

การตอบสนองของข้าวบางพันธุ์ต่อเชื้อรา *Exserohilum rostratum* สาเหตุโรคใบจุดในข้าว
และการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนพืชระหว่างข้าวถูกทำลาย
Response of Some Rice Varieties against the Fungus, *Exserohilum rostratum*,
Causing Leaf Spot Disease on Rice and Expression of Plant Hormone
Responsive Genes in Rice during Infection

ญาติวี บุญก่อน^{1/} วีระณีย์ ทองศรี^{1/} ปฐวิภา สงกุมาร^{1/*}
Yatavee Boonkorn^{1/} Veeranee Tongsri^{1/} Pattavipha Songkumarn^{1/*}

Received 29 May 2024/Revised 11 Jul. 2024/Accepted 23 Jul. 2024

ABSTRACT

Exserohilum rostratum is an ascomycete fungus causing leaf spot on rice and rice seed discoloration in rice-growing areas of several countries. The objectives of this study were to evaluate the response of some rice varieties against *E. rostratum* and to analyse the expression of plant hormone-responsive genes during infection. Five different rice varieties, Khao Dawk Mali 105 (KDML105), RD31, RD41, Pathum Thani 1, and Jao Hom Nin (JHN) were inoculated with each representative *E. rostratum* isolate (n=10). Results showed that JHN exhibited the lowest level of disease severity whereas KDML105 displayed the greatest disease severity when infected by *E. rostratum*. Subsequently, these two varieties were analysed to elucidate their respective defense mechanisms against *E. rostratum*. Expression of plant hormone-responsive genes, including *OsPR1b* and *OsPBZ1* (salicylic acid-responsive defense genes), *JiOsPR10* (jasmonic acid-responsive defense gene), and *OsEBP89* (ethylene-responsive gene), were examined with quantitative real-time RT-PCR in KDML105 and JHN inoculated with *E. rostratum* at 24, 48, and 72 hours. The findings demonstrated that all of the tested genes were upregulated, with the highest levels observed mostly at 24-48 hours after inoculation in both rice varieties, indicating the involvement of these rice genes in response to *E. rostratum* infection. Indeed, the mechanism of rice resistance to *E. rostratum* may not be regulated through the jasmonic acid and ethylene signaling pathways. In summary, this study provides information on the potential rice leaf spot resistant variety and fundamental insights contributing to an enhanced comprehension of rice defense mechanisms against *E. rostratum*.

^{1/} ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กรุงเทพฯ 10900

^{1/} Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok 10900, Thailand

* Corresponding author: fagrpps@ku.ac.th

Keywords: rice leaf spot; *Exserohilum rostratum*; plant hormone-responsive genes; plant defense genes; plant disease resistance

บทคัดย่อ

Exserohilum rostratum เป็นเชื้อราในกลุ่ม ascomycete ที่ก่อให้เกิดอาการใบจุดและเมล็ดต่างในข้าวในพื้นที่ปลูกข้าวหลายประเทศ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินการตอบสนองของพันธุ์ข้าวบางชนิดต่อการเข้าทำลายของ *E. rostratum* และวิเคราะห์การแสดงออกของยีนในข้าวที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนพืชระหว่างการเข้าทำลายของเชื้อรา *E. rostratum* โดยทำการปลูกเชื้อราแต่ละไอโซเลต (n=10) ในข้าว 5 พันธุ์ ได้แก่ ขาวดอกมะลิ 105 กข31 กข41 ปทุมธานี 1 และเจ้าหอมนิล พบว่า ข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิลแสดงระดับอาการโรคต่ำสุด ในขณะที่ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 แสดงระดับอาการโรคสูงสุด ดังนั้น ข้าวทั้งสองพันธุ์จึงนำมาใช้ในการศึกษากลไกการป้องกันตนเองของพืชจากการเข้าทำลายโดย *E. rostratum* โดยยีนที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนพืช ได้แก่ *OsPR1b* และ *OsPBZ1* (ยีนป้องกันตนเองในข้าวที่ตอบสนองต่อกรดซาลิไซลิก) *JiOsPR10* (ยีนป้องกันตนเองในข้าวที่ตอบสนองต่อกรดจัสโมนิก) และ *OsEBP89* (ยีนที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนเอทิลีน) ตรวจสอบการแสดงออกของยีนในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และเจ้าหอมนิล ด้วยวิธี quantitative real-time RT-PCR ที่เวลา 24 48 และ 72 ชม. ภายหลังการปลูกเชื้อรา ผลการทดลองพบว่า ยีนทุกชนิดที่ดำเนินการตรวจสอบในงานวิจัยนี้มีการยกระดับการแสดงออกของยีน และยีนส่วนใหญ่พบการแสดงออกในระดับสูงที่เวลา 24-48 ชม. ภายหลังการปลูกเชื้อในพันธุ์ข้าวทั้งสองพันธุ์ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ยีน

ดังกล่าวมีบทบาทเกี่ยวข้องในการตอบสนองของข้าว ระหว่างการเข้าทำลายของ *E. rostratum* ทั้งนี้กลไกการต้านทานต่อเชื้อรา *E. rostratum* ในข้าวอาจไม่ได้ถูกควบคุมผ่านวิถีสัญญาณกรดจัสโมนิก และฮอร์โมนเอทิลีน งานวิจัยนี้ได้นำเสนอข้อมูลชนิดพันธุ์ข้าวที่มีศักยภาพในการต้านทานต่อโรคใบจุดข้าวและข้อมูลพื้นฐาน เพื่อสร้างความเข้าใจในเรื่องกลไกการป้องกันตนเองของข้าวต่อเชื้อรา *E. rostratum*

คำสำคัญ: ใบจุดข้าว; เชื้อราก่อโรคใบจุดข้าว; ยีนที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนพืช; ยีนป้องกันตนเองของพืช; ความต้านทานโรคพืช

บทนำ

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจหลักของประเทศไทย จากสถิติการเกษตรปี พ.ศ. 2566 พบว่า ประเทศไทยเป็นหนึ่งในผู้ผลิตข้าวที่สำคัญเป็นลำดับที่ 6 ของโลก มีปริมาณการผลิตข้าวประมาณ 22 ล้านตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566) อย่างไรก็ตามการผลิตข้าวให้ได้คุณภาพและปริมาณตามความต้องการยังคงเกิดปัญหาย่างต่อเนื่อง โดยหนึ่งในปัญหาดังกล่าวได้แก่ ความเสียหายที่เกิดจากเชื้อก่อโรคพืช ทั้งนี้องค์ความรู้ที่เกี่ยวข้องกับโรคข้าว ในด้านประชากรเชื้อก่อโรค ชีววิทยาของเชื้อก่อโรค และการจัดการโรคข้าวในประเทศไทยนั้นยังคงจำกัดอยู่ในกลุ่มโรคข้าวหลัก (major diseases) เช่น โรคไหม้ของข้าวจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* และโรคขอบใบแห้งจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (ดารา และคณะ 2550) เป็นต้น แต่องค์ความรู้ของโรคข้าวที่เกิดจากเชื้อก่อโรคชนิดอื่น ๆ ที่จัดอยู่ในกลุ่มลำดับรองยังมีข้อมูลไม่มากนัก

Exserohilum rostratum (anamorph) หรือ *Setosphaeria rostrata* (teleomorph) จัดเป็นเชื้อราในคลาส Dothideomycetes ไฟลัม Ascomycota เป็นกลุ่มแซโพรไฟต์ (saprophyte) พบได้ทั่วไปทั้งในดิน และเศษซากพืช และสามารถเป็นเชื้อก่อโรคพืชที่สร้างความรุนแรงในระดับปานกลางถึงสูง (Wu and Turgeon, 2013) มีรายงานเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของ *E. rostratum* และอาการใบจุดของข้าวในหลายพื้นที่ทั่วโลก สำหรับในประเทศไทย มีรายงานการพบ *E. rostratum* ซึ่งแยกได้จากเมล็ดข้าวที่แสดงอาการเมล็ดต่าง (กัญญา, 2545) นอกจากนี้ Boonkorn et al. (2024) ได้รวบรวมใบข้าวที่แสดงอาการจุดขนาดเล็กในแปลงนาข้าวพื้นที่ภาคกลางของประเทศไทยในปี พ.ศ. 2558–2565 และนำมาแยกเชื้อสาเหตุพร้อมทั้งพิสูจน์เชื้อสาเหตุตามหลักการ Koch's postulates พบ *E. rostratum* เป็นหนึ่งในเชื้อราที่มีความสัมพันธ์กับอาการใบจุดขนาดเล็กของข้าว เนื่องจากเชื้อรา *E. rostratum* สามารถเข้าทำลายพืชได้ทั้งใบเลี้ยงเดี่ยว เช่น ข้าว ข้าวสาลี ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ถั่วลิสง อ้อย และพืชใบเลี้ยงคู่ เช่น มะเขือเทศ และถั่ว (Lin et al., 2011; Ahmadpour et al., 2013; Kusai et al., 2016; Farag and Attia, 2020) ดังนั้นการปลูกพืชหมุนเวียนเพื่อตัดวงจรชีวิตของเชื้อราจึงทำได้ยาก นอกจากนี้ Gomes et al. (2023) รายงานว่า *E. rostratum* จัดเป็นเชื้อราดำรงชีพได้ดีในสภาวะแวดล้อมที่มีอุณหภูมิสูง ดังนั้น การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศซึ่งมีสาเหตุจากภาวะโลกร้อนอาจส่งผลให้โรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อราดังกล่าวสร้างผลกระทบต่อการผลิตข้าวในอนาคตได้

การจัดการโรคพืชโดยอาศัยหลักการต้านทานโรค เช่น การใช้พันธุ์พืชที่มีลักษณะต้านทานโรคที่ดี จัดเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูง รวมถึงการ

กระตุ้นความต้านทานในพืชต่อเชื้อก่อโรคพืชโดยอาศัยตัวกระตุ้นที่มีประสิทธิภาพจัดเป็นวิธีที่ปลอดภัยและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ทั้งนี้พืชมีระบบภูมิคุ้มกันเพื่อการป้องกันตนเอง 2 รูปแบบ ได้แก่ PAMP-triggered immunity (PTI) และ effector-triggered immunity (ETI) โดยทั้ง 2 รูปแบบต้องอาศัยการทำงานของตัวรับสัญญาณพืช (plant receptor) ในการทำหน้าที่รับสัญญาณ (signal) ซึ่งเป็นสิ่งเร้าจากภายนอก ทั้งนี้ PTI จัดเป็นระบบภูมิคุ้มกันขั้นแรกซึ่งเกิดจากตัวรับสัญญาณพืชที่เรียกว่า pattern recognition receptors (PRRs) รับสัญญาณแบบทั่วไป (general elicitor) เช่น pathogen-associated molecular patterns (PAMPs) ได้แก่ ชิ้นส่วนที่มาจากจุลินทรีย์ซึ่งคงความอนุรักษะไว้ในจุลินทรีย์กลุ่มหนึ่ง ๆ อาทิ โคติน สายสั้น ๆ ซึ่งมาจากองค์ประกอบผนังเซลล์ของเชื้อรา สำหรับ ETI จัดเป็นระบบภูมิคุ้มกันพืชในขั้นที่สองที่อาศัยการทำงานของโปรตีนรับสัญญาณพืชที่เรียกว่า โปรตีนต้านทาน (resistant protein, R protein) ทำหน้าที่รับสัญญาณแบบจำเพาะที่เรียกว่า เอฟเฟกเตอร์ (effector) ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีความจำเพาะถูกผลิตในจุลินทรีย์แต่ละชนิด (Jones and Dangl, 2006) เมื่อโปรตีนรับสัญญาณพืชรับสัญญาณตัวกระตุ้นแล้วจะกระตุ้นระบบป้องกันตนเองของพืชให้ผลิตอาวุธในรูปแบบโปรตีน ในกลุ่ม pathogenesis related genes (PR genes) สารทุติยภูมิที่เรียกว่า phytoalexin และสารเคมี reactive oxygen species (ROS) ซึ่งมีความสามารถในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ รวมถึงกระตุ้นให้พืชพัฒนาโครงสร้างให้มีความแข็งแรงต่อการบุกรุกของจุลินทรีย์ที่รุกรานพืช เป็นต้น (Ding et al., 2022) การกระตุ้นระบบการป้องกันตนเองของพืชนั้นมีความซับซ้อนซึ่งอาศัยการทำงานจากเครือข่าย

สัญญาณ (signal network) ที่หลากหลาย โดยฮอร์โมนพืชจัดเป็นสัญญาณโมเลกุลชนิดหนึ่งที่สำคัญในการทำหน้าที่ควบคุมระบบการป้องกันตนเองของพืช เพื่อให้เกิดการตอบสนองอย่างจำเพาะต่อสิ่งเร้าแต่ละชนิดที่เข้ามากระตุ้นพืช (Alazem and Lin, 2015) โดยกรดซาลิไซลิก (salicylic acid) กรดจัสโมนิก (jasmonic acid) และเอทิลีน (ethylene) มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นระบบป้องกันตนเองของพืช (Yang and Fernando, 2021) ทั้งนี้กรดซาลิไซลิกและกรดจัสโมนิก มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นยีนที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันตนเองของข้าว (Tamaoki et al., 2013) ซึ่งองค์ความรู้ดังกล่าวนำไปสู่แนวทางการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อต้านทานโรคโดยอาศัยวิธีการทางเทคโนโลยีชีวภาพโดยการใช้ประโยชน์จากยีนของพืชที่เกี่ยวข้องในกระบวนการสร้างความต้านทานต่อโรคพืช หรือการใช้ประโยชน์ฮอร์โมนพืชเพื่อเป็นตัวกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันพืช (Poveda, 2020)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินระดับการตอบสนองต่อโรคใบจุดข้าวที่เกิดจาก *E. rostratum* ในพันธุ์ข้าว กข31 กข41 ปทุมธานี 1 ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิล และศึกษาการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนพืชหลัก ได้แก่ กรดซาลิไซลิก กรดจัสโมนิก และเอทิลีน ซึ่งยีนดังกล่าวมีความเกี่ยวข้องกับการป้องกันตนเองของพืช โดยดำเนินการตรวจสอบการแสดงออกของยีนดังกล่าวในพันธุ์ข้าวที่แสดงระดับการเกิดโรคใบจุดในระดับต่ำสุดและสูงสุด ทั้งนี้ผลการวิจัยที่ได้จะนำไปสู่หลักการสร้างความต้านทานในพืช

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การประเมินระดับการตอบสนองของพันธุ์ข้าวต่อเชื้อรา *E. rostratum*

1.1 ไอโซเลตเชื้อราที่ใช้ในงานวิจัย

เชื้อรา *E. rostratum* จำนวน 10 ไอโซเลต ได้แก่ ER-SBR1 ER-CCO2 ER-CCO4 ER-CCO6 ER-PTE2-1 ER-PTE33-1 ER-PTE33-2 ER-PTE35-1 ER-BKK1-3 และ ER-BKK12-9 ซึ่งรวบรวมในห้องปฏิบัติการ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ นำมาใช้ในการดำเนินงานวิจัย โดย *E. rostratum* ทั้ง 10 ไอโซเลต มีแหล่งที่มาจากแปลงนาข้าวในเขตภาคกลางของประเทศไทย และได้รับการตรวจสอบลักษณะสัณฐานวิทยาและชีววิทยาโมเลกุล แล้วมีความใกล้เคียงกับ *E. rostratum* accession number MT524320 ด้วยความเหมือน (Identity) 100% รวมถึงผ่านการพิสูจน์โรคตามหลักการของ Koch's postulates เรียบร้อยแล้ว

1.2 การเตรียมต้นข้าวเพื่อปลูกเชื้อรา

พันธุ์ข้าว จำนวน 5 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวพันธุ์นิยมปลูกในภาคกลางจำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่ กข31 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี ข้าวพันธุ์กข41 และปทุมธานี 1 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยข้าวชัยนาท รวมถึงข้าวพันธุ์นิยมบริโภคในประเทศไทยและต่างประเทศ ได้แก่ ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งจัดซื้อจากศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าวสุรินทร์ และพันธุ์ข้าวที่มีรายงานว่า มีระดับการเกิดโรคใบจุดสีน้ำตาลที่เกิดจากเชื้อรา *Bipolaris oryzae* ในระดับต่ำ ได้แก่ พันธุ์เจ้าหอมนิล (Songkumarn et al., 2019) ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จ. นครปฐม

นำเมล็ดข้าวทั้ง 5 พันธุ์ มาแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชม. แล้วเทน้ำทิ้ง จากนั้นนำเมล็ดข้าวไปวางบนภาชนะที่มีกระดาษชำระอเนกประสงค์ซึ่งหนึ่งฆ่าเชื้อแล้วและให้ความชื้น บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน จากนั้น นำต้นกล้าข้าวย้ายไปปลูกในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 นิ้ว กระถางละ 5 ต้น จำนวน 3 กระถาง/พันธุ์ ปลูกในสภาพโรงเรือนทำการใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 ทุก ๆ 7 วัน จนมีอายุครบ 30 วัน

1.3 การเตรียมเชื้อราและสารแขวนลอยของสปอร์เชื้อรา

นำเชื้อรา *E. rostratum* ไอโซเลตต่าง ๆ มาเลี้ยงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) โดยบ่มเลี้ยงเชื้อราที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน ไอโซเลตเชื้อราที่ไม่สามารถผลิตสปอร์บนอาหาร PDA โดยตรงจะถูกนำมากระตุ้นการสร้างสปอร์โดยตัดชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อรา (mycelial plug) ขนาดกว้าง x ยาว 1 ตร.ซม. วางบนกระดาษกรอง Whatman (เบอร์ 1) ปราศจากเชื้อที่ขึ้นในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ โดยให้ส่วนของเส้นใยอยู่ด้านบน บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จากนั้น ทำการเก็บเกี่ยวสปอร์ของเชื้อราที่เจริญรอบขอบชิ้นวุ้นเส้นใย โดยใช้น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อผสมกับ tween 20 (0.01%) ปรับสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราให้มีความเข้มข้น 5×10^4 สปอร์/มล. โดยใช้ haemocytometer ในการนับจำนวนสปอร์ของเชื้อรา

1.4 การประเมินระดับการตอบสนองของพันธุ์ข้าวต่อเชื้อราก่อโรคใบจุด

ทำการทดสอบเปรียบเทียบระดับการตอบสนองของข้าว จำนวน 5 พันธุ์ ต่อเชื้อรา *E. rostratum* จำนวน 10 ไอโซเลต โดยแต่ละไอโซเลตทดสอบแยกจากกันอย่างอิสระ วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด เปรียบเทียบ 5 กรรมวิธี (พันธุ์) 3 ข้ำ

โดยมีกรรมวิธีฉีดพ่นด้วยน้ำหนึ่งฆ่าเชื้อผสมกับ tween 20 (0.01%) เป็นชุดควบคุมของข้าวแต่ละพันธุ์ ใช้เทคนิค detached leaf แล้วฉีดพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราในระดับความเข้มข้น 5×10^4 สปอร์/มล. (เตรียมจากข้อ 1.3)

การเตรียมใบข้าวแต่ละพันธุ์-โดยตัดใบข้าวอายุ 30 วัน มาเรียงในกล่องพลาสติกขนาด 19×28 ซม. มีวิธีการเตรียมตัวอย่างทดลองดังนี้ เตรียมถุงพลาสติกซิปล็อคขนาด 7×10 ซม. ทำการตัดช่องเพียง 1 ด้านของถุงพลาสติกให้มีตำแหน่งอยู่บริเวณด้านบนของปากถุงห่างจากตำแหน่งปิดผนึกถุงลงมา 1 ซม. จำนวน 5 ช่อง/ถุง โดยตัดช่องมีขนาดของช่องเท่ากับฐานใบพืชทดสอบ นำน้ำหนึ่งฆ่าเชื้อบรรจุในถุงพลาสติกปริมาตร 40 มล. ปิดปากถุงซิปล็อคให้แน่น จากนั้นนำใบข้าวที่ตัดแต่ละพันธุ์สอดฐานใบผ่านช่องด้านบนถุงพลาสติก วางเรียง 5 ใบ/ถุง แล้วนำไปวางบนแผ่นฟิวเจอร์บอร์ดในกล่องพลาสติก ที่วางอยู่ในสภาพเอียง 45° จำนวน 2 ถุง/กล่อง ข้าวแต่ละพันธุ์เตรียมใบข้าวจำนวน 30 ใบ เพื่อการปลูกเชื้อ เติมน้ำปริมาตร 200 มล. ลงในกล่องเพื่อให้มีความชื้นสูงระหว่างการปลูกเชื้อ จากนั้นทำการฉีดพ่นสปอร์ปริมาตรรวม 5 มล./กล่อง ให้ทั่วบริเวณใบข้าวแล้วปิดฝากล่องพลาสติก นำไปบ่มเลี้ยงเชื้อในตู้ควบคุมการเจริญของพืชในสภาพให้แสง 12 ชม. และมีมืด 12 ชม. ที่อุณหภูมิ 30°C . เป็นเวลา 72 ชม.

การประเมินระดับการตอบสนองของพันธุ์ข้าวต่อเชื้อราก่อโรคใบจุด จากพื้นที่ใบที่แสดงอาการโรค โดยใช้โปรแกรม Adobe photoshop ฟังก์ชัน color range เพื่อให้โปรแกรมจับภาพผลที่ต้องการตรวจสอบ และให้รายงานค่าเป็นพื้นที่ในหน่วย pixels ด้วยฟังก์ชัน histogram คำนวณหา % พื้นที่ใบที่แสดงอาการโรค โดยใช้สูตรดังนี้

$$\text{พื้นที่ใบที่แสดงอาการโรค (\%)} = (\text{พื้นที่ใบที่แสดงอาการโรค} / \text{พื้นที่ใบทั้งหมด}) \times 100$$

ทำการหาค่าเฉลี่ยของ%พื้นที่ใบที่แสดงอาการโรคโดยทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ ที่เป็นอิสระจากกัน และวิเคราะห์ข้อมูลความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 22.0 (IBM Corp., Armonk, NY)

2. การวิเคราะห์การแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนพืชในข้าวที่ปลูกเชื้อรา

ในงานวิจัยนี้มุ่งเน้นศึกษาการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนพืช จำนวน 4 ยีน ได้แก่ 1) *OsPR1b* (*Oryza sativa* pathogenesis-related protein 1b) 2) *OsPBZ1* (*Oryza sativa* pathogenesis-related protein 10a) 3) *JiOsPR10* (Jasmonate inducible rice pathogen-related class 10 protein) และ 4) *OsEBP89* (*Oryza sativa* ethylene-responsive element binding protein, clone 89) โดยยีนที่ 1 และ 2 อยู่ในกลุ่ม pathogenesis related genes (PR genes) ซึ่งมีความเกี่ยวข้องกับการป้องกันตนเองของพืชต่อสิ่งแปลกปลอมที่บุกรุกพืช และสามารถถูกกระตุ้นโดย butylated hydroxytoluene (BHT) ซึ่งเป็นสารเคมี analog กับกรดซาลิไซลิก (Shimono et al., 2007) ขณะที่การแสดงออกของยีน *JiOsPR10* ถูกกระตุ้นได้ด้วยกรดจัสโมนิก (Jwa et al., 2001) และ *OsEBP89* เป็นยีนที่ถูกกระตุ้นได้ด้วยสาร 1-Aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฮอร์โมนเอทิลีน (Yang and Fernando, 2021)

2.1 การเตรียมตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์การแสดงออกของยีน

นำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์เจ้าหอมนิล ซึ่งแสดงการเกิดโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *E. rostratum* ในระดับสูงสุดและต่ำสุดมาใช้ในการศึกษาการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันตนเองของพืชภายใต้การควบคุมโดยวิธีฮอร์โมนพืชหลักชนิดต่าง ๆ โดยนำเมล็ดข้าวทั้ง 2 พันธุ์ มาแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชม. แล้วเทน้ำทิ้ง บ่มไว้ในกระดาดชำระเอนกประสงค์หนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน จากนั้นนำไปปลูกในกระถางพลาสติกขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 นิ้ว โดยแบ่ง 1 กระถางออกเป็น 2 ส่วน ในแต่ละส่วนทำการปลูกข้าวแต่ละพันธุ์ จำนวน 8 ต้น รวม 16 ต้น ทำการทดลอง 8 กระถาง (ซ้ำ) ปลูกในสภาพโรงเรือน ทำการใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 ทุก ๆ 7 วัน จนมีอายุครบ 30 วัน จากนั้นจึงนำกระถางที่ปลูกข้าวมาบรรจุลงในถุงพลาสติกที่มีการหล่อน้ำเพื่อให้ความชื้น ฉีดพ่นสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อรา *E. rostratum* ไอโซเลตที่มีความสามารถในการสร้างสปอร์ได้ดี ความเข้มข้นประมาณ 5×10^4 สปอร์/มล. ให้ปกคลุมทั่วผิวใบของตัวอย่างพืชจำนวน 4 กระถาง และฉีดพ่นน้ำนิ่งฆ่าเชื้อที่ผสม tween 20 (0.01%) จำนวน 4 กระถางเป็นชุดควบคุม จากนั้น ปิดปากถุงพลาสติกไว้เพื่อคงความชื้นสูงในระหว่างการปลูกเชื้อรา ทำการเก็บตัวอย่างข้าวหลังจากปลูกเชื้อเป็นเวลา 0 24 48 และ 72 ชม. โดยตัดเก็บตัวอย่างเฉพาะส่วนของใบข้าวจำนวน 2 ต้น จากแต่ละกระถางแบบสุ่มในแต่ละช่วงระยะเวลาที่เก็บตัวอย่างพืช นำตัวอย่างใบข้าวเก็บแช่ในไนโตรเจนเหลวก่อนเก็บที่ -80 °ซ.

2.2 การเตรียม cDNA และการศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยวิธี quantitative realtime RT-PCR

บดตัวอย่างใบข้าวด้วยไนโตรเจนเหลวให้เป็นผงละเอียดประมาณ 100 มก. จากนั้น ทำการสกัดอาร์เอ็นเอทั้งหมด (total RNA) โดยใช้ชุดสกัด RNeasy plant mini kit (Qiagen, USA) นำส่วนของอาร์เอ็นเอทั้งหมดมาสังเคราะห์เป็น cDNA โดยใช้ชุด iScript reverse transcription supermix (Biorad, USA) และนำ cDNA ที่ได้ไปวิเคราะห์การ

แสดงออกของยีนโดยวิธี quantitative realtime RT-PCR ใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะกับยีนที่เกี่ยวข้องกับระบบป้องกันตนเองของพืชในวิถีฮอร์โมนชนิดต่าง ๆ (Table 1) ทำการวิเคราะห์ผลการแสดงออกของยีนจำนวน 3 ซ้ำ ในแต่ละตัวอย่าง cDNA ที่เวลาต่าง ๆ กัน โดยใช้ realtime PCR ในระบบตรวจจับสัญญาณ SYBR green fluorescence ประเมินระดับการแสดงออกของยีนเชิงสัมพัทธ์ (relative expression) โดยคำนวณตามวิธีของ Livak and Schmittgen (2001) ดังนี้

$$\text{Relative expression} = 2^{\frac{\Delta C_t, \text{ target (control-sample)}}{\Delta C_t, \text{ reference (control-sample)}}$$

โดย target	หมายถึง ยีนป้องกันตนเองของพืชที่ต้องการตรวจสอบ
reference	หมายถึง ยีน <i>Actin</i> ในข้าว (<i>Os03g50890</i>)
control	หมายถึง กลุ่มตัวอย่างข้าวจากการปลูกเขี่ยด้วยน้ำนิ่งฆ่าเชื้อผสม tween 20 (0.01%)
sample	หมายถึง กลุ่มตัวอย่างข้าวจากการปลูกเขี่ยรา <i>E. rostratum</i>

Table 1 Sequences of plant hormone responsive genes and reference gene specific primers used for the real-time quantitative reverse transcription polymerase chain reaction

Gene	Sequence (3'->5')	Reference
Salicylic acid-responsive genes		
<i>OsPR1b</i>	F: GGCAACTTCGTCGGACAGA R: CCGTGGACCTGTTTACATTTTCA	Duan et al., 2014
<i>OsPBZ1</i>	F: CCCTGCCGAATACGCCTAA R: CTCAAACGCCACGAGAATTG	Liu et al., 2015
Jasmonic acid-responsive gene		
<i>JiOsPR1b</i>	F: CGGACGCTTACAATAAATCG R: AAACAAAACCATCTCCGACAG	De Vleeschauwer et al., 2010
Ethylene-responsive gene		
<i>OsEBP89</i>	F: TGACGATCTTGCTGAACTGAA R: CAATCCCACAACTTTACACA	De Vleeschauwer et al., 2010
Rice reference gene		
<i>OsActin</i> (<i>Os03g50890</i>)	F: CAGCACATTCCAGCAGAT R: GGCTTAGCATTCTTGGGT	Duan et al., 2014

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การตอบสนองของพันธุ์ข้าวบางพันธุ์ต่อเชื้อรา *E. rostratum*

การตอบสนองของพันธุ์ข้าวทั้ง 5 พันธุ์ต่อเชื้อรา *E. rostratum* มีความแตกต่างกันทางสถิติในทุกไอโซเลตที่ทำการทดสอบ (10 ไอโซเลต) พบว่า ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 แสดงระดับการเกิดโรคสูงสุด (อ่อนแอ) 94.92% เมื่อปลูกเชื้อด้วยเชื้อราไอโซเลต ER-PTE33-1 (Table 2) และข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิลแสดงระดับการเกิดโรคต่ำสุด (ต้านทาน) ในทุกไอโซเลตของเชื้อรา ขณะที่ข้าวพันธุ์ กข31 กข41 และปทุมธานี 1 มีระดับการเกิดโรคแตกต่างกันไปในแต่ละไอโซเลต อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาการตอบสนองของพันธุ์ข้าวต่อเชื้อรา *E. rostratum* ในภาพรวมในทุกไอโซเลต พบว่าขาวดอกมะลิ 105 อ่อนแอต่อโรคมามากที่สุด โดยแสดงอาการ 78.53% ในขณะที่ข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิลแสดงลักษณะต้านทานต่อโรค แสดงอาการน้อยที่สุด 6.44% (Table 2 และ Figure 1) ซึ่งลักษณะความต้านทานแบบสมบูรณ์นั้น เกิดจากการทำงานของยีนต้านทาน ซึ่งเป็นยีนหลัก โดยยีนดังกล่าวจะทำการสังเคราะห์โปรตีนต้านทาน ทำหน้าที่รับสัญญาณโปรตีนที่หลังจากเชื้อก่อโรคพืช ส่งผลให้พืชกระตุ้นการสร้างความต้านทานมาต่อต้านการเข้าทำลายของเชื้อก่อโรคพืช (Jones and Dangl, 2006) ปัจจุบันมีการรายงานข้อมูลของยีนต้านทาน ซึ่งเป็นยีนหลักในข้าวต่อโรคพืช เช่น โรคไหม้ข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *P. oryzae* โรคกาบใบแห้งจากเชื้อรา *R. solani* และโรคขอบใบแห้งที่เกิดจากแบคทีเรีย *Xoo* (Ramalingam et al., 2020) แต่ยังไม่มีการรายงานยีนต้านทานหลักที่มีประสิทธิภาพในการต้านทานโรคของข้าวที่เกิดจากเชื้อราชนิดอื่น ๆ โดยในงานวิจัยนี้พบว่า ข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิลมีความ

ต้านทานสูงสุดต่อโรคใบจุดที่เกิดจากเชื้อรา *E. rostratum* ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าข้าวพันธุ์ดังกล่าวมีพันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะความต้านทานแบบไม่สมบูรณ์ หรือความต้านทานแบบบางส่วน (partial resistance) โดยแสดงอาการโรคในระดับปริมาณน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์อ่อนแอ และตอบสนองต่อเชื้อราต่างไอโซเลตหรือต่างสายพันธุ์ในระดับใกล้เคียงกัน โดยพันธุกรรมที่ควบคุมลักษณะความต้านทานดังกล่าวอาจมีความเกี่ยวข้องกับหลายตำแหน่งบนโครโมโซม และมีความทนทานยาวนานเมื่อนำไปใช้ในสภาพแปลงปลูก (Pilet-Nayel et al., 2017) ทั้งนี้ลักษณะการตอบสนองของข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิลต่อเชื้อรา *E. Rostratum* มีความคล้ายคลึงกับการตอบสนองของพันธุ์ข้าวดังกล่าวต่อเชื้อราก่อโรคใบจุดสีน้ำตาลในข้าวที่เกิดจาก *B. oryzae* ซึ่งแสดงปริมาณของแผลจุดน้อย (Songkumarn et al., 2019) แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของแหล่งพันธุกรรมต้านทานในข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิลต่อเชื้อราก่ออาการจุดในข้าว *B. oryzae* และ *E. rostratum*

2. การแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนพืชระหว่างข้าวถูกเข้าทำลายโดย *E. rostratum*

ภาพรวมการแสดงออกของยีน *OsPR1b* *OsPBZ1* *JiOsPR10* และ *OsEBP89* ในข้าว พบว่าข้าวทั้ง 2 พันธุ์ ตอบสนองต่อ *E. rostratum* โดยมีการแสดงออกของยีนส่วนใหญ่ในระดับสูงในช่วงเวลา 24 - 48 ชม. และลดระดับในช่วงท้ายของการเข้าทำลายของเชื้อ (72 ชม.) (Figure 2 และ 3) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ข้าวทั้งสองชนิดซึ่งแสดงอาการของโรคในระดับต่ำและในระดับสูงมีการตอบสนองต่อ *E. Rostratum* โดยอาศัยการแสดงออกของยีนชนิดต่าง ๆ ที่คล้ายคลึงกัน

และอาศัยการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันตนเองหลากหลายชนิด (*PR1b* *PBZ1* *JiOsPR10*) ในระหว่างการติดเชื้อ *E. rostratum* ซึ่งการแสดงออกของยีนทั้ง 4 ชนิด ในระดับสูงระหว่างข้าวถูกเข้าทำลายโดยเชื้อราก่อโรคนี้อาจสอดคล้องกับรายงานของ De Vleeschauwer et al. (2010) ที่พบการแสดงออกของยีนทั้ง 4 ชนิดในระดับสูงในพันธุ์ข้าวอ่อนแอที่ถูกเข้าทำลายโดยเชื้อรา *B. oryzae* ก่อโรคใบจุดสีน้ำตาล รวมถึงงานวิจัยของ Jwa et al. (2001) และ Wang et al. (2014) ที่รายงานถึงยีน *JiOsPR10* *OsPR1b* และ *OsPBZ1* มีการแสดงออกสูงในพันธุ์ข้าวอ่อนแอต่อโรคไหม้ภายหลังการปลูกเชื้อรา *M. oryzae* การตอบสนองของยีนจากงานวิจัยนี้มีความคล้ายคลึงกันในพันธุ์ข้าวทั้งสองพันธุ์ แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ว่าการแสดงออกของยีน *OsPR1b* *OsPBZ1* *JiOsPR10* และ *OsEBP89* ในข้าว นั้นอาจเกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันพื้นฐานของพืชที่ตอบสนองต่อการเข้าทำลายของเชื้อราก่อโรคในข้าว

ผลการทดลองพบว่า มีเพียงยีน *OsPR1b* ในพันธุ์ข้าวเจ้าหอมนิลที่มีการแสดงออกของยีนในระดับสูงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยตรวจพบที่เวลา 24 ชม. ภายหลังการปลูกเชื้อ *E. Rostratum* ไอโซเลต ER-PTE33-1 (Figure 2A กรอบเส้นประสีแดง) จึงเป็นไปได้ว่า การแสดงออกของยีน *OsPR1b* ที่เร็วกว่าและมีการแสดงออกของยีนในระดับสูงอาจส่งผลให้พันธุ์ข้าวเจ้าหอมนิลจำกัดการเข้าทำลายของเชื้อรา *E. rostratum* ได้ดีกว่าข้าวพันธุ์ขาว

ดอกมะลิ 105 ดังนั้นอาจเป็นไปได้ว่าวิธีสัญญาณกรดกรดจัสโมนิกและวิธีสอร์โมนเอทิลีนไม่ได้มีบทบาทหลักในการทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับลักษณะต้านทานต่อเชื้อรา *E. Rostratum* อย่างไรก็ตาม การติดตามการแสดงออกของยีนในงานวิจัยนี้ ทำการตรวจสอบโดยเว้นช่วงเวลาทุก ๆ 24 ชม. และเมื่อพิจารณาอาการจุดบนใบข้าวพบว่า อาการจุดบนใบข้าว นั้นสามารถสังเกตได้ด้วยตาเปล่าที่เวลา 24 ชม. เป็นต้นไป

งานวิจัยนี้ยังคงไม่สามารถสรุปความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะความต้านทานต่อเชื้อรา *E. rostratum* ในข้าว กับวิธีสัญญาณกรดซาลิไซลิก เนื่องจาก *OsPR1b* สามารถยกระดับการแสดงออกของยีนในข้าวเมื่อถูกกระตุ้นด้วยฮอร์โมนพืชชนิดอื่น ๆ ได้เช่นกัน เช่น กรดจัสโมนิก กรดแอบไซซิก (abscisic acid) รวมถึงฮอร์โมนไคเนติน (kinetin) (Agrawal et al., 2000) แต่จากการศึกษาของ Kouzai et al. (2018) พบว่า วิธีสัญญาณกรดซาลิไซลิกมีบทบาทเกี่ยวข้องกับความต้านทานต่อเชื้อรา *R. solani* ก่อโรคกาบใบแห้งในข้าว ดังนั้นจึงควรมีการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดซาลิไซลิกที่สะสมภายในพืชระหว่างการเข้าทำลายโดยเชื้อรา *E. rostratum* ร่วมกับการแสดงออกของยีน *OsPR1b* และ *OsPBZ1* ในข้าวทั้งสองพันธุ์ ต่อไปเพื่อยืนยันถึงบทบาทที่ชัดเจนของกรดซาลิไซลิกในการทำหน้าที่เป็นสัญญาณโมเลกุลที่กระตุ้นความต้านทานต่อเชื้อรา *E. rostratum* ในข้าว

Table 2 Percentage of damaged leaf area of 5 rice varieties; Khao Dawk Mali 105 (KDML105), Rice Department31 (RD31), Rice Department41 (RD41), Pathum Thani 1 (PTT1), and Jao Hom Nin (JHN) after 72 hours separately inoculated with each isolates of *Exserohilum rostratum*

Isolate	Mean of damaged leaf area (%) on rice varieties				
	KDML 105	RD31	RD41	PTT1	JHN
ER-SBR1	79.80 ± 5.72 a ^{1/}	33.60 ± 4.26 d	65.72 ± 2.76 b	46.96 ± 4.24 c	6.22 ± 3.10 e
ER-CCO2	75.34 ± 6.69 a	44.02 ± 6.16 c	54.55 ± 8.92 b	50.99 ± 5.83 b	10.87 ± 4.10 d
ER-CCO4	73.23 ± 12.97 a	46.01 ± 7.37 c	52.32 ± 5.89 c	63.24 ± 3.65 b	10.76 ± 4.31 d
ER-CCO6	77.68 ± 3.96 a	43.77 ± 6.33 c	64.95 ± 3.11 b	64.53 ± 3.59 b	3.94 ± 3.18 d
ER-PTE2-1	75.23 ± 5.68 a	29.91 ± 4.51 d	50.64 ± 5.60 b	39.83 ± 6.68 c	5.80 ± 3.92 e
ER-PTE33-1	94.92 ± 3.86 a	32.25 ± 5.92 d	66.95 ± 4.82 b	59.12 ± 8.26 c	16.02 ± 6.88 e
ER-PTE33-2	80.13 ± 6.10 a	19.86 ± 4.17 d	32.53 ± 5.83 b	26.91 ± 3.69 c	2.53 ± 1.59 e
ER-PTE35-1	73.80 ± 5.86 a	24.16 ± 3.88 d	51.90 ± 8.10 b	36.43 ± 3.50 c	2.74 ± 1.34 e
ER-BKK1-3	70.31 ± 9.29 a	29.32 ± 6.56 c	46.03 ± 6.69 b	50.67 ± 7.45 b	1.39 ± 0.81 d
ER-BKK12-9	84.81 ± 3.44 a	32.59 ± 5.92 c	47.59 ± 5.95 b	30.46 ± 5.26 c	4.15 ± 3.17 d
All isolates ^{2/}	78.53 ± 7.09 a	33.55 ± 8.68 d	53.32 ± 10.56 b	46.91 ± 13.28 c	6.44 ± 4.67 e

^{1/} Means in the same row, followed by a common letter are not significantly different at the 5% level by DMRT

^{2/} n=10

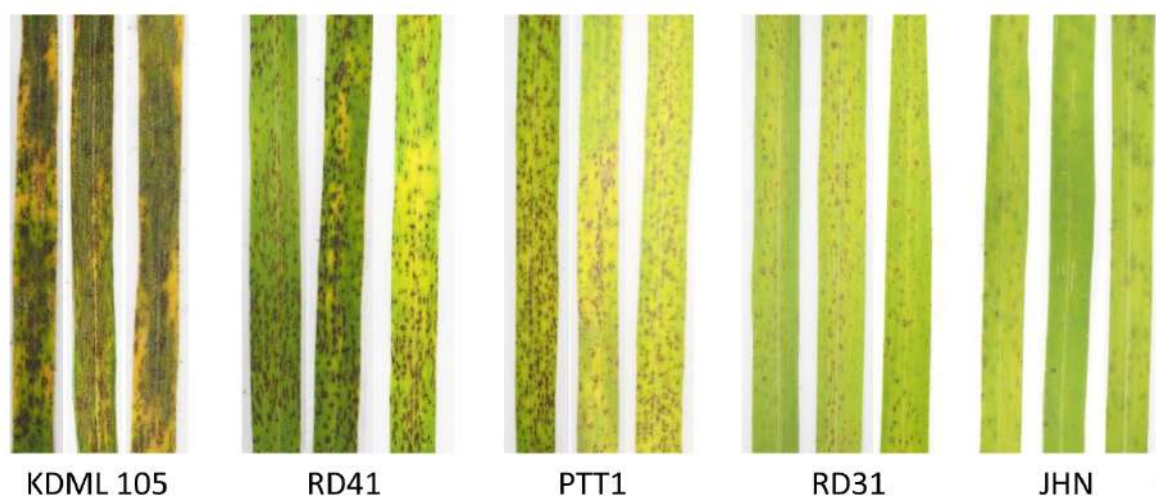


Figure 1 Rice leaf spot expression on the leaves of different rice varieties after the infection of the representative *Exserohilum rostratum* isolate PTE33-1; Disease formation on Khao Dawk Mali 105 (KDML105), Rice Department31 (RD31), Rice Department41 (RD41), Pathum Thani 1 (PTT1) and Jao Hom Nin (JHN) after 72 hours of *E. rostratum* infection on 30-day-old leaves with detached leaf inoculation technique

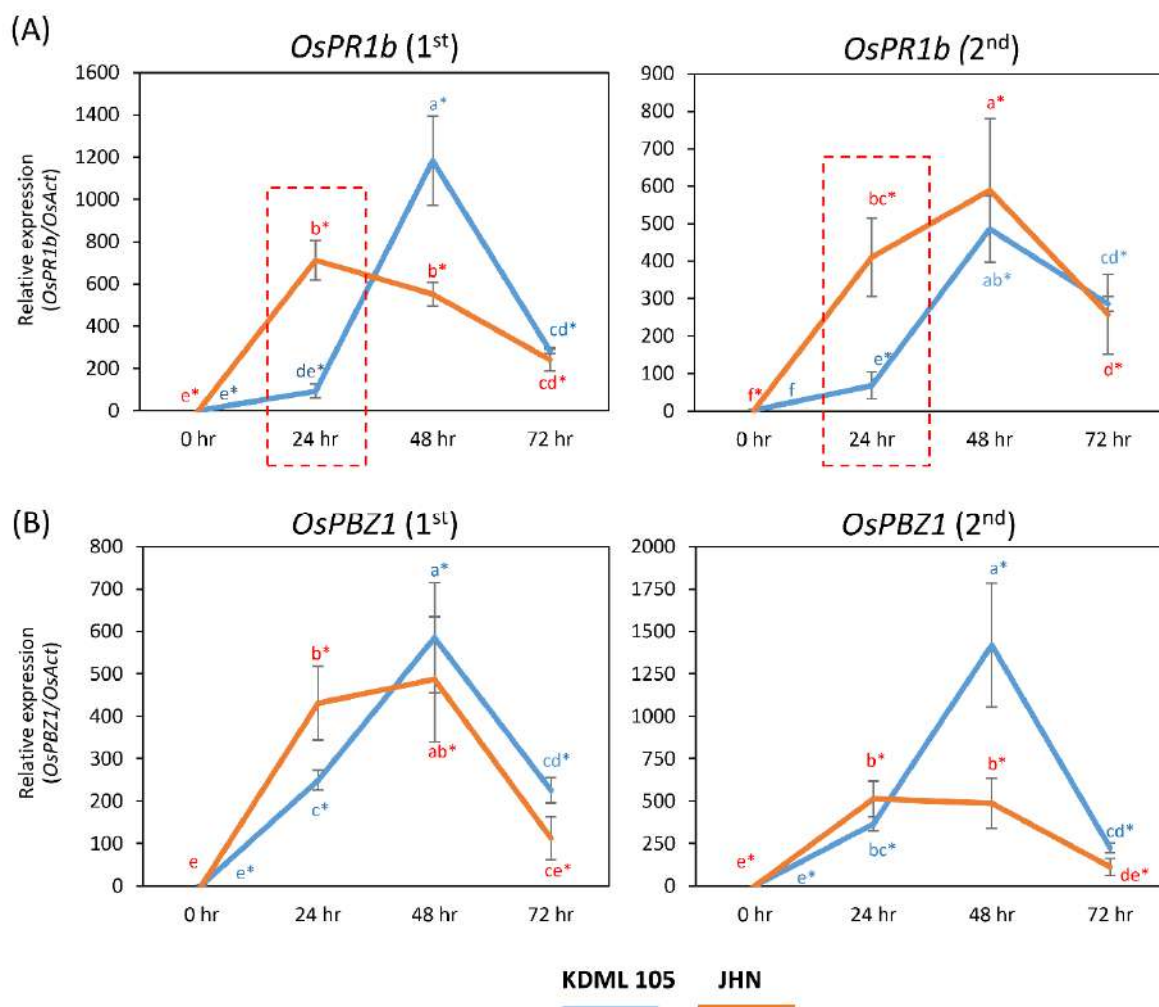


Figure 2 Gene expression analysis of salicylic acid (SA) responsive defense genes: *OsPR1b* (A) and *OsPBZ1* (B) in rice variety Khao Dawk Mali 105 (KDML105) (blue line) and Jao Hom Nin (JHN) (red line) infected with *Exserohilum rostratum* isolate PTE33-1 at 0, 24, 48 and 72 hours; Relative expression levels of the target genes (*OsPR1b* and *OsPBZ1*) were normalized to those of the rice Actin gene (*OsActin*); The bars represent mean $\pm$ SD from three technical replicates. Asterisk indicates significant difference at $P < 0.05$ between control tissue samples and infected tissue samples as determined by t-test; Means followed by different letters are significantly different among individual tissue samples with the treatment of *E. rostratum* at different time points of inoculation as indicated by DMRT at $P < 0.05$; Two independent experiments of each gene were performed and their results were separately presented (as the 1st and 2nd in the figure)

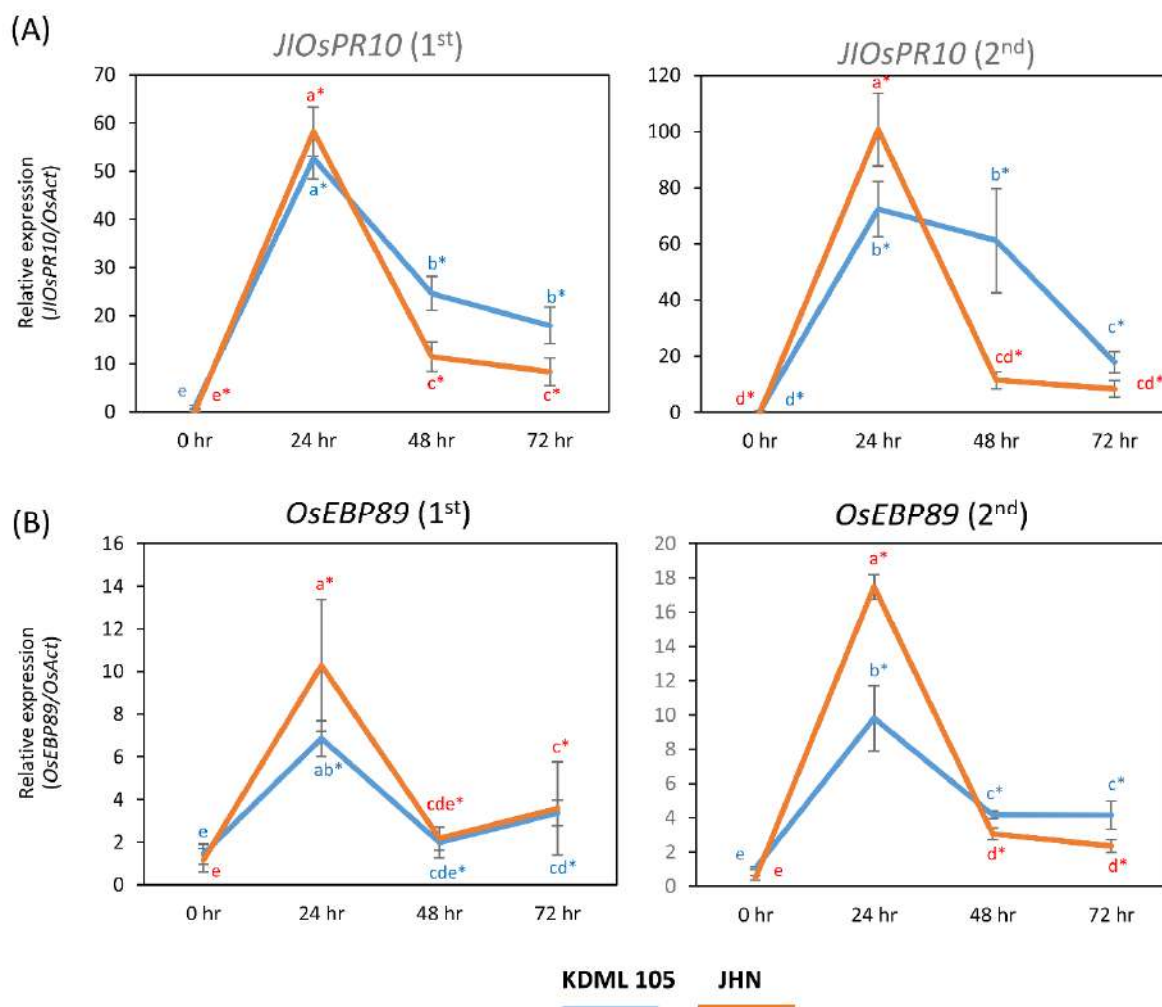


Figure 3 Gene expression analysis of jasmonic acid (JA) responsive defense gene, *JiOsPR1b* (A) and ethylene responsive gene, *OsEBP89* (B) in rice variety Khao Dawk Mali 105 (KDML105) (blue line) and Jao Hom Nin (JHN) (red line) infected with *Exserohilum rostratum* isolate PTE33-1 at 0, 24, 48 and 72 hours; Relative expression levels of the target genes (*JiOsPR1b* and *OsEBP89*) were normalized to those of the rice Actin gene (*OsActin*); The bars represent mean $\pm$ SD from three technical replicates; Asterisk indicates significant difference at $P < 0.05$ between control tissue samples and infected tissue samples as determined by t-test; Means followed by different letters are significantly different among individual tissue samples with the treatment of *E. rostratum* at different time points of inoculation as indicated by DMRT at $P < 0.05$; Two independent experiments of each gene were performed and their results were separately presented (as the 1st and 2nd in the figure)

สรุปผลการทดลอง

การตอบสนองของพันธุ์ข้าว กข31 กข41 ปทุมธานี 1 ขาวดอกมะลิ 105 และเจ้าหอมนิลต่อเชื้อรา *E. rostratum* จำนวน 10 ไอโซเลต พบว่าข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 แสดงระดับการเกิดโรคสูงสุดและข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิลแสดงระดับการเกิดโรคต่ำสุดในทุกไอโซเลตที่นำมาทดสอบ ทั้งนี้เมื่อทำการตรวจสอบการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อฮอร์โมนพืชและมีความเกี่ยวข้องกับกลไกการป้องกันตนเองของข้าว ได้แก่ *OsPR1b* และ *OsPBZ1* (ยีนเครื่องหมายในวิถีกรดซาลิไซลิก) *JiOsPR10* (ยีนเครื่องหมายในวิถีกรดจัสโมนิก) และ *OsEBP89* (ยีนเครื่องหมายในวิถีฮอร์โมนเอทิลิน) ในพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์เจ้าหอมนิลระหว่างการเข้าทำลายโดยเชื้อรา *E. rostratum* พบว่า ยีนทั้ง 4 ชนิด มีการยกระดับการแสดงออกของยีนสูงในพันธุ์ข้าวทั้งสองชนิด แสดงให้เห็นถึงการทำงานของยีนดังกล่าว ที่มีส่วนเกี่ยวข้องกับการตอบสนองของข้าวต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *E. rostratum* อาจเป็นไปได้ว่าวิถีสัญญาณกรดจัสโมนิกและฮอร์โมนเอทิลินไม่มีบทบาทเกี่ยวข้องกับความต้านทานต่อเชื้อรา *E. rostratum* ในข้าว งานวิจัยนี้ทำให้ทราบข้อมูลพันธุ์ข้าวที่แสดงการเกิดโรคใบจุดในระดับต่ำ ซึ่งอาจมีศักยภาพในการนำมาใช้ประโยชน์สำหรับการจัดการโรคข้าวที่เกิดจากเชื้อรา *E. rostratum* รวมถึงวางรากฐานความเข้าใจในเรื่องกลไกในการตอบสนองของข้าวและความต้านทานของข้าว-นำเสนอข้อมูลเบื้องต้นเพื่อสร้างความเข้าใจเกี่ยวกับกลไกในการตอบสนองของข้าวเพื่อป้องกันตนเองจากเชื้อรา *E. rostratum* ในระดับโมเลกุล รวมถึงกลไกในการสร้างความต้านทานเชื้อรา *E. rostratum* ในข้าวที่เกี่ยวข้องกับวิถี

ฮอร์โมนหลักของพืช ซึ่งองค์ความรู้ดังกล่าวนำไปสู่การวางรากฐานแนวคิดการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีชีวภาพรวมถึงฮอร์โมนพืชเพื่อเพิ่มศักยภาพข้าวให้ต้านทานต่อเชื้อรากลุ่มโรคใบจุดต่อไป

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ส่วนหนึ่งได้รับงบประมาณสนับสนุนจากศูนย์ประสานงานนักเรียนทุนรัฐบาลทางด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม และสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

เอกสารอ้างอิง

- กัญญา เจริญไทย. 2545. เชื้อรา Dematiaceous Hyphomycetes บนข้าว ข้าวโพด วัชพืชใบแคบ และดินบริเวณราก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 163 หน้า.
- ดารา เจตนะจิตร นงรัตน์ นิลพานิชย์ พากเพียร อรัณนารถ วิชิต ศิริสันธนะ วิชชุดา รัตนกาญจน์ และรัศมี ฐิติเกียรติพงศ์. 2550. โรคข้าวและการป้องกันกำจัด. สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว, กรุงเทพฯ. 68 หน้า.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2566. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2566. Available at: <https://www.oae.go.th/assets/portals/1/files/journal/2567/statistic2566.pdf>. Accessed: April 29, 2024.
- Agrawal, G.K, R. Rakwal and N.S. Jwa. 2000. Rice (*Oryza sativa* L.) *OsPR1b* gene is phytohormonally regulated in close interaction with light signals. Biochemical and Biophysical Research Communications. 278(2): 290-298.

- Ahmadpour, A., S. Karami, Z. Heidarian and M. Javan-Nikkhah. 2013. *Exserohilum rostratum* causing sugarcane leaf spot in Iran. Australasian Plant Disease Notes. 8: 97–99.
- Alazem, M. and N.S. Lin. 2015. Roles of plant hormones in the regulation of host-virus interactions. Molecular Plant Pathology. 16: 529–540.
- Boonkorn, Y., V. Tongsri, O. Piasai and P. Songkumarn. 2024. Characterization, pathogenicity and fungicide response of *Exserohilum rostratum* causing leaf spot on rice in Thailand. European Journal of Plant Pathology. 170: 549–566.
- De Vleeschauwer, D., Y. Yang, C. Vera Cruz and M. Höfte. 2010. Absciscic acid-induced resistance against the brown spot pathogen *Cochliobolus miyabeanus* in rice involves MAP kinase-mediated repression of ethylene signaling. Plant Physiology. 152(4): 2036–2052.
- Ding, L.N., Y.T. Li, Y.Z. Wu, T. Li, R. Geng, J. Cao, W. Zhang and X.L. Tan. 2022. Plant disease resistance-related signaling pathways: Recent progress and future prospects. International Journal of Molecular Sciences. 23(24): 16200.
- Duan, C., J. Yu, J. Bai, Z. Zhu and X. Wang. 2014. Induced defense responses in rice plants against small brown planthopper infestation. The Crop Journal. 2(1): 55–62.
- Farag, M.F. and F.M. Attia. 2020. A First record of *Exserohilum rostratum* as a new pathogen causing blight in Egypt. Journal of Plant Pathology & Microbiology. 11: 496.
- Gomes, T.C., R. Conrado, R.C. Oliveira, P. Selari, I.S. Melo, W.L. Araújo, D.A. Maria and A.O. De Souza. 2023. Effect of monocerin, a fungal secondary metabolite, on endothelial cells. Toxins (Basel). 15(5): 344.
- Jones, J.D.G. and J.L. Dangl. 2006. The plant immune system. Nature. 444: 323–329.
- Jwa, N.S., G.K. Agrawal, R. Rakwal, C.H. Park and V.P. Agrawal. 2001. Molecular cloning and characterization of a novel jasmonate inducible pathogenesis-related class 10 protein gene, *JlOsPR10*, from rice (*Oryza sativa* L.) seedling leaves. Biochemical and Biophysical Research Communications. 286: 973–983.
- Kouzai, Y., M. Kimura, M. Watanabe, K. Kusunoki, D. Osaka, T. Suzuki, H. Matsui, M. Yamamoto, Y. Ichinose, K. Toyoda, T. Matsuura, I.C. Mori, T. Hirayama, E. Minami, Y. Nishizawa, K. Inoue, Y. Onda, K. Mochida and Y. Noutoshi. 2018. Salicylic acid-dependent immunity contributes to resistance against *Rhizoctonia solani*, a necrotrophic fungal agent of sheath blight, in rice and *Brachypodium distachyon*. New Phytologist. 217: 771–783.
- Kusai, N.A., M.M.Z. Azmi, N.A.I.M. Zainudin, M.T. Yusof and A.A. Razak. 2016. Morphological and molecular characterization, sexual reproduction, and pathogenicity of *Setosphaeria rostrata* isolates from rice leaf spot. Mycologia. 108: 905–914.
- Lin, S.H., S.L. Huang, Q.Q. Li, C.J. Hu, G. Fu, L.P. Qin, Y.F. Ma, L. Xie, Z.L. Cen and W.H. Yan. 2011. Characterization of *Exserohilum rostratum*, a new causal agent of banana leaf spot disease in China. Australasian Plant Pathology. 40: 246.
- Livak, K.J. and T.D. Schmittgen. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2^{(-Delta Delta C(T))} method. Methods. 25: 402–408.

- Liu, J., C.H. Park, F. He, M. Nagano, M. Wang, M. Bellizzi, K. Zhang, X. Zeng, W. Liu, Y. Ning, Y. Kawano and G.L. Wang. 2015. The RhoGAP SPIN6 associates with SPL11 and OsRac1 and negatively regulates programmed cell death and innate immunity in rice. *PLOS Pathogens*. 11: e1004629.
- Pilet-Nayel, M.L., B. Moury, V. Caffier, J. Montarry, M.C. Kerlan, S. Fournet, C.E. Durel and R. Delourme. 2017. Quantitative resistance to plant pathogens in pyramiding strategies for durable crop protection. *Frontiers in Plant Science*. 8: 1838.
- Poveda, J. 2020. Use of plant-defense hormones against pathogen-diseases of postharvest fresh produce. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. 111: 101521.
- Ramalingam, J., C. Raveendra, P. Savitha, V. Vidya, T.L. Chaithra, S. Velprabakaran, R. Saraswathi, A. Ramanathan, M.P.A. Pillai, S. Arumugachamy and C. Vanniarajan. 2020. Gene pyramiding for achieving enhanced resistance to bacterial blight, blast, and sheath blight diseases in rice. *Frontiers in Plant Science*. 11: 591457.
- Shimono, M., S. Sugano, A. Nakayama, C.J. Jiang, K. Ono, S. Toki and H. Takatsuji, 2007. Rice WRKY45 plays a crucial role in Benzothiadiazole-inducible blast resistance. *The Plant Cell*. 19: 2064–2076.
- Songkumarn, P., P. Chaijuckam, V. Tongsri and J.J.G. Guerrero. 2019. Expression analysis of defense related genes in rice response to *Bipolaris oryzae*, the causal agent of rice brown spot. *Applied Science and Engineering Progress*. 12(2): 104–115.
- Tamaoki, D., S. Seo, S. Yamada, A. Kano, A. Miyamoto, H. Shishido, S. Miyoshi, S. Taniguchi, K. Akimitsu and K. Gomi, 2013. Jasmonic acid and salicylic acid activate a common defense system in rice. *Plant Signaling & Behavior*. 8: e24260.
- Wang, D., Y. Qin, J. Han, L. Zhang, X. Xu, X. Liu, C. Wang and X. Liu. 2014. Expression analysis of innate immunity related genes in the true/field blast resistance gene-mediated defence response. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 28: 999–1007.
- Wu, D. and B.G. Turgeon. 2013. *Setosphaeria rostrata*: Insights from the sequenced genome of *Setosphaeria turcica*. *Fungal Genetics and Biology*. 61:158–163.
- Yang, C. and W.G.D. Fernando. 2021. Hormonal responses to susceptible, intermediate, and resistant interactions in the *Brassica napus-Leptosphaeria maculans* pathosystem. *International Journal of Molecular Sciences*. 22(9): 4714.