ความผันแปรของประชากรเชื้อรา *Pyricularia oryzae* สาเหตุโรคไหม้ของข้าวในประเทศไทย

Variability of *Pyricularia oryzae* Populations Causing Agents of Rice Blast in Thailand

อรยา ปานอ่อน[1/] วรรณวิไล อินทนู[1/] ศิริภา กออินทร์ศักดิ์[2/] จินตนา อันอาตม์งาม[1/*]
Oraya Phanon[1/] Wanwilai Intanoo[1/] Siripar Korinsak[2/] Jintana Unartngam[1/*]

Received 23 May 2023/Revised 26 Jul. 2023/Accepted 31 Jul. 2023

ABSTRACT

Rice blast, caused by *Pyricularia oryzae*, is an important disease of rice production in Thailand. This disease is distributed in all localities of the country. It affects the quality and quantity of rice production. The purpose of this research was to evaluate the variation of *P. oryzae* populations collected from major rice growing areas of the country by studying their pathogenicity towards 9 differential rice varieties that had single resistance genes (near isogenic lines; NILs): *Pi-7(t)*, *Pi9*, *Pi-a*, *Pi-b*, *Pi-i*, *Pi-kh*, *Pi-t*, *Pi-ta* and *Pi-sh*. Results revealed that from the 80 isolates studied, the pathogen could be identified into 47 races. When all isolates were clustered by UPGMA methods Past 4.10 program by using disease index data, the classical clustering analysis showed that *P. oryzae* races were grouped into 13 clades with cophenetic correlation at 0.80. However, race identification and clustering were not correlated with the sources of *P. oryzae*, more than one race could occur in one site. The results indicated that pathogenicity of the fungus was variable within the population as well as among populations. These results were informative for the planning of improvement of blast disease resistant rice varieties.

Keywords: blast disease; *Pyricularia oryzae*; population; diversity; rice

[1/] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140
[1/] Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140
[2/] ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม 73140
[2/] Rice Science Center, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140
[*] Corresponding author: agrjne@ku.ac.th

บทคัดย่อ

โรคไหม้ของข้าวเกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* เป็นโรคที่สำคัญมีผลต่อคุณภาพและปริมาณผลผลิตข้าวของประเทศไทย พบการระบาดของโรคนี้ในพื้นที่ปลูกข้าวทั่วประเทศ การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความผันแปรของประชากรเชื้อรา *P. oryzae* สาเหตุโรคไหม้ของข้าวในประเทศไทย ทำการประเมินการเกิดโรคบนข้าวชุดทดสอบ (differential varieties) จำนวน 9 สายพันธุ์ที่มียีนด้านทานเดี่ยว (near isogenic lines; NILs) ได้แก่ *Pi-7(t)*, *Pi9*, *Pi-a*, *Pi-b*, *Pi-i*, *Pi-kh*, *Pi-t*, *Pi-ta* และ *Pi-sh* นำข้อมูลค่าดัชนีการเกิดโรค (disease index) มาจัดกลุ่มด้วยวิธี UPGMA โดยใช้โปรแกรม Past 4.10 ผลการทดลองพบว่า จากเชื้อราที่ใช้ในการทดลองทั้งหมด 80 ไอโซเลท สามารถจำแนกสายพันธุ์เชื้อราได้จำนวน 47 สายพันธุ์ และสามารถจัดกลุ่มสายพันธุ์ของเชื้อรา *P. oryzae* ได้ 13 กลุ่ม โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (cophenetic correlation) เท่ากับ 0.80 อย่างไรก็ตาม การจำแนกสายพันธุ์และการจัดกลุ่มไม่มีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของเชื้อรา โดยในแต่ละพื้นที่พบเชื้อรา *P. oryzae* มากกว่าหนึ่งสายพันธุ์ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า เชื้อรามีความผันแปรภายในประชากรและระหว่างประชากรเชื้อรา ดังนั้น ข้อมูลจากการศึกษานี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการวางแผนเพื่อปรับปรุงพันธุ์ข้าวด้านทานโรคไหม้ของข้าวต่อไป

คำสำคัญ: โรคไหม้; *Pyricularia oryzae*; ประชากร; ความหลากหลาย; ข้าว

บทนำ

โรคไหม้ของข้าว (rice blast disease) เป็นโรคสำคัญโรคหนึ่งที่พบในพื้นที่ปลูกข้าวทั่วทุกภาคของประเทศไทยทั้งข้าวนาปีและนาปรัง โรคนี้เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* (สมคิด, 2532) สามารถเข้าทำลายต้นข้าวได้ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงระยะออกรวง โดยในระยะกล้า ถ้าอาการของโรครุนแรงจะทำให้ต้นกล้าฟุบตาย ในระยะแตกกอ ข้าวแสดงอาการจุดสีน้ำตาลที่ใบข้าว ลักษณะคล้ายรูปตา มีสีเทาอยู่ตรงกลางแผล สามารถขยายลุกลามและกระจายทั่วบริเวณใบ เมื่อมีการระบาดที่รุนแรงจะพบจุดช้ำน้ำปริมาณมากทั่วทั้งใบ ทำให้ใบแห้งตายคล้ายถูกน้ำร้อนลวก นอกจากนี้ เชื้อรายังสามารถเข้าทำลายรวงข้าวจนถึงคอรวงได้ โรคไหม้ของข้าวในระยะนี้จึงเรียกว่า "โรคไหม้คอรวง" ทำให้รวงข้าวมีเมล็ดลีบ เปลือกเมล็ดข้าวมีสีเทาดำของเชื้อ นอกจากนี้ ถ้ามีการระบาดอย่างรุนแรงจะพบรวงข้าวลีบทั้งรวง และหักง่ายบริเวณที่เชื้อเข้าทำลาย (พูนศักดิ์ และวีณา, 2559) ในปีพ.ศ. 2535 ประเทศไทยพบการระบาดรุนแรงของโรคไหม้ในระยะข้าวออกรวง ครอบคลุมพื้นที่การระบาด 1.2 ล้านไร่ ทำให้ผลผลิตเสียหาย 60% (Disthaporn, 1994) และในปี พ.ศ. 2562 พบการระบาดของโรคไหม้ของข้าวในพื้นที่ 12 จังหวัด ได้แก่ จ. ลำพูน ลำปาง แพร่ ตาก มุกดาหาร มหาสารคาม ชัยภูมิ ศรีสะเกษ สุรินทร์ กาฬสินธุ์ สระแก้ว และสงขลา จำนวน 575,837 ไร่ สร้างความเสียหายต่อผลผลิตข้าวเป็นจำนวนมาก (กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2562)

วิธีการควบคุมโรคไหม้ของข้าวโดยการใช้พันธุ์ข้าวด้านทานเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยลดการใช้สารเคมีและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม แต่ในปัจจุบันพบว่า มีสายพันธุ์ใหม่ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ของข้าวเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่อง เนื่องจาก มีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของเชื้อรา (Jones and Dangl, 2006) พันธุ์ข้าวด้านทานจะสูญเสียความด้านทานภายในเวลาไม่กี่ปีหลังจากแนะนำพันธุ์ให้เกษตรกร (Bonman, 1992; Zeigler et al., 1995; Mekwatanakarn et al., 1999; Zhou et al., 2007; Koizumi, 2008) ทำให้เชื้อโรคไหม้ของข้าวในประเทศไทยมีความผันแปรและเกิดความหลากหลายทางพันธุกรรม นอกจากนี้ การใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา (Mekwatanakarn et al., 2000) และความหลากหลายของสายพันธุ์ข้าวก็เป็นปัจจัยที่ทำให้เกิด

ความผันแปรของเชื้อราเช่นกัน ดังนั้น ในการศึกษาจึงได้ประเมินความผันแปรของประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ของข้าวในพื้นที่ต่าง ๆ ของประเทศไทย ด้วยการทดสอบการก่อโรคบนข้าวชุดทดสอบ (differential varieties) ซึ่งข้อมูลความแปรผันของเชื้อราสาเหตุโรค จะเป็นประโยชน์ต่อการติดตามการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างประชากรของเชื้อรา และเป็นประโยชน์ในการคัดเลือกพันธุ์ข้าวให้มีความต้านทานครอบคลุมความหลากหลายของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ที่พบในประเทศไทยได้ในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคไหม้ของข้าว

สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคไหม้ของข้าว ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2562 – 2564 จากแหล่งปลูกข้าวที่สำคัญในพื้นที่ภาคกลาง ได้แก่ จ. สุพรรณบุรี สิงห์บุรี พระนครศรีอยุธยา ชัยนาท ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จ. อุบลราชธานี ศรีสะเกษ ยโสธร ร้อยเอ็ด มหาสารคาม ในพื้นที่ภาคใต้ ได้แก่ จ. นครศรีธรรมราช พัทลุง และในพื้นที่ภาคเหนือ ได้แก่ จ. เชียงราย กำแพงเพชร พิษณุโลก นครสวรรค์ พิจิตร โดยเก็บใบข้าวที่แสดงอาการไหม้แล้วนำมาแยกเชื้อราสาเหตุโรค ที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรกำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

2. การจำแนกเชื้อราโรคไหม้ของข้าวด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

นำตัวอย่างใบข้าวที่เป็นโรคที่เก็บจากพื้นที่ต่าง ๆ มาแยกเชื้อด้วยวิธี tissue transplanting method โดยการตัดชิ้นส่วนของใบข้าวให้มีขนาด 0.5x0.5 ซม. ให้มีส่วนที่แสดงอาการกับส่วนปกติอย่างละครึ่ง แล้วนำไปล้างใน 0.45% sodium hypochlorite เป็นเวลา 3 นาที จากนั้น นำมาล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที จากนั้นซับชิ้นพืชให้แห้งด้วยกระดาษที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ แล้วนำมาวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ rice polish agar (RPA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องภายใต้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ 12 ชม. สลับกับความมืด 12 ชม. เป็นเวลา 7 วัน ทำการเตรียมสปอร์แขวนลอยโดยเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อลงบนผิวหน้าอาหาร RPA ที่มีเชื้อราเจริญอยู่ ใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลขูดผิวหน้าอาหารเบา ๆ และดูดสปอร์แขวนลอย 100 ไมโครลิตร นำไปเกลี่ยบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ water agar (WA) ให้ทั่ว บ่มไว้ 24 ชม. แล้วจึงนำเชื้อราที่เจริญมาตัดปลายเส้นใย (hyphal tip) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด stereo microscope และย้ายปลายเส้นใยเชื้อราไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ RPA นำเชื้อราที่ได้จากการแยกปลายเส้นใย มาจำแนกชนิดโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ ลักษณะโคโลนี สีโคโลนี และบันทึกลักษณะ สี รูปร่าง และขนาดของโคนิเดีย โดยดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope

3. การจำแนกสายพันธุ์ (race) ของเชื้อราโรคไหม้ของข้าวบนข้าวชุดทดสอบ

นำเชื้อราโรคไหม้ของข้าว *P. oryzae* จำนวน 80 ไอโซเลท ที่แยกได้จากใบข้าวที่เก็บจากพื้นที่ต่าง ๆ มาเลี้ยงบนอาหาร RPA เป็นเวลา 7 วัน ภายใต้แสงฟลูออเรสเซนส์ เป็นเวลา 12 ชม. สลับกับความมืด 12 ชม. จากนั้นใช้ spatula ขูดเส้นใยบนผิวหน้าอาหาร นำเส้นใยไปไว้ฝั่งใดฝั่งหนึ่งของจานเลี้ยงเชื้อ บ่มภายใต้แสงแบล็คไลท์ เป็นเวลา 12 ชม. สลับกับความมืด 12 ชม. เป็นเวลา 2 วัน จากนั้น ล้างสปอร์แขวนลอย (spore suspension) โดยเทน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วลงบนจานเลี้ยงเชื้อที่มีเชื้อราเจริญอยู่ ใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลขูดผิวหน้าอาหาร ปรับความเข้มข้นของสารแขวนลอยสปอร์ให้ได้ 10^5 สปอร์/มล. นำสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อแต่ละไอโซเลทไปปลูกเชื้อโดยการพ่นลงบนข้าวชุดทดสอบ (differential varieties) ที่ใช้จำแนกสายพันธุ์ (race) ของเชื้อรา จำนวน 9 สายพันธุ์ โดยใช้ข้าวที่มีอายุ 21 วัน ข้าวชุดทดสอบที่ใช้ ได้แก่ IRBL7-M, IRBL9-W, IRBLa-A, IRBLb-B, IRBLi-F5, IRBLkh-K3, IRBLt-K59, IRBLta-CP1 และ IRBLsh-S ซึ่งข้าวดังกล่าวในแต่ละสายพันธุ์มียีนต้านทานเดี่ยว (near isogenic

lines; NILs) คือยีน *Pi-7(t)*, *Pi9*, *Pi-a*, *Pi-b*, *Pi-i*, *Pi-kh*, *Pi-t*, *Pi-ta* และ *Pi-sh* ตามลำดับ นอกจากนี้ยังนำสปอร์แขวนลอยที่ได้จากแต่ละไอโซเลทไปปลูกเชื้อโดยการพ่นลงบนข้าวพันธุ์เปรียบเทียบที่มีลักษณะด้านทาน 1 สายพันธุ์ คือ ข้าวเจ้าหอมนิล และข้าวที่มีลักษณะอ่อนแอ 3 พันธุ์/สายพันธุ์ คือ กข 6 KDML105 และ Sanceltic บันทึกผลการทดลองที่ 7 9 และ 11 วันหลังการปลูกเชื้อ โดยการประเมินระดับความรุนแรงการเกิดโรคไหม้บนข้าวชุดทดสอบ ดังนี้ (Roumen et al., 1997)

ระดับ	อาการ
0	ไม่มีแผลปรากฏ
1	แผลจุดกลมสีน้ำตาลเล็ก ๆ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 0.5 มม. ไม่มีการสร้าง conidia
2	แผลกลมหรือเรียวยาวเล็กน้อยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 0.5-1 มม. แผลไม่มีการสร้าง conidia
3	แผลจุดเล็ก ๆ ขนาดประมาณ 1-3 มม. และมีจุดสีเทาตรงกลางแผล
4	แผลจุดเล็ก ๆ ขนาดประมาณ 3 มม. หรือยาวกว่า แผลเป็นสีเทาและมีขอบแผลสีน้ำตาล
5	แผลสีเทาเกาะกันเป็นกลุ่ม มีขอบแผลสีน้ำตาล เป็นอาการที่แสดงถึงความอ่อนแอต่อโรค
6	แผลลุกลามยาวติดต่อกันเป็นสีเทา ไม่มีขอบแผลที่แน่นอน เป็นอาการที่แสดงถึงความอ่อนแอต่อโรค

จากนั้นนำจำนวนต้นที่มีคะแนนความรุนแรงการเกิดโรคระดับต่าง ๆ มาคำนวณค่าดัชนีการเกิดโรค (disease index) (McMaugh, 2008) โดยใช้สูตร

$$\text{ดัชนีการเกิดโรค (disease index)} = \frac{[(na \times 0)+(nb \times 1)+(nc \times 2)+(nd \times 3)+(ne \times 4)+(nf \times 5)+(ng \times 6)]}{N \times 6} \times 100$$

เมื่อ na = จำนวนต้นที่มีคะแนนการเกิดโรคเป็น 0
nb = จำนวนต้นที่มีคะแนนการเกิดโรคเป็น 1
nc = จำนวนต้นที่มีคะแนนการเกิดโรคเป็น 2
nd = จำนวนต้นที่มีคะแนนการเกิดโรคเป็น 3
ne = จำนวนต้นที่มีคะแนนการเกิดโรคเป็น 4
nf = จำนวนต้นที่มีคะแนนการเกิดโรคเป็น 5
ng = จำนวนต้นที่มีคะแนนการเกิดโรคเป็น 6

ทำการประเมินลักษณะด้านทานต่อโรคไหม้แต่ละไอโซเลทในข้าวชุดทดสอบแต่ละสายพันธุ์ตามค่าดัชนีการเกิดโรค ดังนี้ ดัชนีการเกิดโรค 0% เป็นความด้านทานสูง (highly resistant: HR) ดัชนีการเกิดโรค 1-10% เป็นความด้านทาน (resistance: R), ดัชนีการเกิดโรค 11-25% เป็นความด้านทานปานกลาง (moderately resistant: MR), ดัชนีการเกิดโรค 26-50% เป็นความอ่อนแอปานกลาง (moderately susceptible: MS), ดัชนีการเกิดโรค 51-75% เป็นความอ่อนแอ (susceptible: S) และ ดัชนีการเกิดโรค 76-100% เป็นความอ่อนแอสูง (highly susceptible: HS) และนำข้อมูลที่ได้มาจัดจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อรา

4. การวิเคราะห์การจัดกลุ่มสายพันธุ์ (group of races) ของเชื้อราโรคไหม้ของข้าว

ทำการวิเคราะห์การจัดกลุ่มสายพันธุ์ของเชื้อราโรคไหม้ของข้าวที่เกิดจาก *P. oryzae* โดยใช้วิธี UPGMA (unweighted pair-group method with arithmetic mean) ใช้โปรแกรม Past 4.10 โดยนำ

ข้อมูลดัชนีการเกิดโรคมาใช้ในการวิเคราะห์ แล้วนำผลการจัดกลุ่มสายพันธุ์และผลการจำแนกสายพันธุ์เชื้อรามาเปรียบเทียบ เพื่อประเมินความผันแปร และความสัมพันธ์ของเชื้อราแต่ละสายพันธุ์ที่ระบาดในพื้นที่ที่แตกต่างกัน

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคไหม้ของข้าว

สำรวจโรคไหม้ และเก็บตัวอย่างใบข้าวที่เป็นโรคจากจังหวัดต่าง ๆ 16 จังหวัด จำนวน 716 แปลง นำมาแยกเชื้อรา *P. oryzae* สาเหตุโรค คัดเลือกเชื้อราสาเหตุมาจาก 13 จังหวัด เนื่องจากเป็นพื้นที่นาผืนใหญ่ ในพื้นที่ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคใต้ และ ภาคเหนือ ได้แก่ จ. สิงห์บุรี สุพรรณบุรี ชัยนาท อุบลราชธานี ศรีสะเกษ มหาสารคาม พัทลุง นครศรีธรรมราช เชียงราย กำแพงเพชร พิษณุโลก พิจิตร และ นครสวรรค์ โดยสุ่มเชื้อราจากแหล่งต่าง ๆ จำนวน 80 ไอโซเลท เพื่อประเมินการกระจายตัวของสายพันธุ์ และความผันแปรของประชากรเชื้อรา

2. การจำแนกเชื้อราโรคไหม้ของข้าวด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

จากการจำแนกเชื้อรา *P. oryzae* ไอโซเลทต่าง ๆ โดยพิจารณาจากลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า สามารถจำแนกเชื้อราจากลักษณะสีของโคโลนี ได้ 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มสีครีม เทา เทาเข้ม ดำ และขาว (Table 1) โคโลนีมีขอบเรียบทั้งหมด และพบบางไอโซเลทมีลักษณะโคโลนีเป็นวงแหวน เมื่อเจริญบนอาหาร RPA (Figure 1) จากการตรวจสอบลักษณะโคนิเดียของเชื้อรา พบว่า โคนิเดียสีใส เป็นรูปไข่ไพริฟอร์ม มี 2-3 เซลล์/โคนิเดีย โดยพบทั้งไพริฟอร์มแบบสั้น (Figure 2A) ไพริฟอร์ม (Figure 2B) และไพริฟอร์มแบบยาว (Figure 2C) โคนิเดียมีขนาด 35-48 × 14-19 ไมโครเมตร ซึ่งจำแนกเป็นเชื้อรา *Pyricularia oryzae* นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อรา *P. oyzae* ในแต่ละไอโซเลทที่มาจากแหล่งพื้นที่เดียวกันมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกัน แสดงให้เห็นถึงความผันแปรของเชื้อในแต่ละพื้นที่ ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Apinya et al. (2020) ที่ได้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่า เชื้อรา *P. oryzae* มีเส้นใยสีขาว ครีม และเทามีทั้งแบบฟูหรือแบน พบการสร้างเม็ดสีเมลานินบริเวณใต้เพลท เมื่อศึกษารูปร่างของโคนิเดีย พบว่า มีรูปร่างแบบรูปไข่ ไพริฟอร์มแบบสั้น ไพริฟอร์ม และไพริฟอร์มแบบยาว และยังพบว่า ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของประชากรเชื้อสาเหตุโรคไหม้ในประเทศไทยมีความผันแปรทั้งลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะทางพันธุกรรมที่สูง โดยความผันแปรของลักษณะทางสัณฐานวิทยาขึ้นอยู่กับพืชอาศัย และปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่าง ๆ

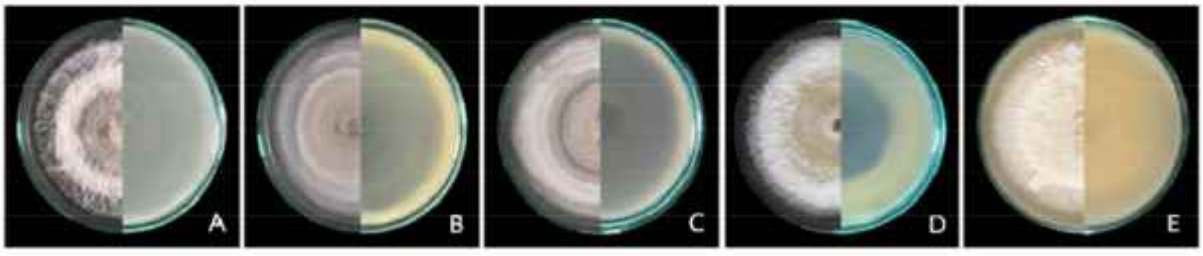

Figure 1 Colony characteristics of *Pyricularia oryzae;* A: black colony, B: dark grey colony, C: grey colony, D: cream colony, E: white colony

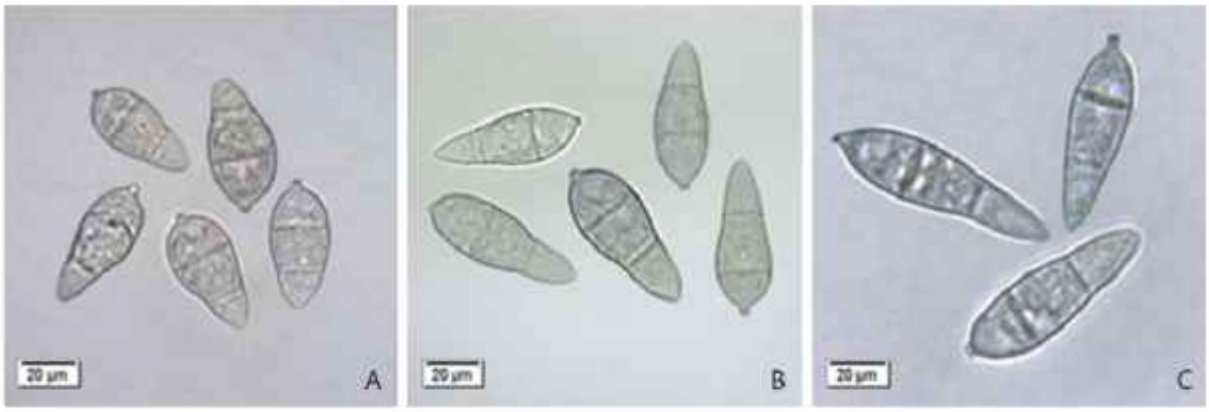

Figure 2 Conidial characteristics of *Pyricularia oryzae;* A: short pyriform conidia, B: pyriform conidia, C: long pyriform conidia

Table 1 Morphological characteristics based groups of *P. oryzae* isolated from different localities

Groups of colony color	Conidial shape	Isolate no.			Province
Group 1: cream color	Type2: pyriform Type3: long pyriform	SSK010117, NSN010702, SPB020201, CNT010102, CNT010403, CNT010903, NST010403, PLK010901, PCT060301, PLK040401, PCT040401,	UBN010103, PLK010501, CNT010802, CNT010901, PLG010102, SPB020204, PLG010206, PLK010902, PLK010801, PLK030402, SKA010101	SPB010201, KPT040202, CNT010902, NST010401, SPB030102, SPB020402, PLG010207, PCT060601, PLK030401, PCT060202,	Si Sa Ket, Ubon Ratchathani, Suphan Buri, Nakhon Sawan, Phitsanulok, Kamphaeng Phet, Chai Nat, Phatthalung, Nakhon Si Thammarat, Phichit,
Group 2: grey color	Type1: short pyriform Type2: pyriform	CRI010103, MKM010101, PCT040301, CNT010401, CNT010203, PLG010205, PCT020101,	CNT010104, NST010501, PLK050502, PLG010101, CNT010501, NST020408, PCT020102,	SPB020111, NST040201, KPT050403, NST010405, NST020406, PLG010204, PLK020501,	Chai Nat, Suphan Buri, Maha Sarakham, Nakhon Si Thammarat, Phichit, Phitsanulok, Kamphaeng Phet, Phatthalung.
		PLK030701, PLK030702, PLK010201, PLK020901			
Group 3: dark grey color	Type2: pyriform Type3: long pyriform	SBR0105, UBN010101, NST010202, PCT040603, NST020407,	CNT010110, MKM010110, NSN010701, SPB020401, PLK050501,	SSK010110, CNT010201, KPT040204, NST010404, PLK050902	Sing Buri, Chai Nat, Si Sa Ket, Ubon Ratchathani, Maha Sarakham, Nakhon Si Thammarat, Nakhon Sawan, Kamphaeng Phet, Phichit, Suphan Buri, Phitsanulok.
Group 4: black color	Type2: pyriform	NST010201, SPB020302	PCT040703,	PCT040701,	Nakhon Si Thammarat, Phichit, Suphan Buri.
Group 5: white color	Type2: pyriform	CRI010101, SPB020403, NST010402, PCT020201			Chiang Rai, Suphan Buri, Nakhon Si Thammarat, Phichit,

3. การจำแนกสายพันธุ์ (race) เชื้อราโรคไหม้ของข้าวบนข้าวชุดทดสอบ

จากการปลูกเชื้อรา *P. oryzae* ที่สุ่มมาจากแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทยจำนวน 80 ไอโซเลท บนข้าวชุดทดสอบจำนวน 9 สายพันธุ์ พบว่า สามารถจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อราได้ 47 สายพันธุ์ (race) ซึ่งมีการกระจายตัวในจังหวัดต่าง ๆ เช่น race 19 ประกอบไปด้วย ไอโซเลท MKM010101, NST010402, PLG010102 และ PLK010801 ที่มาจาก จ. มหาสารคาม นครศรีธรรมราช พัทลุง และพิษณุโลก และสามารถพบเชื้อได้มากกว่า 1 race ในพื้นที่เดียวกัน เช่น ในพื้นที่ จ. สุพรรณบุรี พบ race 17, race 21, race 28, race 1, race 36 และ race 41 โดยปฏิกิริยาการตอบสนองของสายพันธุ์ข้าวชุดทดสอบมีความแตกต่างกัน (Figure 3) แสดงให้เห็นว่า เชื้อรามีความผันแปรภายในประชากร ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของเสาวลักษณ์ และคณะ (2554) พบว่า เชื้อที่เก็บจากสถานที่ต่าง ๆ เมื่อนำมาทดสอบความรุนแรงในการก่อให้เกิดโรคไหม้ในข้าวพันธุ์ทดสอบ เชื้อแต่ละสายพันธุ์มีรูปแบบของการก่อให้เกิดโรคต่อพันธุ์ข้าวที่ต่างกัน และสอดคล้องกับการรายงานของพูนศักดิ์ และคณะ (2550) ที่มีการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อโดยปลูกเชื้อลงบนพันธุ์ข้าวชุดทดสอบที่มียีนต้านทานเดี่ยว (Near isogenic line) จำนวน 18 สายพันธุ์ จากเชื้อจำนวนทั้งหมด 2,476 ไอโซเลท สามารถจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อได้ 623 สายพันธุ์ เชื้อราสาเหตุโรคไหม้นี้มีความหลากหลาย โดยเชื้อที่มาจากจังหวัดเดียวกันหรือในแหล่งเดียวกันนั้นมีพันธุกรรมที่แตกต่างกัน และยังพบความแตกต่างของขนาดแผลในการก่อให้เกิดโรคบนข้าวชุด NILs ซึ่งเกิดจากสายพันธุ์ของเชื้อที่เข้าทำลายที่แตกต่างกัน

Figure 3 Blast disease symptom at 11 days after inoculation with isolate PLK030701 (race 46) on differential varieties of rice; A: IRBLa-A varieties, B: IRBLi-F5 varieties, C: IRBLt-K59 varieties, D: IRBLta-CP1 varieties

4. การจัดกลุ่มสายพันธุ์ (Physiological races) ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ของข้าว

เมื่อนำข้อมูลค่าดัชนีการเกิดโรคที่ได้จากการปลูกเชื้อรา *P. oryzae* จำนวน 80 ไอโซเลท บนข้าวชุดทดสอบจำนวน 9 สายพันธุ์ มาวิเคราะห์และจัดกลุ่ม (Figure 4) สามารถจัดกลุ่มของสายพันธุ์เชื้อรา *P. oryzae* ได้ 13 กลุ่ม (Table 2) มีค่า cophenetic correlation เท่ากับ 0.80 การใช้ข้อมูลค่าดัชนีการเกิดโรคในการวิเคราะห์การจัดกลุ่มของสายพันธุ์เชื้อรานี้พบว่า กลุ่มที่ 9 ซึ่งประกอบไปด้วย race 20, race 32, race 35, race 44, race 40, race 28, race 31, race 30, race 26,

race 22, race 46, race 45, race 19, race 16 และ race 47 มีความผันแปรสูงที่สุด และพบ race 3 เพียงพื้นที่เดียว และแยกออกจากกลุ่มอื่นอย่างชัดเจน นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อที่อยู่ในสายพันธุ์เดียวกันก็ไม่ได้ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันทั้งหมด เนื่องจากเชื้อแต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการเข้าทำลายข้าวได้แตกต่างกัน และการจัดกลุ่มเชื้อสายพันธุ์ต่าง ๆ ไม่มีความสัมพันธ์กับแหล่งที่มาของเชื้อ โดยแต่ละพื้นที่สามารถพบเชื้อรา *P. oryzae* มากกว่าหนึ่งสายพันธุ์ แสดงให้เห็นว่าประชากรเชื้อรามีความผันแปรสูง นอกจากนี้ ยังพบอีกว่าเชื้อที่มาจากพื้นที่ภาคเหนือมีความรุนแรงในการเกิดโรคบนข้าวพันธุ์ทดสอบมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ นวรัตน์ และนงลักษณ์ (2557) ที่พบว่า ประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่มาจากพื้นที่ภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีการเกิดโรคที่รุนแรงปานกลางถึงรุนแรงมาก และเชื้อที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันจะมีความสามารถในการก่อโรคที่รุนแรงคล้ายกัน ข้อมูลการจัดกลุ่มสายพันธุ์ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้นี้เป็นประโยชน์สำหรับนักปรับปรุงพันธุ์ข้าว ทำให้สามารถเลือกตัวแทนของกลุ่มสายพันธุ์ของเชื้อราสำหรับประเมินความต้านทานโรคไหม้ของข้าวได้อย่างเหมาะสม และสามารถปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่ระบาดในพื้นที่ต่าง ๆ ได้อย่างถูกต้อง

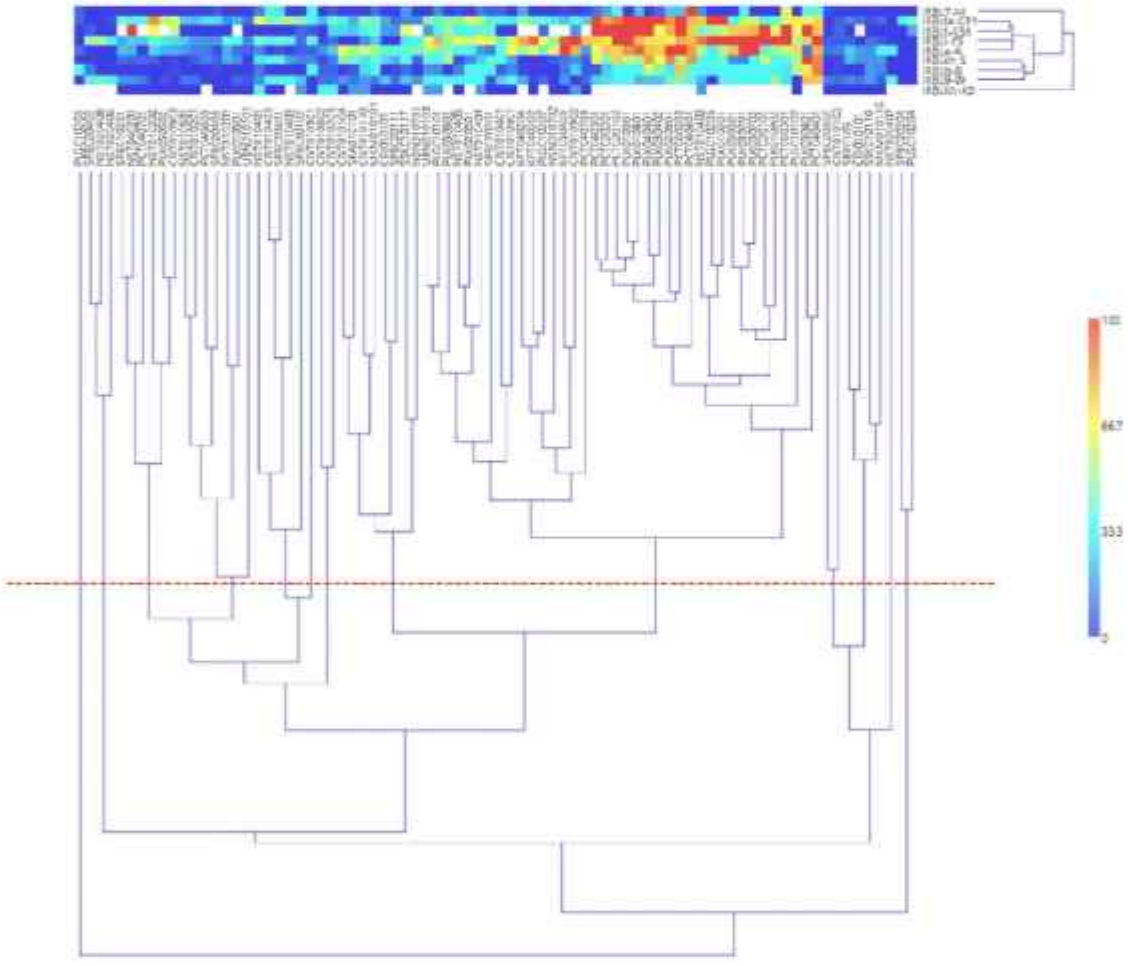

Figure 4 Dendrogram obtained from disease index of blast disease on 9 differential varieties after inoculation with 80 isolates of *Pyricularia oryzae* (47 races)

Table 2 Physiological races of *Pyricularia oryzae* obtained from UPGMA method using disease index evaluation on 9 differential varieties of rice

Race group	Races no. (Isolate no.)
group 1	race 3: PLG010206
group 2	race 41: SPB020402, NST020408, NST020406
group 3	race 21: SPB010201, PCT040701 race 23: NST040201 race 25: NST010202 race 27: PLK050502 race 38: CNT010903
group 4	race 1: UBN010101 race 21: SPB020403, PCT040603, CNT010201, NST010501 race 22: PLK010501, NST010201
group 5	race 33: NST010401 race 34: CNT010403 race 36: SPB020401 race 43: NST010403 race 21: SPB030102
group 6	race 39: CNT010501
group 7	race 29: CNT010802 race 37: CNT010203
group 8	race 15: CNT010104 race 14: SKA010101, CRI010103 race 16: CNT010110 race 19: MKM010101 race 17: SPB020111 race 18: SSK010117 race 26: NSN010701
group 9	race 20: UBN010103, CNT010401 race 32: PLG010101, PCT040301, PLK050902, PCT020201, PLK010201 race 35: NST010405 race 44: PLK020501, PLK050501 race 40: NST010404 race 28: SPB020201 race 31: CNT010901 race 30: KPT040204, KPT040202, PLG010207, NSN010702, CNT010902 race 26: KPT050403 race 22: PCT040703 race 46: PCT040401, PCT020102, PLK030701, PCT060301, PCT060601 race 45: PCT020101, PLK010902, PCT060202, PLK030702, PLK020901, PLK010901 race 19: PLG010102, PLK010801, NST010402, PLK040401, PLK030402 race 16: PLG010205 race 47: PLK030401
group 10	race 1: SPB020302, CNT010102
group 11	race 1: SBR0105, CRI010101, SSK010110 race 24: MKM010110
group 12	race 42: NST020407
group 13	race 21: SPB020204, PLG010204

สรุปผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างใบข้าวที่แสดงอาการเป็นโรคไหม้ซึ่งเกิดจากเชื้อรา *P. oryzae* ในพื้นที่การปลูกข้าวที่สำคัญของประเทศไทย และสุ่มเชื้อราที่ได้จากแหล่งต่าง ๆ จำนวน 80 ไอโซเลท เพื่อประเมินการผันแปรของสายพันธุ์ สามารถจำแนกเชื้อรา *P. oryzae* ได้ 47 สายพันธุ์ (race) และสามารถจัดกลุ่มของสายพันธุ์เชื้อรา *P. oryzae* ได้ 13 กลุ่ม แสดงให้เห็นว่า ประชากรเชื้อรา *P. oryzae* จากพื้นที่ปลูกข้าวที่สำคัญของประเทศไทยมีความผันแปรแตกต่างกัน บางพื้นที่พบเพียงสายพันธุ์เดียว แต่บางพื้นที่พบหลายสายพันธุ์ ดังนั้น ข้อมูลนี้สามารถนำไปใช้ในการพัฒนาปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานโรคไหม้ในประเทศไทยให้เหมาะสมกับสายพันธุ์ของเชื้อราที่ระบาดในแต่ละพื้นที่

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ที่ให้ความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์ข้าวและสนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้ภายใต้โครงการ "การพัฒนาระบบ RiceFit แนะนำพันธุ์ข้าวที่เหมาะสมสำหรับการ

ปลูกในพื้นที่และฤดูกาล" (รหัสโครงการ P-18-51456) และขอบคุณภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ที่เอื้อเฟื้อด้านสถานที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2562. สถานการณ์ศัตรูพืชระบาด. แหล่งข้อมูล: http://www.moac.go.th. สืบค้น: 15 กรกฎาคม 2566.

พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ และวีณา เมฆวัฒนากาญจน์. 2559. โรคไหม้ของข้าว. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี, อุบลราชธานี.

พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจ์ พะยอม โคเบลลี่ อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ ถนอมจิตร์ ฤทธิ์มนตรี กุลชนา เกศ สุวรรณ ชนสิริน กลิ่นมณี และสงวน เที่ยงตีฤทธิ์. 2550. การตรวจสอบความหลากหลายของสายพันธุ์ เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวในประเทศไทย. วารสารวิชาการข้าว. 1(1): 52-64.

สมคิด ดิสถาพร. 2532. ข้าวนาปราบโรคข้าว. สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย. 116 หน้า.

เสาวลักษณ์ อัคราช ประภา ศรีพิจิตต์ และธานี ศรีวงศ์ชัย. 2554. การวิเคราะห์จัดกลุ่มความต้านทานเชื้อโรคไหม้ของข้าวพันธุ์ปรับปรุงด้วยเชื้อที่เก็บรวบรวมใหม่. หน้า 581-588. ใน: เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49 สาขาพืช. กรุงเทพฯ.

นวรัตน์ ใจหอม และนงลักษณ์ เภรินทวงค์. 2557. การประเมินความหลากหลายและการจัดกลุ่มความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวที่เก็บรวบรวมในประเทศไทย. หน้า 71-78. ใน: เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 52: สาขาพืช. 2557. กรุงเทพฯ.

Apinya, L., T. Sucheela and J. Chatchawan. 2020. Morphological characterization and genetic diversity of rice blast fungus, *Pyriculario oryzae*, from Thailand using ISSR and SRAP markers. Journal of Fungi. 6(1): 38.

Bonman, J.M. 1992. Blast. pp 14-17. In: Webster, R.K. and P.S. Gunnell (eds). Compendium of Rice Diseases. APS Press, St. Paul. CAB International, Wallingford, Oxon, U.K.

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.

Jones, J.D.G. and J.L. Dangl. 2006. The plant immune system. Nature. 444: 323-329.

Koizumi, S. 2008. Durability of resistance to rice blast disease. pp 1-10. In: Differential Systems for Blast Resistance for Stable Rice Production Environment. Technical Report Vol. 53. Y. Fukuta, C.M. Vera Cruz and N. Kobayashi. (eds.) Japan International Research Center for Agricultural Sciences (JIRCAS). Tsukuba, Ibaraki, Japan.

McMaugh, T. 2008. Guidelines for surveillance for plant pests in Asia and the Pacific. The Australian Centre for International Agricultural Research (ACIAR) Monograph 119, 199 p.

Mekwatanakarn, P., W. Kositratana, M. Levy and R.S. Zeigler. 1999. Sexual fertile *Magnaporthe grisea* rice pathogens in Thailand. Plant Disease. 83(10): 939-943.

Mekwatanakarn, P., W. Kositratana, M. Levy and R.S. Zeigler. 2000. Pathotype and avirulence gene diversity of *Pyriculario grisea* in Thailand as determined by rice lines near-isogenic for major resistance genes. Plant Disease. 84(1): 60-70.

Roumen, E., M. Levy and J.L. Notteghem. 1997. Characterization of the European pathogen population of *Magnaporthe grisea* by DNA finger printing and pathotype analysis. European Journal of Plant Pathology. 103: 363-371.

Zeigler, R.S., L.X. Cuoc, R.P. Scott, M.A. Bernardo, D.H. Chen, B. Valent and R.J. Nelson. 1995. The relationship between lineage and virulence in *Pyriculario grisea* in the Philippines. Phytopathology. 85: 443-451.

Zhou, E., Y. Jia, P. Singh, J.C. Correll and F.N. Lee. 2007. Instability of the *Magnaporthe oryzae* avirulence gene AVR-Pita alters virulence. Fungal Genetics and Biology. 44(10): 1024–1034.