(1) 0.4

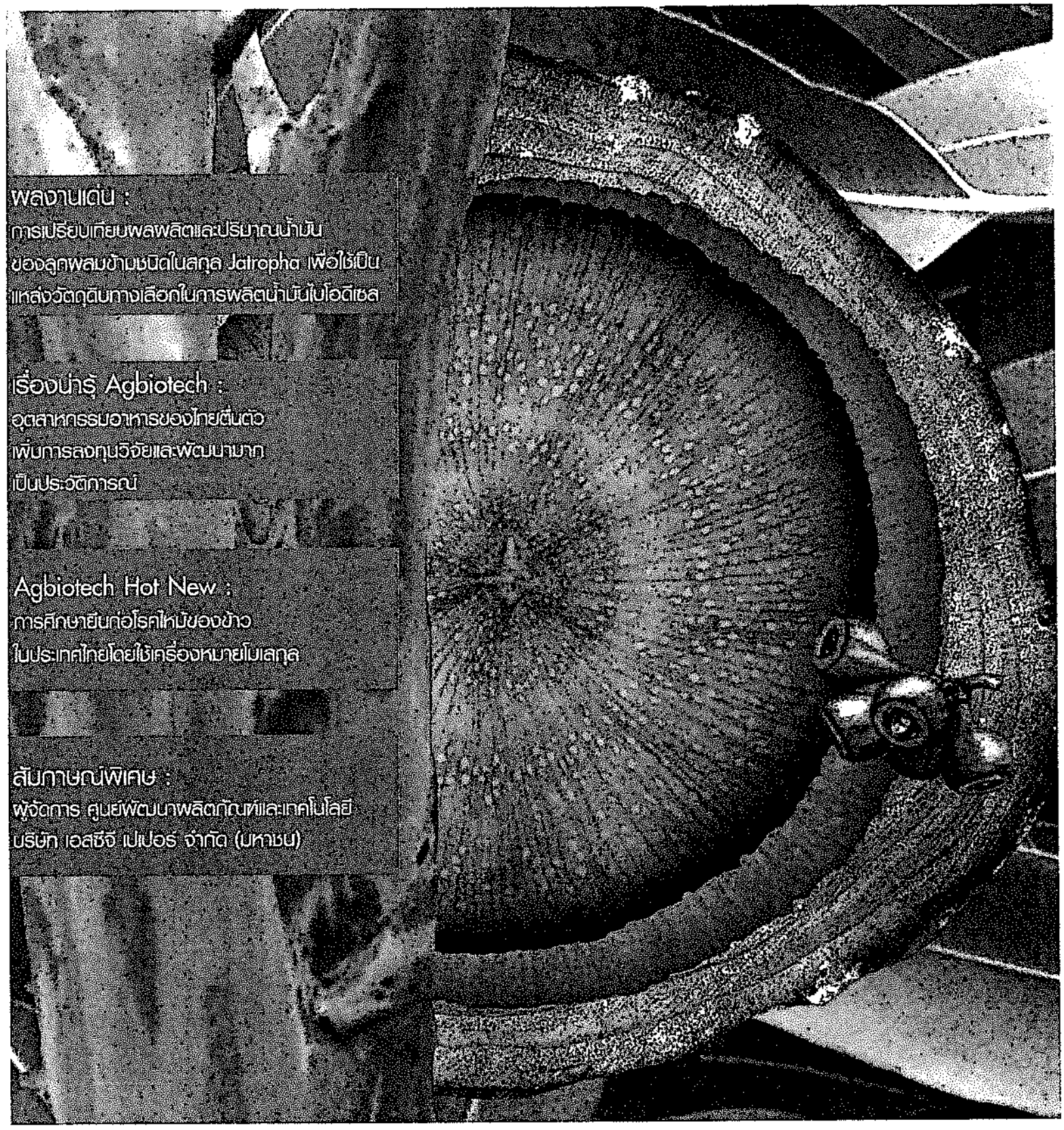
ข่าวสารเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร

AG-BIO PERDO

Newsletter AG-BIO

ปีที่ 6 ฉบับที่ 1-4 มกราคม - ธันวาคม พ.ศ. 2557 Vol.6 No. 1-4 January - December 2014 ISSN: 1905-581

ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษา และวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา



**ผลงานเด่น :**
การเปรียบเทียบผลผลิตและปริมาณน้ำมัน
ของลูกผสมข้ามชนิดในสกุล Jatropha เพื่อใช้เป็น
แหล่งวัตถุดิบทางเลือกในการผลิตน้ำมันไบโอดีเซล

**เรื่องน่ารู้ Agbiotech :**
อุตสาหกรรมอาหารของไทยตื่นตัว
เพิ่มการลงทุนวิจัยและพัฒนามาก
เป็นประวัติการณ์

**Agbiotech Hot New :**
การศึกษายีนก่อโรคใหม่ของข้าว
ในประเทศไทยโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล

**สัมภาษณ์พิเศษ :**
ผู้จัดการ ศูนย์พัฒนาผลิตภัณฑ์และเทคโนโลยี
บริษัท เอสซีจี เปเปอร์ จำกัด (มหาชน)

AgBiotech Hot News

# การศึกษายีนก่อโรคไหม้ของข้าวในประเทศไทยโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล

## Study on Pathogenic Gene Causing of Rice Blast Disease in Thailand using Molecular Markers

นงลักษณ์ เกริมทวงค์[1] นวรัตน์ ใจหอม[1,2] และ สุภาภรณ์ เอี่ยมเช่ง[3]

1. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ 10520
2. ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการอุตสาหกรรม สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ 10900
3. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ชลบุรี 20110

## บทนำ

โรคไหม้ของข้าว (rice blast disease) ที่เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia grisea* Sacc. มีชื่อเรียกในระยะสืบพันธุ์แบบใช้เพศว่า *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr. เป็นสาเหตุหนึ่งที่สำคัญก่อให้เกิดความเสียหายและมีการระบาดของโรคอย่างกว้างขวางทั้งในประเทศไทยและในประเทศเกษตรกรรมอื่นๆ ทั่วโลก สำหรับประเทศไทยนั้นมีการระบาดของโรคมากโดยเฉพาะในพื้นที่ปลูกข้าวภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือซึ่งมีสภาพภูมิอากาศที่เหมาะสมต่อการเข้าทำลายเชื้อราชนิดนี้สามารถเข้าทำลายต้นข้าวได้ทั้ง3ระยะคือระยะต้นกล้าระยะแตกกอและระยะออกรวง ทำให้ข้าวเน่าคอรวงติดเมล็ดไม่ดีส่งผลให้น้ำหนักเมล็ดข้าวลดลง (พูนศักดิ์และคณะ, 2550) ในปี 2553 พบการระบาดในจังหวัดมหาสารคาม อุบลราชธานี และศรีสะเกษ ในช่วงเดือนกันยายน-ธันวาคม มีพื้นที่ได้รับความเสียหายมีถึงประมาณ 93,200 ไร่ (ศรีสวิสดิ์และคณะ, 2010) การระบาดของโรคเกิดขึ้นได้ในพื้นที่ทุกภาคของประเทศโดยเฉพาะพื้นที่ที่มีการปลูกข้าวหอมมะลิ ซึ่งเป็นข้าวสายพันธุ์ที่มีลักษณะเด่นที่ผู้บริโภคข้าวทั้งในและต่างประเทศ แต่มีความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ ทำให้หยุดผลิตลงอย่างต่อเนื่องของผลผลิตข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ค่าวผลิตได้ในประเทศ

เชื้อ *P. grisea* เป็นเชื้อราที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม มีความแปรปรวนของเชื้อมากกว่าเชื้อราชนิดอื่น มีการเปลี่ยนแปลงได้อย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาไม่กี่ชั่วอายุ (Ou, 1985) Giatgong and Frederiksen (1969) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับความแปรปรวนทางพันธุกรรมนี้พบว่าเกิดจากการกลายพันธุ์และการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศทำให้เกิดเชื้อสายพันธุ์ใหม่ๆ ทำให้เชื้อรามีการปรับตัวได้อย่างรวดเร็วในการเข้าทำลายข้าว Mekwatanakarn et al. (2000) พบว่า เชื้อโรคไหม้ในประเทศไทยมีความแปรปรวนและหลากหลายมาก ถูกแหล่งปลูกข้าวอื่นๆ ของโลก เชื้อเกิดขึ้นได้ในทุกแหล่งปลูกข้าว ฤดูปลูกและระยะการเจริญเติบโตของข้าวพูนศักดิ์ และคณะ (2550) ได้รวบรวมเชื้อสาเหตุโรคไหม้จากพื้นที่ในประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2545-2548 พบเชื้อทั้งหมด 2,476 ไอโซเลต สามารถจำแนกได้ถึง 623 สายพันธุ์ และมีความหลากหลายของเชื้อสาเหตุโรคไหม้สูงถึง 83 เปอร์เซ็นต์ ด้วยเหตุนี้การศึกษาเกี่ยวกับความรุนแรงและความหลากหลายของเชื้อโรคไหม้จึงเป็นสิ่งที่จำเป็นเนื่องจากความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อสาเหตุโรคเป็นอุปสรรคที่สำคัญในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานโรคไหม้ ดังนั้นข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับความรุนแรงและความสามารถในการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ รวมทั้งความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรเชื้อราสาเหตุโรคในประเทศไทยจึงมีความสำคัญต่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้ที่ยั่งยืน

## ผลการวิจัย

งานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาความแปรปรวนของเชื้อและรูปแบบปฏิกิริยาการทำลายเกิดโรคของเชื้อราโดยทำการรวบรวมเชื้อรา *P. grisea* จากพื้นที่ปลูกข้าวที่มีการระบาดของโรค และประชากรเชื้อราที่เคยมีผู้รวบรวมไว้ในพื้นที่ต่างๆ

รวมทั้งสิ้นจำนวน 57 ไอโซเลท มาทดสอบปฏิกิริยาก่อโรคในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เพื่อจัดกลุ่มความรุนแรงในการก่อโรคบนข้าวทดสอบความรุนแรงของเชื้อบนข้าวพันธุ์ทดสอบ 25 สายพันธุ์เพื่อวิเคราะห์และจัดกลุ่มตาม pathotype ผลการวิเคราะห์ได้จะนำไปเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมด้วยเครื่องหมายโมเลคุล SSR ซึ่งข้อมูลผลจัดกลุ่มของประชากรเชื้อราทั้งหมดนี้จะเป็นข้อมูลสำคัญในการคัดเลือกเชื้อราเพื่อใช้ทดสอบโรคในขั้นต่อไปเพื่อปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความต้านทานโรคไหม้ เพื่อลดความรุนแรงของการระบาดของโรคไหม้ที่จะทำให้ผลผลิตข้าวลดลง

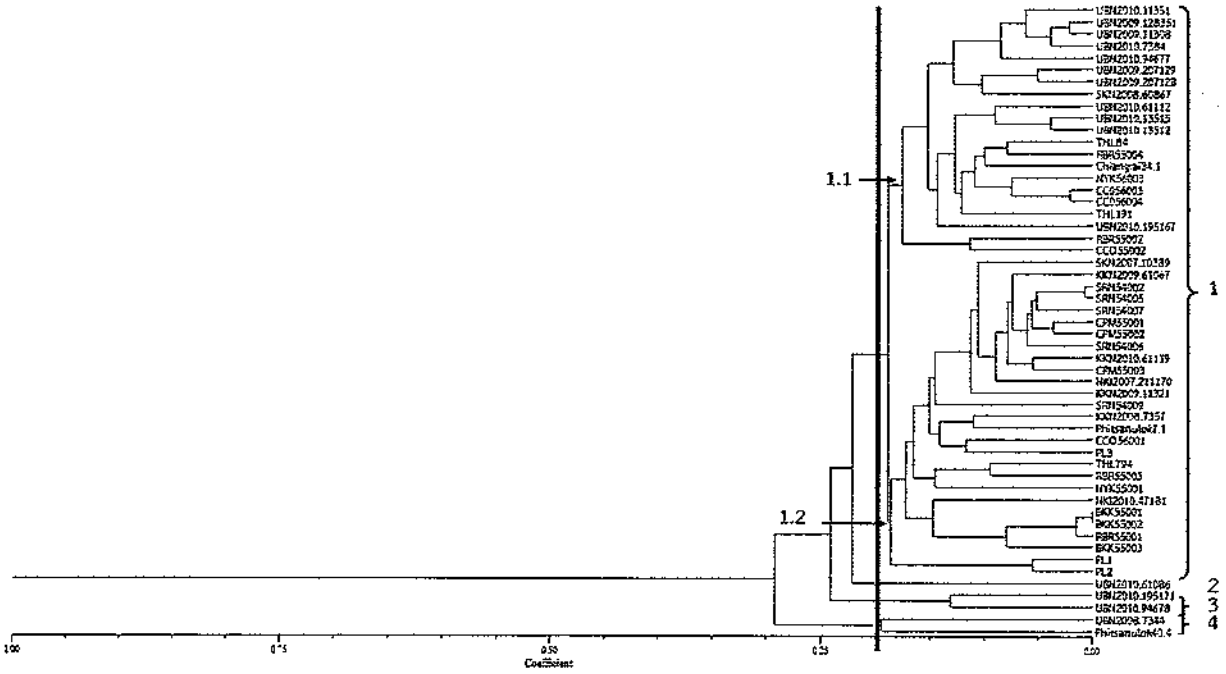
รวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคไหม้จากพื้นที่ปลูกข้าวในประเทศไทยจำนวน 57 ไอโซเลท ประกอบด้วยเชื้อที่มีผู้รวบรวมไว้แล้วที่ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง และสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ(สวทช.) จำนวน 38 ไอโซเลท และเชื้อที่เก็บรวบรวมใหม่จำนวน 19 ไอโซเลท ซึ่งครอบคลุมพื้นที่ปลูกข้าวจากทุกภาคของประเทศไทยทดสอบความรุนแรงของเชื้อราจำนวน57ไอโซเลทในการก่อโรคบนข้าวพันธุ์อ่อนแอต่อโรคไหม้คือพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 สามารถจำแนกตามความสามารถในการก่อโรคได้เป็น 3 กลุ่ม คือกลุ่มที่ก่อโรครุนแรงประกอบด้วยเชื้อราจากจังหวัดอุบลราชธานี ขอนแก่น สุรินทร์ ชัยภูมิ พิษณุโลก เชียงราย ฉะเชิงเทรา นครนายก และราชบุรี กลุ่มที่ก่อโรครุนแรงปานกลางประกอบด้วยเชื้อราจากทุกจังหวัด ยกเว้นจังหวัดเชียงรายและพัทลุงและกลุ่มที่ก่อโรคไม่รุนแรงประกอบด้วยเชื้อราที่เก็บรวบรวมได้จากจังหวัดอุบลราชธานี สกลนคร พัทลุง ฉะเชิงเทรา และกรุงเทพฯ ค่าดัชนีความรุนแรง (VI) ของเชื้อราที่นำมาศึกษาอยู่ระหว่าง 0.44 และ 0.04 โดยเชื้อที่มีค่าดัชนีความรุนแรงสูงที่สุดคือCPM55002(VI=0.44), THL794(VI=0.40)และUBN94677(VI=0.36)นอกจากนี้ผลการศึกษาความหลากหลายประชากรโรคไหม้ข้าวในระหว่างปี พ.ศ.2548–2552ของพูนศักดิ์และคณะ(2554) พบประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในภาคเหนือ และ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีความหลากหลายมาก ทั้งนี้ สอดคล้องกับผลการทดลองคือ เชื้อโรคไหม้ที่มีแหล่งที่มาจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือโดยเฉพาะเชื้อที่มาจากอุบลราชธานีและภาคเหนือมีการก่อโรคที่หลากหลายและมีความรุนแรงปานกลางถึงรุนแรงมากโดยเฉพาะข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีความอ่อนแอต่อเชื้อไอโซเลทที่มีแหล่งที่มาจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือมากที่สุดซึ่งเป็นพื้นที่ที่เกษตรกรนิยมปลูกข้าวพันธุ์นี้

ผลการศึกษาปฏิกิริยาบนข้าวพันธุ์ทดสอบ 25 สายพันธุ์ และจัดจำแนกด้วยโปรแกรมNTSYS2.01สามารถจัดกลุ่มเชื้อราทั้ง 57 ไอโซเลทได้เป็น 14 pathotype จากการวิเคราะห์การจัดกลุ่มและสร้างเป็นแผนภาพความหลากหลายของเชื้อสาเหตุโรคไหม้พบว่าเชื้อที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันมีความสามารถในการก่อโรคที่รุนแรงคล้ายกันและเป็นเชื้อที่มาจากแหล่งเดียวกัน อย่างไรก็ตามพบว่าผลการจัดกลุ่มสอดคล้องกับปฏิกิริยาการก่อโรคที่แสดงบนข้าวทดสอบแต่ละสายพันธุ์

การวิเคราะห์ความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 53 ไอโซเลท โดยใช้เครื่องหมายโมเลคุล SSR จำนวน 14 เครื่องหมาย คัดเลือกจากโครโมโซมละ 2 เครื่องหมาย แต่ละเครื่องหมายมีค่า PIC อยู่ระหว่าง 0.30 ถึง 1.00 ซึ่งแสดงถึงความมีศักยภาพของเครื่องหมายโมเลคุล SSR ในการใช้เพื่อวิเคราะห์ความหลากหลายของพันธุกรรมเชื้อสาเหตุโรคไหม้ จากผลการวิเคราะห์ สามารถจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของเชื้อสาเหตุโรคไหม้จำนวน 53 ไอโซเลทได้เป็น4กลุ่มเมื่อกำหนดค่าสัมประสิทธิ์ความต่างที่80เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 1)กลุ่มใหญ่ที่สุด(กลุ่มที่ 1)ประกอบด้วยเชื้อสาเหตุโรคไหม้ 48 ไอโซเลท แบ่งออกเป็นกลุ่มย่อย 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1.1 ประกอบด้วยเชื้อที่มีแหล่งที่มาจากภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออก ในขณะที่เชื้อ 3 ไอโซเลทที่ได้จากจังหวัดพัทลุง ถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ 1.2 ร่วมกับเชื้อที่มีแหล่งที่มาจากภาคอื่นๆ กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือUBN201061086กลุ่มที่3ประกอบด้วยเชื้อ2ไอโซเลท จากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือ UBN2010 195171 และ UBN2010 94678 และกลุ่มที่ 4 ประกอบด้วยเชื้อจากบริเวณภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือคือUBN20087344 และ Phitsanulok40.4 ตามลำดับ และพบว่าเชื้อสาเหตุโรคไหม้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง โดยกลุ่มความสัมพันธ์ของพันธุกรรมเชื้อไม่ได้ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มีการระบาดของโรคไหม้ เมื่อวิเคราะห์ผลการทดลองร่วมกัน

พบว่ารูปแบบผลการจัดจำแนกด้วยเครื่องหมายโมเลกุล มีความแตกต่างไปจากการจัดจำแนกด้วยปฏิกิริยาก่อโรค (pathotype) บนข้าวพันธุ์ทดสอบ 25 สายพันธุ์และไม่สอดคล้องกับระดับความรุนแรงที่แสดงบนข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และเมื่อพิจารณาในด้านของอายุหรือปีที่เก็บรวบรวมเชื้อ เชื้อบางไอโซเลทที่เก็บในปีเดียวกันและสถานที่เดียวกัน ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มย่อยเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในประเทศไทยสามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมของสถานที่นั้นๆ ในแต่ละปีได้ดี

อย่างไรก็ตาม ผลการวิจัยสอดคล้องกับ เสาวลักษณ์ และคณะ (2554) ที่รายงานว่าเชื้อโรคไหม้ที่เก็บจากจังหวัดเดียวกันมีความหลากหลายของความรุนแรงในการเกิดโรคไหม้แตกต่างกันไม่สามารถจัดกลุ่มร่วมกันได้ และ เชื้อที่เข้าทำลายข้าวจากบริเวณแผลเดียวกันมีมากกว่า 1 เชื้อพันธุ์ (race) เนื่องจากประชากรเชื้อ *P. grisea* ในแถบเอเชียมีความซับซ้อนและหลากหลายมาก อาจจะเป็นเพราะเอเชียเป็นศูนย์กลางของแหล่งการปลูกข้าว และยังอาจเป็นศูนย์กลางของแหล่งที่มาของเชื้อรา *P. grisea* (Thuan et al., 2006)




**ภาพที่ 1** แผนภูมิต้นไม้แสดงความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 53 ไอโซเลท เมื่อใช้ SSR marker จำนวน 14 เครื่องหมาย และเส้นแนวตั้งระบุตำแหน่งกำหนดค่าสัมประสิทธิ์ความต่างที่ 80 เปอร์เซ็นต์

# เอกสารอ้างอิง


ชุนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ พยอม โคเบลลี อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ ถนอมจิตร์ ฤทธิ์มนตรี กุลชนา เกศสุวรรณ ชุติรัน กลิ่นมลี และ สงวน เที่ยงฤทธิ์. 2550. การตรวจสอบความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวในประเทศไทย. วารสารวิชาการข้าว. ปีที่ 2. ฉบับที่ 1.

พระศักดิ์ ชินสุวัฒนากาญจน์ วิราพงษ์ ขมาฤกษ์ จิรพงศ์ ใจรินทร์ อุไรวรรณ์ ลิขสถิต อนุชาติ คชสถิตย์ บุญรัตน์ จงดี สมใจ สาลีโท วิระศักดิ์ ชอมสุชาติ อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ และ พันนิภา ยาใจ. 2554. ความหลากหลายของเชื้อรา สาเหตุโรคไหม้กับการพัฒนาข้าวต้านทานโรคไหม้. ใน การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ครั้งที่ 2. สถานีวิจัยและพัฒนาข้าว.กรมวิชาการเกษตร.กรุงเทพฯ. 249-266.

ศรีสวัสดิ์ ชัยทิอง ชัชวาล จันทรสุริยารัตน์ และ สุรีพร เกตุงาม. 2010. โรคไหม้และการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก. Thai Journal of Genetics 3(2): 106-119.

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

Glatgong P. and R.A. Frederiksen. 1969. Pathogenic variability of monoconidial subcultures *Pyricularia oryzae*. Phytopathol. 59(8) : 1152-1157.

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

Ou, S.H. 1985. Rice Diseases. Commonwealth Mycological Institute, Kew Surry, England.

Thuan, N., Bigirimana, J., Roumen, E., Straeten, D. and HÖfte, M. 2006. Molecular and pathotype analysis of the rice blast fungus in north Vietnam. Eur. J. Plant Pathol. 114: 381-396.