	-	-	-
13	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	1	0.4	-	-	-	-	-	-	STI	-	-	-	-
14	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	4	1.4	-	-	-	-	PTE	-	STI	-	-	-	-
15	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	2	0.7	-	-	-	NBI	-	-	STI	-	-	-	-
16	S	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	S	S	1	0.4	-	-	-	-	-	-	-	SPB	-	-	-
17	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	1	0.4	-	-	-	-	-	-	-	SPB	-	-	-
18	S	R	S	R	R	R	S	S	S	S	R	S	S	1	0.4	-	-	-	-	-	-	-	SPB	-	-	-
19	S	R	S	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	1	0.4	-	-	-	-	-	-	-	SPB	-	-	-
20	S	R	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	6	2.2	-	-	-	-	-	-	-	SPB	-	-	-
21	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	1	0.4	-	-	-	-	-	-	-	SPB	-	-	-
22	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	S	1	0.4	CNT	-	-	-	-	-	-	-		-	-
23	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S	1	0.4	-	-	-	-	-	-	-	SPB	-	-	-
24	S	S	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	1	0.4	-	-	-	-	-	-	STI	-		-	-
25	S	S	S	R	R	R	S	R	S	R	R	S	S	1	0.4	-	-	-	-	-	-	-	SPB	-	-	-
26	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	1	0.4	-	-	-	-	-	-	STI	-	-	-	-
27	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S	S	S	S	1	0.4	-	NYK	-	-	-	-	-	-		-	-
28	S	S	S	R	R	S	S	R	S	R	R	S	S	3	1.1	-	-	-	-	-	-	-	SPB	-	-	-
29	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	R	S	S	1	0.4	-	-	-	-	-	-	STI	-	-	-	-
30	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	S	S	S	50	18.0	CNT	NYK	NPT	-	-	-	-	SPB	-	-	UTI
31	S	S	S	R	S	S	S	R	R	S	R	S	S	4	1.4	-	-	-	-	PTE	-	STI	-	-	-	-
32	S	S	S	R	S	S	S	S	S	R	S	S	S	1	0.4	-	-	-	-	-	-	-	SPB	-	-	-
33	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	1	0.4	-	NYK	-	-	-	-	-	-	-	-	-
34	S	S	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	2	0.7	-	-	-	-	PTE	-	-	-	-	-	-
% frequency of *Xa* gene																										
	0.8	6.7	5.0	23.3	19.2	5.8	1.7	7.5	6.7	10.0	13.3															

Remark: CNT = Chai Nat, NYK = Nakhon Nayok, NPT = Nakhom Pathom, NBI = Nonthaburi, PTE = Pathom Thani, RBR = Ratchaburi, STI = Sukhothai, SPB = Suphan Buri, AYA = Ayutthaya, ATG = Ang Thong, UTI = Uthai Thani

[1/] R = Resistance reaction, [2/] S = Susceptible rection

เชื้อใน pathotype 9 เป็นกลุ่มเชื้อที่พบมากที่สุดโดยมีการกระจายตัวอยู่ถึง 9 จังหวัด จาก 11 จังหวัด ได้แก่ ชัยนาท นครนายก นครปฐม ราชบุรี สุโขทัย สุพรรณบุรี พระนครศรีอยุธยา อ่างทอง และอุทัยธานี รองมาได้แก่ pathotype 10 พบกระจายตัวใน 7 จังหวัด ได้แก่ ชัยนาท นครนายก นนทบุรี ราชบุรี สุพรรณบุรี พระนครศรีอยุธยา และอุทัยธานี ถัดมา pathotype 8 พบการกระจายตัวใน 6 จังหวัด ได้แก่ ชัยนาท นครปฐม สุโขทัย สุพรรณบุรี พระนครศรีอยุธยา และอุทัยธานี pathotype 30 พบกระจายใน 5 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดชัยนาท นครนายก นครปฐม สุพรรณบุรี และอุทัยธานี pathotype 4 พบการกระจายใน 4 จังหวัด ได้แก่ ชัยนาท นครนายก นครปฐม และสุพรรณบุรี ส่วนใน pathotype อื่น ๆ มีประชากร 1 - 2 ไอโซเลท โดยข้าวที่มียีนต้านทาน *xa5* มีความต้านทานแบบกว้างต่อประชากรเชื้อ Xoo ส่วนใหญ่ที่ทำการทดสอบคิดเป็น 23.3 % รองลงมาได้แก่ *Xa7* (19.2%) *Xa21* (13.3%) และ *Xa14* (10.0%) และข้าวที่มียีน *Xa1* และ *Xa10* อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อ Xoo เกือบทุกสายพันธุ์ **(Figure 2C)** ซึ่งผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า pathotype 11, 12, 13, 14, 15 และ 33 สามารถเข้าทำลายข้าวที่มียีน *xa5* (IRBB5) ได้

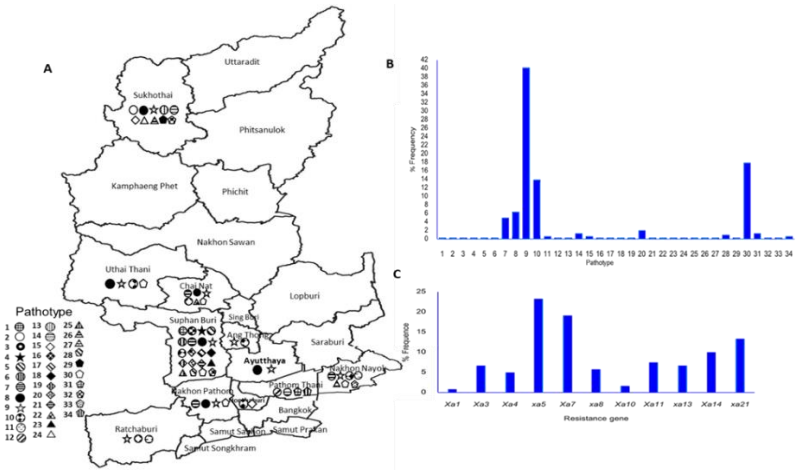

Figure 2 Frequency and distribution of *Xanthomonas oryza*e pv. *oryzae* pathotypes in central region of Thailand and effectiveness of *Xa* gene (A) Distribution mapping of Xoo pathotype in central region of Thailand (B) The frequency of thirty-four pathotypes (C) Effectiveness of *Xa* genes against Xoo isolated from central region of Thailand.

การจัดกลุ่มเชื้อตามปฏิกิริยาความสัมพันธ์ระหว่างยีนต้านทานโรคขอบใบแห้งของข้าวต่อเชื้อ *Xanthomonas oryzae pv. oryzae*

เมื่อนำข้อมูลของเชื้อ Xoo ทั้ง 278 ไอโซเลท จำนวน 34 pathotype มาวิเคราะห์จัดกลุ่ม ด้วยโปรแกรม NTSYS-PC version 1.8 โดยการหาค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน (similarity coefficient) ด้วยวิธี Jaccard coefficient และจัดกลุ่มโดยวิธี Neighbor Joining (NJ) สามารถจัดกลุ่มของ pathotype ได้เป็น 9 กลุ่มใหญ่ (Cluster) **(Figure 3)**

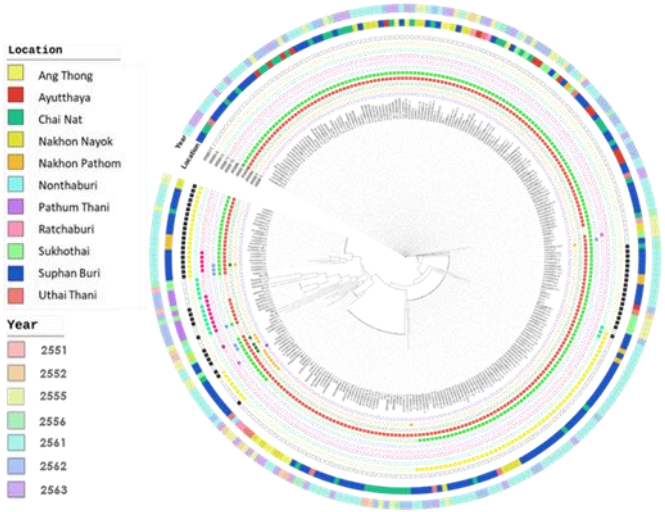

Figure 3 Dendrogram showing the similarity and clustering of 278 Isolates of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, based on their virulence on NILs rice lines

จากผลการจัดกลุ่มของ pathotype ต่าง ๆ จำนวน 34 pathotype ได้เป็น 9 กลุ่มใหญ่ พบว่า เชื้อกลุ่มที่ I ประกอบด้วย 5 pathotype ได้แก่ pathotype 9, 11, 21, 26 และ 27 มีจำนวนเชื้อ Xoo ถึง 117 ไอโซเลท กระจายตัวในพื้นที่ปลูกข้าวใน 9 จังหวัด

จากพื้นที่สำรวจ 11 จังหวัด ได้แก่ ชัยนาท นครนายก นครปฐม ราชบุรี สุโขทัย สุพรรณบุรี พระนครศรีอยุธยา อ่างทอง และอุทัยธานี โดยพบเข้าทำลายข้าวพันธุ์ กข31 กข41 กข47 กข49 กข57 กข61 กข71 ขาวดอกมะลิ 105 ปทุมธานี 1 และพิษณุโลก 2 เชื้อในกลุ่มนี้มียีนที่ควบคุมได้มีประสิทธิภาพ ได้แก่ ยีน *xa5*, *Xa7, xa8* และ *Xa10* ในขณะที่กลุ่มที่ IV มีประชากรเชื้อ Xoo ถึง 50 ไอโซเลท จัดอยู่ใน pathotype เดียว คือ pathotype 30 มียีน *xa5*, *Xa7* และ *Xa14* ที่ควบคุมเชื้อกลุ่มนี้ได้ พบกระจายตัวใน 5 จังหวัด ได้แก่ ชัยนาท นครนายก นครปฐม สุพรรณบุรี และอุทัยธานี พบเข้าทำลายข้าวพันธุ์ กข41 กข47 กข49 กข57 กข61 กข71 ขาวดอกมะลิ 105 และปทุมธานี 1 ส่วนกลุ่มที่ IX เป็นกลุ่มที่มีประชากรเชื้ออยู่ 17 ไอโซเลท แต่มีความหลากหลายของ pathotype ที่อยู่ในกลุ่มนี้สูง จำนวน 9 pathotype ได้แก่ pathotype 12, 13, 14, 15, 24, 29, 31, 33 และ 34 โดยพบเชื้อในจังหวัดชัยนาท นนทบุรี ปทุมธานี และสุโขทัย พบเข้าทำลายในข้าวพันธุ์ กข31 กข41 กข47 กข49 กข61 และข้าวเจ้าลูกผสม และพบว่า pathotype 15 ไม่มียีนต้านทานใด ๆ เลยที่ควบคุมเชื้อนี้ได้ นอกจากนี้ยังพบว่า pathotype 13, 14 และ 33 ในกลุ่มนี้มีเพียงยีนเดียวที่ควบคุมเชื้อได้ ได้แก่ *Xa11, xa13* และ *Xa21* ตามลำดับ **(Table 3)**

Table 3 Clustering of central region isolates of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* according to NILs rice base on numberical analysis

cluster[1/]	No. of Isolation	pathotype	*Xa* gene											Location	Infected rice varieties
			Xa1	*Xa3*	*Xa4*	*xa5*	*Xa7*	*xa8*	*Xa10*	*Xa11*	*xa13*	*Xa14*	*Xa21*		
I	117	9 (SSS**RR**SSSSSS)	–[2/]	–	–	+[3/]	+	–	–	–	–	–	–	CNT, NYK, NPT,	RD31, RD41, RD47, RD49, RD57,
		11 (SSSS**R**SSSSS)	–	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	RBR, STI, SPB	RD61, RD71, Non-glutinous rice
		21 (S**R**S**RR**SSSSS)	–	–	–	+	+	–	–	–	–	–	–	AYA, ATG, UTI	KDML 105, Pathum Thani 1
		26 (SSS**RRR**SSSS)	–	–	–	+	+	+	–	–	–	–	–		Phitsanulok 2
		27 (SSS**RR**S**R**SSS)	–	–	–	+	+	–	+	–	–	–	–		
II	18	8 (SSS**RR**SSSS**R**)	–	–	–	+	+	–	–	–	–	–	+	CNT, NPT, STI, SPB, AYA, UTI	RD41, RD61, Phitsanulok 2
III	3	5 (SSS**RR**SSS**RRR**)	–	–	–	+	+	–	–	–	+	+	+	SPB	RD49, Pathum Thani 1
		6 (SSS**RR**SSS**RR**S)	–	–	–	+	+	–	–	–	+	+	–		
		23 (SS**RR**SSSS**R**SS)	–	–	+	+	–	–	–	–	+	–	–		
IV	50	30 (SSS**RR**SSSS**R**S)	–	–	–	+	+	–	–	–	–	+	–	CNT, NYK, NPT, SPB, UTI	RD41, RD47, RD49, RD57, RD61, RD71, KDML 105, Pathum Thani 1
V	41	3 (S**R**S**R**SSSSSS)	–	+	–	+	–	–	–	–	–	–	–	CNT, NYK, NBI,	RD31, RD41, RD47, RD49, RD57,
		10 (SSS**R**SSSSSS)	–	–	–	+	–	–	–	–	–	–	–	RBR, SPB, ATG	RD61, Non-glutinous rice, KDML 105
		32 (SSS**R**SSSS**R**S)	–	–	–	+	–	–	–	–	–	+	–	UTI	Pathum Thani 1, Phitsanulok 2 Suphan Buri 3
VI	7	19 (S**R**S**RR**SSS**RR**)	–	+	–	+	+	–	–	–	–	+	+	SPB	RD41, RD47, RD57, RD61
		20 (S**R**S**RR**SSS**R**S)	–	+	–	+	+	–	–	–	–	+	–		
VII	5	1 (**R**S**RRR**S**R**S**RR**)	+	–	+	+	+	–	+	–	–	+	+	CNT, STI, SPB	RD31, RD41, RD47, Phitsanulok 2
		2 (S**RRRR**SSSSS)	–	+	+	+	+	–	–	–	–	–	–		
		17 (S**RRRRR**SSSS**R**)	–	+	+	+	+	+	–	–	–	–	+		
		18 (S**R**S**RRR**SSSS**R**)	–	+	–	+	+	–	–	–	–	–	+		
		22 (SS**RRR**SSSS**R**)	–	–	+	+	+	–	–	–	–	–	+		
VIII	20	4 (SSS**RRR**SSS**RR**)	–	–	–	+	+	+	–	–	–	+	+	CNT, NYK, NPT,	RD31, RD41, RD47, RD49, RD61
		7 (SSS**RR**SSS**RR**)	–	–	–	+	+	–	–	–	–	+	+	SPB	
		16 (S**RRRRR**S**R**S**RR**)	–	+	+	+	+	+	–	+	–	+	+		
		25 (SSS**RRR**S**R**S**RR**)	–	–	–	+	+	+	–	+	–	+	+		
		28 (SSS**RR**SS**R**S**RR**)	–	–	–	+	+	–	–	+	–	+	+		
IX	17	12 (SSSSSSS**RR**SS)	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–	CNT, NBI, PTE,	RD31, RD41, RD47, RD49, RD61
		13 (SSSSSSS**R**SSS)	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–	–	STI	Non-glutinous rice (hybrid rice)
		14 (SSSSSSSS**R**SS)	–	–	–	–	–	–	–	–	+	–	–		
		15 (SSSSSSSSSS)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–		
		24 (SSS**RRR**S**RR**S**R**)	–	–	–	+	+	+	–	+	+	–	+		
		29 (SSS**RR**SS**R**SS**R**)	–	–	–	+	+	–	–	+	–	–	+		
		31 (SSS**R**SSS**RR**S**R**)	–	–	–	+	–	–	–	+	+	–	+		
		33 (SSSSSSSSS**R**)	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	+		
		34 (SSS**R**SSS**RR**SS)	–	–	–	–	–	–	–	+	+	–	–		

[1/] Nine cluster of pathotype, designation as I to IX [2/]– = Susceptible [3/]+ = Resistance

จากการศึกษาครั้งนี้ พบเชื้อ pathotype เดิมคือ pathotype 8 (SSSRRSSSSSR) pathotype 10 (SSSRSSSSSS) pathotype 15 (SSSSSSSSSSS) pathotype 22 (SSRRRSSSSSR) pathotype 30 (SSSRRSSSSRS) เช่นเดียวกับปริศนา และคณะ (2558) เคยรายงานไว้ และ pathotype 1 (RSRRRSRSSRR) pathotype 4 (SSSRRRSSSRR) pathotype 7 (SSSRRSSSSRR) และ pathotype 31 (SSSRSSSRRSR) สอดคล้องกับรายงานของ วิชัย และคณะ (2558) พบเชื้อ pathotype ต่าง ๆ เพิ่มขึ้นจากเดิม จำนวน 15 pathotype ได้แก่ pathotype 3, 5, 6, 12, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 23, 25, 28, 32 และ 34 จากที่เคยรายงานไว้ในการสำรวจเชื้อในภาคกลาง โดย pathotype 9 (SSSRRSSSSSS) พบการกระจายตัวได้เกือบทุกพื้นที่ที่ทำการสำรวจ สำหรับภาคกลางพบว่าจังหวัดสุพรรณบุรีมีความหลากหลายของเชื้อ Xoo สูงสุด จำนวน 20 pathotype โดยในพื้นที่มีการปลูกข้าวที่หลากหลายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวพันธุ์ กข41 กข47 กข49 กข57 กข61 กข71 ขาวดอกมะลิ 105 และปทุมธานี 1 และมีการปลูกพันธุ์เดิมอย่างต่อเนื่อง สอดคล้องกับรายงานของ Mew et al. (1992) ที่พบว่าการปลูกข้าวพันธุ์เดิมต่อเนื่องมีผลต่อการปรับตัว และความหลากหลายของประชากรเชื้อ Xoo

นอกจากนี้ยังพบการกระจายตัวเพิ่มขึ้นของ pathotype ที่สามารถทำให้เกิดโรคในข้าวสายพันธุ์ IRBB5 (*xa5*) ที่เคยมีรายงานว่าต้านทานต่อประชากรเชื้อส่วนใหญ่ในภาคกลาง ได้แก่ pathotype 11, 12, 13, 14, 15 และ 33 ในข้าวพันธุ์ กข31 กข47 ขาวดอกมะลิ 105 พิษณุโลก 2 และข้าวเจ้าลูกผสม กระจายตัวในจังหวัดนครนายก ราชบุรี สุโขทัย นนทบุรี และปทุมธานี และยังพบ pathotype ที่สามารถทำให้เกิดโรครุนแรงในชุดข้าว NILs ทุกสายพันธุ์ จากจังหวัดสุโขทัย และนนทบุรี ในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพิษณุโลก 2 เช่นเดียวกับที่ปริศนา และคณะ (2558) เคยรายงานไว้ซึ่งจำเป็นต้องมีการตรวจติดตามการแพร่กระจาย รายงานสายพันธุ์เชื้อ Xoo ของประเทศในแถบเอเชียใต้ ได้แก่ ประเทศอินเดีย และเนปาล พบเชื้อที่สามารถเข้าทำลายข้าวที่มียีน *xa5* ได้เช่นเดียวกับในประเทศฟิลิปปินส์ และจีน (Adhikari et al.,1995; Noda et al., 2001) ในอดีตพันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทาน *xa5* สามารถต้านทานต่อเชื้อ Xoo ในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ รวมถึงประเทศไทยที่รายงานโดย Eamchit and Mew (1982); นงรัตน์ (2551) และแสงชัย (2552) จะเห็นได้ว่ายีน *xa5* ยังคงสามารถแสดงความต้านทานแบบกว้างต่อประชากรเชื้อ Xoo ที่พบในประเทศไทย แต่ไม่ได้มีประสิทธิภาพสูงในการต้านทานต่อสายพันธุ์เชื้อที่พบในประเทศเพื่อนบ้าน ได้แก่ ประเทศเวียดนาม พม่า และมาเลเซีย (Dinh et al., 2008; Seint et al., 2007 and Hasan et al., 2020) หากมีการแพร่ระบาดของประชากรเชื้อจากประเทศเหล่านี้มายังประเทศไทยอาจมีโอกาสเกิดเชื้อสายพันธุ์ใหม่ ๆ ที่ทำให้ข้าวที่มียีนต้านทานในปัจจุบันถูกเชื้อเหล่านี้เข้าทำลายในอนาคต จากการศึกษาพบว่าข้าวที่มียีนต้านทาน *xa5, Xa7, Xa14* และ *Xa21* ยังคงให้ความต้านทานต่อการเข้าทำลายของประชากรเชื้อ Xoo ส่วนใหญ่ในภาคกลาง เช่นเดียวกับรายงานของ นงรัตน์ (2551) แสงชัย (2552) ปริศนา และคณะ (2558) การศึกษาครั้งนี้พบประชากรเชื้อ Xoo ในภาคกลางมีการพัฒนาปรับตัวให้สามารถเข้าทำลายยีน *xa5* ได้แล้ว และมีการกระจายตัวอยู่ในหลายจังหวัดที่ทำการสำรวจ โดยเชื้อสามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่เคยรายงานว่าสามารถต้านทานโรคขอบใบแห้งได้ (กรมการข้าว, 2563) ซึ่งการใช้พันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทานเพียงยีนเดียว หรือปลูกข้าวเพียงพันธุ์เดียวเป็นระยะเวลานานจะทำให้เชื้อเกิดการกลายพันธุ์ และปรับตัวทำให้ข้าวสูญเสียความต้านทานและเกิดโรคได้ (Kosawang et al., 2006)

ดังนั้นการศึกษาการกระจายตัวของกลุ่มเชื้อ Xoo และประสิทธิภาพของยีนต้านทานในแต่ละพื้นที่ เป็นข้อมูลในการตัดสินใจเลือกยีนต้านทานที่เหมาะสมต่อประชากรเชื้อ Xoo ที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม และความสามารถในการก่อโรคดังรายงานของ Korinsak (2009) ที่ปรับปรุงพันธุ์ข้าวโดยการผนวกยีน (pyramiding gene) *xa5, Xa21 xa33* และ *xa34* เข้าด้วยกันสามารถต้านทานต่อประชากรเชื้อได้หลากหลายกลุ่ม เช่นเดียวกับรายงานของ กนกอร และคณะ (2560) ที่ปรับปรุงพันธุ์ให้ข้าวมียีนต้านทานมากกว่าหนึ่งยีนสามารถเพิ่มระดับของความต้านทานแบบกว้าง (broad spectrum)

สรุป

จากการจำแนก pathotype ของเชื้อ Xoo จำนวน 278 ไอโซเลท ที่รวบรวมเชื้อในช่วงปี พ.ศ. 2551-2563 จากพื้นที่ปลูกข้าวในภาคกลางของประเทศไทย จำนวน 11 จังหวัด ตามปฏิกิริยาการเกิดโรคของเชื้อกับข้าวสายพันธุ์คู่แฝด (NILs) จำนวน 11 สายพันธุ์

พบว่า สามารถจัดกลุ่มเชื้อออกเป็น 34 pathotype และ 9 กลุ่ม ซึ่งมีทั้ง pathotype ดั้งเดิม และpathotype ใหม่ที่เพิ่มขึ้นจำนวน 15 pathotype โดยพบว่าจังหวัดสุพรรณบุรีมีการกระจายตัวของ pathotype ต่าง ๆ สูงสุด จำนวนถึง 20 pathotype และพบว่าประชากรเชื้อใน pathotype 9 (SSSRRSSSSSS) ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มที่ I มีการกระจายตัวสูงสุดในพื้นที่สำรวจ ในส่วนของยีนต้านทานพบว่า ยีน *xa5* ยังคงให้ความต้านทานแบบกว้างต่อประชากรเชื้อที่สำรวจในภาคกลาง จำนวน 28 pathotype ในขณะที่ยังคงมีประชากรเชื้อใน pathotype ที่เข้าทำลายยีน *xa5* กระจายตัวในหลายจังหวัดเพิ่มจากจังหวัดสุโขทัยที่เดิมเคยมีรายงานไว้ นอกจากนี้ยังพบ pathotype 15 (SSSSSSSSSSS) ในจังหวัดนนทบุรีที่สามารถเข้าทำลายยีนต้านทานทั้ง 11 ยีนที่ทำการทดสอบซึ่งจำเป็นต้องมีการติดตามการแพร่ระบาดรวมทั้งค้นหายีนต้านทานต่อเชื้อก่อโรครุนแรงในกลุ่มนี้

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการทุนสถาบันบัณฑิตวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีไทย (TGIST) รหัสทุน TG-22-11-61-042M และโครงการระบบแนะนำพันธุ์ข้าวที่เหมาะสมสำหรับการปลูกในแต่ละพื้นที่ และฤดูกาล โดยสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

เอกสารอ้างอิง

กนกอร เยาว์ดำ, ประภา ศรีพิจิตต์, ธานี ศรีวงศ์ชัย และสุภาพร จันทร์บัวทอง. 2560. การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวต้านทานโรคขอบใบแห้งโดยวิธีการผสมกลับและคัดเลือกด้วยเครื่องหมายดีเอ็นเอ. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 3: 595-604.

กรมการข้าว. 2560. สถานการณ์การระบาดของโรคข้าวในจังหวัดชัยนาทในรอบ 10 ปีที่ผ่านมาเอกสารวิชาการครบรอบ 60 ปี ศูนย์วิจัยข้าวชัยนาท กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

กรมการข้าว. 2563. องค์ความรู้เรื่อง: โรคข้าวและการป้องกันกำจัด. แหล่งข้อมูล: http://www.ricethailand.go.th/rkb3/title-index.php-file=content.php&id=67.htm. ค้นเมื่อ 16 พฤศจิกายน 2563.

นงรัตน์ นิลพานิชย์. 2551. โรคที่เกิดจากแบคทีเรีย. สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

ปริศนา วงค์ล้อม, จุฑาเทพ วัชระไชยคุปต์, สุจินต์ ภัทรภูวดล และ วิชัย โฆสิตรัตน. 2558. การประเมินความหลากหลายในการก่อโรคของสายพันธุ์เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ในประเทศไทย. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 46: 165-175.

พยอม โคเบลลี่ และธีรดา หวังสมบูรณ์ดี. 2560. โรคขอบใบแห้งของข้าวในประเทศไทย: สถานการณ์การระบาดของโรคปัจจุบัน. Unisearch Journal. 4: 23-27.

วิชัย โฆสิตรัตน. 2549. บทปฏิบัติการแบคทีเรียโรคพืช. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

วิชัย โฆสิตรัตน, สุจินต์ ภัทรภูวดล, จุฑาเทพ วัชระไชยคุปต์. 2558. ผลของการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศต่อโรคอุบัติใหม่และโรคอุบัติซ้ำของข้าวในประเทศไทย. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, นครปฐม.

แสงชัย ศรีประโคน. 2552. การจำแนกและจัดกลุ่มเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) และการบ่งชี้ตำแหน่งยีนต้านทานในข้าวพื้นเมืองพันธุ์เชียงรุ้ง (*Oryza sativa* L.). วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตร มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. นครปฐม.

อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ, รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์, วิชชดุา รัตนากาญจน์, วันพร เข็มมุกด์, สิทธิ์ ใจสงฆ์, พันนิภา ยาใจ, ปิยะวรรณ ใยดี, นจุรินทร์ จังขันธ์, กรสิริ ศรีนิล, ธราพร ยืนยงค์, ดวงกมล บญุช่วย, อนรรฆพล บุญช่วย, ดวงพร วิธรูจิตต์, นิตยา รื่นสุข, เฉลิมขวัญ ฉิมวัย, เฉลิมชาติ ฤาไชยคาม, กนกอร ดอกไม้เทศ, วรรณพรรณ จนัลาภา, ทัสดาว เกตุเนตร, เฉลิมพล เฉลิมพลโยธิน, สมหมาย ศรีวิสทุธิ์, นพดล ประยูรสุข, ชนสิริน กลิ่นมณี และเสาวนีย์ ศรีบัว. 2557. ผลของการเปลี่ยนแปลงสภาพ

ภูมิอากาศที่มีต่อชนิดของเชื้อสาเหตุ และการระบาดของโรคข้าวในนาชลประทานที่ปลูกต่อเนื่อง, น. 241-263. ใน: รายงานการประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ครั้งที่ 31 วันที่ 23-24 พฤษภาคม 2557. กรมการข้าว, กรุงเทพฯ

Adhikari, T. B., C. Cruz, Q. Zhang, R. J. Nelson, D. Z. Skinner, T. W. Mew, and J. E. Leach. 1995. Genetic Diversity of *Xanthomonas oryzae pv. oryzae* in Asia. Applied and Environmental Microbiology. 61: 966-971.

Adachi, N. and O. K. U. Takashi. 2000. PCR-mediated detection of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* by amplification of the 16S–23S rDNA spacer region sequence. Plant Pathology. 66: 303-309.

Delp, B. R., L. J. Stowell, and J. J. Marois. 1986. Evaluation of field sampling techniques for estimation of disease incidence. Phytopathology. 76: 1299-1305.

Dinh, H. D., N. K. Oanh, N. D. Toan, P. V. Du, and L. C. Loan. 2008. Pathotype profile of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolates from the rice ecosystem in Cuu long river delta. Omonrice Journal. 16: 34-40.

Eamchit, S. and T. W. Mew. 1982. Comparison of virulence of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* in Thailand and the Philippines. Plant Disease. 66: 556-559.

Hasan, N. A., M. Y. Rafii, H. A. Rahım, F. Ahmad, and N. Nik Ismail. 2020. Identification of bacterial leaf blight resistance genes in Malaysian local rice varieties. Genetics and Molecular Research. 19: 1-10.

Kauffman, H. E., A. P. K. Reddy, S. P. Y. Hsieh, and S. D. Merca. 1973. An improved technique of evaluation of resistance of rice varieties to *Xanthomonas oryzae*. Plant Disease. 357: 537-541.

Korinsak, S. 2009. Marker-Assisted Pyramiding Bacterial Blight Resistance Genes (*xa5, Xa21, xa33(t), Xa34(t)* and *qBB11*) in Rice. M. S. Thesis. Kasetsart University, Nakhon Pathom.

Kosawang, C., P. Smitamana, T. Toojinda, N. Nilpanit, and P. Sirithunya. 2006. Amplified fragment length polymorphism fingerprinting differentiates genetic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* from Northern Thailand. Phytopathology. 154: 550-555.

Leach, J. E., H. Leung, R. J. Nelson, and W. M. Twng-wah. 1995. Population biology of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* and approaches to its control. Current Opinion in Biotechnology. 6: 298-304.

Leach, J. E. and F. F. White. 1996. Bacterial avirulence genes. Annual Review of Phytopathology. 34: 153-179.

Mew, T. W. 1989. An overview of the world bacterial blight situation, pp. 7-12. In Proceedings of the International Workshop on Bacterial Blight of Rice 14-18 March 1988. The International Rice Research Institute. Manila, Philippines.

Mew, T. W., C. M. Vera Cruz, and E. S. Medalla, 1992. Changes in race frequency of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in response to rice cultivars planted in the Philippines. Plant Disease. 76: 1029-1032.

Noda, T., C. Li, J. Li, H. Ochiai, K. Ise, and H. Kaku. 2001. Pathogenic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* strains from Yunnan province, China. Japan Agricultural Research Quarterly. 35: 97-103.

Reddy, R., and Z. Y. Shang. 1989. Survival of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* the causal organism of bacterial blight of rice, pp. 65-78. In Proceedings of the International Workshop on Bacterial Blight of Rice 14-18 March 1988. The International Rice Research Institute. Manila, Philippines.

Seint San Aye, M. Matsumoto., H. Kaku, T. Goto, N. Furuya, and A. Yoshimura. 2007. Evaluation of resistance in rice plants to Myanmar isolates of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Journal Faculty of Agriculture Kyushu university. 52: 17-21.

Tekete, C., S. Cunnac, H. Doucouré, M. Dembele, I. Keita, S. Sarra, K. Dagno, O. Koita, and V. Verdier. 2020. Characterization of new races of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in Mali informs resistance gene deployment. Phytopathology. 110: 267-277.

Webster, R.K. and P.S. Gunnell. 1992. Compendium of Rice Diseases. APS Press, Minnesota.