

เหมือนกันจะมาจากแปลงปลูกข้าวเดียว มีเพียงบาง isolate ที่มาจากแหล่งปลูกที่ต่างกันแต่มีระดับความเหมือนของพันธุกรรม 90% คือ BK16 และ PH14 ดังแสดงในภาพที่ 9 และ 11

จากการเก็บลักษณะแผลของโรคใบไหม้ของข้าวที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อ *Pyricularia grisea* จากแปลงเดียวกัน ดังรูปที่ 1 ซึ่งมีความแตกต่างกันทั้งหมด 7 ลักษณะของแผลนั้นพบว่า ความสามารถในการทำให้เกิดโรคแตกต่างกัน เมื่อได้ทำการศึกษาความแตกต่างของแผลทั้ง 7 ลักษณะโดยการทำ Plot rep-PCR พบว่าเชื้อที่มีลักษณะแผลที่แตกต่างกันมี isolate ที่แตกต่างกัน โดยเชื้อแต่ละ isolate ลักษณะความเหมือนของ DNA banding patterns ระหว่าง 62-82% และสามารถจัดกลุ่ม ลักษณะความเหมือนของ DNA banding patterns ที่ 60% ได้ 2 กลุ่ม คือกลุ่มเชื้อที่มาจากแปลงปลูกที่ปลูกข้าวตลอดทั้งปี กับแปลงที่ปลูกข้าวปีละครั้ง แสดงให้เห็นว่าเชื้อที่มาจากแหล่งเดียวกันและที่ลักษณะของแผลแตกต่างกัน ก็ยังมีความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมดังแสดงในภาพที่ 12

Table3 The morphology of fungus isolate form Amphur Maewang and Amphur Phang on Prune agar medium

Fungus isolate No.	Morphology of fungus isolate
Amphur Mae wang(site 1)	
1	Colony สีดำเข้มเส้นใยฟูเล็กน้อย
2	Colony ดำเข้มตรงกลางสีเทาเส้นใยฟูเล็กน้อย
3	Colony สีเทาตรงกลาง ขาวปนเทา เส้นใยฟูตรงกลาง
4	Colony สีดำเข้มเส้นใยฟู
5	Colony สีเทาขาวเส้นใยฟูเล็กน้อย
6	Colony สีเทาดำ เส้นใยฟู
7	Colony สีเทาดำ เส้นใยฟูเล็กน้อย
8	Colony สีเทาดำตรงกลางฟู เส้นใยฟูเล็กน้อย
9	Colony สีเทาดำตรงกลางฟู
10	Colony สีเทาดำเข้มตรงกลางฟู
11	Colony สีดำเข้มไม่ฟูตรงกลาง
12	Colony สีน้ำตาลเส้นใยไม่ฟู
13	Colony สีขาวปนเทาเส้นใยฟู
14	Colony สีเทาดำตรงกลางฟูสีขาว
15	Colony สีเทาดำตรงกลางฟู สีขาว
16	Colony สีเทาดำตรงกลางฟู สีขาว
17	Colony สีเทาดำตรงกลางฟู
18	Colony สีเทาเส้นใยไม่ฟู
19	Colony สีขาวปนเทาเส้นใยไม่ฟู
20	Colony สีเทาดำตรงกลางฟู

Fungus isolate No.	Morphology of fungus isolate
Amphur Mae wang (site2)	
1	Colony สีขาวปนเทา ดำตรงกลางฟู
2	Colony สีเทา ดำตรงกลางขาวฟู
3	Colony สีเทา ตรงกลางขาวฟู
4	Colony สีเทา ดำตรงกลาง เส้นใยไม่ฟู
5	Colony สีเทา ดำตรงกลางฟู สีขาว
6	Colony สีเทา ดำเส้นใยตรงกลางฟู สีขาว
7	Colony สีขาวปนเทา เส้นใยไม่ฟู
8	Colony สีเทา ดำตรงกลาง สีขาวฟู
9	Colony สีเทา ดำตรงกลาง เส้นใยฟู
10	Colony สีเทา ดำตรงกลาง สีขาวฟู
11	Colony สีเทา ปนขาวตรงกลาง สีขาวฟู
12	Colony สีเทา ดำเส้นใยไม่ฟู
13	Colony สีเทา ดำมีเส้นใยสีขาวเป็นหย่อมๆ
14	Colony สีเทา เข้มเส้นใยฟูเล็กน้อย
15	Colony สีเทา ปนขาวเส้นใยค่อนข้างฟู
16	Colony สีเทา เข้มดำตรงกลาง สีขาวฟู
17	Colony สีเทา เข้มเส้นใยฟูเล็กน้อย
18	Colony สีเทา เข้มเส้นใยฟูเล็กน้อย
19	Colony สีเทา เข้มตรงกลาง สีเทาปนขาว
20	Colony สีเทา เข้มตรงกลาง สีขาวเป็นหย่อมๆ
21	Colony สีเทา ปนดำเส้นใยไม่ฟู
22	Colony สีเทา ปนดำเส้นใยไม่ฟู
23	Colony สีเทา ปนดำตรงกลาง สีขาวฟูเล็กน้อย
24	Colony สีเทา ดำเส้นใยไม่ฟู
25	Colony สีขาวเทา เส้นใยฟู
26	Colony สีขาวเทา เส้นใยฟู

Fungus isolate No.	Morphology of fungus isolate
27	Colony สีเทาดำ เส้นใยไม่ฟู
28	Colony สีเทาดำ เส้นใยฟูเล็กน้อย
29	Colony สีเทาดำ เส้นใยฟูเล็กน้อย
30	Colony สีเทาดำ เส้นใยฟูเล็กน้อย
Amphur Chiang Doaw	
1	Colony สีเทา เส้นใยไม่ฟู
2	Colony สีเทาปนขาว เส้นใยค่อนข้างฟู
3	Colony สีดำเข้ม เส้นใยไม่ฟู
4	Colony สีเทา เส้นใยฟูเล็กน้อย
5	Colony สีดำเข้ม เส้นใยไม่ฟู
6	Colony สีเทาดำ ตรงกลางสีขาวฟู
7	Colony สีเทาดำ ตรงกลางสีเทาฟูมาก
8	Colony สีเทาปนดำ เส้นใยไม่ฟู
9	Colony สีเทาขาว เส้นใยฟู
10	Colony สีเทาและมีเส้นใยสีขาวเป็นหย่อมๆ
11	Colony สีเทามีเส้นใยสีขาวเป็นหย่อมๆ
12	Colony สีขาวเทา เส้นใยสีขาวเป็นหย่อมๆ
13	Colony สีขาวเทา เส้นใยสีขาวเป็นหย่อมๆ
14	Colony สีเทาดำ เส้นใยไม่ฟู
15	Colony สีเทาดำ เส้นใยไม่ฟู
16	Colony สีเทาดำ เส้นใยไม่ฟู
17	Colony สีเทาน้ำตาล เส้นใยไม่ฟู
18	Colony สีขาวเทา เส้นใยฟูเล็กน้อย
19	Colony สีเทาดำมีเส้นใยสีขาวเป็นหย่อมๆ
20	Colony สีเทาตรงกลางสีขาวฟู
21	Colony สีเทาดำ เส้นใยไม่ฟู

Fungus isolate No.	Morphology of fungus Isolate
22	Colony สีดำน้ำตาล เส้นใยฟูเล็กน้อย
23	Colony สีเทาดำ มีเส้นใยสีขาวเป็นหย่อมๆ
24	Colony สีเทาดำ มีเส้นใยสีขาวเป็นหย่อมๆ
25	Colony ดำน้ำตาล เส้นใยไม่ฟู
26	Colony สีขาวเทา เส้นใยฟูเล็กน้อย
27	Colony สีขาวเทา เส้นใยฟูเล็กน้อย
28	Colony สีขาวเทา เส้นใยฟูเล็กน้อย
29	Colony สีเทาเข้ม เส้นใยฟูเล็กน้อย
30	Colony สีเทาเข้ม เส้นใยฟูเล็กน้อย

หมายเหตุ Isolates 1-15 were collected from first year of rice growing

Isolates 16-30 were collected from second year of rice growing

(Rice farmer field at Amphur Mae wang (site 2) and Amphur Chiang Doaw)

Excepted isolates 1-20 of rice farmer field at Amphur Mae wang (site 1) were only collected from first year.

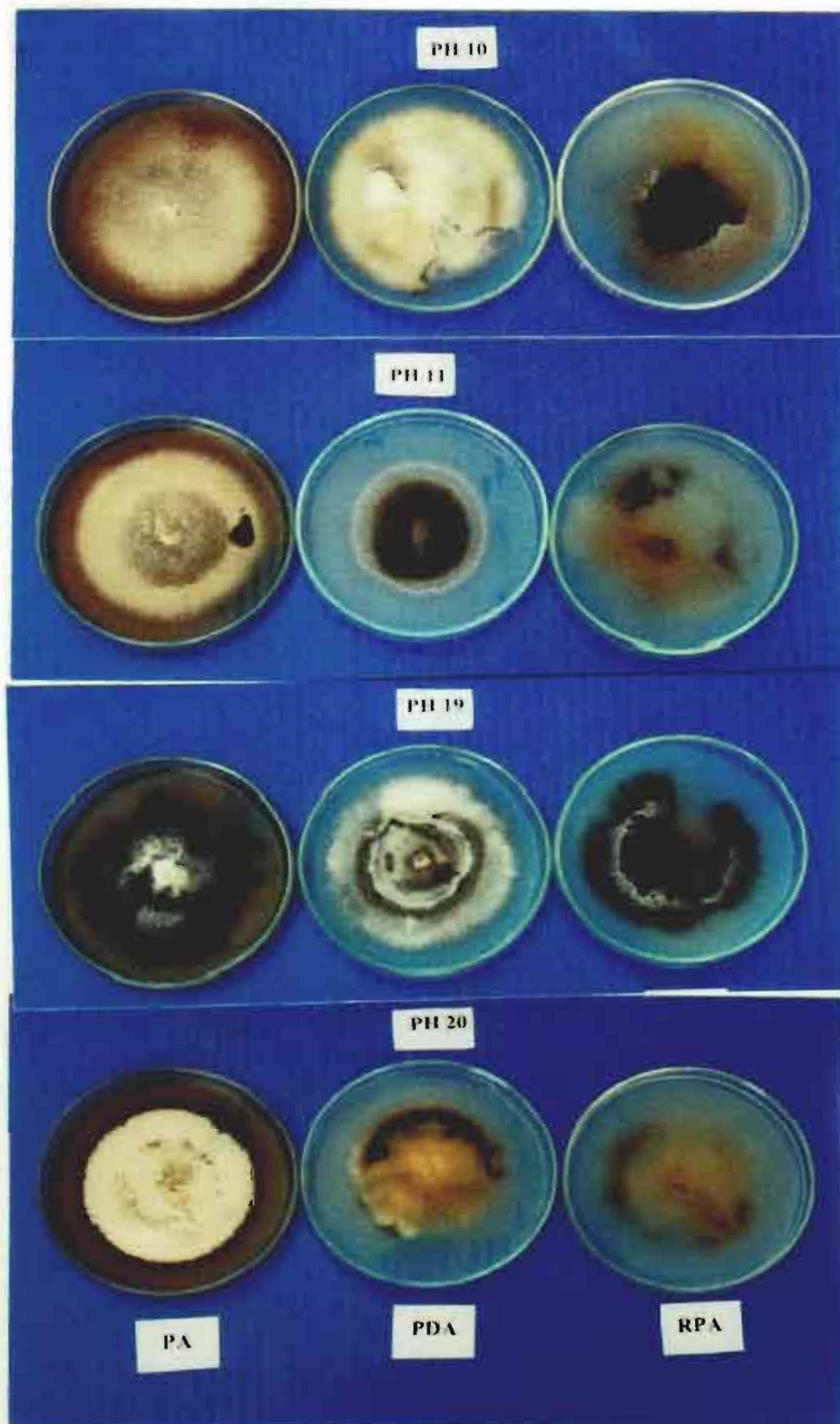


Fig. 5 The characteristic of different rice blast fungus isolates on various medium (PA, PDA and RPA).

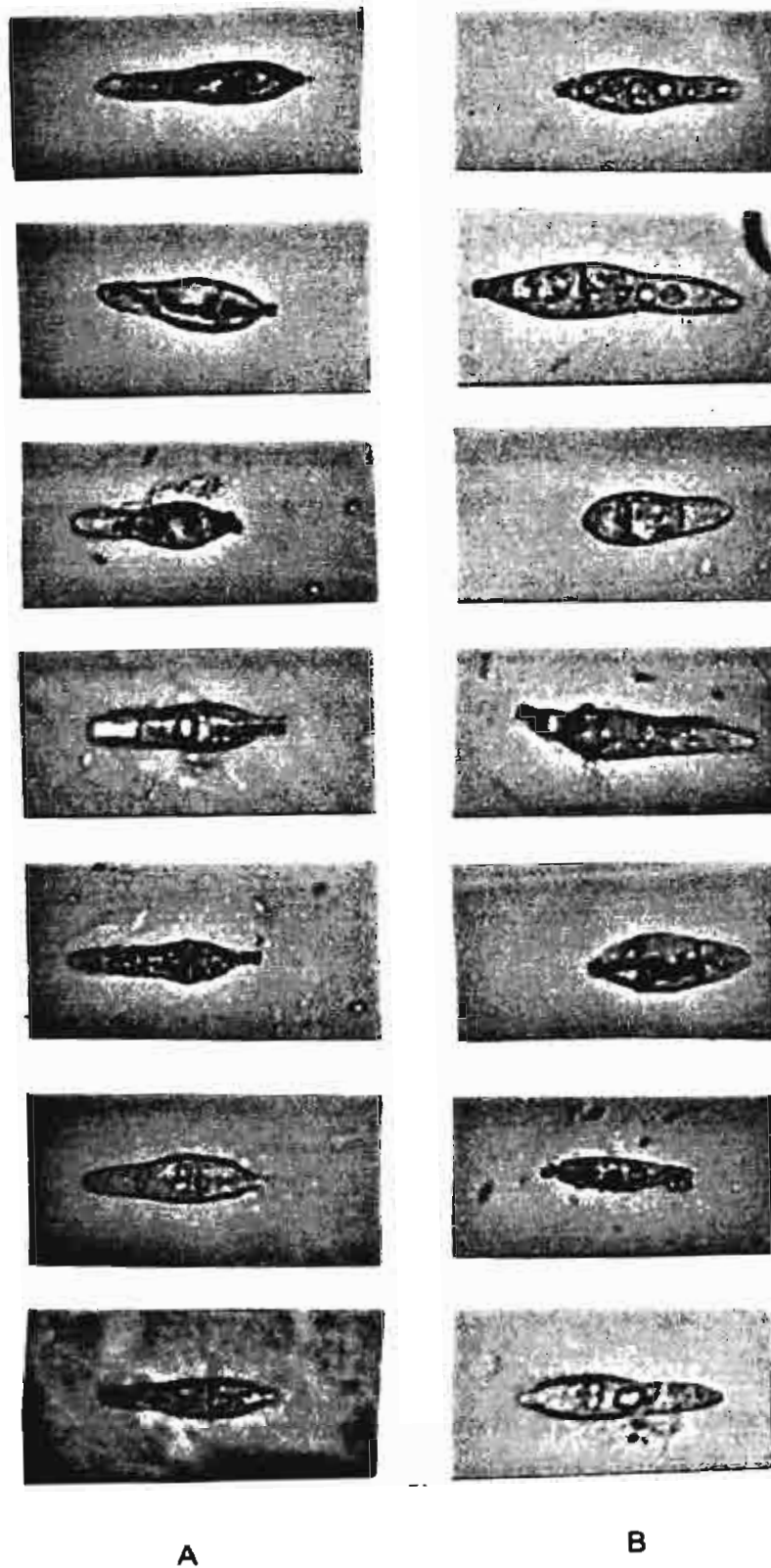


Fig.6 The characteristic of various spores of *Pyricularia gnsea* from different isolates and area .
 A:site 1and B: site 2.

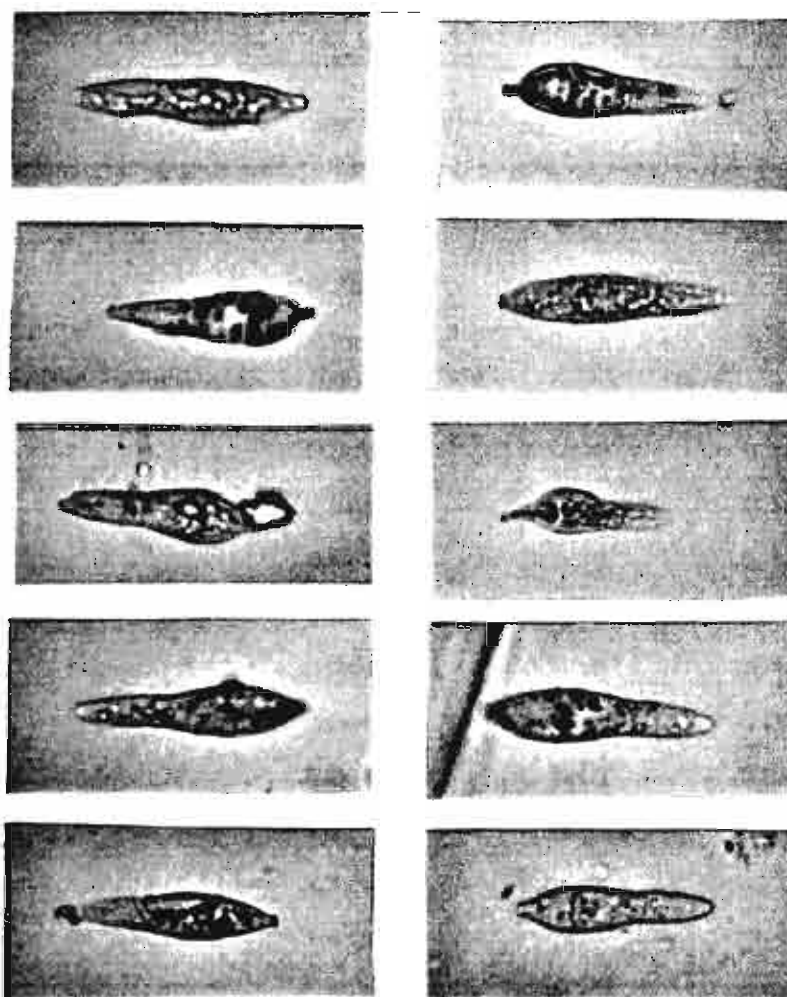


Fig.7 The characteristic of various spore of *Pyricularia grisea* from different isolate , site 3

Table 4. The number of conidia producing of *Pyricularia grisea* on Prun Agar Medium (PA) obtained from three different cultural practice of rice farmer's field

Isolate no.	Number of spores (spores/ml)		
	Site 1	Site 2	Site 3
1	0.0x10 ⁴	1.1x10 ⁴	4.7x10 ⁴
2	8.1x10 ⁴	1.0x10 ⁴	1.7x10 ⁴
3	0.0x10 ⁴	6.2x10 ⁴	0.0x10 ⁴
4	4.2x10 ³	0.0x10 ⁴	0.7x10 ⁴
5	0.0x10 ⁴	0.5x10 ⁴	0.1x10 ⁴
6	2.0x10 ³	0.0x10 ⁴	0.1x10 ⁴
7	0.0x10 ⁴	0.7x10 ⁴	0.1x10 ⁴
8	0.0x10 ⁴	0.7x10 ⁴	0.1x10 ⁴
9	0.0x10 ³	0.7x10 ⁴	0.0x10 ³
10	0.0x10 ⁴	0.3x10 ⁴	0.0x10 ⁴
11	0.8x10 ³	0.1x10 ⁴	2.0x10 ⁴
12	1.4x10 ⁴	0.1x10 ⁴	1.1x10 ⁴
13	4.7x10 ⁴	0.0x10 ⁴	42.2x10 ⁴
14	1.9.0x10 ⁴	0.5x10 ⁴	35.2x10 ⁴
15	0.0x10 ⁴	0.2x10 ⁴	0.0x10 ⁴
16	0.0x10 ⁴	0.0x10 ⁴	0.5x10 ⁴
17	0.0x10 ⁴	0.0x10 ⁴	0.2x10 ⁴
18	2.0x10 ³	0.4x10 ⁴	1.0x10 ⁴
19	0.8x10 ⁴	0.0x10 ⁴	0.0x10 ⁴
20	4.1x10 ⁴	0.2x10 ⁴	0.2x10 ⁴

Table5. Average size of conidia of *Pyricularia grisea* collected from three different cultural practice of rice farmer's field.

Isolate no	Average range of conidia (μm)		
	Site1	Site2	Site3
1	23.9±1.9x9.4±0.5	23.9±1.9x9.4±0.5	23.9±1.9x9.4±0.5
2	30.7±1.7x10.7±0.7	23.7±1.7x10.6±0.4	22.0±0.4x9.2±1.4
3	25.7±1.2x9.5±0.4	26.9±2.0x8.2±0.0	20.5±0.9x10.4±1.1
4	26.8±1.6x8.8±0.5	30.9±1.9x8.6±0.5	23.0±0.4x11.4±0.4
5	23.1±0.8x9.4±0.5	-	23.9±1.9x9.4±0.5
6	25.5±0.9x9.5±0.5	28.0±1.9x10.3±0.0	24.1±0.9x9.5±0.2
7	23.9±1.9x9.4±0.5	25.9±1.5x9.7±0.4	20.0±0.7x9.7±0.8
8	22.6±1.2x11.8±1.6	-	25.5±0.4x9.9±0.7
9	20.3±1.1x9.9±0.3	23.5±0.7x10.0±0.3	21.4±0.0x9.6±0.6
10	23.9±1.5x9.8±0.4	28.0±1.3x9.4±0.4	24.5±1.9x8.2±1.6
11	-	-	22.2±0.4x12.4±0.5
12	23.9±1.6x10.3±0.0	25.5±1.2x8.6±0.5	23.4±0.9x10.2±0.0
13	23.2±0.8x11.1±1.4	23.5±0.5x9.0±0.6	20.0±1.1x11.2±0.3
14	-	-	18.8±0.8x10.4±1.1
15	21.6±1.6x11.0±0.5	27.3±1.3x9.5±0.5	20.0±0.9x9.2±0.4
16	21.8±0.8x10.4±0.5	26.3±1.0x9.7±0.4	21.0±1.2x8.4±0.3
17	-	21.0±1.1x8.9±0.7	26.0±1.7x10.7±1.4
18	24.4±0.7x9.9±0.5	27.9±1.2x10.9±0.0	23.0±0.0x9.7±0.5
19	-	27.1±1.6x9.9±0.3	24.0±0.8x9.8±0.4
20	-	-	25.0±1.4x8.0±0.8
21	25.2±0.8x8.4±0.4	-	21.0±0.9x8.4±1.8
22	22.4±0.9x10.4±0.4	-	20.0±0.8x11.2±0.4
23	21.0±0.5x11.0±0.6	-	25.0±1.2x9.4±0.6
24	26.2±0.6x11.2±0.5	-	23.0±0.5x10.8±0.7
25	22.6±1.1x9.8±0.8	-	20.0±0.4x11.5±0.4
26	23.0±0.7x9.6±0.6	-	22.0±1.3x10.4±0.5
27	23.2±1.2x10.4±0.5	-	21.0±1.0x7.9±1.9
28	26.8±0.5x8.4±0.2	-	25.0±0.5x9.6±0.4
29	25.2±0.8x9.5±0.4	-	24.0±0.4x9.8±1.3
30	24.4±0.3x11.2±1.3	-	24.0±0.7x9.4±0.2

- : none spore production

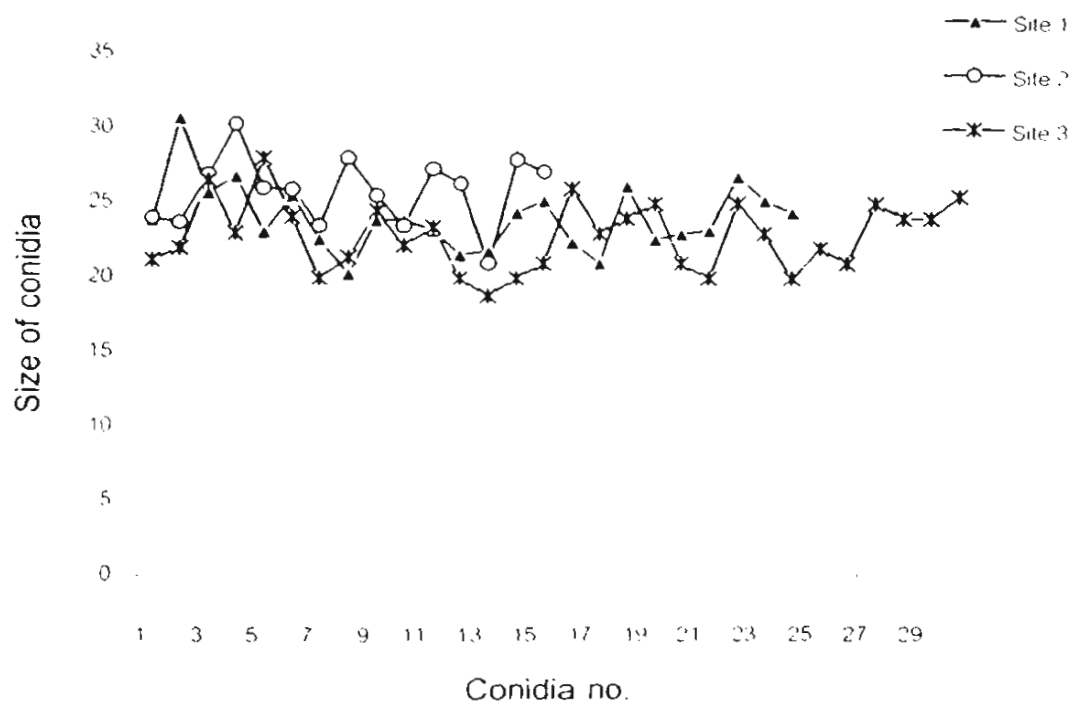


Fig 8. Everage of size conidium of *Pyricularia grisea* collected from 3 different cultural practices

Table 6. Reaction of infected rice isolates of *Pyricularia grisea* from different cultural practice of farmer's field on International set of host differential and some rice cultivars

Rice cultivar	R-gene	Site 1	Site 2	Site 3
IRBLa-C	Pia	MS	R	S
IRBLi-F5	Pii	S	MR	S
IRBLks-F5	Pik-s	S	R	MS
IRBLks-S	Pik-s	R	R	R
IRBLk-ka	Pik-s	R	R	R
IRBLkp-K60	Pik-p	R	R	R
IRBL kh-K3	Pik-h	R	R	R
IRBLz-Fu	Piz(?)	R	R	R
IRBL z5-CA	Piz-5	R	R	R
IRBLta-CT2	Pita	R	R	R
IRBL3-CP4	Pi1	R	R	R
IRBL24/KUSABUE//6*IR24	Pik	R	R	R
IR24/PINO.4//6*IR24	Pita-2	R	R	R
IR24/C101LAC//6*IR24	Pi1	R	R	R
IR24/C101PKT//6*IR24	Pita-2	R	R	R
IR24/C104PKT//6*IR24	Pi3	MR	R	R
IR24/C101A5//6*IR24	Piz-5	R	R	MR
IR24/RIL249//6*IR24	Pi5(t)	R	R	MR
IR24/RIL29//6*IR24	Pi7(7)	R	R	R
IR24/WHd-1S-75-1-127//6*IR24	Pi9(t)	R	R	MS
กข5	-	S	S	MS
กข6	-	S	S	S
กข105	-	R	R	MR
สันป่าตอง	-	MS	R	MS
สุพรรณบุรี	-	R	R	S
ชัยนาท 1	-	R	R	S
หางยี่ 11	-	R	R	R

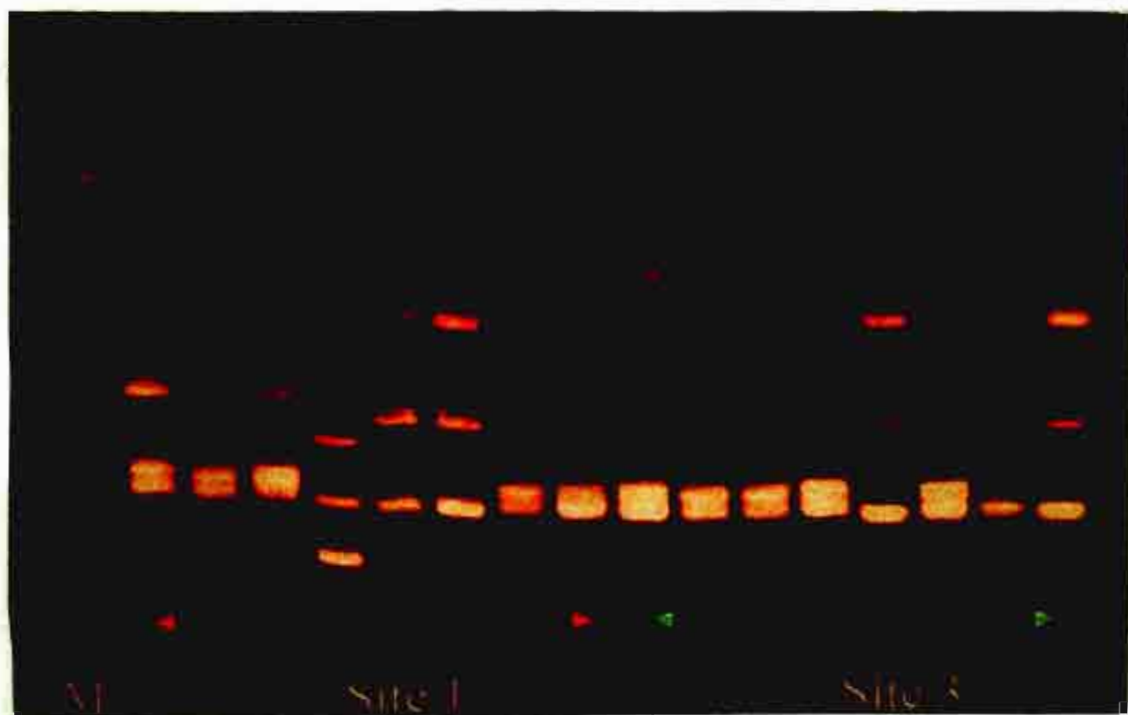
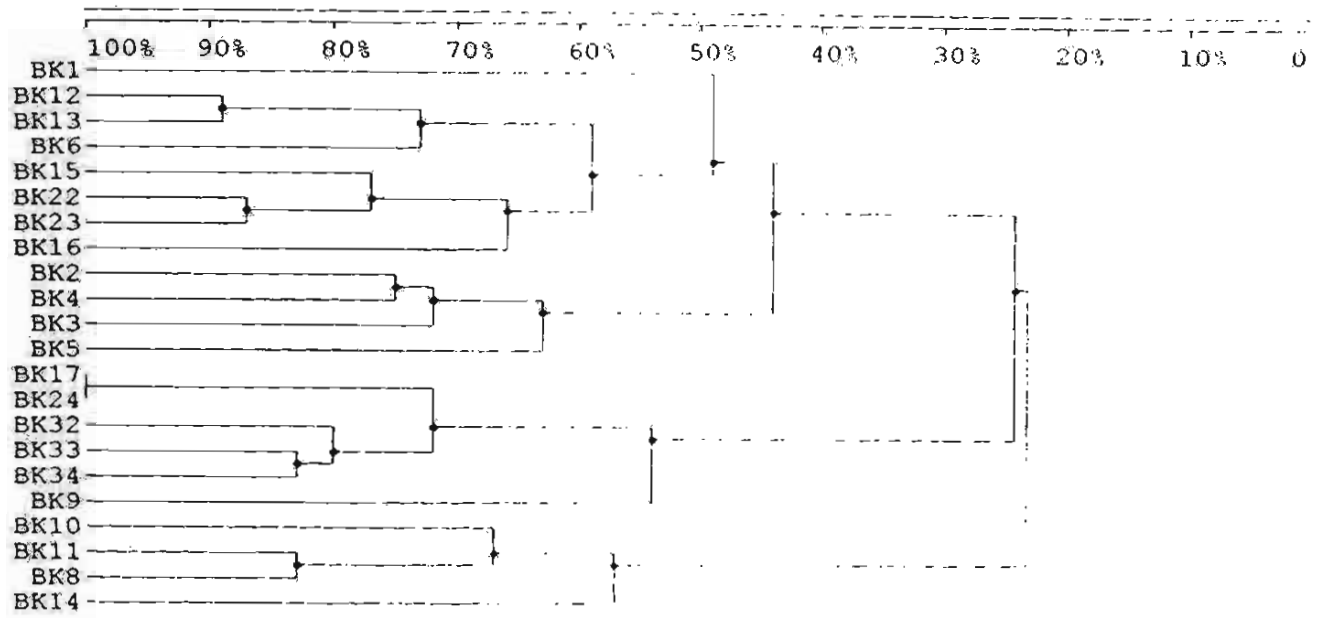
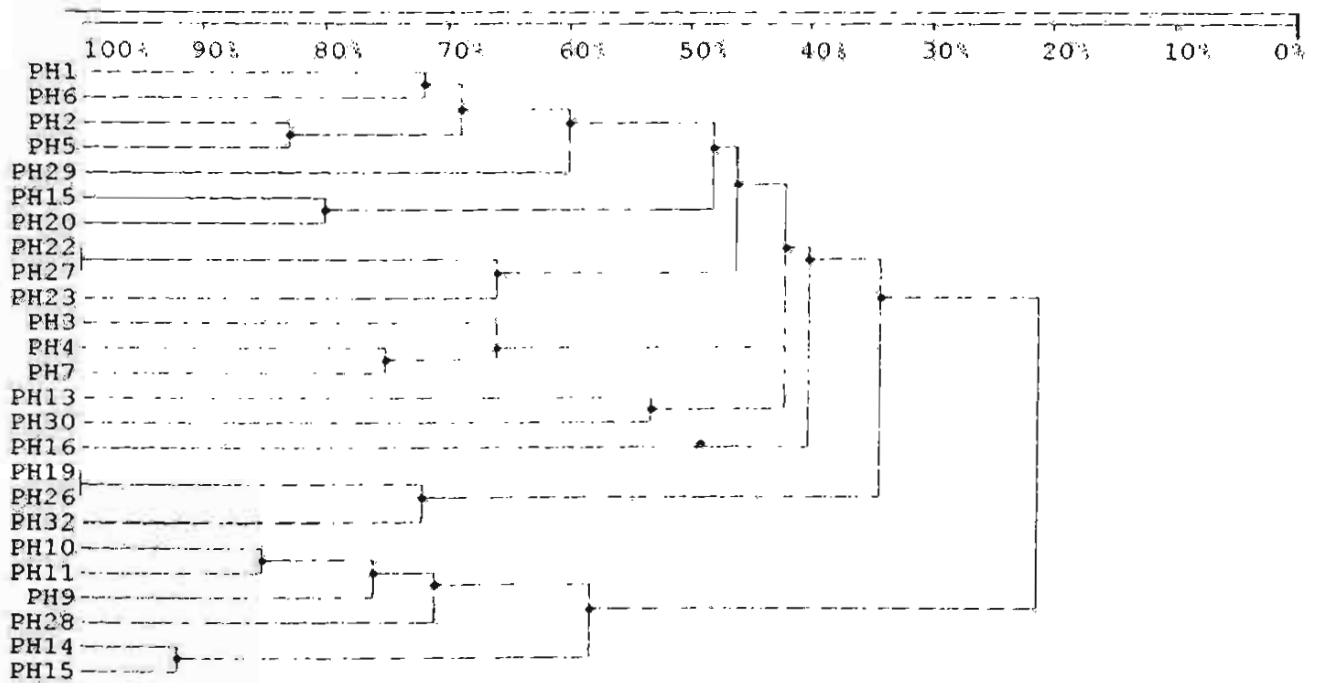


Fig 9. Plot rep-PCR fingerprint patterns from genomic DNA of rice-infecting *Pyricularia grisea* isolates from Site 1 and Site 3.



A



B

Fig 10. Dendrogram from rep-PCR data of *Pyricularia grisea* isolates collected from farmer's Field, Site 1 (A) and Site 3 (B).

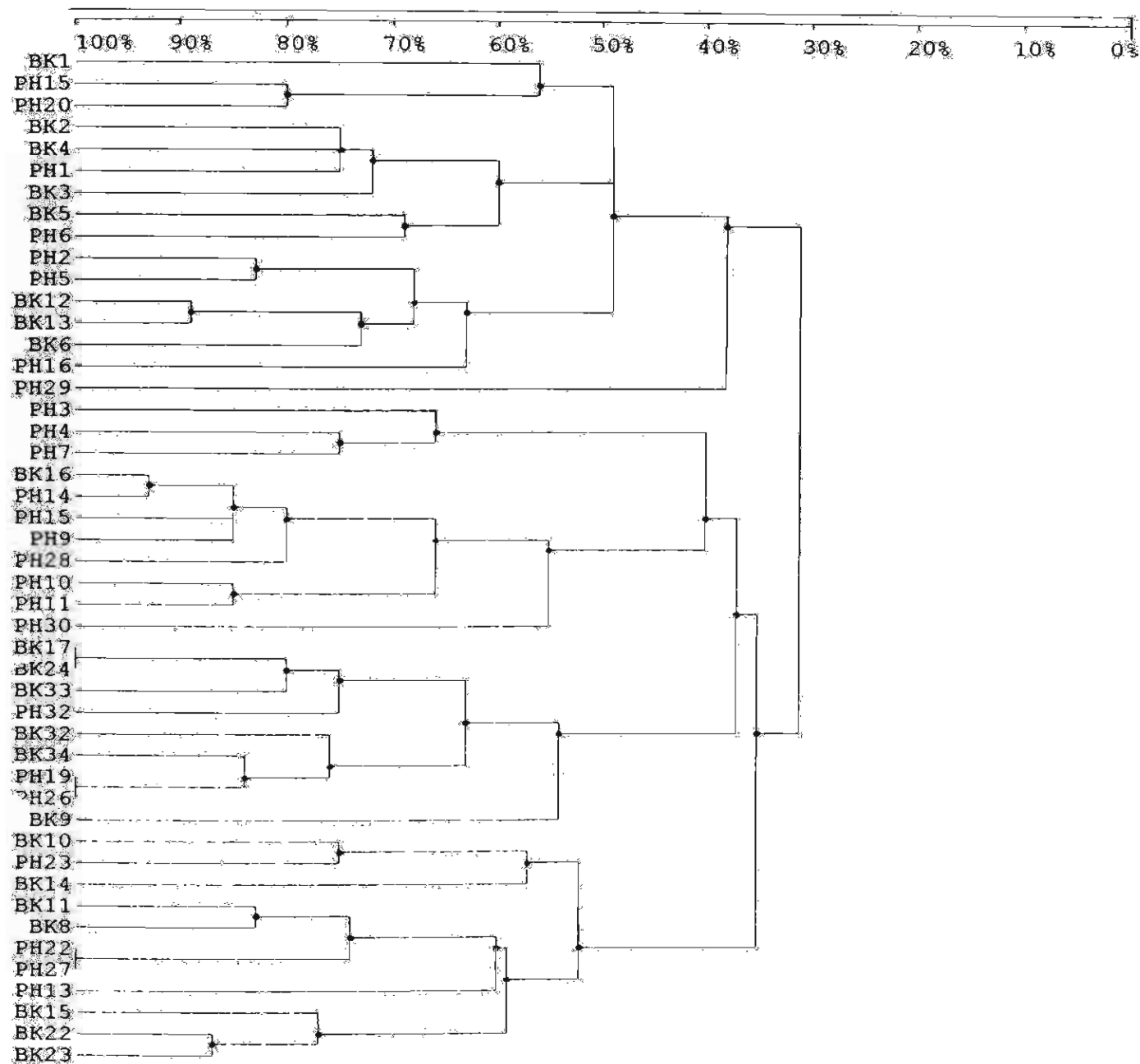


Fig 11. Dendrogram from rep-PCR data of correlation of *Pyricularia grisea* isolates collected from farmer's field, Site 1 and Site 3

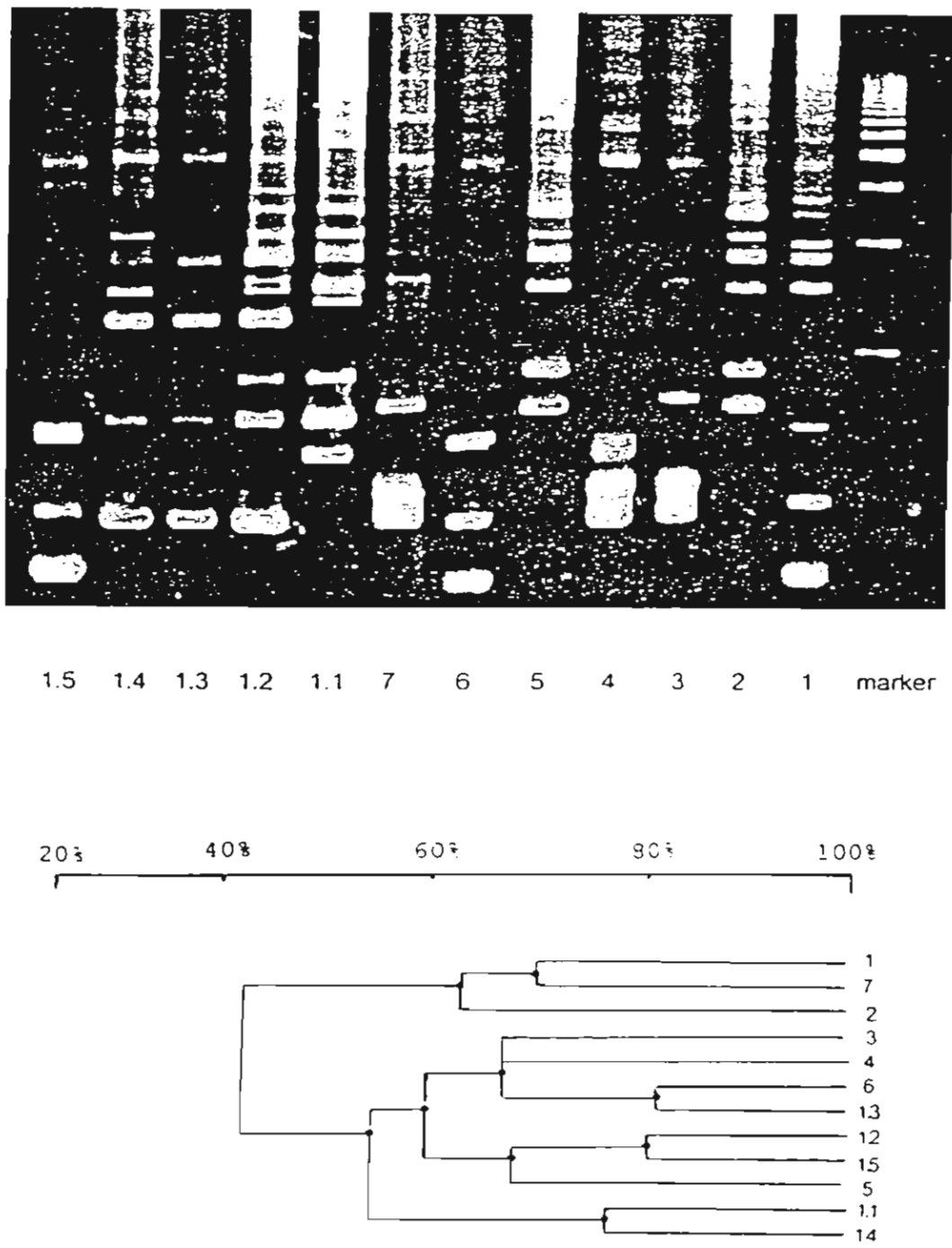


Fig 12. Dendrogram from rep-PCR data of *Pyricularia grisea* isolates collected from different lesion type of leaf rice blast disease, Site1: 1.1-1.5 and Site3: 1-7

สรุปและวิจารณ์ผลการวิจัย

จากการศึกษาโรคใบไหม้ในแปลงของเกษตรกรที่มีระบบการปลูกข้าวที่แตกต่างกัน คือ ปลูกข้าวปีละครั้งสลับกับการปลูกหอมหัวใหญ่และข้าวโพด ปลูกข้าวตลอดทั้งปีแต่มีการเปลี่ยนสายพันธุ์ข้าวระหว่างปลูก และปลูกข้าวปีละครั้งเนื่องจากน้ำไม่พอจะปล่อยทิ้งไว้โดยไม่ได้ทำความสะอาดแปลงปลูก พบว่าลักษณะการเกิดโรคทั้งสามแปลงมีความแตกต่างกัน โดยแปลงที่ปลูกข้าวตลอดทั้งปีมีการเข้าทำลายของโรคที่รุนแรงมากกว่าทั้งสองแปลง ในขณะที่แปลงปลูกข้าวที่มีการสลับการปลูกข้าวกับพืชชนิดอื่นไม่พบการเกิดโรคในปีที่ 2 ส่วนแปลงที่มีการปลูกข้าวปีละครั้งจะพบโรคทุกครั้งที่มีการปลูกข้าว และเมื่อได้ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อที่มาจากแหล่งปลูกข้าวที่แตกต่างกัน 3 แบบ โดยการดูลักษณะของ colony สีของเส้นใย บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และความสามารถในการสร้าง spores ของเชื้อบนอาหาร PA เนื่องจากพบว่าเชื้อสามารถสร้าง spore ได้ดีบนอาหาร PA รวมทั้งวัดขนาดของ spore จำนวนการสร้าง spore ถึงแม้ว่าได้มีการศึกษาลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาของเชื้อ *Pyricularia grisea* มาแล้วโดยนักวิจัยหลายท่านก็ตาม เนื่องจาก Ou(1986) Asuyama(1965) ได้รายงานว่ขนาดของ spore จะแตกต่างกันระหว่าง isolate สภาพแวดล้อม และลักษณะการปลูกพืชที่แตกต่างกันด้วย ดังนั้นลักษณะการปลูกข้าวที่แตกต่างกันที่ศึกษาจึงน่าจะมีผลต่อลักษณะทางด้านสัณฐานวิทยาของเชื้อ รวมทั้งความสามารถในการทำให้เกิดโรคด้วย แต่จากการศึกษาไม่พบว่าความแตกต่างของลักษณะทางสัณฐานของเชื้อที่เก็บจากแปลงปลูกพืชที่แตกต่างกัน แต่จะพบว่าเชื้อที่เก็บจากแปลงปลูกเดียวกัน จะมีลักษณะของสี และ colony ของเชื้อที่คล้ายกัน อย่างเชื้อที่เก็บจากแปลงที่ปลูกข้าวปีละครั้งจะมีลักษณะของสีและ colony ของเชื้อออกฟูขาวและเทาเป็นส่วนใหญ่ ขณะที่แปลงปลูกข้าวที่ปลูกข้าวตลอดทั้งปี ลักษณะส่วนใหญ่ของเชื้อสีเทาออกดำ แสดงให้เห็นว่าถึงแม้ว่าจะมีลักษณะของสี และ colony ของเชื้อแตกต่างกันออกไปในบางส่วนที่เกิดจากการพัดปลิวของ spore จากที่อื่น ส่วนที่มีความคล้ายกันน่าจะเกิดจากการปลดปล่อยของ spores ที่เกิดจากโรคใบไหม้ที่อยู่ภายในแปลงปลูกหรือบริเวณใกล้เคียง สำหรับขนาดของ spore จะมีความแตกต่างระหว่าง isolate โดยขนาดความยาวจะอยู่ระหว่างระหว่าง 20.0 -30.0 μm และขนาดของความกว้างของ spore จะอยู่ระหว่าง 7.9 -12.4 μm สำหรับแปลงปลูกข้าวที่มีการสลับการปลูกกับพืชชนิดอื่น จะมีขนาดของ spore เฉลี่ยใหญ่กว่าเล็กน้อย แต่ก็ช่วงของขนาดของ spore ที่พบโดยทั่วไปของเชื้อที่เข้าทำลายข้าว (Ou,1986) และพบว่าขนาดของ spore ไม่มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการทำให้เกิดโรค สำหรับการสร้าง spores ของเชื้อพบว่ามีความแตกต่างกันชัดเจนระหว่าง isolate บาง isolate สามารถสร้าง spore ได้ดีขณะที่บาง isolate พบว่าไม่สร้าง spore เลย ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมือนกัน ซึ่งพบได้ทุกลักษณะของแปลงปลูก แสดงให้เห็นว่าเชื้อน่าจะมีความแตกต่างระหว่าง isolate อาหารและสภาพแวดล้อมน่าจะเป็นปัจจัยที่สำคัญในการสร้าง spore ทั้งในธรรมชาติ และบนอาหารเลี้ยงเชื้อ เชื้อที่สร้าง spore ได้ดีจะสัมพันธ์กับความสามารถในการทำให้เกิดโรค

ดังนั้นลักษณะทางสัณฐานของเชื้อจึงไม่มีความสัมพันธ์กับลักษณะของแปลงปลูกที่ต่างกัน แต่จะแตกต่างกันระหว่าง isolate แสดงให้เห็นถึงความหลากหลายของเชื้อในประเทศไทย ทั้งนี้เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการปลูกข้าวโดยทั่วไป และทุกภาคของประทศ รวมทั้งสามารถปลูกข้าวได้ตลอดทั้งปีในบริเวณเขตชลประทาน จึงทำให้มีการพัดปลิวของ spores จากที่หนึ่งไปยังอีกที่หนึ่งได้ง่าย จากการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อ พบว่าเชื้อที่มาจากแต่ละแหล่งจะมีความสามารถในการเข้าทำลายแตกต่างกัน โดยที่เชื้อจากแปลงปลูกข้าวตลอดทั้งปี และแปลงปลูกข้าวปีละครั้งจะมีเชื้อบาง isolates ที่มีความรุนแรง สามารถเข้าทำลายต้นข้าวได้ โดยเฉพาะในพันธุ์ข้าวที่มี Pia Pii Pik-s gene ด้านทานอยู่ และพบว่า กข5 กข6 และสันป่าดองก็อาจมี gene ดังกล่าวเป็นองค์ประกอบ เพราะอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อ Isolate เดียวกัน เนื่องจาก กข5 กข6 และสันป่าดอง เป็นพันธุ์ที่ปลูกโดยทั่วไปในภาคเหนือดังนั้นเมื่อไรที่สภาพแวดล้อมเหมาะสม เช่นอากาศเย็นชื้น หรือมีการให้ปุ๋ยที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูง การเกิดโรคก็จะรุนแรงได้ อย่างไรก็ตามพบว่าระบบการปลูกพืชที่แตกต่างกันมีผลต่อปริมาณของเชื้อในแปลงปลูก ด้วย พบว่าในแปลงที่มีการปลูกข้าวตลอดทั้งปี ทุกครั้งที่มีการปลูกข้าวจะพบการเข้าทำลายของโรคและยังพบว่า ระดับความรุนแรงของโรคในปีที่สองจะเป็นมากกว่าปีที่หนึ่ง ขณะเดียวกันแปลงที่ปลูกข้าวปีละครั้งโดยไม่มีการกำจัดเศษฟางของข้าวที่เป็นโรคในแปลงปลูก ก็กลายเป็นแหล่งอาศัยของเชื้อและสามารถเข้าทำลายข้าวที่ปลูกได้ในฤดูการปลูกข้าวของปีถัดไป สำหรับแปลงปลูกข้าวที่ปลูกสลับกับการปลูกพืชชนิดอื่นปริมาณโรคน้อยและไม่พบการเกิดโรคเลยในปีที่สอง และจากการทำ DNA finger print ของปีที่ 1 และปีที่ 2 มีความใกล้ชิดกันทางด้าน genetic เช่น BK17(เก็บในปีที่ 1) และ BK24(เก็บในปีที่2) มีความใกล้ชิดกันทางด้าน genetic 100 เปอร์เซ็นต์ หรือ PH15 (เก็บในปีที่ 1) และ PH20(เก็บในปีที่2)มีความใกล้ชิดกันทางด้าน geneticมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าเชื้อที่อยู่ในแปลงปลูกปีที่ 1 แล้วสามารถอยู่รอดได้โดยการอาศัยอยู่ในเศษซากพืช ฟางข้าวหรือในวัชพืช ดังได้มีรายงานเชื้อราสามารถเข้าทำลายพืชตระกูลหญ้าได้มากกว่า 50 ชนิดรวมทั้งพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจ เช่น ข้าว ข้าฟ่าง ข้าวบาร์เลย์ และข้าวสาลี (Nicolas,1995) ดังนั้นการเก็บเศษซากพืชที่อยู่ในแปลงปลูก หรือการปลูกพืชหมุนจึงเป็นวิธีการหนึ่งในการลดปริมาณของเชื้อในแปลง และเป็นการจัดการโรคพืชที่มีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อราโรคใบไหม้เชื้อที่เก็บจากแปลงปลูก มีความแปรปรวนค่อนข้างสูงจากการศึกษาจะพบว่า เชื้อที่เก็บจากแปลงที่มีการปลูกข้าวตลอดทั้งปีทั้งหมด 22 isolates ที่ระดับความเหมือนทางพันธุกรรม 70%ขึ้นไปสามารถแบ่งกลุ่มได้ 9 lineages สำหรับเชื้อที่เก็บจากแปลงที่ปลูกข้าวปีละครั้งทั้งหมด 25 isolates ที่ระดับความเหมือนทางพันธุกรรมที่ 70%ขึ้นไปสามารถแบ่งกลุ่มได้ 15 lineages เนื่องจากในประเทศไทยได้พบว่าเชื้อรามีการสืบพันธุ์แบบใช้เพศจากการศึกษาลักษณะ mating type โดย Mekwatanakarn และคณะ(1999) จากเชื้อราที่เก็บจากเขตภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือซึ่งเป็นบริเวณที่มีการปลูกข้าวมานาน เมื่อวิเคราะห์โดยวิธี MGR586 fingerprint พบกลุ่มเชื้อราถึง 50 lineages และยังพบการสืบพันธุ์แบบใช้เพศโดยมีลักษณะของ mating type ของเชื้อราถึงจำนวน 143 ตัวอย่าง ซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของความหลากหลาย

ของเชื้อ นอกจากนี้การปลูกข้าวอย่างต่อเนื่องจะทำให้เชื้อมีแหล่งอาศัยตลอดเวลาทำให้เกิดการสะสมของเชื้อ ทำให้เกิดความหลากหลายของเชื้อมากยิ่งขึ้น ประกอบกับประเทศในเขตเอเชียใต้ และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้เป็นแหล่งปลูกข้าวที่สำคัญของโลก ซึ่ง spores ของเชื้อราสามารถที่จะถูกพัดพาโดยลมจากแหล่งหนึ่งไปสู่แหล่งหนึ่งได้ตลอดเวลา ดังรายงานโดย Soubabere และ คณะ(1998) ความหลากหลายของเชื้อโรคใบไหม้จะมีมากที่สุดในทวีปเอเชีย นอกจากนี้การเคลื่อนย้ายของเมล็ดที่ติดโรคจะมีบทบาทที่สำคัญในการกระจายของเชื้อไปยังที่ต่าง ๆ ด้วย จากลักษณะแผลที่แตกต่างกันในแปลงปลูก ก็เป็นดัชนีที่บอกได้ถึงความหลากหลายของและความรุนแรงของโรคที่จะเกิดขึ้นได้ ถึงแม้ว่าลักษณะของแผลที่แตกต่างกันสามารถเกิดขึ้นได้จากหลายปัจจัยแต่ส่วนหนึ่งก็เกิดจากความหลากหลายของเชื้อที่เข้าทำลาย เพราะลักษณะของแผลที่แตกต่างกันเกิดจากเชื้อที่เข้าทำลายต่างกัน หรือเหมือนกันที่แผลนั้นอาจยังไม่มีการพัฒนา ซึ่งสอดคล้องกับที่พบว่ามี ความหลากหลายของเชื้อ ภายในแปลงปลูก อย่างไรก็ตามเนื่องจากไม่ทำทดลองซ้ำจึงยังไม่ได้ข้อสรุปที่ชัดเจน

ลักษณะการปลูกพืชจึงมีบทบาทที่สำคัญอย่างหนึ่งในการเพิ่มปริมาณของเชื้อและความหลากหลายของเชื้อ นอกจากการใช้พันธุ์ต้านทานแล้วการจัดการ เป็นวิธีการหนึ่งจะช่วยลดปริมาณของเชื้อและความรุนแรงของโรค อย่างแปลงปลูกที่สลับกับการปลูกพืชชนิดอื่นไม่พบโรคในปีที่2 เพื่อให้การควบคุมโรคนั้นมีประสิทธิภาพ ควรให้การจัดการการปลูกพืชเป็นส่วนหนึ่งในการจัดการโรคพืช

เอกสารอ้างอิง

- ทัศนีย์ สงวนสัจ 2540 . บทบาทของพันธุกรรมด้านทานโรคและแมลงกับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวของไทย เอกสารวิชาการ ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร กระทรวง เกษตรและสหกรณ์ ISBN: 974-7642-53-2 pp. 45-50.
- บริบูรณ์ สมฤทธิ์ และ สงกรานต์ จิตรากร 2537. การศึกษาและวิเคราะห์ปัญหาหลักด้านเทคโนโลยี ของข้าวในประเทศไทย. สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร. 148 หน้า
- ศูนย์สถิติการเกษตร 2537. รายงานการสำรวจข้าวนาปี ปีเพาะปลูก กลุ่มวิเคราะห์ข้อมูลการผลิตพืช สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตร และสหกรณ์ 292 หน้า
- Chamras, P. 1991. Knowledge of Rice. Rice Research Institute, Department of Agriculture, Bangkok, Thailand, 267 pp. (in Thai)
- Disthaporn, S. 1987. Studies on sampling methods for rice disease in Thailand. Ph.D. Thesis, University of Giessen, Germany.
- Disthaporn, S. 1994. Current rice blast epidemics and their management in Thailand, pp.333-342 in Zeigler, R.S., Leuang, S.A., and Teng, P.S.(eds). Rice Blast Disease. C.A.B. International, Wallingford, Oxon, U.K.
- Kiyosawa, S. 1972. Genetics of blast resistance. In: Rice Breeding. International Rice Research Institute, PO Box 933, Manila, The Philippines, pp.203-225.
- Lee, S.B. and Taylor, J.W. 1990 Isolation DNA from fungus mycelia and single spores, in PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Innis, M.A. Gelfand, D.H. Sninsky, J.J., and White, T.J., Academic Press, San Diego. Pp. 282-287
- Mekwatanakam, P., W. Kositratana, T. Phromraksa, and R.S. Zeigler. 1999. Sexually fertile Magnaporthe grisea rice pathogenesis in Thailand. Plant Disease. 83:939-943.
- Nicolas, J.T. 1995. Having a blast :exploring the pathogenecity of Magnaporthe grisea. Trend in Microbiology 3:9-16
- Ou, S.H. 1985. Rice disease. Commonwealth mycological institute, Surrey, UK. pp. 109-201.
- Rosero, M.J. 1979. Breeding for blast resistance at CIAT. In. Proceedings of the Rice Blast Workshop. International Rice Research Institute, PO BOX 933, Manila, The Philippines, pp. 63-67.

- Somrith, B.1991. Modern Thai rice varieties: development with allele genes Paper presented in " Thai-IRRI Three Decades of Cooperation" January11, 1991. Rama Gadens Hotel, Bangkok, Thailand. (memo 13 pp.)
- Soubabere , O., Tharreau, D., Dioh, W., Lebrum, M.H., and Notteghem, J.L. 1998. Development and use of SCAR (Sequence Characterized Amplified Regions) to analyse populations of *Magnaporthe grisea*. 2nd International rice blast conference-August 4-7-Montpellier, France.pp.32.

ภาคผนวก

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนสกว.

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชานานาชาติ ยังไม่ได้ตีพิมพ์
2. การนำผลงานไปใช้ประโยชน์
 - นำผลงานไปบรรยายการควบคุมโรคใบไหม้แก่เกษตรกรในโครงการ 135 มหาวิทยาลัยกับชุมชน
3. เสนอผลงานเป็นโปสเตอร์ ในงานประชุมวิชาการ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 26 ระหว่างวันที่ 18-20 ตุลาคม 2543 ณ ศูนย์การประชุมแห่งชาติสิริกิติ์ กรุงเทพมหานคร บกคัดย่อหน้า 539

ความหลากหลายของเชื้อ *Pyricularia grisea* ที่มาจากลักษณะแผลที่แตกต่างกันของโรคใบไหม้ของข้าว
DIVERSITY OF *Pyricularia grisea* POPULATION FROM DIFFERENT LESION TYPES OF RICE BLAST DISEASE

ชวนพิศ บุญชิตศิริกุล^a และ ประสพพร สมิตะมาน^b

Chuanpit Boonchitsirikul^a and Prasartporn smitamana^b

^aDepartment of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand;

^bPlant Biotechnology Research Center, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand;

e-mail address: agicbnc@chiangmai.ac.th

บทคัดย่อ: โรคใบไหม้ของข้าวที่เกิดจากเชื้อ *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. เป็นโรคที่พบระบาดอย่างแพร่หลายรวมทั้งเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดความเสียหายกับผลผลิตของข้าวในประเทศไทย โดยทำให้เกิดความเสียหายได้มากกว่า 15% และในกรณีที่มีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมสามารถทำให้เกิดความเสียหายได้ไม่ต่ำกว่า 20%-30% เชื้อสาเหตุของโรคสามารถเข้าทำลายข้าวได้ทุกระยะของการเจริญเติบโต เนื่องจากเชื้อ *Pyricularia grisea* มีความหลากหลายทางด้านสายพันธุ์จึงทำให้ยากต่อการคัดพันธุ์ต้านทานโรค วัตถุประสงค์ของงานวิจัยเพื่อศึกษาความหลากหลายของเชื้อและความสัมพันธ์ของเชื้อจากลักษณะของแผลที่แตกต่างกัน จากการสำรวจการเข้าทำลายของเชื้อในระยะต้นกล้าของสายพันธุ์ กข 10 ในแปลงเกษตรกรที่ อำเภอเชียงดาวและอำเภอแม่วงก์จำนวน 12 สายพันธุ์ พบว่าแผลมีลักษณะที่แตกต่างกัน 7 ลักษณะ จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และ ลักษณะ DNA banding pattern พบว่าเชื้อทุกสายพันธุ์ที่แยกจากแผลเหล่านั้นมีความแตกต่างกัน และพบว่าเชื้อที่มาจากแหล่งเดียวกันมีความใกล้เคียงกันทางพันธุกรรมระหว่างสายพันธุ์ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเชื้อมีความหลากหลายในธรรมชาติ ถึงแม้ว่าจะไม่พบความสัมพันธ์ที่ชัดเจนระหว่างลักษณะแผลและสายพันธุ์ของเชื้อสาเหตุของโรค

Abstract: Rice blast, caused by *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc., is widely spread in all rice growing areas and is one of the destructive factors for rice production in Thailand. This disease might cause rice yield loss of more than 15% or occasionally up to 20-30% under favorable conditions. It could infect rice plants in every growth stages. *P. grisea* has varied in genetic diversity that caused difficult to screen for disease resistance. The purpose of this research is to study the relationship between the *P. grisea* population diversity and lesion types. Variation of lesion types within the infected leaves of RD10 variety were found in samples collected from two individual farmer's fields at Mae Wang and Chiang Dow sites. The differences of lesion types were classified into 7 lesion types from 12 isolates. The colony morphology and DNA banding patterns revealed the difference in all isolates. Furthermore, DNA banding patterns of the isolates collected from the same area were mostly similar. There was short distance between genetically difference among isolates used in this study. The result suggested that the pathogens were high diverse in nature and there was no clear relationship between lesion types and the isolates.

Experiment procedure: Fungus isolates were collected from various necrotic spots of rice leaf blast disease from individual of farmer's field at Chiang Dow and Mae Wang site. Symptoms of infected leaves were classified into 7 lesion types, great spindle, moderate spindle, small size spindle, small spot, narrowly elongated spindle, lesion coalesce and gray round shape spindle. Single spore isolation from each collection was cultured on PDA and Prune agar for the colony and conidia morphology studies. After 3 weeks of culture, the fungi were transferred to Fries medium for another 10 days before the mycelia were collected for the DNA extraction following the technique described by Lee and Taylor (1990). The PCR-RAPD method is used for *P. grisea* fingerprinting study as applied for the standard procedure of IRRI. Amplified products were separated by electrophoresis on 1.2 % agarose gel in TBE buffer, stained with ethidium bromide and visualized with UV illumination.

Results, Discussion and Conclusion: Natural infected lesions on the rice leaves were different in size, shape, color and zonate pattern of lesion. These different necrotic spots were not only depended upon environmental conditions, leaf age, age of spots, and degree of susceptible in each cultivar but also lineages of *P. grisea*. Twelve isolates of *P. grisea*, 7 from Chiang Dow and 5 from Mae Wang, were used in this study. Culture morphology varied greatly from isolates and medium used. The mycelium varied from very scanty to a thick cotton mass as well as colour of mycelium varied from whitish or cream to dark gray. Spores number varied from 0 to 6.8×10^4 spores/ml. The average size of conidia varied from $18.7-30.7 \times 8.7-12.5 \mu m$. The DNA banding pattern showed difference in all isolates even with same lesion type from different site. However, the similarity of the pathogens collected from the same area was higher comparing to the pathogens from the different locations. Moreover, they showed the short distance between genetic differed among isolates. Result from this study showed that different lesion types could caused by many factors which affecting symptom development including the biological diversity of the pathogens in those locations.

Reference:

- Disthaporn, S. 1994. Current rice blast epidemics and their management in Thailand, pp. 333-342 in Zeigler, R.S., Leung, S.A., and Teng, P.S. (eds). Rice Blast disease. C.A.B. International, Wallingford, Oxon, U.K.
- Lee, S.B., and Taylor, J.W., 1990. Isolation of DNA from fungus mycelia and single spores, in PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications. Innis, M.A., Gelfand, D.H. Sninsky, J.J., and White, T.J., Eds., Academic Press, San Diego, pp. 282-287.

Key word: Blast disease, Diversity, *Pyricularia grisea*

TITLE: Comparision of virulence and variation of rice blast fungus from different cultural practic of rice farmer field in Chiang Mai area

AUTHOR(S): Chuanpit Boonchitsirikul and Pasartporn Smitraman

ADDRESS: Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture Chiang Mai University, Chiang Mai 50200 Thailand

Objective: To compare virulence and variation of rice blast fungus (*Pyricularia grisea*) from different rice farmer cultural practic in Chiang Mai area

Methods: Fungus isolated were collected from three different cultural practice of rice farmer field as follow : 1) growing rice all around the year 2) growing rice once a year and without sanitation of rice field 3) rotation growing rice with other plants. Single spore isolation from each collection was cultured on PDA , Prune and Polish agar for the colony and conidium morphology studies. After 3 weeks of culture, the fungi were transferred to Fries medium for another 10 days before the mycelia were collected for the DNA extraction following the technique described by Lee and Taylor (1990). The rep-PCR method is used for *P. grisea* fingerprinting study as applied for the standard procedure of IRRI (1)

Results: The occurrence of rice blast disease in each rice farmer field was differentiated. Results suggest that the variation and virulence of blast fungus could be linked to cultural practic of farmer and genetic diversity of the host. Serious rice infection of both leaf and neck blast disease was prevalence in the field that growing rice every season and without sanitation before pianting. The less occurrence of infection was found in the field where had rotation with other plants. Culture morphology of blast fungus varied greatly between isolates and medium used. The DNA banding pattern showed that the overall similarity ranging from as low as 30% to 85% There were high similarity in contemporary collection of blast fungus at the same time and the similarity of blast fungus had correlated with the blast fungus infection of rice next year growing.

Conclusion: These results indicated that rice cultural practic played an important roll of occurrence of rice blast disease in rice farmer field. The DNA banding pattern of fungus had high similarity in contemporary collection of blast fungus at the same time.

Selected References:

1. George MLC, Nelson RJ, Zeigler RS and Leung H 1998 Rapid population analysis of *Magnaporthe grisea* by Using rep-PCR and Endogenous Repetitive DNA Sequences. *Phytopathology*, 88, 223-229.

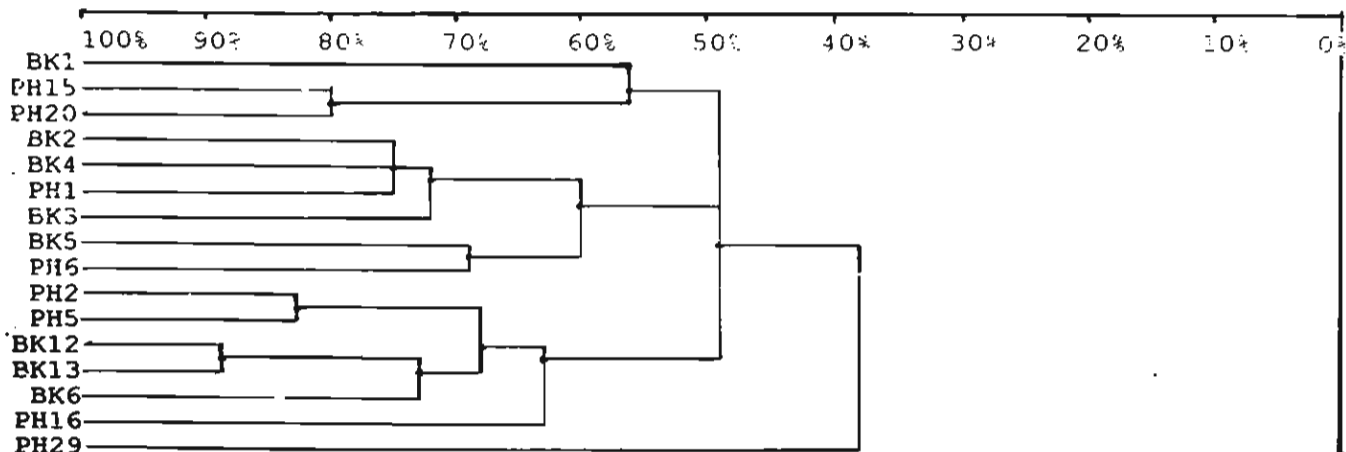


Fig.1 Dendrogram of *Pyricularia grisea* that collected from Amphur Chiang Doaw (PH) and Ban-kad (BK).

Keyword: *Pyricularia grisea*, rice blast, variation, rice, Thailand