

การจัดจำแนก และปฏิบัติการก่อโรคของเชื้อรา *Pyricularia* sp. ที่แยกได้จาก
หญ้าวัชพืชนาข้าว

IDENTIFICATION AND PATHOGENICITY OF *PYRICULARIA* SP.
ISOLATED FROM WEED IN RICE FIELD



วารีย์ เหล่าเพิ่มสุข
WAREE LAOPHERMSUK

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเกษตรศาสตร์
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2566

KMITL-2023-AG-M-065-410

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

IDENTIFICATION AND PATHOGENICITY OF *PYRICULARIA* SP.
ISOLATED FROM WEED IN RICE FIELD



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN AGRICULTURE
SCHOOL OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2023

KMITL-2023-AG-M-065-410

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2023

SCHOOL OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การจัดจำแนก และปฏิกิริยาก่อโรคของเชื้อรา <i>Pyricularia</i> sp. ที่แยกได้จากหญ้าวัชพืชนาข้าว
นักศึกษา	นางสาววารี เหล่าเพิ่มสุข
รหัสประจำตัว	60604004
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เกษตรศาสตร์
พ.ศ.	2566
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นงลักษณ์ เกรินทวงศ์

บทคัดย่อ

เชื้อราจันัส *Pyricularia* เป็นเชื้อราสาเหตุโรคใหม่ในพืชตระกูลใบเลี้ยงเดี่ยวหลายชนิด ทำให้ผลผลิตทางการเกษตรของพืชเศรษฐกิจที่สำคัญเกิดความเสียหาย เชื้อรามีความจำเพาะเจาะจงในการเข้าทำลายพืชอาศัย การสำรวจเก็บตัวอย่างโรคใหม่ในฤดูปลูกปี พ.ศ. 2561 - 2563 ในทุกภูมิภาคของประเทศไทย สามารถแยกเชื้อราสาเหตุโรคใหม่ได้ทั้งหมด 110 ไอโซเลท เชื้อรามีลักษณะสัณฐานบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ RFA แตกต่างกัน พบลักษณะโคโคนิของเชื้อรามิชอบเรียบจนถึงขอบขรุขระ โคโคนินี้สีขาว เขียวเทา จนถึงสีดำ สัณฐานของโคนิเดียมีรูปร่างตั้งแต่ pyriform ที่มีฐานโค้งมน ปลายแคบ ปลายแหลมหรือหู่ เชื้อราไอโซเลทที่มีความกว้างเฉลี่ยของโคนิเดียมากที่สุด คือ CMI63104 (10.17 ± 0.14 ไมโครเมตร) ไอโซเลทที่มีความยาวเฉลี่ยของโคนิเดียมากที่สุด คือ PNB61107 (32.91 ± 1.14 ไมโครเมตร) ไอโซเลทที่มีความกว้างเฉลี่ยของโคนิเดียน้อยที่สุด คือ STI62110 (5.99 ± 0.30 ไมโครเมตร) และไอโซเลทที่มีความยาวเฉลี่ยของโคนิเดียน้อยที่สุด คือ RBR61109 (19.70 ± 0.45 ไมโครเมตร) การศึกษารูปแบบของเพศโดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีน *Mat* พบเชื้อราที่มีรูปแบบของเพศแบบ Mat1-1 จำนวน 18 ไอโซเลท และแบบ Mat1-2 จำนวน 92 ไอโซเลท คิดเป็น 16.37 และ 83.63 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เมื่อทำการทดสอบปฏิกิริยาก่อโรคบนพืชอาศัย ได้แก่ ข้าว ข้าวบาร์เลย์พันธุ์ บรบ2 และ บรบ9 ข้าวสาลีพันธุ์แพร่ 60 และ ผาง 60 หญ้าชันอากาศ หญ้าขน หญ้าปล้องข้าวนก และหญ้ามาเลเซีย พบว่าเชื้อราไอโซเลท LPG61102 PNB61105 TAK61105 CPM62101 CPM62102 และ MKM62101 สามารถเข้าทำลายพืชอาศัยได้ทุกชนิด โดยพืชอาศัยที่มีความอ่อนแอต่อจำนวนเชื้อรามากที่สุดคือหญ้าชันอากาศ (78.18%) หญ้าปล้องข้าวนก (74.55%) และข้าวบาร์เลย์พันธุ์ บรบ9 (70.91%) ตามลำดับ จากนั้นจัดกลุ่มตาม

ความสามารถในการเข้าทำลายพืชอาศัยและคัดเลือกเชื้อราตัวแทนในแต่ละกลุ่ม เพื่อวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS region และเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank พบว่ามีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS ของเชื้อรา *P. oryzae* และ *P. grisea* การศึกษาความหลากหลายของรูปแบบปฏิกิริยาการก่อโรคของเชื้อราบนข้าวพันธุ์แนะนำของไทยจำนวน 40 พันธุ์ พบว่าเชื้อราแต่ละไอโซเลทมีความสามารถในการเข้าทำลายข้าวได้แตกต่างกัน ไอโซเลทที่สามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์แนะนำได้มากที่สุด คือ LPG61102 TAK61105 และ STI62110 ซึ่งมีค่าดัชนีความรุนแรง (VI) เท่ากับ 0.15 และพันธุ์ข้าวที่มีความต้านทานต่อเชื้อรามากที่สุด คือ ข้าวพันธุ์ กข14 มีค่าดัชนีความต้านทาน (RI) เท่ากับ 1.00 จากผลการศึกษาพบว่าเชื้อราที่เก็บรวบรวมจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือสามารถเข้าทำลายพันธุ์ข้าวจากทุกภูมิภาคยกเว้นพันธุ์ข้าวที่ปลูกในพื้นที่ภาคใต้ และเชื้อราที่เก็บรวบรวมจากภาคใต้ไม่สามารถเข้าทำลายพันธุ์ข้าวในภูมิภาคอื่นได้ เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยแผนภาพเดนโดแกรมโดยใช้ข้อมูลผลคะแนนการเกิดโรค (0 – 6) ที่ระดับความเหมือน 80 เปอร์เซ็นต์ สามารถแบ่งเชื้อราออกได้เป็น 10 กลุ่ม โดยเชื้อราที่จัดอยู่กลุ่มเดียวกันมีความสามารถในการก่อโรคคล้ายกัน การทดสอบเชื้อราบนข้าวที่มียืนต้านทานเดี่ยว (NILs) จำนวน 31 พันธุ์ เพื่อระบุยีนก่อโรคของเชื้อราแต่ละไอโซเลท ยีนก่อโรคที่พบมากที่สุด คือ ยีนก่อโรค *AVR-Pikm* *AVR-Pi9* *AVR-Pi20* และ *AVR-Pita* ยีนก่อโรคที่พบน้อยที่สุด คือ ยีนก่อโรค *AVR-Pia* ข้อมูลความหลากหลายของประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในหญ้า ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อกับพืชอาศัย และการจัดจำแนกจากการศึกษาครั้งนี้ เป็นการเผ่าระวังการแพร่ระบาดของเชื้อก่อโรคที่สามารถเข้าทำลายพืชอาศัยได้หลายชนิด โดยเฉพาะข้าว และสามารถใช้เป็นฐานข้อมูลในการศึกษาความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่แยกได้จากหญ้าในประเทศไทย ซึ่งข้อมูลที่ได้จะมีประโยชน์ต่องานวิจัยในอนาคต เช่น การศึกษา ยีนก่อโรค และศึกษากลไกการเข้าทำลายของเชื้อราที่แยกได้จากหญ้าต่อพืชอาศัย เป็นต้น

Thesis Title	Identification and Pathogenicity of <i>Pyricularia</i> sp. Isolated from Weeds in Rice Field.
Student	Ms. Waree Laophermsuk
Student ID.	60604004
Degree	Master of Science
Program	Agriculture
Year	2023
Thesis Advisor	Assist. Prof. Dr. Nonglak Parinthawong

Abstract

Fungal species from the *Pyricularia* genus are associated with blast disease in plants from the Poaceae family, causing losses in economically important crops. The fungal was specific to host plants. Survey and sample collection of blast disease in rice growing regions in Thailand were conducted during growing season in 2018 – 2020, and totally 110 blast isolates were obtained. The fungal morphology on PDA and RFA media was studied. It was found that the characteristics of fungal colonies were different, the colony edge was rough or smooth, the colony color was white, green and gray to black. The morphology of conidia was pyriform or rounded base and narrowed towards the tip which is pointed or blunt. The highest average of conidia width and length were recorded by CMI63104 ($10.17 \pm 0.14 \mu\text{m}$) and PNB61107 ($32.91 \pm 1.14 \mu\text{m}$), and the lowest average conidia width and length were, STI62110 ($5.99 \pm 0.30 \mu\text{m}$) and RBR61109 ($19.70 \pm 0.45 \mu\text{m}$) respectively. All 110 blast isolates were assigned for their mating type based on analysis using primers specific to the *Mat* gene, The results show that 18 blast isolates were Mat1-1 and 92 isolates were Mat1-2, which were accounted for 16.37 and 83.63 % respectively. The pathogenic reaction was analyzed on different hosts including rice, barley (BRB2 and BRB9), wheat (Phare 60 and Fang 60), torpedo grass, para grass, barnyard grass and carpet grass. The result showed that the fungal isolate LPG61102, PNB61105,

TAK61105, CPM62101, CPM62102 and MKM62101 were able to infect all host plants. The most susceptible hosts to fungal isolates were torpedo grass (78.18%), barnyard grass (74.55%) and barley variety BRB9 (70.91%). The fungal were then grouped according to their ability to infected host plants and the representative fungi from each group were selected for species identification using ITS region compared to GenBank database. The data revealed that 110 isolates belonged to *P. oryzae* and *P. grisea*. Study of pathotype diversity on 40 Thai elite rice varieties revealed that the fungi were different in ability to cause disease symptom. The blast isolate LPG61102, TAK61105 and STI62110 could infect the most number of Thai elite rice varieties with the virulence index of 0.15 and RD14 variety was the most resistant with the resistance index (RI) of 1.00. The results showed that the fungal isolates collected from the Northeastern region can infect rice varieties from all regions excluding rice varieties grown in the Southern region. While fungal isolates collected from the Southern region were unable to cause disease on rice varieties from other regions. The dendrogram was generated using standard scale of disease symptom (0 – 6). At 80% similarity level, the dendrogram divided the fungus into 10 groups, the fungal isolates belonged to the same group are similar pathogenicity pattern. Determination of AVR gene of each fungal isolate was conducted on 31 near isogenic line (NILs) and the result revealed that the most frequently AVR genes found were AVR-Pikm AVR-Pi9 AVR-Pi20 and AVR-Pita and the less frequently gene was AVR-Pia. The diversity of fungal populations that cause blast symptom in grass, interaction between fungal and host plants, and their classification are useful to monitor the rice blast pathogens that damage many host plants, particularly rice, and can be used as database to study the diversity of fungal caused blast disease in grass in Thailand. The informations obtained are usefull for the future research, such as AVR gene characterization and fungal–plant pathogenic mechanism.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความช่วยเหลือจาก ผศ.ดร.นงลักษณ์ เกรินทวงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ให้คำปรึกษา ถ่ายทอดความรู้ แนวคิด คำแนะนำ ความช่วยเหลือและข้อเสนอแนะต่างๆ ที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง ตลอดทั้งตรวจทานแก้ไข กระทั่งวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้อย่างสมบูรณ์ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณศูนย์วิจัยข้าวแม่ฮ่องสอน ศูนย์วิจัยข้าวเชียงราย ศูนย์วิจัยข้าวชุมแพ ศูนย์วิจัยข้าวขอนแก่น คุณกุลชนา ดาร์เวล นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษศูนย์วิจัยข้าวแพร่ คุณชนะ ศรีสมภาร นักวิชาการเกษตรชำนาญการศูนย์วิจัยข้าวอุดรธานี คุณเบญจวรรณ พลโคตร และคุณกฤษฎา ชูช่วย นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก คุณเจริญ ทองระย้า เจ้าพนักงานการเกษตร ศูนย์วิจัยข้าวราชบุรี คุณอังคณา กันทาจันทร์ นักวิชาการเกษตรปฏิบัติการศูนย์วิจัยข้าวสกลนคร คุณกรรณิการ์ สีนวลมาก ผู้อำนวยการศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าววนครนายก และเกษตรกรเจ้าของแปลงปลูกข้าวที่ให้ ความอนุเคราะห์ในการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคไหม้ข้าวเพื่อใช้ในงานวิจัย ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.พรหมมาศ คุณากาญจน์ รศ.ดร.ชัชวาล จันทราสุริยารัตน์ ดร.มัทธนา ต้นชัย และ ผศ.ดร.ช่อแก้ว อนิลบล ที่กรุณาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบคุณคุณเพ็ญภา จันทร์นวล คุณรุ่งอรุณ พูนสิน คุณประติภา ประดับไพโร คุณวัชรพร สุขศิริ คุณสุพัตรา จันทศรี และคุณสุวิจน์ อิมวิจิต

ผู้วิจัยมีความซาบซึ้งในความกรุณาของทุกท่านที่ได้กล่าวถึง และผู้ที่ไม่ได้เอ่ยนามในที่นี้ ที่มีส่วนช่วยเหลือให้การสนับสนุน และให้กำลังใจด้วยดีตลอดมา จึงขอกราบขอบพระคุณทุกท่านด้วยความจริงใจ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ได้รับการสนับสนุนจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) และสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ

วารี เหล่าเพิ่มสุข

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	IX
สารบัญภาพ.....	XI
สารบัญตารางผนวก.....	XIII
สารบัญภาพผนวก.....	XIV
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	2
1.3 สถานที่ดำเนินงาน.....	3
1.4 ขั้นตอนในการศึกษา.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	4
2.1 โรคไหม้.....	4
2.1.1 ลักษณะอาการของโรคไหม้ในข้าว.....	4
2.1.2 การแพร่ระบาด.....	4
2.2 เชื้อราสาเหตุโรคไหม้.....	6
2.2.1 สถานะทางอนุกรมวิธาน.....	9
2.3 การระบุชนิด (species) ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้.....	9
2.4 ความแปรปรวนและความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้.....	11
2.5 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ต่อพืชอาศัย.....	12
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....	15
3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย.....	15
3.2 อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย.....	15

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.1 อุปกรณ์.....	15
3.2.2 สารเคมี.....	16
3.3 เชื้อรา และข้าวที่ใช้ในการทดลอง.....	16
3.4 วิธีการวิจัย.....	19
3.4.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่างเชื้อโรคราไหม้ และการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ โดยวิธีแยกโคโคนิเดียเดี่ยว (Single conidia isolation).....	19
3.4.2 การศึกษาสัณฐานของเชื้อ <i>Pyricularia</i> sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ RFA และสัณฐานของโคโคนิเดีย.....	21
3.4.3 การตรวจสอบคุณสมบัติทางเพศ (Mating type).....	21
3.4.4 การศึกษาปฏิกิริยาการก่อโรคบนข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี หญ้าชั้นอากาศ หญ้าขน หญ้าปล้องข้าวนก และหญ้ามาเลเซีย.....	23
3.4.5 การจัดทำแนกสปีชีส์ของเชื้อราสาเหตุโรคราไหม้ด้วยข้อมูล ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS region.....	23
3.4.6 การวิเคราะห์ความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรคราไหม้บน ข้าวพันธุ์ทดสอบ.....	25
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....	29
4.1 ผลการสำรวจเก็บตัวอย่างโรคราไหม้ในหญ้าและการแยกเชื้อราสาเหตุโรคราไหม้.....	29
4.1.1 ผลการสำรวจเก็บตัวอย่างโรคราไหม้ในหญ้า.....	29
4.1.2 ผลการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยวิธี single conidia isolation.....	31
4.2 ผลสัณฐานของเชื้อ <i>Pyricularia</i> sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ RFA และสัณฐานของโคโคนิเดีย.....	39
4.2.1 ลักษณะโคโลนิบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ RFA.....	39
4.2.1 ลักษณะโคโคนิเดีย.....	45
4.3 ผลการตรวจสอบรูปแบบเพศ (mating type) ของเชื้อราสาเหตุโรคราไหม้.....	50

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.4 ผลการศึกษาความหลากหลายของรูปแบบปฏิกิริยาการเกิดโรคของเชื้อรา บนข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี หญ้าชั้นอากาศ หญ้าขน หญ้าปล้องข้าวนก และหญ้าม้าลาย.....	52
4.5 ผลการจัดจำแนกสปีชีส์ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ด้วยข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ บริเวณ ITS region.....	60
4.6 การศึกษาความหลากหลายของรูปแบบปฏิกิริยาการเกิดโรคของเชื้อราบน ข้าวพันธุ์แนะนำของไทย และข้าวสายพันธุ์ที่มีถิ่นกำเนิด (Near Isogenic Lines; NIL).....	65
4.6.1 การศึกษาความหลากหลายของรูปแบบปฏิกิริยาการเกิดโรค ของเชื้อราบนข้าวพันธุ์แนะนำ.....	65
4.6.2 การศึกษาความหลากหลายของรูปแบบปฏิกิริยาการเกิดโรคของเชื้อรา บนข้าวสายพันธุ์ที่มีถิ่นกำเนิด (Near Isogenic Lines; NIL).....	73
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย.....	79
เอกสารอ้างอิง.....	82
ภาคผนวก.....	91
ประวัติผู้เขียน.....	119

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 รายชื่อพันธุ์ พื้นที่ปลูก และการแสดงออกต่อโรคไหม้ของข้าวพันธุ์แนะนำที่ใช้ในการศึกษาปฏิบัติการก่อโรค.....	17
3.2 รายชื่อพันธุ์ และยืนต้นทานโรคไหม้ของข้าว Near Isogenic Lines (NILs) จำนวน 32 พันธุ์ และยืนต้นทานโรคไหม้.....	19
3.3 ไพรมเมอร์เพิ่มปริมาณยีน <i>Mate</i> และบริเวณตำแหน่ง ITS ของเชื้อราโรคไหม้.....	25
4.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคไหม้ข้าวในแต่ละพื้นที่ของประเทศไทยในฤดูปลูกปี พ.ศ. 2561 - 2563.....	31
4.2 จำนวนไอโซเลทของเชื้อราโรคไหม้ที่รวบรวมได้ในฤดูปลูกปี พ.ศ. 2561 - 2563.....	32
4.3 ชื่อไอโซเลท สถานที่เก็บ และพีซีเอคัย ของเชื้อราโรคไหม้ที่รวบรวมได้ในฤดูปลูกปีพ.ศ. 2561.....	33
4.4 ชื่อไอโซเลท สถานที่เก็บ และพีซีเอคัย ของเชื้อราโรคไหม้ที่รวบรวมได้ในฤดูปลูกปี พ.ศ. 2562.....	35
4.5 ชื่อไอโซเลท สถานที่เก็บ และพีซีเอคัย ของเชื้อราโรคไหม้ที่รวบรวมได้ในฤดูปลูกปี พ.ศ. 2563.....	37
4.6 การจัดกลุ่มไอโซเลทเชื้อรา <i>Pyricularia</i> sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ RFA อายุ 14 วัน และลักษณะโคโคนีของตัวแทนแต่ละกลุ่ม.....	41
4.7 ผลวิเคราะห์ทางสถิติความกว้างของโคนิเดีย 110 ไอโซเลท.....	47
4.8 ผลวิเคราะห์ทางสถิติความยาวของโคนิเดีย 110 ไอโซเลท.....	49
4.9 ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์โดยเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GeneBank.....	61
4.10 ค่าดัชนีความรุนแรง (Virulence index; VI) ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ 110 ไอโซเลท บนข้าวพันธุ์แนะนำ 40 สายพันธุ์.....	68
4.11 ค่าดัชนีความต้านทาน (Resistance index; RI) ของข้าวพันธุ์แนะนำ 40 สายพันธุ์ ต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 110 ไอโซเลท.....	70

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.12 ค่าดัชนีความรุนแรง (Virulence index; VI) ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ 110 ไอโซเลทบนข้าว NILs 31 สายพันธุ์.....	73
4.13 ค่าดัชนีความต้านทาน (Resistance index; RI) ของข้าวพันธุ์แนะนำ 40 สายพันธุ์ ต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 110 ไอโซเลท.....	76



สารบัญญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ลักษณะอาการของโรคไหม้ในข้าว.....	5
3.1 ลักษณะอาการของโรคไหม้บนใบข้าวระยะแตกกอในแบบต่างๆ 5 แบบ ในพื้นที่แปลงปลูกข้าว.....	20
3.2 แผนภาพแสดงตำแหน่งของITS1 – 5.8S – ITS2 ใน ribosomal DNA (rDNA) และตำแหน่งของไพรเมอร์ ITS5 และ ITS4.....	24
3.3 ลักษณะอาการโรคไหม้และระดับคะแนนการเกิดโรค 7 ระดับ.....	27
4.1 แผนที่ระบุตำแหน่งของเชื้อราแต่ละไอโซเลท.....	38
4.2 ตัวอย่างรูปร่างโคนินเดียของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 110 ไอโซเลท.....	46
4.3 ตัวอย่างผลการตรวจสอบ mating type ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 110 ไอโซเลท.....	52
4.4 ตัวอย่างลักษณะอาการของโรคไหม้บนพีชอาคัย.....	54
4.5 ลักษณะอาการของโรคไหม้บนใบหญ้าชั้นอากาศ ที่พบหลังจากทำการปลูกเชื้อไปแล้ว 7 วัน.....	55
4.6 ลักษณะอาการของโรคไหม้บนใบหญ้าขน ที่พบหลังจากทำการปลูกเชื้อไปแล้ว 7 วัน.....	55
4.7 ลักษณะอาการของโรคไหม้บนหญ้าปล้องข้าวนก ที่พบหลังจากทำการปลูกเชื้อไปแล้ว 7 วัน.....	56
4.8 ลักษณะอาการของโรคไหม้บนหญ้าม้าลายที่พบหลังจากทำการปลูกเชื้อไปแล้ว 7 วัน.....	56
4.9 จำนวนของไอโซเลทเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่เข้าทำลายพีชอาคัย.....	57
4.10 แผนภาพเวนนไดอะแกรมแสดงความสามารถของเชื้อราในการเข้าทำลายพีชอาคัย.....	59
4.11 ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 567 คู่เบส ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 26 ไอโซเลท.....	61
4.12 แผนภูมิวิวัฒนาการต้นไม้ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ ที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS ด้วยวิธี Maximum Likelihood (ML) ด้วยโปรแกรม MEGA11.....	64

สารบัญญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.13 จำนวนไอโซเลทของเชื้อราที่แยกได้แต่ละภาค ที่สามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์ แนะนำในแต่ละภูมิภาคในประเทศไทย.....	67
4.14 แผนภาพการจัดกลุ่มเชื้อสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 110 ไอโซเลท ตามรูปแบบ ปฏิกริยาการก่อโรคบนข้าวพันธุ์แนะนำจำนวน 40 พันธุ์.....	72
4.15 จำนวนเชื้อราที่แสดงปฏิกริยา compatible (5 – 6; เกิดโรครุนแรง) ต่อข้าว NILs ที่มียืนต้นทานเดียว จำนวน 31 พันธุ์.....	77
4.16 แผนภาพการจัดกลุ่มเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 10 ไอโซเลท ตามรูปแบบ ปฏิกริยาการก่อโรคบนข้าวพันธุ์ที่มียืนต้นทานเดียว.....	78



สารบัญตารางผนวก

ตารางผนวกที่	หน้า
1 ผลสถิติของขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีอายุ 14 วัน.....	95
2 ผลสถิติของขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ RFA ที่มีอายุ 14 วัน.....	97
3 ข้อมูลระดับคะแนนการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้บนข้าวพันธุ์แนะนำ.....	99
4 ข้อมูลระดับคะแนนการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้บนข้าวที่มีอิน ทรีย์ในดิน (NILs).....	105



สารบัญภาพผนวก

ภาพผนวกที่	หน้า
1 ลักษณะของโคโรนาไวรัสของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้.....	111
2 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างเชื้อราที่วิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Clustal Omega.....	114



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โรคไหม้เกิดจากเชื้อราจีส *Pyricularia* เป็นเชื้อราที่มีความสำคัญและเป็นปัญหาต่อพื้นที่การปลูกข้าวส่วนใหญ่ของโลก มีความสามารถในการเข้าทำลายพืชตระกูลหญ้าได้หลายชนิด เช่น ข้าว ข้าวโอ๊ต ข้าวไรย์ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี และข้าวทริติเคลี (Klaubauf *et al.*, 2014) เชื้อราชนิดนี้สามารถจำแนกได้ 2 ชนิด คือ เชื้อรา *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. และ *P. oryzae* Cav. โดยเชื้อราทั้งสองชนิดนี้ ยังไม่สามารถระบุความแตกต่างได้อย่างชัดเจนด้วยลักษณะสัณฐาน การเจริญเติบโตของเชื้อรา และการสืบพันธุ์ของเชื้อรา โดยเชื้อรา *P. grisea* เป็นสาเหตุของพืชตระกูลหญ้าหลายชนิด และเชื้อรา *P. oryzae* เป็นสาเหตุโรคไหม้ในข้าว และพืชตระกูลหญ้าบางชนิด เชื้อราทั้งสองชนิดนี้มีความสามารถในการเข้าทำลายข้าวและหญ้าได้แตกต่างกัน และมีความจำเพาะเจาะจงในการเข้าทำลายของเชื้อต่อพืชอาศัย (Ou, 1985; Borromeo *et al.*, 1993; Urashima *et al.*, 1993). ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อราสาเหตุโรคไหม้บนวัชพืชในแปลงข้าวจึงมีความสำคัญเนื่องจากวัชพืชในแปลงข้าวเป็นแหล่งอาศัยของเชื้อทำให้เกิดการแพร่ระบาดข้ามฤดูอย่างต่อเนื่อง นอกจากนี้ยังมีรายงานที่กล่าวถึงปฏิกริยาการก่อโรค (Pathogenicity) ของเชื้อรา *P. grisea* บนพืชอาศัย ได้แก่ หญ้าตีนกา หญ้าเจ้าชู้ และข้าว พบว่าเชื้อรา *P. grisea* สามารถเข้าทำลายหญ้าตีนกา และหญ้าเจ้าชู้ได้ แต่ไม่สามารถเข้าทำลายข้าวได้ และลักษณะอาการที่พบบนหญ้า คือ พบตั้งแต่แผลจุดสีน้ำตาลบนใบหญ้า แผลเป็นรูปตา มีขอบแผล หรือไม่มีขอบแผล จนถึงแผลขยายลุกลามไปทั่วทั้งใบ (Heath *et al.*, 1990) และยังมีรายงานเพิ่มเติมในการก่อโรคบนพืชอาศัยของเชื้อรา *P. grisea* และ *P. oryzae* บนหญ้าหางจิ้งจอกเขียว และข้าว พบว่าเชื้อรา *P. oryzae* และ *P. grisea* ที่แยกได้จากหญ้าหางจิ้งจอกเขียว และหญ้ากำมปู สามารถเข้าทำลายพืชอาศัยได้แตกต่างกัน โดยเชื้อรา *P. oryzae* สามารถเข้าทำลายหญ้าหางจิ้งจอกเขียว และข้าวได้ ในขณะที่เชื้อรา *P. grisea* สามารถเข้าทำลายหญ้าหางจิ้งจอกเขียวได้เพียงอย่างเดียว ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อราทั้งสองชนิดนี้อาจมีการปรับตัวในการเข้าทำลายพืชอาศัยชนิดใหม่ๆ ได้ (Chung *et al.*, 2020) ตามรายงานของ Zhong *et al.* (2016) ได้รายงานว่าเชื้อราสาเหตุโรคพืชสามารถปรับตัวเพื่อเข้าทำลายพืชอาศัยข้ามชนิด และพืชอาศัยชนิดใหม่ๆ ได้

เชื้อรา *Pyricularia* sp. มีความแปรปรวนของเชื้อมากกว่าเชื้อราชนิดอื่น เชื้อรามีการเปลี่ยนแปลงได้อย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาไม่กี่ชั่วโมง มีการกลายพันธุ์ทำให้ได้สายพันธุ์เชื้อใหม่ๆ (Ou, 1980) สังเกตได้จากความสามารถในการเข้าทำลายข้าวสายพันธุ์ต้านทานที่ผ่านการปรับปรุงและส่งเสริมให้มีการปลูกในระยะเวลาไม่นาน (Victoria and Zeigler, 1993) รูปร่างเชื้อตลอดจนความรุนแรงของเชื้อที่เปลี่ยนไป (Chumley and Valent, 1990; Valent and Chumley, 1990) นอกจากนี้ยังพบว่าสาเหตุของความแปรปรวนเกิดจากการกลายพันธุ์และการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ทำให้เกิดเชื้อสายพันธุ์ใหม่ๆ ส่งผลให้เชื้อรามีการปรับตัวได้อย่างรวดเร็วในการเข้าทำลายพืชอาศัยชนิดต่างๆ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในประเทศไทย พบว่ามีความแปรปรวนและหลากหลายมากกว่าแหล่งปลูกข้าวอื่นๆ ของโลก เชื้อรามีความแตกต่างกันไปตามแหล่งปลูกข้าว ถดปลูก และระยะการเจริญเติบโตของข้าว (Mekwatanakarn *et al.*, 2000)

งานวิจัยนี้เก็บรวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคไหม้บนหญ้าวัชพืชในบริเวณพื้นที่ที่มีการแพร่ระบาดของโรคไหม้ข้าว ศึกษาลักษณะทางสัณฐาน ความสามารถในการก่อโรคบนข้าวพันธุ์ทดสอบ และความสามารถในการเข้าทำลายพืชอาศัย 6 ชนิด ซึ่งจะเป็นข้อมูลสำคัญในการเฝ้าระวังการแพร่ระบาดและการปรับตัวของเชื้อรา *Pyricularia* sp. ในการเข้าทำลายพืชอาศัยได้หลายชนิด โดยเฉพาะข้าว ผลการทดลองนี้จัดเป็นฐานข้อมูลความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่แยกได้จากหญ้าในประเทศไทย ซึ่งอาจนำไปใช้ในการศึกษายีนก่อโรค และศึกษากลไกการเข้าทำลายของเชื้อราที่แยกได้จากหญ้าต่อพืชอาศัย เป็นต้น

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อเก็บรวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในวัชพืชบริเวณนาข้าวในพื้นที่ที่มีการแพร่ระบาดของโรคไหม้ในประเทศไทย ในฤดูปลูกปี พ.ศ. 2561 – 2563

1.2.2 เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่แยกได้จากตัวอย่างวัชพืช

1.2.3 เพื่อตรวจสอบคุณสมบัติทางเพศของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ ในฤดูปลูกปี พ.ศ. 2561 – 2563

1.2.4 เพื่อทดสอบปฏิกริยาการก่อโรคบนพันธุ์ข้าวทดสอบ และศึกษาความจำเพาะเจาะจงในการเข้าทำลายของเชื้อต่อพืชอาศัย

1.3 สถานที่ดำเนินงาน

ห้องปฏิบัติการโรคพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

โรงเรียนทดลองโรคไหม้ข้าว คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

1.4 ขั้นตอนของการศึกษา

สำรวจและเก็บตัวอย่างใบหญ้าที่เป็นโรคไหม้ในพื้นที่ปลูกข้าวที่มีการระบาดของโรคไหม้ข้าวในภูมิภาคต่างๆ ของประเทศไทย ทำการแยกเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในหญ้าให้บริสุทธิ์ นำเชื้อราที่แยกได้ทั้งหมดไปศึกษาลักษณะสัณฐานบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ RFA สัณฐานของโคนิเดีย ศึกษารูปแบบของเพศโดยใช้ไพรเมอร์ที่ความจำเพาะต่อยีน *Mat* ซึ่งเป็นยีนที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อรูปแบบของเพศ (mating type) ของเชื้อรา *Pyricularia* sp. คือ Mat1-1 และ Mat1-2 เปรียบเทียบกับเชื้อไอโซเลท 70-15 (Mat1-1) และ GUY11 (Mat1-2) ซึ่งเป็นเชื้อทดสอบความสมบูรณ์เพศมาตรฐานที่ทราบ mating type แล้ว หลังจากนั้นนำเชื้อราไปศึกษาปฏิกิริยาการก่อโรคบนพืชอาศัย ได้แก่ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี หญ้าชั้นอากาศ หญ้าปล้องข้าวนก และหญ้ามาเลเซีย และทำการจัดกลุ่มตามความสามารถในการเข้าทำลายพืชอาศัย จากนั้นคัดเลือกตัวแทนของเชื้อราในแต่ละกลุ่ม เพื่อตรวจสอบสปีชีส์ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ด้วยข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS region โดยใช้ไพรเมอร์ ITS5 และ ITS4 และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนในตำแหน่ง ITS ของเชื้อราแต่ละตัวอย่างด้วยโปรแกรม FinchTV เพื่อตรวจสอบความสมบูรณ์ของลำดับนิวคลีโอไทด์ และนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อราตัวอย่างไปเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ที่เก็บรวบรวมในฐานข้อมูล GenBank โดยใช้เครื่องมือ Nucleotide BLAST เพื่อตรวจสอบและยืนยันสายพันธุ์ของเชื้อราที่ต้องการศึกษา ต่อมนำเชื้อราไปศึกษารูปแบบปฏิกิริยาการก่อโรคบนข้าวพันธุ์แนะนำของไทย จำนวน 40 พันธุ์ และข้าวสายพันธุ์ที่มียีนต้านทานโรคมัเพียงยีนเดียว (Near Isogenic Lines; NILs) จำนวน 31 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นข้าวที่มีการพัฒนาให้มียีนต้านทานโรคมัเพียงยีนเดียวในแต่ละสายพันธุ์ สามารถใช้ตรวจสอบยีนก่อโรค (avirulence gene; AVR) ของเชื้อราได้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โรคไหม้

โรคไหม้ (blast disease) มีสาเหตุจากเชื้อรา *Pyricularia oryzae* และ *P. grisea* เป็นชื่อเรียกเชื้อราที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ จัดอยู่ใน Class Deuteromycetes และมีระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (perfect stage) คือ เชื้อรา *Magnaporthe oryzae* และ *M. grisea* (Ou, 1985) ซึ่งจัดอยู่ใน Class Ascomycetes มีการสร้างเซลล์สืบพันธุ์ในถุงแอสคัส (Ascus) ซึ่งภายในมีแอสโคสปอร์ (Ascospore) จำนวน 8 แอสโคสปอร์ โดยเชื้อรา *P. oryzae* สามารถเข้าทำลายข้าวและหญ้าได้บางชนิด ส่วน *P. grisea* เป็นสาเหตุของโรคไหม้ในหญ้าหลายชนิดรวมทั้งพืชชนิดอื่นๆ (อนงค์ และ นันทินี, 2542)

2.1.1 ลักษณะอาการของโรคไหม้ในข้าว

เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ของข้าวสามารถเข้าทำลายข้าวได้ทุกระยะตั้งแต่ระยะกล้าไปจนถึงข้าวออกรวง โดยเชื้อสร้างโคนิเดีย (conidia) แพร่กระจายไปได้โดยปลิวไปกับลม ดังนั้นโรคไหม้จึงแพร่ระบาดได้โดยลม เมื่อโคนิเดียของเชื้อราตกลงบนส่วนต่างๆ ของต้นข้าวที่มีความชื้นสูง เชื้อราจะงอกและเข้าทำลายต้นข้าว

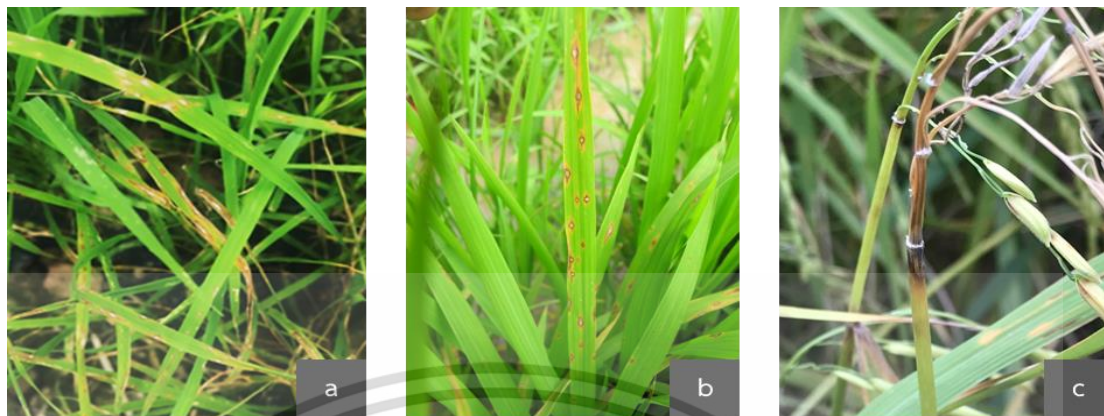
ในระยะกล้า ที่ใบมีแผลจุดสีน้ำตาล ลักษณะคล้ายรูปดา มีสีเทาอยู่ตรงกลางแผล มีขนาดแตกต่างกัน ความกว้างระหว่าง 2 – 5 มิลลิเมตร และความยาวประมาณ 10 – 15 มิลลิเมตร จุดแผลนี้สามารถขยายลุกลามจนแผลรวมกันทั่วบริเวณใบ ในกรณีที่โรครุนแรงกล้าข้าวจะพับ และแห้งตาย อาการคล้ายถูกไฟไหม้ (blast)

ระยะแตกกอ อาการพบได้ที่ใบ ข้อต่อของใบ และข้อต่อของลำต้น ขนาดแผลใหญ่กว่าในระยะกล้า แผลลุกลามติดต่อกันได้ที่บริเวณข้อต่อ ใบมีแผลซ้ำสีน้ำตาลดำ และมักหลุดจากกาบใบเสมอ (พูนศักดิ์, 2548)

ระยะออกรวง ถ้าข้าวเริ่มให้รวงและเมื่อถูกเชื้อราเข้าทำลาย เมล็ดจะลีบหมด ถ้าเป็นโรคตอนรวงข้าวแก่ใกล้เก็บเกี่ยว จะปรากฏรอยแผลซ้ำสีน้ำตาลที่บริเวณคอรวง ทำให้เปราะหักง่าย รวงข้าวร่วงหล่นเสียหายมาก โดยพบว่าเชื้อจะทำลายบริเวณใบและรวงมากที่สุด (ภาพที่ 2.1) (อภิชาติ และคณะ, 2552)

2.1.2 การแพร่ระบาด

Suzuki (1975) รายงานว่าเชื้อรา *P. oryzae* สามารถแพร่กระจายไปได้ง่ายโดยอาศัย ลม น้ำ ดิน ชิ้นส่วนของพืช หรือ เมล็ด รวมถึงสภาพแวดล้อมที่มีทั้งความชื้นและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการ



ภาพที่ 2.1 ลักษณะอาการของโรคไหม้ในข้าว a) อาการของโรคไหม้ในระยะต้นกล้า b) อาการของโรคไหม้ในระยะแตกกอ และ c) อาการของโรคไหม้ในระยะคอรวง

ที่มา : ห้องปฏิบัติการโรคไหม้ข้าว ภาควิชาเทคโนโลยีผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เจริญและแพร่พันธุ์ได้เกือบตลอดทั้งปี (Agrios, 1988) โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการแพร่ระบาดอยู่ระหว่าง 27 – 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสมต่อการเกิดโรคอยู่ที่ 80 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป และปริมาณฝนที่ตกในแต่ละวัน นอกจากนี้การปลูกข้าวที่หนาแน่น และการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในปริมาณสูง ก็เป็นปัจจัยที่ทำให้โรคไหม้ข้าวมีการแพร่ระบาดอย่างรุนแรง ในปัจจุบันพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิภายในโลก มีผลทำให้เชื้อ *P. oryzae* มีการแพร่ระบาดรุนแรงมากขึ้น โดยเฉพาะในพื้นที่ภูมิภาคเอเชียที่ถือว่าเป็นพื้นที่ที่มีความแปรปรวนของสภาพอากาศมากที่สุดในโลก และยังเป็นพื้นที่เพาะปลูกข้าวที่สำคัญของโลกอีกด้วย (Luo et al., 1997) โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างโคนิเดีย (conidia) คือ 25 – 28 องศาเซลเซียส ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 89 เปอร์เซ็นต์ พบว่าโคนิเดียจะแพร่กระจายได้ดีที่อุณหภูมิ 20.5 – 21.8 องศาเซลเซียส ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 90 เปอร์เซ็นต์ โคนิเดียจะแพร่กระจายได้ดีที่อุณหภูมิ 10 – 33 องศาเซลเซียส และสร้างแอฟเพรสซอเรียม (appressorium) ระหว่างอุณหภูมิ 16 – 25 องศาเซลเซียส และต้องมีความชื้นสูง

Ou (1980) รายงานว่าในอดีตประเทศเขตร้อนพบการแพร่ระบาดของโรคไหม้ในเดือนมิถุนายนถึงสิงหาคม ในปัจจุบันพบว่ามีการปลูกข้าวมากกว่า 1 ครั้งต่อปี จึงทำให้พบการแพร่ระบาดของโรคได้ตลอดทั้งปี และมักจะพบการระบาดของโรครุนแรงในแปลงนาหว่านที่มีการปลูกหนาแน่น มีการใส่ปุ๋ยปริมาณมาก มีความชื้นสูง และอากาศเย็นในเวลากลางคืน ซึ่งเหมาะสมต่อการพัฒนาของโรค สำหรับในประเทศเขตอบอุ่นสามารถพบการแพร่ระบาดของโรคได้ตลอดทั้งปีเช่นกัน เนื่องจากเชื้อราสามารถอยู่

ข้ามฤดูได้ในต่อซังและเมล็ดพันธุ์ข้าว พบว่าเชื้อราสาเหตุสามารถแพร่กระจายไปตามดิน น้ำ ลม เศษฟางข้าว และติดไปกับเมล็ดพันธุ์ได้ เชื้อราสามารถสร้างสปอร์ได้ภายใน 4 – 5 ชั่วโมงหลังจากการเข้าทำลาย เมื่อมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม และสปอร์ที่สร้างขึ้นใหม่สามารถงอกได้ในเวลา 30 – 40 นาที และยังพบว่าเชื้อรา 1 สปอร์ อาจสร้างสปอร์ใหม่ได้ถึง 20 สปอร์ขึ้นไป จำนวนสปอร์ที่เชื้อราสร้างขึ้นมาสามารถแพร่กระจายตามลมได้ถึง 1 – 2 เมตร ในการเข้าทำลายพืชครั้งต่อไปของสปอร์เหล่านี้อาจใช้เวลาเพียง 7 – 8 ชั่วโมง และเชื้อราสาเหตุชุดใหม่จะสร้างสปอร์เพื่อเข้าทำลายพืชได้ในเวลา 6 – 7 วัน

Rini *et al.* (2017) ศึกษาพัฒนาการของโรค และกระบวนการการเกิดโรคไหม้ข้าว โดยทำการทดสอบในพื้นที่ที่มีสภาพอากาศต่างกัน ในพื้นที่ทางตะวันตกของรัฐโอทิสตา ประเทศอินเดีย ในช่วงปีฤดูปลูก พ.ศ. 2556 – 2557 และในปีฤดูปลูก พ.ศ. 2557 – 2558 พบว่าความชื้นสัมพัทธ์ ปริมาณน้ำฝน และอุณหภูมิมีผลต่อความรุนแรงของโรค เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น และมีความชื้นสัมพัทธ์น้อย จะทำให้ความรุนแรงของโรคลดลง แต่เมื่ออุณหภูมิต่ำลง และมีความชื้นสัมพัทธ์สูง จะทำให้โรคมีความรุนแรงเพิ่มสูงขึ้น โดยปัจจัยที่เหมาะสมต่อการพัฒนาของโรคและการแพร่ระบาดของโรคจะอยู่ที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 90 – 95 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณน้ำฝนมากกว่า 280 มิลลิเมตร

Kirtphaiboon *et al.* (2021) ทดสอบความรุนแรงของโรคไหม้ข้าว โดยใช้แบบจำลองโรคไหม้ข้าว ในเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2558 – เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2559 โดยปลูกเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าว ลงบนข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และนำข้าวที่ผ่านการปลูกเชื้อแล้วไปเก็บในโรงเรือนที่ควบคุมอุณหภูมิ และความชื้น จากการทดสอบพบว่าอุณหภูมิและความชื้นเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเกิดโรค และมีผลต่อความรุนแรงของโรค นอกจากนี้ยังพบว่าโรคจะมีความรุนแรงมาก ถ้าพื้นที่นั้นมีอุณหภูมิต่ำ และความชื้นสูง และในทางกลับกันความรุนแรงของโรคจะน้อย เมื่อมีอุณหภูมิสูงและความชื้นต่ำ

2.2 เชื้อราสาเหตุโรคไหม้

เชื้อรา *Pyricularia* spp. เป็นสาเหตุของโรคไหม้ในพืชใบเลี้ยงเดี่ยวหลากหลายชนิด (Luo and Zhang, 2013) สามารถจำแนกได้เป็น 2 ชนิด คือ *P. oryzae* Cav. และ *P. grisea* (Cooke) Sacc. เชื้อราทั้งสองชนิดนี้มีลักษณะการก่อโรคและขนาดโคนิเดียวกัน แต่แตกต่างกัน โดยเชื้อ *P. oryzae* เป็นสาเหตุของโรคไหม้ในข้าวและหญ้าบางชนิด ส่วนเชื้อ *P. grisea* เป็นสาเหตุของโรคไหม้ในพืชตระกูลหญ้าหลายชนิด (Chandrasrikul and Srijumpa, 1999) มีชื่อเรียกเชื้อนี้ในระยะสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (teleomorph) ว่า *Magnaporthe oryzae* และ *M. grisea* (Hebert) Barr. ตามลำดับ มีรูปแบบการดำรงชีวิตแบบ hemibiotrophic ในช่วงชีวิตแรกจะมีการดำรงชีวิตแบบ biotrophic ได้รับสารอาหารจากเซลล์พืชที่มีชีวิต และในช่วงชีวิตที่สองมีการดำรงชีวิตแบบ necrotrophic ได้รับสารอาหารจากเซลล์พืชที่ตายแล้ว (Kankanala *et al.*, 2009)

Srivastava *et al.* (2014) ทดสอบลักษณะสัณฐาน การก่อโรค ความรุนแรง และลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อรา *P. oryzae* จำนวน 10 สายพันธุ์ ที่เป็นสาเหตุของโรคไหม้ข้าว โดยจัดกลุ่มออกเป็น 3 กลุ่มตามความสามารถในการก่อโรค คือ กลุ่มที่ก่อโรครุนแรง กลุ่มที่ก่อโรครุนแรงปานกลาง และกลุ่มที่ก่อโรครุนแรงน้อย แบ่งเป็น 6 กลุ่ม (PG-I to PG-VI) ตามข้อมูลลักษณะสัณฐาน (สีของโคโลนี ลักษณะของโคโลนี และรูปร่างของโคเนเดีย) โคโลนีของเชื้อรา *P. oryzae* มีรูปร่างตั้งแต่วงแหวน วงกลม โคโลนีมีขอบหยาบ หรือเรียบ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ OMA เส้นใยมีตั้งแต่สีเหลืองอมน้ำตาล สีเทา สีดำ และสีเทาดำ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีในแต่ละกลุ่มจะมีขนาดแตกต่างกันอยู่ในช่วง 67.40 – 82.50 มิลลิเมตร เส้นใยของกลุ่ม PG-I มีลักษณะเป็นเหมือนวงแหวนขอบเรียบมีสีเทา PG-II มีลักษณะขอบเรียบวงกลมมีสีน้ำตาลอมเหลือง PG-III มีลักษณะขอบหยาบวงกลมมีสีดำถึงสีเทาสีดำ PG-IV มีลักษณะวงแหวนเหมือนปูยเส้นใยมีสีน้ำตาลอมเหลือง PG-V เส้นใยมีการเจริญผิดปกติขอบหยาบมีสีน้ำตาลอมเหลือง PG-VI เส้นใยมีขอบเรียบวงกลมมีสีน้ำตาลอมเหลือง รูปร่างของสปอร์ในแต่ละกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน และมีรูปร่างเป็นแบบ pyriform (รูปร่างเป็นรูปผลลูกแพร์) ที่มีฐานโค้งมน และปลายแคบ ปลายแหลมหรือทู่

สรินนา และคณะ (2560) แยกเชื้อรา *Pyricularia* spp. จำนวน 42 ไอโซเลท จากตัวอย่างข้าวและหญ้าที่เก็บรวบรวมจากใน 16 จังหวัดของประเทศไทย โดยใช้ลักษณะสัณฐานของโคเนเดีย รวมทั้งใช้พีชอาศัยในการแยกกลุ่มของเชื้อโรคไหม้ พบว่าโคเนเดียของเชื้อราที่แยกได้จากข้าว ($20.89 - 28.14 \times 7.39 - 10.50$ ไมโครเมตร) มีขนาดใหญ่กว่าเชื้อราที่แยกได้จากหญ้า ($18.12 - 24.93 \times 5.27 - 9.77$ ไมโครเมตร) นอกจากนี้โคเนเดียที่แยกได้จากอาการไหม้คอรวง ($20.89 - 28.14 \times 7.60 - 10.50$ ไมโครเมตร) มีขนาดใหญ่กว่าโคเนเดียที่แยกได้จากอาการใบไหม้ ($18.12 - 26.51 \times 5.27 - 9.77$ ไมโครเมตร) ส่วนการจำแนกลักษณะรูปร่างโคเนเดียสามารถแบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม ซึ่งมีลักษณะแตกต่างกันเพียงเล็กน้อย

Qi *et al.* (2019) สุ่มและเก็บตัวอย่างในฤดูปลูกปี ค.ศ. 2010 – 2017 จาก 12 พื้นที่ในประเทศจีน จากนั้นนำตัวอย่างที่แสดงอาการของโรคมาทำการแยกเชื้อ และสามารถแยกเชื้อได้ทั้งหมด 123 ไอโซเลท จากพีชอาศัยข้าว ข้าวฟ่างทางกระรอก และหญ้า จากนั้นนำเชื้อที่แยกได้มาศึกษาลักษณะสัณฐานของโคเนเดีย และทำการจัดกลุ่มโคเนเดียตามพีชอาศัย สามารถจัดกลุ่มได้ทั้งหมด 6 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มของโคเนเดียที่แยกเชื้อได้จากตัวอย่างข้าว มีความยาวเฉลี่ยของโคเนเดียอยู่ที่ 22.98 ± 1.79 ไมโครเมตร และมีความกว้างเฉลี่ยของโคเนเดียอยู่ที่ 9.30 ± 0.39 ไมโครเมตร กลุ่มที่ 2 คือ กลุ่มที่แยกเชื้อได้จากหญ้าทางจิ้งจอกสีเขียว มีความยาวของโคเนเดียเฉลี่ยอยู่ที่ 29.25 ± 0.60 ไมโครเมตร และมีความกว้างเฉลี่ยของโคเนเดียอยู่ที่ 8.73 ± 0.15 ไมโครเมตร กลุ่มที่ 3 คือ กลุ่มที่แยกเชื้อได้จากข้าวฟ่างทางกระรอก มีความยาวเฉลี่ยโคเนเดียอยู่ที่ 24.48 ± 2.10 ไมโครเมตร และมีความกว้างเฉลี่ยของโคเนเดียอยู่ที่ 9.26 ± 0.38 ไมโครเมตร กลุ่มที่ 4 คือ กลุ่มที่แยกเชื้อได้จากหญ้าปล้องละมาน โคเนเดียมีความยาวเฉลี่ย

อยู่ที่ 25.48 ± 0.53 ไมโครเมตร และมีความกว้างเฉลี่ยอยู่ที่ 9.11 ± 0.13 ไมโครเมตร กลุ่มที่ 5 คือ กลุ่มที่แยกเชื้อได้จากหญ้าตีนกา โคนิเดียมีความยาวเฉลี่ยอยู่ที่ 25.69 ± 1.26 ไมโครเมตร และมีความกว้างเฉลี่ยอยู่ที่ 9.34 ± 0.34 ไมโครเมตร และกลุ่มที่ 6 กลุ่มที่แยกเชื้อได้จากหญ้าตีนนก โคนิเดียมีความยาวเฉลี่ยอยู่ที่ 23.57 ± 0.78 ไมโครเมตร และมีความกว้างเฉลี่ยอยู่ที่ 8.49 ± 0.31 ไมโครเมตร และพบว่า โคนิเดียมีรูปร่างเป็นแบบ pyriform มีผนังกันเซลล์จำนวน 2 เส้น และโคนิเดียมีเซลล์จำนวน 3 เซลล์ และพบว่าโคนิเดียในหญ้าปล้องละมาน มีความยาวมากที่สุด และเชื้อราที่แยกได้จากข้าวมีความกว้างของโคนิเดียมากที่สุด

Hussin (2020) สํารวจและเก็บตัวอย่างในฤดูปลูกปี 2012 – 2016 บนเกาะบอร์เนียว ในรัฐซาราวัก ประเทศมาเลเซีย จากนั้นนำตัวอย่างที่แสดงอาการของโรคมาแยกเชื้อ สามารถแยกเชื้อได้ทั้งหมด 12 ไอโซเลท แล้วนำเชื้อ *P. oryzae* จำนวน 12 ไอโซเลท มาศึกษาลักษณะสัณฐานบนอาหารเลี้ยงเชื้อ FOMA เก็บผลเมื่อเชื้อราอายุครบ 10 วัน และจัดกลุ่มลักษณะสัณฐานตามการเจริญของโคโลนี ลักษณะของโคโลนีบนผิวหน้าอาหาร และสีของโคโลนี สามารถจัดได้ทั้งหมด 7 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 โคลินีมีการเจริญเป็นแบบวงกลม ขอบเรียบ โคลินีเจริญเรียบไปกับผิวหน้าอาหาร โคลินีมีสีเทาอ่อน เทา และสีน้ำตาล ด้านหลังโคโลนีมีสีน้ำตาลและสีดำ กลุ่มที่ 2 โคลินีมีการเจริญเป็นแบบวงกลม มีเส้นใยฟูเจริญอยู่ด้านบนโคโลนี โคลินีมีขอบเรียบ โคลินีด้านหน้ามีสีเทาอ่อน และสีเทา ด้านหลังโคโลนีมีสีเทาอ่อน และสีดำ กลุ่มที่ 3 โคลินีมีการเจริญเป็นแบบวงแหวน มีขอบเรียบ โคลินีด้านหน้ามีสีเทาอ่อน และสีเทา โคลินีด้านหลังมีสีดำ กลุ่มที่ 4 โคลินีมีการเจริญเป็นแบบวงกลม โคลินีเรียบไปกับผิวหน้าอาหาร โคลินีด้านหน้ามีสีเขียวมะกอกและสีเทา โคลินีด้านหลังมีสีดำ กลุ่มที่ 5 โคลินีมีการเจริญเป็นแบบวงกลม มีเส้นใยสีขาวฟูเจริญอยู่ด้านบนของโคโลนี โคลินีด้านหน้ามีสีเทาอ่อน โคลินีด้านหลังมีสีดำ กลุ่มที่ 6 โคลินีมีการเจริญเป็นแบบวงกลม โคลินีบางเรียบไปกับผิวหน้าอาหาร มีขอบหยาบ โคลินีด้านหน้ามีสีเทา โคลินีด้านหลังมีสีดำ และกลุ่มที่ 7 โคลินีมีการเจริญเป็นแบบวงกลม ขอบเรียบ โคลินีด้านหน้ามีสีเทา โคลินีด้านหลังมีสีดำ และโคนิเดียมีรูปร่างคล้ายลูกแพร์ ส่วนฐานด้านบนกว้าง ส่วนปลายโคนิเดียมีความแคบ มีผนังกันเซลล์จำนวน 2 เส้น โคนิเดียมีจำนวน 3 เซลล์ และพบว่าโคโลนี และโคนิเดียของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้มีลักษณะการเจริญ สีโคโลนีและขนาดของโคนิเดียที่แตกต่างกัน ซึ่งทำให้เห็นว่าเชื้อราชนิดนี้มีความหลากหลายสูง

Al Noman *et al.* (2021) ศึกษาลักษณะสัณฐานของเชื้อ *P. oryzae* จำนวน 16 ไอโซเลท ที่เป็นสาเหตุของโรคไหม้ในข้าวสาลี ในประเทศบังคลาเทศ เมื่อทำการแยกเชื้อ และนำเชื้อที่แยกได้ไปศึกษา ลักษณะสัณฐานแล้วสามารถจัดกลุ่มได้ทั้งหมด 3 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่มที่ 1 โคลินีมีการเจริญเป็นแบบวงกลม โคลินีมีสีเทา กลุ่มที่ 2 โคลินีมีการเจริญเป็นแบบวงกลม โคลินีมีสีเทา และกลุ่มที่ 3 โคลินีมีการเจริญเป็นแบบวงกลม โคลินีมีสีดำ โคลินีของเชื้อรา *P. oryzae* ทั้ง 16 ไอโซเลท มีขอบเรียบจนถึงขอบหยาบ

มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางอยู่ที่ 4.3 – 8.4 เซนติเมตร และโคนเดี่ยวมีรูปร่างเป็นแบบ pyriform มีผนังชั้นเซลล์จำนวน 2 ชั้น และโคนเดี่ยวมีจำนวน 3 เซลล์ โคนเดี่ยวมีความยาวอยู่ที่ 17.34 – 29.76 ไมโครเมตร และมีความกว้างอยู่ที่ 6.12 – 8.95 ไมโครเมตร

ลักษณะทางสรีระวิทยาของเชื้อรา (physiology) เชื้อราเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงสุด 36 – 37 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุด 8 – 9 องศาเซลเซียส แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 26 – 28 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ (relative humidity) สูงถึง 89 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป มักจะพบสปอร์กระจายอยู่ทั่วไป แต่ที่ความชื้นต่ำกว่า 89 เปอร์เซ็นต์ พบว่ามีสปอร์น้อยหรืออาจไม่พบสปอร์เลย สภาพแวดล้อมที่สปอร์จะมีการงอก คือ ระยะเวลาที่ 12 – 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 15 – 30 องศาเซลเซียส พืชอาศัยในไร่นาทำให้สปอร์มีอายุถึง 1 ปี (Hashioka, 1965)

2.2.1 สถานะทางอนุกรมวิธาน

เชื้อรา *P. grisea* Sacc. (anamorph): *M. grisea* (Hebert) Barr. (teleomorph) จำแนกได้ตามหมวดหมู่ ดังนี้ (Agrios, 1997)



2.3 การระบุชนิด (species) ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้

สายพันธุ์ของเชื้อรา *Pyricularia* ถูกพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1880 โดยสปิซีส์ที่พบครั้งแรก คือ *P. grisea* (Cook) Sacc. เป็นเชื้อราที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ แยกได้จากหญ้าปล้องข้าวนก และสปิซีส์ที่แยกได้จากข้าว คือ *P. oryzae* ถูกพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1892 ตั้งแต่นั้นเป็นต้นมาก็สามารถแยกเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ได้อีกหลายสปิซีส์ แต่พบว่าไม่มีเพียงไม่กี่สปิซีส์ที่สามารถจัดจำแนกได้โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานได้ เชื้อราสาเหตุโรคไหม้หลากหลายสปิซีส์ได้มีการศึกษาและทดสอบอย่างแพร่หลาย แต่พบว่าเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเพิ่งถูกนำมาศึกษารูปแบบของเพศ และทดสอบการผสมพันธุ์จากเชื้อที่มีรูปแบบของเพศที่แตกต่างกันเมื่อไม่นานมานี้

Rossmann *et al.* (1990) เสนอให้จัดเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่แยกได้จากพืชที่มีความคล้ายคลึงกับพืชตระกูลหญ้าอยู่ในกลุ่มของเชื้อรา *M. grisea* หรือ *P. grisea* โดยมีข้อกำหนดดังนี้ 1) ควรกำหนดให้เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเป็น *Magnaporthe* 2) เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่แยกได้จากพืชที่มีความคล้ายคลึงกับพืชตระกูลหญ้า (รวมไปถึงข้าว และหญ้าปล้องข้าว) ควรจะจัดอยู่ในกลุ่มสปีชีส์เดียวกัน ถึงแม้ว่า Tsuda and Ueyama (1982) ได้โต้แย้งว่าเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ มีความแตกต่างจากสปีชีส์ของ *Magnaporthe* โดยเฉพาะโครงสร้างของ Ascospore จึงไม่ควรให้จัดอยู่ในกลุ่มของเชื้อรา *Magnaporthe* ชื่อของเชื้อรา *M. grisea* ถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในปี ค.ศ. 1990 และถูกใช้เรียกเป็นชื่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ ในระยะที่มีการสืบพันธุ์ทั้งแบบอาศัยเพศและแบบไม่อาศัยเพศ (holomorph) ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่แยกได้จากข้าว

งานประชุมวิชาการพฤกษศาสตร์ระดับนานาชาติ เมืองเมลเบิร์น ในปี ค.ศ. 2011 ประเทศออสเตรเลีย ได้มีการกำหนดระบบการเรียกชื่อ สาหร่าย เชื้อรา และพืชชั้นใหม่ (Hawksworth, 2011; Wingfield *et al.*, 2012) โดยกำหนดให้เชื้อรา 1 ชนิด มีเพียงชื่อเดียวเท่านั้น โดยเริ่มใช้หลังจากวันที่ 1 มกราคม ปี ค.ศ. 2013 เป็นต้นไป Luo and Zhang (2013) ได้เสนอว่าเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ไม่ใช่เชื้อราชนิดเดียวกันกับชื่อ *Magnaporthe* และควรใช้ชื่อเรียกเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ว่า *Pyricularia*

ในปี ค.ศ. 2016 ได้มีการพิจารณาชื่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้สายพันธุ์ใหม่ที่ก่อโรคไหม้บนข้าวสาลี โดยเชื้อราสาเหตุนี้มีชื่อเรียกว่า *P. graminis-tritici* โดยใช้ข้อมูลปฏิบัติการก่อโรค และการวิเคราะห์โดยใช้แผนภูมิวิวัฒนาการเป็นหลักเกณฑ์ประกอบในการพิจารณา (Castroagudin *et al.*, 2016) และในปี ค.ศ. 2019 Ceresini *et al.* (2019) ได้เสนอให้จัดจำแนกเชื้อ *P. oryzae* ออกเป็น 2 ชนิด คือ *P. oryzae* ที่ก่อโรคในข้าว และ *P. graminis-tritici* ที่ก่อโรคในข้าวสาลีและหญ้า โดยอ้างอิงจากรายงานของ Castroagudin *et al.* (2016) ที่ได้ทำการทดสอบปฏิบัติการก่อโรคบนข้าวบาร์เลย์ หญ้าชิก แลลอน ข้าวโอ๊ต ข้าว และข้าวสาลี ศึกษาลักษณะสัณฐานและวิเคราะห์แผนภูมิวิวัฒนาการ โดยใช้ไพรเมอร์ 20 ไพรเมอร์ จากยีนทั้งหมด 10 ยีน ได้แก่ยีน *ACT BAC6 βT1 CAL CH7-BAC7 CH7-BAC9 CH1 EF-1α MPG1* และ *NUT1* พบว่า ยีน *MPG1* สามารถแยกความแตกต่างตำแหน่งของลำดับเบส ระหว่างเชื้อ *P. oryzae* และ *P. graminis-tritici* ได้มากที่สุด คือ 15 ตำแหน่ง และในการทดสอบปฏิบัติการก่อโรค พบว่าเชื้อทั้งสองชนิดสามารถเข้าทำลายพืชอาศัยได้แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามมีข้อเสนอแนะว่า เชื้อ *P. oryzae* ควรมีแค่สายพันธุ์เดียว ไม่ควรจัดเชื้อรา *P. oryzae* และ *P. graminis-tritici* แยกออกจากกัน เนื่องจากเชื้อทั้งสองชนิดนี้มีลำดับจีโนมที่คล้ายคลึงกันมาก และเชื้อ *P. oryzae* เป็นเชื้อราที่สามารถปรับตัวให้เข้ากับพืชอาศัยได้ (Gladieux *et al.*, 2018; Valent *et al.*, 2019)

2.4 ความแปรปรวนและความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้

เชื้อรา *Magnaporthe* sp. จัดอยู่ในกลุ่ม Ascomycetes สามารถผสมพันธุ์เมื่อมีแบบของเพศที่แตกต่างกัน (mating type) ยีนที่ควบคุมแบบของเพศ คือ *MAT1* เชื้อราจะสามารถผสมพันธุ์กันได้ก็ต่อเมื่อเชื้อรามีแบบของเพศที่แตกต่างกัน คือ *MAT1-1* หรือ *MAT1-2* (Yaegashi and Yamada, 1986) เมื่อเชื้อผสมพันธุ์กันได้อาจจะได้ลูกผสมที่มีแบบของเพศได้ทั้งแบบสมบูรณ์เพศ และแบบไม่สมบูรณ์เพศ เมื่อเส้นใยเชื้อที่มีแบบของเพศที่แตกต่างกันมาสัมผัสกันเส้นใยจะเริ่มเชื่อมกัน และนิวเคลียส (nucleus) จะรวมตัวกันจนในที่สุดเชื้อราจะสร้างสปอร์ (ascospore) จำนวน 8 สปอร์ต่อหนึ่งถุงหุ้มสปอร์ (ascus) ในเนื้อเยื่อที่มีโครงสร้างลักษณะรูปทรงชมพู เรียกว่า perithecia (Kolmer and Ellingboe, 1988) โดยพบว่าเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่เข้าทำลายพืชตระกูลหญ้าสามารถผสมพันธุ์กันได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่เชื้อราสาเหตุโรคไหม้จากข้าวจะขาดเชื้อที่มีรูปแบบของเพศที่แตกต่างกันใช้สำหรับการทดสอบการผสมพันธุ์

D'Ávila *et al.* (2016) ศึกษาแบบของเพศของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ทั้งหมด 187 ไอโซเลท ที่เก็บรวบรวมได้จากพื้นที่ทางตอนใต้ของประเทศบราซิล ในปีค.ศ. 2012 – 2013 โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะเจาะจงต่อยีนที่ควบคุมแบบของเพศในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้กระบวนการพีซีอาร์ เปรียบเทียบกับเชื้อทดสอบความสมบูรณ์เพศมาตรฐาน คือ GUY11 และ KA-3 พบว่าเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ทั้งหมด 187 ไอโซเลท มีรูปแบบเพศเป็นแบบ *MAT1-2* ทั้งหมด และรายงานของ Sutthiphai *et al.* (2022) ที่ได้ศึกษาแบบของเพศ (mating type) ของประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในประเทศไทยทั้งหมด 60 ไอโซเลท พบว่ามีเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 58 ไอโซเลท ที่มีรูปแบบเพศแบบ *MAT1-2* คิดเป็นร้อยละ 96.70 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อราอีก 2 ไอโซเลท มีรูปแบบเพศเป็นแบบ *MAT1-1* คิดเป็นร้อยละ 3.33 เปอร์เซ็นต์

de Assis Reges *et al.* (2016) ศึกษาปฏิกิริยาการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 20 ไอโซเลท โดยเชื้อราที่ใช้ศึกษาในครั้งนี้มีทั้งหมด 4 สปีชีส์ ได้แก่ เชื้อรา *P. pennisetigena* จำนวน 8 ไอโซเลท *P. zingibericola* จำนวน 3 ไอโซเลท *P. oryzae* จำนวน 5 ไอโซเลท และอีก 1 ไอโซเลท ที่แยกได้จากข้าวสาลี และ *P. grisea* จำนวน 3 ไอโซเลท โดยเก็บรวบรวมได้จากพื้นที่ภาคกลางตอนใต้ของประเทศบราซิล หลังจากนั้นนำมาศึกษาปฏิกิริยาการก่อโรคบนหญ้าซิกแนล (*Urochloa brizantha*) ข้าวบาร์เลย์ (*Hordeum vulgare*) พันธุ์ BRS Korbel และข้าวสาลี (*Triticum aestivum*) พันธุ์ Anahuac 75 จากผลการทดลอง พบว่าเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ทั้ง 4 สปีชีส์ สามารถเข้าทำลายข้าวบาร์เลย์ได้ทั้งหมด โดยเชื้อรา *P. zingibericola* เป็นสปีชีส์ที่สามารถเข้าทำลายข้าวบาร์เลย์ได้ดีที่สุด คิดเป็น 18.70 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบข้าวบาร์เลย์ทั้งหมด รองลงมา คือ เชื้อรา *P. pennisetigena* *P. grisea* และ *P. oryzae* สามารถเข้าทำลายได้ 12.60 12.00 และ 11.40 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบข้าวบาร์เลย์ทั้งหมด ตามลำดับ สำหรับเชื้อรา *P. pennisetigena* และ *P. zingibericola* ที่แยกได้จากหญ้า สามารถเข้า

ทำลายพืชที่ใช้ทดสอบได้ทุกชนิด ส่วนการทดสอบในข้าวสาลี พบว่าเชื้อรา *P. pennisetigena* เป็นสปิซีส์ที่สามารถเข้าทำลายข้าวสาลีได้ดีที่สุด คือ 26.60 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ เชื้อรา *P. oryzae* และ *P. zingibericola* สามารถเข้าทำลายได้ 20.00 และ 18.30 เปอร์เซ็นต์ ของพื้นที่ใบข้าวสาลีทั้งหมด ตามลำดับ ส่วนเชื้อรา *P. grisea* พบว่าไม่สามารถเข้าทำลายข้าวสาลีได้ การศึกษาครั้งนี้เป็นครั้งแรกที่สามารถระบุว่าเชื้อรา *P. pennisetigena* และ *P. zingibericola* สามารถเข้าทำลายหญ้าชิกแนล ข้าวบาร์เลย์ และข้าวสาลีได้

Chung *et al.* (2020) ศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 100 ไอโซเลท ที่เก็บรวบรวมได้ในปี ค.ศ. 2011 – 2013 ในพื้นที่ประเทศเกาหลีใต้ จากพืชอาศัยจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ ข้าวหญ้าตีนนก หญ้าหางจิ้งจอกเขียว ข้าวฟ่างไม้กวาด และหญ้าข้าวนก นำตัวอย่างพืชที่เป็นโรคไหม้มาแยกเชื้อและทำให้เชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธี single spore isolation จากนั้นศึกษาปฏิกิริยาการก่อโรค โดยทดสอบการเข้าทำลายบนพืชอาศัย จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ข้าว ข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ หญ้าตีนนก หญ้าหางจิ้งจอกเขียว และข้าวฟ่างไม้กวาด จากผลการทดสอบพบว่าเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่แยกได้จากข้าว และหญ้าตีนนก สามารถเข้าทำลายพืชที่ใช้ในการทดสอบได้ทุกชนิด เชื้อราที่แยกได้จากหญ้าหางจิ้งจอกเขียวสามารถเข้าทำลายหญ้าตีนนก ข้าวบาร์เลย์ และข้าวฟ่างไม้กวาด ได้ 50 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ใบตามลำดับ ส่วนเชื้อราที่แยกได้จากข้าวฟ่างไม้กวาด พบว่าสามารถเข้าทำลายได้เพียงข้าวบาร์เลย์เท่านั้น และเชื้อราที่แยกได้จากหญ้าข้าวนก สามารถเข้าทำลายข้าวฟ่างไม้กวาด ข้าวบาร์เลย์ และข้าวสาลี ได้ 100 75 และ 25 เปอร์เซ็นต์พื้นที่ใบตามลำดับ โดยในการศึกษาครั้งนี้พบว่าข้าวฟ่างไม้กวาด และข้าวบาร์เลย์ มีความอ่อนแอต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่ใช้ทดสอบมากที่สุด

2.5 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ต่อพืชอาศัย

การเกิดโรคในพืชเป็นผลมาจากปฏิกิริยาระหว่างพืชและเชื้อสาเหตุโรค ซึ่งพืชอาจต้านทานหรืออ่อนแอต่อเชื้อสาเหตุโรค และเช่นเดียวกันเชื้อสาเหตุโรคอาจเข้าทำลายพืชหรือไม่สามารถเข้าทำลายพืชได้ การเกิดโรคคือปฏิกิริยาระหว่างผลผลิตของยีนที่อยู่ในพืชและยีนที่อยู่ในเชื้อสาเหตุโรค เรียกทฤษฎีนี้ว่า gene for gene hypothesis ถูกค้นพบและเสนอโดย Flor (1971) สรุปได้ว่าหากมียีนหนึ่งควบคุมปฏิกิริยาความต้านทาน (resistance gene, R gene) ในพืชย่อมมีอีกยีนหนึ่งที่คู่กันทำหน้าที่ควบคุมปฏิกิริยาก่อโรค (avirulence, AVR gene หรือ effector gene) ในเชื้อสาเหตุโรค และการแสดงออกของความต้านทาน (resistant) จะเกิดขึ้นก็ต่อเมื่อยีนที่เข้าคู่กันทั้งในพืชและในเชื้อสาเหตุโรคเป็นยีนเด่น (dominant gene) เท่านั้น หากยีนของฝ่ายใดฝ่ายหนึ่งเป็นยีนด้อย (recessive gene) จะแสดงความไม่ต้านทานโรคหรืออ่อนแอต่อโรค (susceptible) ดังนั้นแม้ว่าต้นพืชจะมียีนต้านทานโรคไหม้ชนิดยีนเด่นอยู่

1 ยีนหรือมีมากกว่าก็ตาม พืชจะถูกเชื้อเข้าทำลายได้ก็ต่อเมื่อถูกเชื้อโรคที่มียีนก่อโรคแบบ recessive gene เข้าทำลาย

Wang *et al.* (2019) รายงานถึงปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีน R กับ โปรตีนของเชื้อก่อโรค (AVR protein) ระหว่างข้าวกับเชื้อ *M. oryzae* พบว่ายีนต้านทานในข้าว (*R* gene) ได้ถูกระบุตำแหน่งบนโครโมโซมมากกว่า 100 ยีน และมียีนต้านทานจำนวน 35 ยีน ที่ได้รับการโคลนแล้ว ในส่วนของยีนก่อโรคของเชื้อ *M. oryzae* พบว่ามียีนก่อโรค (*AVR* gene) จำนวน 24 ยีน ที่ถูกระบุตำแหน่งบนโครโมโซมแล้ว และมียีนก่อโรคจำนวน 12 ยีน ได้รับการโคลนแล้ว ได้แก่ ยีนก่อโรค *AVR-PWL1* ยีนก่อโรค *AVR-PWL2* ยีนก่อโรค *AVR1-CO39* ยีนก่อโรค *AVR-Pita* ยีนก่อโรค *AVR-ACE1* ยีนก่อโรค *AVR-Pia* ยีนก่อโรค *AVR-Pii* ยีนก่อโรค *AVR-Pik/km/kp* (จำนวน 5 อัลลีล ได้แก่ อัลลีล *AVR-Pik-A*, *-B*, *-C*, *-D*, และ *-E*) ยีนก่อโรค *AVR-Piz-t* ยีนก่อโรค *AVR-Pi9* ยีนก่อโรค *AVR-Pib* และยีนก่อโรค *AVR-Pi54* ยีนต้านทานในข้าวที่ถูกโคลนแล้ว จำนวน 9 ยีน ที่มีปฏิสัมพันธ์กับยีนก่อโรคในเชื้อ ได้แก่ โปรตีน *AVR-Pita* มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีน *Pita* (Park *et al.*, 2012; 2016; Wang *et al.*, 2016; Tang *et al.*, 2017) โดยโปรตีน *AVR-Pita* สามารถลดการเกิด ROS (Reactive oxygen species) ในข้าว และทำให้ข้าวอ่อนแอต่อเชื้อก่อโรค (Han *et al.*, 2021) โปรตีน *AVR-Piz-t* มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีน *Piz-t* โดยโปรตีน *AVR-Piz-t* ยับยั้งการทำงานของ ring E3 ubiquitin ligases (Park *et al.*, 2012; 2016; Wang *et al.*, 2016; Tang *et al.*, 2017) และลดการแสดงออกของยีน *KS4* และ *PAL* ซึ่งเป็นยีนที่อยู่ในกลไกการป้องกันตนเองแบบ PTI (PAMP-triggered immunity) (Park *et al.*, 2012) โปรตีน *AVR-Pik* มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีน *Pik* โดยโปรตีน *AVR-Pik* ที่พบทั้งหมดมี 5 อัลลีล ได้แก่ อัลลีล *AVR-Pik-A*, *-B*, *-C*, *-D*, และ *-E* (Yoshida *et al.*, 2009; Kanzaki *et al.*, 2012) โดยโปรตีน *AVR-Pik* กระตุ้นให้เกิด HR (Hypersensitive response) ในข้าว (Yoshida *et al.*, 2009; Kanzaki *et al.*, 2012; Longya *et al.*, 2019) โปรตีน *AVR-Pia* มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีน *Pia* โดยโปรตีน *AVR-Pia* ยับยั้งการเกิดเซลล์ตาย (Cell death) ในข้าว (Cesari *et al.*, 2013; 2014) โปรตีน *AVR1-CO39* มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีน *Pi-CO39* โดยโปรตีน *AVR1-CO39* กระตุ้นให้เกิด HR ในข้าว (Peyyala and Farman. 2006) โปรตีน *AVR-Pi54* มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีน *Pi54* โดยโปรตีน *AVR-Pi54* กระตุ้นให้เกิด HR ในข้าว (Ray *et al.*, 2016) โปรตีน *AVR-Pii* มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีน *Pii* โดยโปรตีน *AVR-Pii* ยับยั้งการทำงานของยีน *Os-NADP-ME2* แล้วส่งผลให้มีการเกิด ROS ลดน้อยลง (Singh *et al.*, 2016) โปรตีน *AVR-Pi9* มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีน *Pi9* ในข้าว (Wu *et al.*, 2015) และ โปรตีน *AVR-Pib* มีปฏิสัมพันธ์กับโปรตีน *Pib* ในข้าว (Zhang *et al.*, 2015)

Younas *et al.* (2023) รายงานว่ายีนต้านทานโรคไหม้ข้าว (*R* gene) ที่ถูกระบุตำแหน่งแล้วมีมากกว่า 100 ยีนบนโครโมโซม และยีนที่ได้รับการโคลนแล้วมีทั้งหมด 38 ยีน พบว่ายีนต้านทานโรคไหม้ข้าวอยู่บนโครโมโซมที่ 11 มากที่สุดซึ่งพบมากถึง 28 ยีน ส่วนในโครโมโซมที่ 3 7 และ 10 พบยีนต้านทาน

เพียงโครโมโซมละ 1 ยีน พบยีนต้านทานโรคใหม่ที่ส่วนใหญ่อยู่บนโครโมโซมที่ 6 11 และ 12 โดยยีนต้านทาน *Pi21* *Pi5* *Pi63* และ *Pb1* จะมีการแสดงออกของยีนต่อเมื่อได้รับการกระตุ้นจากยีนก่อโรค (AVR gene) ของเชื้อ *M. oryzae* และพบว่ายีนต้านทาน *Piz-t* *Pi9* *Pigm* *Pi2* และ *Pi54* มีความต้านทานแบบกว้างต่อยีนก่อโรค โดยเฉพาะยีนต้านทาน *Pi9* *Piz-t* และ *Pigm* ค่อนข้างมีความต้านทานต่อยีนก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ได้หลากหลายสายพันธุ์ ซึ่งยีนต้านทานที่กล่าวมานั้นพบอยู่บนโครโมโซมที่ 11 (Zhou *et al.*, 2006; Zhai *et al.*, 2019) สำหรับยีนก่อโรค (AVR gene) ของเชื้อราโรคไหม้พบว่ามียีนที่ถูกระบุตำแหน่งบนโครโมโซมแล้ว จำนวน 26 ยีน และได้รับการโคลนแล้วทั้งหมด 14 ยีน ยีนก่อโรค *AVR-Pia* ถูกระบุว่าเป็นยีนก่อโรคที่พบอยู่บน 2 โครโมโซม คือ โครโมโซมที่ 5 และ 7 (Yoshida *et al.*, 2009; Miki *et al.*, 2009) และยีนก่อโรคที่ได้รับการระบุตำแหน่งและได้ทำการโคลนเพิ่มเติม คือ ยีนก่อโรค *MoHTR1* และ *MoHTR2*



บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

- 3.1.1 กล้องสเตอริโอไมโครสโคป (stereo microscope)
- 3.1.2 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงธรรมดา (compound microscope)
- 3.1.3 เครื่องผสมสาร (vortex mixer)
- 3.1.4 เครื่องเขย่าสาร (shaker)
- 3.1.5 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (shaking water bath)
- 3.1.6 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
- 3.1.7 เครื่องแยกขนาดสารพันธุกรรมด้วยไฟฟ้า (gel electrophoresis)
- 3.1.8 เครื่อง BluPAD Dual LED Blue/White Light Transilluminator (Bio-Helix, Taiwan)
- 3.1.9 เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรม (PCR Thermal Cycler)
- 3.1.10 เครื่องฟนโคนิเดียเชื้อรา
- 3.1.11 ตู้บ่ม (incubator)

3.2 อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

- 3.2.1 อุปกรณ์
 - 3.2.1.1 หลอดหยดสารปลายตีบ (dropper tube)
 - 3.2.1.2 กระดาษกรอง (Whatman filter paper) ขนาดรูพรุน 11 ไมครอน (Merck, Germany)
 - 3.2.1.3 cork borer
 - 3.2.1.4 โกร่ง
 - 3.2.1.5 หลอดขนาด 1.5 มิลลิเมตร
 - 3.2.1.6 กระบะหลุมขนาดกว้าง 27.5 เซนติเมตร ยาว 53 เซนติเมตร ขนาดหลุม 3x3 เซนติเมตร และลึก 4 เซนติเมตร
 - 3.2.1.7 กระบะสำหรับปลูกขนาดกว้าง 39.5 เซนติเมตร ยาว 53 เซนติเมตร สูง 13 เซนติเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.2.1.8 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ
- 3.2.1.9 แ่งแก้วรูปตัวแอล
- 3.2.1.10 กระจกชอลูมิเนียม
- 3.2.1.11 ถุงกระดาษสีน้ำตาลสำหรับเก็บตัวอย่างข้าวเป็นโรค

3.2.2 สารเคมี

- 3.2.2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ water agar (WA)
- 3.2.2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ rice flour agar (RFA)
- 3.2.2.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose broth (PDB)
- 3.2.2.4 ไนโตรเจนเหลว
- 3.2.2.5 เอทานอลบริสุทธิ์ (absolute ethanol)
- 3.2.2.6 สีย้อมดีเอ็นเอ Novel Juice (Bio-Helix, Taiwan)
- 3.2.2.7 ดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 kb (Thermo Scientific, USA)
- 3.2.2.8 ชุด *Taq* DNA polymerase (Thermo Scientific, USA)
- 3.2.2.9 ชุด deoxynucleotide triphosphates (dNTPs)
- 3.2.2.10 ปู่ยยูเรีย (46-0-0)
- 3.2.2.11 เจลลาติน
- 3.2.2.12 ชุดสกัด GF-1 Plant DNA Extraction Kit (Vivantis, Malaysia)
- 3.2.2.13 ยาปฏิชีวนะ streptomycin
- 3.2.2.14 chloroform
- 3.2.2.15 isopropanol
- 3.2.2.16 ethyl alcohol 75 เปอร์เซ็นต์
- 3.2.2.17 สารดูดความชื้น (silica gel)
- 3.2.2.18 สารละลาย 0.5x TAE
- 3.2.2.19 สารละลาย 50x TAE

3.3 เชื้อรา และข้าวที่ใช้ในการทดลอง

- 3.3.1 เชื้อราทดสอบมาตรฐาน *P. oryzae* ไอโซเลท 70-15 และ GUY11
- 3.3.2 ประชากรข้าวพันธุ์แนะนำจำนวน 40 สายพันธุ์ (ตารางที่ 3.1)
- 3.3.3 ประชากรข้าวที่มียืนต้นทานเดี่ยวจำนวน 31 สายพันธุ์ (ตารางที่ 3.2)

3.3.4 ข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิล

3.3.5 ข้าวพันธุ์ IR64

3.3.6 ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

ตารางที่ 3.1 รายชื่อพันธุ์ พื้นที่ปลูก และการแสดงออกต่อโรคไหม้ของข้าวพันธุ์แนะนำที่ใช้ในการศึกษาปฏิบัติการการก่อโรค

ลำดับที่	ชื่อพันธุ์ข้าว	พื้นที่การเพาะปลูกข้าว	ลักษณะความต้านทานต่อโรคไหม้ข้าว
	เจ้าหอมนิล	ไม่พบข้อมูล	ต้านทานต่อโรคไหม้
	IR64	ไม่พบข้อมูล	ต้านทานต่อโรคไหม้
	ขาวดอกมะลิ 105	ไม่พบข้อมูล	อ่อนแอต่อโรคไหม้
1	กข27	ภาคกลาง	ต้านทานต่อโรคไหม้
2	กข41	ภาคเหนือ	ต้านทานต่อโรคไหม้
3	กข6	ภาคเหนือและภาคอีสาน	อ่อนแอต่อโรคไหม้
4	กข43	ไม่พบข้อมูล	ต้านทานต่อโรคไหม้
5	กข59	ภาคเหนือ	ต้านทานต่อโรคไหม้
6	กข7	ไม่พบข้อมูล	อ่อนแอต่อโรคไหม้
7	กข61	ภาคเหนือและภาคกลาง	ต้านทานต่อโรคไหม้
8	เจ้าขาวเชียงใหม่	ภาคเหนือ	ต้านทานต่อโรคไหม้
9	พิษณุโลก 3	ภาคเหนือ	ไม่พบรายงานความต้านทาน
10	เจ้าหอมพิษณุโลก 1	ภาคเหนือและภาคกลาง	ต้านทานต่อโรคไหม้
11	เจ้าหอมคลองหลวง 1	ภาคกลาง	ต้านทานต่อโรคไหม้
12	กข31	ภาคกลาง	อ่อนแอต่อโรคไหม้
13	พิษณุโลก 60-1	ภาคกลาง	ต้านทานต่อโรคไหม้
14	สุพรรณบุรี 1	ไม่พบข้อมูล	ต้านทานต่อโรคไหม้
15	เหนียวอุบล 1	ภาคอีสาน	อ่อนแอต่อโรคไหม้
16	สุพรรณบุรี 2	ภาคกลาง ตะวันออกและตะวันตก	ต้านทานต่อโรคไหม้
17	สุพรรณบุรี 3	ภาคกลาง	ต้านทานต่อโรคไหม้
18	พิษณุโลก 3	ไม่พบข้อมูล	อ่อนแอต่อโรคไหม้
19	สุพรรณบุรี 60	ภาคกลาง ตะวันออกและตะวันตก	ต้านทานต่อโรคไหม้
20	สุพรรณบุรี 90	ภาคกลาง	ต้านทานต่อโรคไหม้
21	สกลนคร	ภาคอีสาน	อ่อนแอต่อโรคไหม้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

ลำดับที่	ชื่อพันธุ์ข้าว	พื้นที่การเพาะปลูกข้าว	ลักษณะความต้านทานต่อโรครไหม้ข้าว
22	ชัยนาท 1	ไม่พบข้อมูล	ต้านทานต่อโรครไหม้
23	ปทุมธานี 1	ภาคกลาง	ต้านทานต่อโรครไหม้
24	เล็บนกปัตตานี	ภาคใต้	อ่อนแอต่อโรครไหม้
25	พलयงมปราจีนบุรี	ภาคกลางและภาคตะวันออก	ต้านทานต่อโรครไหม้
26	ปราจีนบุรี 2	ภาคกลางและภาคตะวันออก	ต้านทานต่อโรครไหม้
27	สังข์หยดพัทลุง	ภาคใต้	อ่อนแอต่อโรครไหม้
28	หางยี 71	ภาคอีสาน	ต้านทานต่อโรครไหม้
29	ข้าวหอมแดง	ภาคอีสาน	ต้านทานต่อโรครไหม้
30	ข้าวญี่ปุ่น DOA1	ภาคเหนือและภาคอีสาน	อ่อนแอต่อโรครไหม้
31	กข8	ภาคอีสาน	ไม่พบรายงานความต้านทาน
32	หอมชลสิทธิ์	ไม่พบข้อมูล	ไม่พบรายงานความต้านทาน
33	กขผ3	ภาคกลาง	ต้านทานต่อโรครไหม้
34	ข้าวญี่ปุ่น DOA2	ภาคเหนือ	อ่อนแอต่อโรครไหม้
35	กข29	ภาคกลางและภาคเหนือ	ไม่พบรายงานความต้านทาน
36	สันป่าตอง 1	ภาคเหนือ	ต้านทานต่อโรครไหม้
37	แพร่ 1	ภาคเหนือ	อ่อนแอต่อโรครไหม้
38	กข10	ไม่พบข้อมูล	ไม่พบรายงานความต้านทาน
39	กข14	ไม่พบข้อมูล	ต้านทานต่อโรครไหม้
40	กข15	ไม่พบข้อมูล	ไม่พบรายงานความต้านทาน

ที่มา : กรมการข้าว (2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.2 รายชื่อพันธุ์ และยีนต้านทานโรคไหม้ของข้าว Near Isogenic Lines (NILs) จำนวน 32 พันธุ์และยีนต้านทานโรคไหม้

พันธุ์ข้าว	ยีนต้านทาน	สายพันธุ์ผู้ให้	พันธุ์ข้าว	ยีนต้านทาน	สายพันธุ์ผู้ให้
IRBLSH-B	<i>Pi sh</i>	BL1	IRBLKS-S	<i>Pi k-s</i>	Shin 2
IRBLSH-S	<i>Pi sh</i>	Shin 2	IRBLKM-TS	<i>Pi k-m</i>	Tsuyuke
IRBLB-B	<i>Pi b</i>	BL1	IRBL1-CL	<i>Pi 1</i>	C101LAC
IRBLT-K59	<i>Pi t</i>	K59	IRBLKH-K3	<i>Pi k-h</i>	K3
LTH	-		IRBLK-KA	<i>Pi k</i>	Kanto 51
IRBLA-A	<i>Pi a</i>	Aichi Asahi	IRBLKP-K60	<i>Pi k-p</i>	K60
IRBLA-C	<i>Pi a</i>	CO39	IRBL7-M	<i>Pi 7(t)</i>	RIL29
IRBLI-F5	<i>Pi i</i>	Fujisaka 5	IRBL9-W	<i>Pi 9(t)</i>	WHD-IS-75-1-127
IRBL3-CP4	<i>Pi 3</i>	C104PKT	IRBLZ-FU	<i>Pi z</i>	Fukunishiki
IRBL5-M	<i>Pi 5(t)</i>	RIL249	IRBLZ5-CA	<i>Pi z-5</i>	C101A51
IRBLKS-F5	<i>Pi k-s</i>	Fujisaka 5	IRBLZT-T	<i>Pi z-t</i>	Toride 1
IRBLTA2-PI	<i>Pi ta-2</i>	Pi No. 4	IRBLTA-CP1	<i>Pi ta</i>	C101PKT
IRBLTA2-RE	<i>Pi ta-2</i>	Reiho	IRBL19-A	<i>Pi 19(t)</i>	Aichi Asahi
IRBL12-M	<i>Pi 12(t)</i>	RIL10	IRBL20-IR24	<i>Pi 20(t)</i>	ARL24
IRBLTA-K1	<i>Pi ta</i>	K1	IRBL11-ZH	<i>Pi 11(t)</i>	Zhaiyeqing 8
IRBLTA-CT2	<i>Pi ta</i>	C105TTP2L9	IRBLZ5-C(R)	<i>Pi z-5</i>	CO39

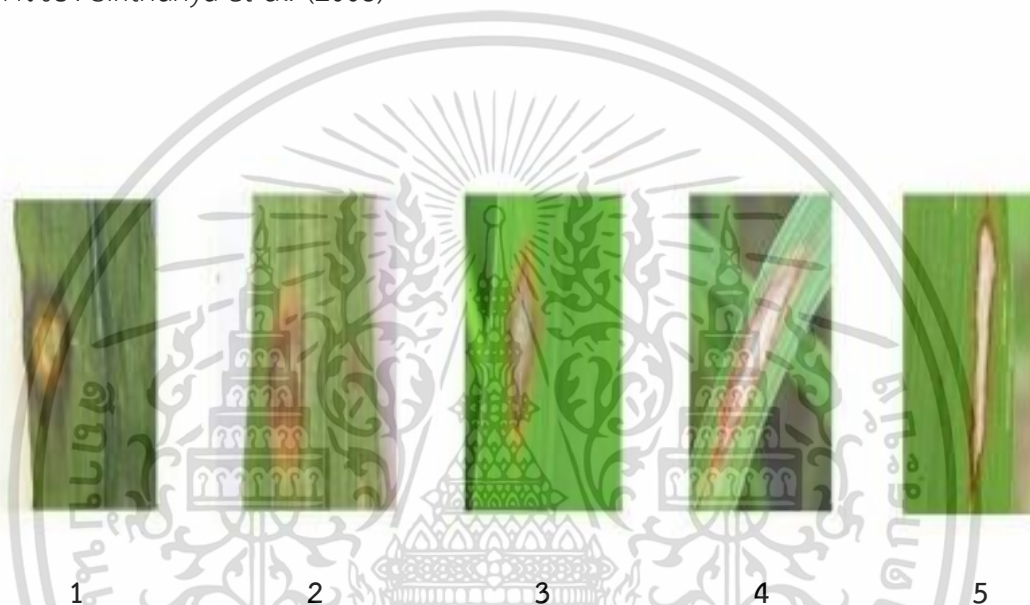
3.4 วิธีการวิจัย

3.4.1 การสำรวจเก็บตัวอย่างเชื้อโรคไหม้และการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยวิธีแยกโคนิเดียเดี่ยว (Single conidia isolation)

สำรวจและเก็บตัวอย่างหญ้าที่แสดงอาการของโรคไหม้ที่มีการระบาดในพื้นที่ปลูกข้าวทุกภูมิภาคในประเทศไทยและจัดจำแนกลักษณะอาการจากรูปแบบแผล โดยเปรียบเทียบจากภาพรูปแบบแผล 5 รูปแบบ ดังภาพที่ 3.1 หลังจากนั้นนำมาแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ โดยเตรียมจานเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ตัดกระดาษทิชชูที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้ได้ขนาดเท่ากับจานเลี้ยงเชื้อแล้ววางลงในจานเลี้ยงเชื้อ หยดน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจนกระดาษมีความชื้นที่พอเหมาะ ตัดชิ้นส่วนของหญ้าที่แสดงอาการโรคให้เป็นชิ้นเล็กๆ โดยให้ส่วนของหญ้าที่แสดงอาการของโรคไหม้ และมีส่วนที่ไม่แสดงอาการติดมาด้วย แล้วนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ใช้ปากคีบที่ผ่านการฆ่าเชื้อคีบชิ้นส่วนหญ้าขึ้นมาแล้วซับด้วยกระดาษทิชชูให้แห้ง นำไปวางบนกระดาษทิชชูในจานเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ (moist chamber) บ่มไว้เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้อราสร้างโคนิเดีย เมื่อครบกำหนดตรวจหาโคนิเดียด้วยกล้องสเตอริโอ ใช้หลอดแก้วปลายแหลมแตะที่โคนิเดีย ย้ายไปวางที่ผิวหน้าอาหาร WA (water agar) บ่มให้เชื้อราเจริญเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วใช้หลอดแก้วปลายแหลมตัดตรงส่วนปลายเส้นใยที่ออกจากโคนิเดียย้ายลงบนอาหาร WA อีกหนึ่งครั้ง รอให้เชื้อราเจริญประมาณ 2 – 3 วัน หลังจากนั้นย้ายเชื้อราลงบนอาหาร PDA (potato dextrose agar) และ RFA (rice flour agar) ตามลำดับ ปล่อยให้เชื้อราเจริญสร้างเส้นใยแล้วนำมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ หลังจากแยกเชื้อให้บริสุทธิ์ได้แล้วนำเชื้อรามาเก็บลงบนกระดาษกรองตามวิธีการของ Sirithunya *et al.* (2008)



ภาพที่ 3.1 ลักษณะอาการของโรคไหม้บนใบข้าวระยะแตกกอในแบบต่างๆ 5 แบบ ในพื้นที่แปลงปลูกข้าว

- 1 = พบในหน้าอาการค่อนข้างกลมขอบแผลไม่คมชัด ขอบแผลมีลักษณะขีดคล้ายหาง 2 หาง
- 2 = แผลเป็นรูปร่างรี ขอบแผลเป็นวงหนาไม่คมชัดและมีวงสีเหลืองรอบแผล
- 3 = แผลมีลักษณะคล้ายรูปตา รอบแผลเป็นวงแคบและคมชัดและมีวงสีเหลืองรอบแผล
- 4 = แผลคล้ายกระสวย มีความยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร มีวงสีเหลืองรอบแผล ตรงกลางแผล มีสีขาว
- 5 = แผลคล้ายกระสวย แคบและมีแผลยาวกว่าอาการที่ 4 ยาวมากกว่า 1.5 เซนติเมตร ตรงกลางแผลมีสีขาว

ที่มา ห้องปฏิบัติการโรคไหม้ข้าว ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.4.2 การศึกษาสัณฐานของเชื้อ *Pyricularia* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ RFA และสัณฐานของโคนิเดียม

เลี้ยงเชื้อบนอาหาร RFA และอาหาร PDA เพื่อศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อราบนผิวหน้าอาหารเป็นเวลา 14 วัน และวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนี จากนั้นทำการกระตุ้นโคนิเดียม โดยใช้น้ำกลั่นหยดลงบนผิวหน้าอาหาร 200 ไมโครลิตร นำแท่งแก้วรูปตัวแอลจุ่มแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำไปลงไฟฆ่าเชื้อ ใช้แท่งแก้วลูบเส้นใยบนผิวหน้าอาหารเพื่อกระตุ้นให้เชื้อราสร้างโคนิเดียม แล้วทิ้งไว้เป็นเวลา 2 วัน โดยเปิดฝาจานอาหารเลี้ยงเชื้อเพียงเล็กน้อย หลังจากนั้นทำการเทน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณ 10 มิลลิตร แล้วทำการขูดผิวโคโลนีที่ทำการกระตุ้นแล้ว กรองด้วยผ้าขาวบาง ต่อมาทำการเตรียมสไลด์เพื่อตรวจสอบลักษณะสัณฐาน ได้แก่ รูปร่างของโคนิเดียม สีของโคนิเดียม และขนาดของโคนิเดียม โดยวัดขนาดโคนิเดียมจำนวน 100 โคนิเดียมต่อเชื้อรา 1 ไอโซเลท โดยทำการเตรียมสไลด์โคนิเดียมแขวนลอยในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ นำสไลด์ที่มีโคนิเดียมสองภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ถ่ายรูปและวัดขนาดโคนิเดียมด้วยโปรแกรม Pixit pro version 6.9.2

3.4.3 การตรวจสอบคุณสมบัติทางเพศ (Mating type)

3.4.3.1 การสกัดดีเอ็นเอจากเส้นใยเชื้อรา *Pyricularia* sp.

นำกระดาษกรองที่มีเชื้อราแต่ละไอโซเลทมาวางบนอาหาร RFA บ่มที่อุณหภูมิห้องประมาณ 3 วัน ใช้ cork borer เจาะชิ้นวุ้นที่มีเชื้อราย้ายลงในอาหารเหลว Potato dextrose broth (PDB) ปริมาตร 50 มิลลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิตร จำนวน 5 ชิ้น เขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 4 – 6 วัน เก็บเกี่ยวเส้นใยเชื้อรา เพื่อใช้ในการสกัด ดีเอ็นเอด้วยชุดสกัด GF-1 Plant DNA Extraction Kit (Vivantis, Malaysia) ตามวิธีการที่บริษัทแนะนำ โดยบดเส้นใยเชื้อราด้วยไนโตรเจนเหลวและแบ่งใส่หลอดขนาด 1.5 มิลลิตร เติม buffer PL ปริมาตร 280 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน เติม Proteinase K ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมโดยการพลิกหลอดไปมา นำไปบ่มและเขย่าที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (waterbath shaker) นำมาปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ดูดสารละลายใส่ microtube หลอดใหม่ปริมาณ 300 ไมโครลิตร เติม buffer PB (ทำให้อุ่นที่ 65 องศาเซลเซียส) ปริมาตร 600 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เติม absolute ethanol ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันทันที ดูดสารละลายใส่ใน column ครึ่งละ 650 ไมโครลิตร นำไปหมุนเหวี่ยงที่ 14,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที เทสารละลายทิ้งแล้วทำซ้ำกับสารละลายที่เหลือ หลังจากนั้นล้าง column ด้วย Wash buffer ปริมาตร 650 ไมโครลิตร ปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที เท Wash buffer ทิ้งแล้วปั่นเหวี่ยงอีกรอบ ซะดีเอ็นเอออกจาก column โดยการเติม Elution buffer (ทำให้อุ่นที่ 65 องศาเซลเซียส) ปริมาตร 50

ไมโครลิตร รว 2 นาที่ แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 รอบต่อนาที นาน 1 นาที เพื่อเก็บสารละลายดีเอ็นเอ เก็บสารละลายดีเอ็นเอที่ได้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.4.3.2 การตรวจสอบปริมาณและคุณภาพของดีเอ็นเอด้วยการวัดค่าดูดกลืนแสง และเทคนิคอะกาโรสเจลอิเล็กโทรโฟรีซิส

วัดความเข้มข้นของดีเอ็นเอเชื้อราที่สกัดได้ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร (A_{260}) โดยเจือจางดีเอ็นเอที่สกัดส่วน 1: 100 (dH_2O ปริมาตร 99 ไมโครลิตร และดีเอ็นเอปริมาตร 1 ไมโครลิตร) และนำมาคำนวณปรับความเข้มข้นให้ได้ 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร เพื่อใช้เป็นดีเอ็นเอเริ่มต้นในปฏิกิริยาพีซีอาร์และเก็บดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอโดยนำดีเอ็นเอที่สกัดได้ความเข้มข้น 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ปริมาตร 5 ไมโครลิตร ผสมกับ 6X loading dye (Novel juice, Bio-Helix) ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วหยอดสารละลายทั้งหมดลงในหลุมของแผ่นเจลอะกาโรส ความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ ปล่อยให้โมเลกุลของดีเอ็นเอเคลื่อนที่ในเครื่องอิเล็กโทรโฟรีซิสที่แรงเคลื่อนกระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 45 นาที โดยมีสารละลาย 0.5 เท่า TAE buffer เป็นตัวกลางในการนำกระแสไฟฟ้า และนำไปตรวจดูแถบและขนาดของดีเอ็นเอด้วยเครื่อง UV transilluminator

3.4.3.3 การตรวจสอบแบบของเพศ (Mating type) ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้โดยใช้เทคนิค PCR ด้วยไพรเมอร์ที่เพาะต่อ *Mat* gene

ตรวจสอบแบบของเพศ (mating type) ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีน *Mat* ซึ่งเป็นยีนที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อ mating type ของเชื้อรา *Pyricularia* sp. คือ *Mat1-1* และ *Mat1-2* (ตารางที่ 3) ตามวิธีการของ Samanta *et al.* (2014) และเปรียบเทียบกับเชื้อไอโซเลท 70-15 (*Mat1-1*) และ GUY11 (*Mat1-2*) ซึ่งเป็นเชื้อทดสอบความสมบูรณ์เพศมาตรฐานที่ทราบ mating type แล้ว

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยเตรียมปฏิกิริยาพีซีอาร์ในปริมาตรรวม 10 ไมโครลิตร ประกอบด้วย dH_2O ปริมาตร 5.6 ไมโครลิตร สารละลาย buffer ความเข้มข้น 10 เท่า ปริมาตร 1 ไมโครลิตร $MgCl_2$ ความเข้มข้น 2.5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1 ไมโครลิตร dNTPs ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.8 ไมโครลิตร *Taq* polymerase ความเข้มข้น 5 ยูนิตต่อไมโครลิตร ปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร (Thermo Scientific, USA) ส่วนผสมระหว่าง forward primer และ reverse primer (ตารางที่ 3.3) ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร และดีเอ็นเอเชื้อราความเข้มข้น 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ปริมาตร 1 ไมโครลิตร ขั้นตอนในการทำปฏิกิริยาประกอบด้วย initial denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ใน 1 รอบปฏิกิริยา ประกอบด้วย 1)

denaturation ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 20 วินาที 2) annealing ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 15 วินาที 3) extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที ทำซ้ำขั้นตอนที่ 1 – 3 จำนวน 35 รอบ และขั้นตอน final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 6 นาที จากนั้นตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ด้วยเทคนิคอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส โดยนำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ปริมาณ 2 ไมโครลิตร ผสมกับ loading dye ความเข้มข้น 6 เท่า (Novel juice, Bio-Helix) ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วหยอดสารละลายทั้งหมดลงในหลุมของแผ่นเจลอะกาโรสความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ปล่อยให้โมเลกุลของดีเอ็นเอเคลื่อนที่ในเครื่องอิเล็กโตรโฟรีซิสที่แรงเคลื่อนกระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที โดยมีสารละลาย TAE buffer ความเข้มข้น 0.5 เท่า เป็นตัวกลางในการนำกระแสไฟฟ้า และนำไปตรวจดูแถบ และขนาดของดีเอ็นเอด้วยเครื่อง UV transilluminator

3.4.4 การศึกษาปฏิบัติการก่อโรคบนพืชอาศัย

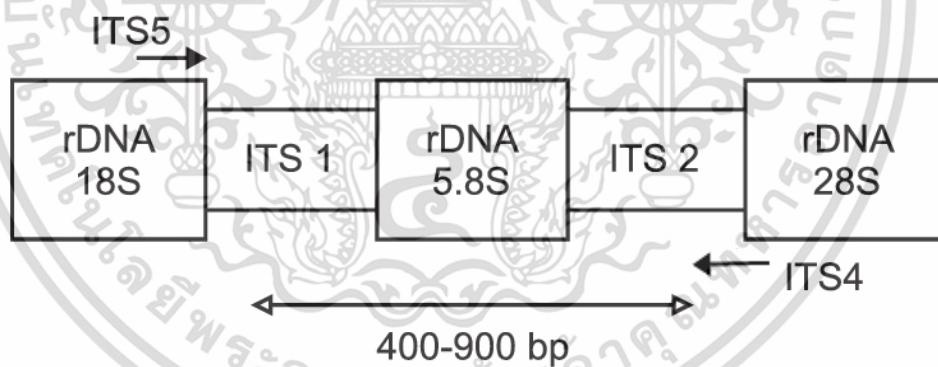
เตรียมข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี ที่มีอายุ 14 วัน และเตรียมสารแขวนลอยสปอร์ที่มีความเข้มข้นของสปอร์ 1×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 20 มิลลิลิตร และผสมสารละลายเจลาติน 2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 5 มิลลิลิตร รวมปริมาตร 25 มิลลิลิตร ต่อ 1 กระบะ (11 x 22 x 5 ซม.) แล้วนำไปสเปรย์ลงบนพืชที่ใช้ทดสอบ จากนั้นนำไปเก็บในห้องปรับอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ใช้กล่องที่ปิดด้วยพลาสติกสีดำ ครอบภาตข้าวไว้และเติมน้ำให้ท่วมภาตหลุมเพื่อเพิ่มความชื้น บ่มไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปในสภาพธรรมชาติและทำการฉีดพ่นน้ำทุกๆ 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 2 วัน ประเมินปฏิบัติการก่อโรคของเชื้อราแต่ละไอโซเลทภายหลังการปลูกเชื้อ 7 วัน และให้คะแนนการเกิดโรคโดยใช้ระดับคะแนนการเกิดโรคดังต่อไปนี้: คะแนน 0 – 2 คือ เชื้อราไม่สามารถก่อโรคบนพืช คะแนน 3 – 4 คือ เชื้อราสามารถก่อโรครุนแรงปานกลาง และคะแนน 5 – 6 คือ เชื้อราสามารถก่อโรครุนแรง

เตรียมตัวอย่างหญ้าชั้นอากาศ หญ้าปล้องข้าวนก หญ้าขน และหญ้าม้าลาย ที่มีจำนวน 2 ใบ ต่อหนึ่งกิ่ง เพื่อนำมาทำการปลูกเชื้อด้วยวิธี detached leaf โดยนำตัวอย่างหญ้าม้าลายด้วยน้ำสะอาด และฆ่าเชื้อบริเวณผิวนอกด้วยแอลกอฮอล์เข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ผึ่งให้แห้ง หุ้มปลายกิ่งด้วยสำลีที่ชุบน้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ และเตรียมสารแขวนลอยโคโคนีเดียที่มีความเข้มข้นของโคโคนีเดีย 1×10^5 โคโคนีเดียต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 12.5 มิลลิลิตร และผสมสารละลายเจลาติน 2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 2.5 มิลลิลิตร รวมปริมาตร 15 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาสเปรย์ลงบนใบหญ้า บ่มในกล่องเก็บความชื้น ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน ตรวจบันทึกและสังเกตการเกิดโรค ทำการทดลองทั้งหมด 2 ซ้ำ

3.4.5 การจัดจำแนกสปีชีส์ของเชื้อราสาเหตุโรคใหม่ด้วยข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS region

คัดเลือกเชื้อราสาเหตุโรคใหม่ที่ทำกรจัดกลุ่มตามการเข้าทำลายของพืชอาศัย อย่างน้อยกลุ่มละ 1 ไอโซเลท เพื่อเป็นตัวแทนกลุ่มในการระสปีชีส์เชื้อราโรคใหม่ด้วยข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS region ทำโดยเพิ่มปริมาณขึ้นดีเอ็นเอตำแหน่ง ITS region ที่ประกอบด้วย ITS1, 5.8s rDNA และ

ITS2 (ภาพที่ 3.2) ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ โดยใช้คู่ไพรเมอร์ ITS5 และ ITS4 (ตารางที่ 3.3) ในปฏิกิริยาพีซีอาร์ปริมาณ 10 ไมโครลิตร ประกอบด้วยดีเอ็นเอเชื้อราความเข้มข้น 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ปริมาณ 1 ไมโครลิตร dH₂O ปริมาณ 5.1 ไมโครลิตร dNTPs ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ ปริมาณ 0.8 ไมโครลิตร PCR buffer ความเข้มข้น 10 เท่า ปริมาณ 1 ไมโครลิตร MgCl₂ ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ปริมาณ 1 ไมโครลิตร ส่วนผสมระหว่าง forward primer และ reverse primer (ตารางที่ 3) ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ ปริมาณ 1 ไมโครลิตร และ *Taq* DNA polymerase ความเข้มข้น 0.5 ยูนิตต่อไมโครลิตร ปริมาณ 0.1 ไมโครลิตร ขั้นตอนในการทำปฏิกิริยาประกอบด้วย initial denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ใน 1 รอบปฏิกิริยา ประกอบด้วย 1) denaturation ที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที 2) annealing ที่อุณหภูมิ 54 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที 3) extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 45 วินาที ทำซ้ำขั้นตอนที่ 1 – 3 จำนวน 35 รอบ และขั้นตอน final extension ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 4 นาที เมื่อเสร็จสิ้นปฏิกิริยาจะได้ผลผลิตพีซีอาร์ที่มีขนาด 567 คู่เบส ตรวจสอบผลผลิตพีซีอาร์ด้วยวิธีเจลอิเล็กโตรโฟรีซิสบนแผ่นเจลอะกาโรส ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ใน TAE ความเข้มข้น 0.5 เท่า ที่กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที ตรวจสอบแถบและขนาดของดีเอ็นเอด้วยเครื่อง UV transilluminator หลังจากนั้นทำการส่งผลผลิตพีซีอาร์ ปริมาณ 20 ไมโครลิตร (ความเข้มข้นอย่างน้อย 50 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร) ให้กับบริษัท เพื่อวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์



ภาพที่ 3.2 แผนภาพแสดงตำแหน่งของ ITS1 - 5.8SrDNA - ITS2 ใน ribosomal DNA (rDNA) และตำแหน่งของไพรเมอร์ ITS5 และ ITS4 ที่ปรากฏแถบแบนของดีเอ็นเอที่ขนาด 400 – 900 bp

วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนในตำแหน่ง ITS ของเชื้อราแต่ละตัวอย่างด้วยโปรแกรม FinchTV (version 1.4.0) เพื่อตรวจสอบความสมบูรณ์ของลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้จากการหาลำดับนิวคลีโอไทด์อัตโนมัติ คัดเลือกเฉพาะลำดับเบสช่วงที่มีคุณภาพสูง โดยการนำลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อ

ราแต่ละตัวอย่างไปเปรียบเทียบกับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล GenBank โดยใช้เครื่องมือ Nucleotide BLAST (Basic Local Alignment Search Tool-nucleotide) เพื่อตรวจสอบความเหมือนและความแตกต่างของลำดับนิวโอไทด์และยืนยันสปีชีส์ของเชื้อราที่ศึกษา

วิเคราะห์ความผันแปรของลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS ของเชื้อรา โดยทำ alignment ด้วยโปรแกรม Clustal Omega ในฐานข้อมูล EMBL-EBI ซึ่งเป็นฐานข้อมูลให้บริการออนไลน์ หลังจากนั้นวิเคราะห์ต่อด้วยโปรแกรม MEGA 11 (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) และสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมจากแบบจำลองทางคณิตศาสตร์โดยใช้วิธีการจัดกลุ่มจากระยะห่างทางพันธุกรรม (genetic distance) ที่ได้จากวิธี maximum likelihood (ML)

ตารางที่ 3.3 โพรเมอร์ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณยีน *Mat* และบริเวณ ITS ของ เชื้อราโรครไหม้

ชื่อโพรเมอร์	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของโพรเมอร์	อุณหภูมิ annealing	ขนาดผลผลิต	
			พีซีอาร์ (คู่เบส)	งานวิจัยอ้างอิง
MAT1-1	F: TCAGCTCGCCCAATCAACAAT R: ACTCAAGACCCGGCAGAACAT	56	809	Samanta <i>et al.</i> , 2014
MAT1-2	F: GAGTTGCCTGCCCGCTTCTG R: GGCTTGGTCGTTGGGGATTGT	56	940	
ITS5	5' GGAAGTAAAGTCGTAACAAGG 3'	55	567	White <i>et al.</i> , 1990
ITS4	5' TCCTCCGCTTATTGATATGC 3'	55	567	

3.4.6 การวิเคราะห์ความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรครไหม้บนข้าวพันธุ์แนะนำและข้าวที่มียีนต้านทานเดี่ยว (NILs)

3.4.6.1 การเตรียมกล้าข้าวพันธุ์แนะนำที่ใช้ทดสอบ

ปลูกข้าวที่ใช้ในการทดสอบทั้งหมด 40 พันธุ์ (ตารางที่ 3.1) ลงในภาตหลุมขนาด 7 × 12 หลุม โดยใช้ 1 หลุมต่อ 1 พันธุ์ พันธุ์ละ 2 ต้น ข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิล และ IR64 ปลูกจำนวน 6 หลุม หลุมละ 2 ต้น ส่วนข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ปลูกทั้งหมด 10 หลุม เพื่อใช้เป็นพันธุ์ตรวจสอบ ทำจำนวน 2 ซ้ำ (กระบะ) ต่อการปลูกเชื้อ 1 ไอโซเลท และใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 ก่อนปลูกเชื้อ 7 วัน ปริมาณ 1 กรัมต่อกระบะ

3.4.6.2 การเตรียมกล้าข้าว Near Isogenic Lines (NILs) ที่ใช้ทดสอบ

พันธุ์ข้าว Near Isogenic Lines (NILs) จำนวน 31 พันธุ์ เป็นข้าวที่มีพื้นฐานพันธุกรรมมาจากข้าวพันธุ์ Lijiangxintuanheigu (LTH) ได้ผ่านการพัฒนาเป็นชุดข้าวคู่แฝดที่มียีน

ด้านทานโรคไหม้เพียงยืนเดียวในแต่ละสายพันธุ์ (ตารางที่ 3.2) ได้รับความอนุเคราะห์จาก International Rice Research Institute (IRRI, The Philippines) รวมทั้งข้าวพันธุ์ IR64 และข้าวดอกมะลิ 105 ที่ใช้เป็นพันธุ์ข้าวทดสอบ

ปลูกข้าว NILs ที่ใช้ในการทดสอบทั้งหมด 32 พันธุ์ ลงในถาดหลุมขนาด 7×12 หลุม โดยใช้ 1 หลุมต่อ 1 พันธุ์ พันธุ์ละ 2 ต้น ข้าวพันธุ์เจ้าหอมนิล และ IR64 ปลูกจำนวน 6 หลุม หลุมละ 2 ต้น ส่วนข้าวพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ปลูกทั้งหมด 10 หลุม เพื่อใช้เป็นพันธุ์ตรวจสอบ ทำจำนวน 2 ซ้ำ (กระบะ) ต่อการปลูกเชื้อ 1 ไอโซเลท ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 ก่อนปลูกเชื้อ 7 วัน ปริมาณ 1 กรัมต่อกระบะ และทำการทดลองทั้งหมดจำนวน 2 รอบ

3.4.6.3 การศึกษาปฏิบัติการการก่อโรคไหม้บนกล้าข้าว

เตรียมข้าวที่มีอายุ 14 วัน และเตรียมสารแขวนลอยสปอร์ที่มีความหนาแน่นของโคนเดีย 1×10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 80 มิลลิลิตร และผสมสารละลายเจลาติน 2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 20 มิลลิลิตร รวมเป็นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ต่อ 1 กระบะ ($33 \times 11 \times 11$ ซม.) แล้วนำไปสเปรย์ลงบนต้นกล้าข้าว จากนั้นนำไปเก็บในห้องปรับอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ใช้กล่องที่ปิดด้วยพลาสติกสีดำครอบถาดข้าวไว้และเติมน้ำให้ท่วมถาดหลุมเพื่อเพิ่มความชื้น บ่มไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปไว้ในสภาพธรรมชาติและฉีดพ่นน้ำทุกๆ 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 2 วัน ประเมินปฏิบัติการก่อโรคของเชื้อราแต่ละไอโซเลทภายหลังการปลูกเชื้อ 7 วัน และให้คะแนนการเกิดโรคโดยใช้ระดับคะแนนการเกิดโรค 7 ระดับ (Roumen *et al.*, 1997) ดังภาพที่ 3.3

3.4.6.4 การวิเคราะห์การจัดกลุ่มความหลากหลายของเชื้อราโรคไหม้

วิเคราะห์การจัดกลุ่มปฏิบัติการก่อโรคของเชื้อราบนข้าวพันธุ์ทดสอบโดยใช้ค่าเฉลี่ยของคะแนนการเกิดโรคของเชื้อราแต่ละไอโซเลทที่ได้ทดสอบบนพันธุ์ข้าวแต่ละพันธุ์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYSpc 2.10p จากนั้นวิเคราะห์ค่า Similarity เลือกตัวเลือกของการวิเคราะห์เป็น SimInt โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์ของ Canberra เลือกวิธีการจัดกลุ่ม โดยใช้วิธี SHAN เพื่อสร้างแผนภาพความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้

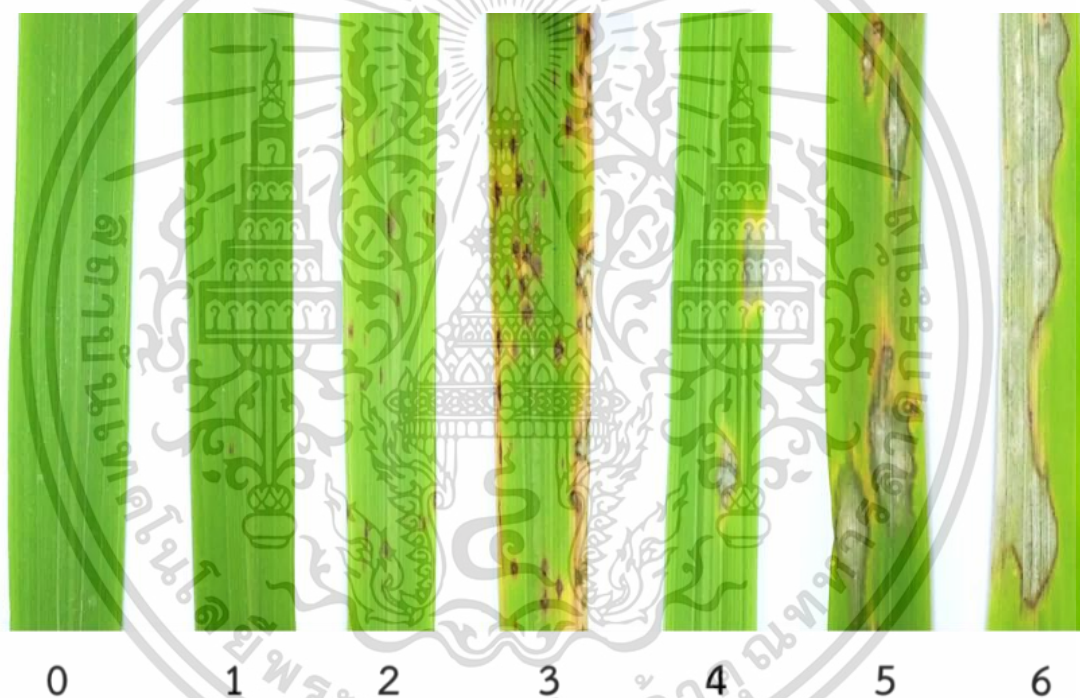
3.4.6.5 การคำนวณค่าดัชนีความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ (Virulence index, VI) ของเชื้อราแต่ละไอโซเลทบนพันธุ์ข้าวที่ทดสอบ

คำนวณค่าดัชนีความรุนแรงของเชื้อ *Pyricularia* sp. แต่ละไอโซเลท สามารถคำนวณได้โดยนำจำนวนพันธุ์ข้าวที่แสดงอาการโรคไหม้ (infected variety) ที่ระดับคะแนนการเกิดโรค 5 – 6หารด้วยจำนวนพันธุ์ข้าวทั้งหมดที่ทดสอบตามสูตร (ดัดแปลงมาจากเสาวลักษณ์ และคณะ, 2554)

$$VI = \frac{\text{No. of infected variety (Score 5 – 6)}}{\text{No. of tested variety}}$$

3.4.6.6 การคำนวณค่าดัชนีความต้านทานของข้าว (Resistance index, RI) แต่ละสายพันธุ์
 คำนวณค่าดัชนีความต้านทานของข้าวแต่ละสายพันธุ์ต่อเชื้อโรคใหม่ สามารถคำนวณ
 ได้โดย นำจำนวนไอโซเลทของเชื้อราที่ก่อโรคไม่รุนแรงหรือไม่ก่อโรคบนข้าวพันธุ์นั้นได้ (avirulence
 isolate) ที่มีระดับคะแนนการเกิดโรคที่ 0 – 2 หารด้วยจำนวนเชื้อทั้งหมดที่ใช้ในการทดสอบตามสูตร
 (ดัดแปลงจากเสาวลักษณ์ และคณะ, 2554)

$$RI = \frac{\text{No. of avirulence isolate (Score 0 – 2)}}{\text{No. of tested isolate}}$$



ภาพที่ 3.3 ลักษณะอาการโรคไหม้และระดับคะแนนการเกิดโรค 7 ระดับ :

ที่มา : ห้องปฏิบัติการโรคไหม้ข้าว ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการ
 เกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 0 คือ ไม่ปรากฏแผล
- 1 คือ แผลจุดกลมสีน้ำตาลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางน้อยกว่า 0.5 มิลลิเมตร
- 2 คือ เกิดแผลกลมหรือยาวรีเล็กน้อย ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางระหว่าง 0.5 – 1 มิลลิเมตร
- 3 คือ เกิดแผลจุดเล็ก ขนาดประมาณ 1 – 3 มิลลิเมตร มีจุดสีเทาตรงกลางแผล
- 4 คือ เกิดแผลจุดขนาดประมาณ 3 มิลลิเมตร หรือยาวกว่า แผลเป็นสีเทามีขอบแผลสีน้ำตาล
- 5 คือ เกิดแผลสีเทาเกาะกันเป็นกลุ่ม มีขอบแผลสีน้ำตาล เป็นอาการที่แสดงถึงความอ่อนแอต่อโรค
- 6 คือ เกิดแผลลูกกลมยาวติดต่อกันเป็นสีเทา ไม่มีขอบแผลที่แน่นอนเป็นอาการที่แสดงถึงความอ่อนแอต่อโรค



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ผลการสำรวจเก็บตัวอย่างโรคไหม้ในหญ้าและการแยกเชื้อราสาเหตุโรคไหม้

4.1.1 ผลการสำรวจเก็บตัวอย่างโรคไหม้ในหญ้า

สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคไหม้ข้าวในเขตภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก ภาคตะวันตก และภาคใต้ ของประเทศไทยในปี 2561 จำนวน 66 ตำแหน่ง ปี 2562 จำนวน 59 ตำแหน่ง และปี 2563 จำนวน 75 ตำแหน่ง แบ่งออกเป็นเขตพื้นที่ต่างๆ ดังนี้ ในเขตพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทยทั้งหมด 9 จังหวัด ได้แก่ เชียงราย เชียงใหม่ พะเยา แพร่ ลำพูน ลำปาง แม่ฮ่องสอน น่าน และอุตรดิตถ์ ในพื้นที่จังหวัดเชียงรายเก็บตัวอย่างครอบคลุมพื้นที่ 3 อำเภอ ได้แก่ อำเภอพาน แม่จัน และเวียงชัย ในพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ ครอบคลุมพื้นที่ 3 อำเภอ ได้แก่ อำเภอดอยสะเก็ด สันกำแพง และแม่ออน ในพื้นที่จังหวัดพะเยา ครอบคลุมพื้นที่ 2 อำเภอ ได้แก่ อำเภอดอกคำใต้ และปง ในพื้นที่จังหวัดแพร่ ครอบคลุมพื้นที่ 2 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมืองแพร่ และวังชิ้น ในพื้นที่จังหวัดลำพูน ครอบคลุมพื้นที่ 3 อำเภอ ได้แก่ อำเภอแม่ทา เมืองลำพูน และบ้านธิ ในพื้นที่จังหวัดลำปาง ครอบคลุมพื้นที่ 4 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเถิน แม่ทะ ห้างฉัตร และเมืองลำปาง ในพื้นที่จังหวัดแม่ฮ่องสอน ครอบคลุมพื้นที่ 3 อำเภอ ได้แก่ อำเภอปาย ปางมะผ้า และสบเมย ในพื้นที่จังหวัดน่าน ครอบคลุมพื้นที่ 2 อำเภอ ได้แก่ อำเภอสันติสุข และบัว และในพื้นที่จังหวัดอุตรดิตถ์ ครอบคลุมพื้นที่ 2 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมืองอุตรดิตถ์ และพิชัย

ในเขตพื้นที่ภาคกลาง ทั้งหมด 10 จังหวัด ได้แก่ กำแพงเพชร พิษณุโลก สุโขทัย เพชรบูรณ์ พิจิตร นครสวรรค์ อุทัยธานี ลพบุรี สิงห์บุรี และสุพรรณบุรี ในพื้นที่จังหวัดกำแพงเพชร เก็บตัวอย่างได้ 1 อำเภอ คือ อำเภอขาณุวรลักษบุรี ในพื้นที่จังหวัดพิษณุโลก ครอบคลุมพื้นที่ 5 อำเภอ ได้แก่ อำเภอวังทอง ชาติตระการ เมืองพิษณุโลก นครไทย และบางระกำ ในพื้นที่จังหวัดสุโขทัย ครอบคลุมพื้นที่ 4 อำเภอ ได้แก่ อำเภอกงไกรลาศ บ้านด่านลานหอย เมืองสุโขทัย และสวรรคโลก ในพื้นที่จังหวัดเพชรบูรณ์ ครอบคลุมพื้นที่ 2 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมืองเพชรบูรณ์ และเขาค้อ ในพื้นที่จังหวัดพิจิตร ครอบคลุมพื้นที่ 2 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมืองพิจิตร และทับคล้อ ในพื้นที่จังหวัดนครสวรรค์ เก็บตัวอย่างได้ 1 อำเภอ คือ อำเภอชุมแสง ในพื้นที่จังหวัดอุทัยธานี เก็บตัวอย่างได้ 1 อำเภอ คือ อำเภอหนองขาหย่าง ในพื้นที่จังหวัดลพบุรี เก็บตัวอย่างได้ 1 อำเภอ คือ อำเภอท่าม่วง ในพื้นที่จังหวัดสิงห์บุรี เก็บตัวอย่างได้ 1 อำเภอ คือ อำเภอท่าช้าง และในพื้นที่จังหวัดสุพรรณบุรี เก็บตัวอย่างครอบคลุม 3 อำเภอ ได้แก่ อำเภอสามชุก เมืองสุพรรณบุรี ศรีประจันต์

ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ทั้งหมด 18 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดกาฬสินธุ์ ขอนแก่น ชัยภูมิ นครพนม นครราชสีมา บุรีรัมย์ มหาสารคาม มุกดาหาร ยโสธร ร้อยเอ็ด ศรีสะเกษ สุรินทร์ หนองบัวลำภู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หนองคาย สกลนคร บึงกาฬ อุบลราชธานี และอุดรธานี ในพื้นที่จังหวัดกาฬสินธุ์ เก็บตัวอย่างครอบคลุมพื้นที่ 3 อำเภอ ได้แก่ อำเภอฆ้องชัย กุฉินารายณ์ และกิ่งอำเภอฆ้องชัย ในพื้นที่จังหวัดขอนแก่น ครอบคลุมพื้นที่ 5 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมืองขอนแก่น โนนศิลา พล ชุมแพ และบ้านไผ่ ในพื้นที่จังหวัดชัยภูมิ เก็บตัวอย่างได้ 1 อำเภอ คือ อำเภอบ้านเขว้า ในพื้นที่จังหวัดนครพนม ครอบคลุมพื้นที่ 2 อำเภอ คือ อำเภอเมืองพระธาตุพนม และนาแก ในพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา ครอบคลุมพื้นที่ 2 อำเภอ ได้แก่ อำเภอพิมาย และบัวใหญ่ ในพื้นที่จังหวัดบุรีรัมย์ ครอบคลุมพื้นที่ 4 อำเภอ ได้แก่ อำเภอปะคำ นางรอง หนองกี่ และประโคนชัย ในพื้นที่จังหวัดมหาสารคาม ครอบคลุมพื้นที่ 4 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมืองมหาสารคาม เชียงยืน โกสุมพิสัย และกันทรวิชัย ในพื้นที่จังหวัดมุกดาหาร เก็บตัวอย่างได้ 1 อำเภอคือ อำเภอนิคมคำสร้อย ในพื้นที่จังหวัดยโสธร ครอบคลุมพื้นที่ 3 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเลิงนกทา กุดชุม และไทยเจริญ ในพื้นที่จังหวัดร้อยเอ็ด ครอบคลุมพื้นที่ 3 อำเภอ ได้แก่ อำเภอสุวรรณภูมิ เกษตรวิสัย และเมืองร้อยเอ็ด ในพื้นที่จังหวัดศรีสะเกษ ครอบคลุมพื้นที่ 3 อำเภอ ได้แก่ อำเภอขุขันธ์ เบญจลักษ์ และกันทรลักษณ์ ในพื้นที่จังหวัดสุรินทร์ ครอบคลุมพื้นที่ 4 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมืองสุรินทร์ ปราสาท พนมดงรัก และสังขะ ในพื้นที่จังหวัดหนองบัวลำภู เก็บตัวอย่างได้ 1 อำเภอ คือ อำเภอนากลาง ในพื้นที่จังหวัดหนองคาย ครอบคลุมพื้นที่ 2 อำเภอ ได้แก่ อำเภอท่าบ่อ และอำเภอเมืองหนองคาย ในพื้นที่จังหวัดสกลนคร เก็บตัวอย่างได้ 1 อำเภอ คือ อำเภอเมืองสกลนคร ในพื้นที่จังหวัดบึงกาฬ ครอบคลุมพื้นที่ 5 อำเภอ ได้แก่ อำเภอโซ่พิสัย เมืองบึงกาฬ เซกา ศรีวิไล และพาเจริญ ในพื้นที่จังหวัดอุบลราชธานี ครอบคลุมพื้นที่ 2 อำเภอ ได้แก่ อำเภอวารินชำราบ และเดชอุดม ในพื้นที่จังหวัดอุดรธานี ครอบคลุมพื้นที่ 3 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมืองอุดรธานี กุดจับ และบ้านผือ

ในพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 2 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดฉะเชิงเทรา และนครนายก ในพื้นที่จังหวัดฉะเชิงเทรา เก็บตัวอย่างครอบคลุมพื้นที่ 2 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมืองฉะเชิงเทรา และบางน้ำเปรี้ยว และในพื้นที่จังหวัดนครนายก เก็บตัวอย่างได้ 1 อำเภอ คือ อำเภอเมืองนครนายก

ในพื้นที่ภาคตะวันตก จำนวน 2 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดราชบุรี และตาก โดยในพื้นที่จังหวัดราชบุรี และตาก เก็บตัวอย่างได้จังหวัดละ 1 อำเภอ คือ อำเภอจอมบึง และเมืองตาก ตามลำดับ

ในพื้นที่ภาคใต้ จำนวน 3 จังหวัด ได้แก่ จังหวัดสงขลา นครศรีธรรมราช และพัทลุง ในพื้นที่จังหวัดสงขลา เก็บตัวอย่างครอบคลุมพื้นที่ 2 อำเภอ ได้แก่ อำเภอกระเสสินธุ์ และหาดใหญ่ ในพื้นที่จังหวัดนครศรีธรรมราช เก็บตัวอย่างได้ 1 อำเภอ คือ อำเภอเฉลิมพระเกียรติ และในพื้นที่จังหวัดพัทลุง ครอบคลุมพื้นที่ 3 อำเภอ ได้แก่ อำเภอเมืองพัทลุง ปากพะยูน และควนขนุน (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคไหม้ข้าวในแต่ละพื้นที่ของประเทศไทยในฤดูปลูกปี พ.ศ. 2561 – 2563

ภาค	จังหวัด	อำเภอ	จำนวนตำแหน่งที่เก็บตัวอย่าง
เหนือ	9	24	43
กลาง	10	21	44
ตะวันตก	2	2	9
ตะวันออกเฉียงเหนือ	18	49	97
ตะวันออก	2	3	5
ใต้	3	6	8
รวม	44	105	206

4.1.2 ผลการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยวิธีการแยกโคนิเดียเดี่ยว (single conidia isolation)

ทำการแยกเชื้อราให้ได้สปอร์เดี่ยวจากตัวอย่างโรคไหม้ในหญ้าที่เก็บรวบรวมจากพื้นที่ในเขตภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง ภาคใต้ ภาคตะวันออก และภาคตะวันตก ในฤดูปลูกปี พ.ศ. 2561 – 2563 สามารถแยกเชื้อราได้ทั้งหมด 110 ไอโซเลท โดยแบ่งออกเป็นในเขตภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดพะเยา เชียงใหม่ ลำปาง และแม่ฮ่องสอน แยกเชื้อได้ 10 4 1 และ 10 ไอโซเลท ตามลำดับ รวมแยกเชื้อจากภาคเหนือได้ 24 ไอโซเลท เขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดสุรินทร์ บุรีรัมย์ หนองบัวลำภู ชัยภูมิ ขอนแก่น อุดรธานี หนองคาย กาฬสินธุ์ มหาสารคาม สกลนคร และบึงกาฬ แยกเชื้อได้ 2 4 3 3 8 4 7 4 4 1 และ 2 ไอโซเลท ตามลำดับ รวมแยกเชื้อจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้ 42 ไอโซเลท เขตภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดพิจิตร พิษณุโลก เพชรบูรณ์ สุโขทัย อุทัยธานี สิงห์บุรี และลพบุรี แยกเชื้อได้ 2 5 5 4 8 5 และ 2 ไอโซเลท ตามลำดับ รวมแยกเชื้อจากภาคกลางได้ 32 ไอโซเลท เขตภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดพัทลุง และนครศรีธรรมราช แยกเชื้อได้ 2 และ 3 ไอโซเลท ตามลำดับ และเขตภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดตาก และราชบุรี แยกเชื้อได้ 4 และ 3 ไอโซเลท ตามลำดับ รวมแยกได้ 7 ไอโซเลท (ตารางที่ 4.2, ภาพที่ 4.1)

ตารางที่ 4.2 จำนวนไอโซเลทของเชื้อราโรคไหม้ที่รวบรวมได้ในฤดูปลูกปี พ.ศ. 2561 – 2563

ภาค	จำนวนไอโซเลท			รวม
	ปี 2561	ปี 2562	ปี 2563	
เหนือ	1	6	17	24
กลาง	26	6	-	32
ตะวันตก	5	2	-	7
ตะวันออกเฉียงเหนือ	4	33	5	42
ใต้	5	-	-	5
รวม	41	47	22	110

เมื่อแบ่งเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่แยกได้จากหญ้าตามปีฤดูปลูก ในปี พ.ศ. 2561 สามารถแยกเชื้อได้ทั้งหมด 37 ไอโซเลท โดยแบ่งออกเป็นเขตภาคเหนือ สามารถแยกเชื้อได้ 1 ไอโซเลท จากจังหวัดลำปาง เขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดขอนแก่น และอุดรธานี แยกเชื้อได้ 3 และ 1 ไอโซเลท ตามลำดับ รวมแยกเชื้อจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้ 4 ไอโซเลท เขตภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดพิจิตร พิษณุโลก เพชรบูรณ์ อุทัยธานี สิงห์บุรี และลพบุรี แยกเชื้อได้ 3 4 5 7 5 และ 2 ไอโซเลท ตามลำดับ รวมแยกเชื้อจากภาคกลางได้ 26 ไอโซเลท เขตภาคใต้ ได้แก่ จังหวัดพัทลุง และนครศรีธรรมราช แยกเชื้อได้ 2 และ 3 ไอโซเลท ตามลำดับ รวมแยกเชื้อจากภาคใต้ได้ 5 ไอโซเลท และในเขตภาคตะวันตก ได้แก่ จังหวัดตาก และราชบุรี แยกเชื้อได้ 2 และ 3 ไอโซเลท ตามลำดับ รวมแยกได้ 5 ไอโซเลท (ตารางที่ 4.3)

ในฤดูปลูกปี พ.ศ. 2562 สามารถแยกเชื้อได้ทั้งหมด 47 ไอโซเลท โดยแบ่งออกเป็นเขตภาคเหนือ สามารถแยกเชื้อได้ 1 จังหวัด คือ จังหวัดพะเยา แยกเชื้อได้ 6 ไอโซเลท เขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดสุรินทร์ บุรีรัมย์ หนองบัวลำภู ชัยภูมิ ขอนแก่น อุดรธานี หนองคาย กาฬสินธุ์ มหาสารคาม สกลนคร แยกเชื้อได้ 2 4 2 3 5 2 6 4 4 และ 1 ไอโซเลทตามลำดับ รวมแยกเชื้อจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้ 33 ไอโซเลท เขตภาคกลาง ได้แก่ จังหวัดพิษณุโลก สุโขทัย และอุทัยธานี แยกเชื้อได้ 1 4 และ 1 ไอโซเลทตามลำดับ รวมแยกเชื้อจากภาคกลางได้ 6 ไอโซเลท และเขตภาคตะวันตก สามารถแยกเชื้อได้ 1 จังหวัด คือ จังหวัดตาก แยกเชื้อได้ 2 ไอโซเลท (ตารางที่ 4.4)

ในฤดูปลูกปี พ.ศ. 2563 สามารถแยกเชื้อได้ทั้งหมด 22 ไอโซเลท โดยแบ่งออกเป็นเขตภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดพะเยา เชียงใหม่ และแม่ฮ่องสอน แยกเชื้อได้ 4 3 และ 10 ไอโซเลทตามลำดับ รวมแยกเชื้อจากภาคเหนือได้ 17 ไอโซเลท เขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ จังหวัดหนองบัวลำภู อุดรธานี บึงกาฬ และหนองคาย แยกเชื้อได้ 1 1 2 และ 1 ไอโซเลทตามลำดับ รวมแยกเชื้อจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้ 5 ไอโซเลท (ตารางที่ 4.5)

ตารางที่ 4.3 ชื่อไอโซเลท สถานที่เก็บตัวอย่าง และพีชอาศัย ของเชื้อราโรคไหม้ที่รวบรวมได้ในฤดูปลูกปี พ.ศ. 2561

ไอโซเลทที่	จังหวัด	อำเภอ	ตำบล	พีชอาศัย	ชื่อไอโซเลท
1					KKN61101
2	ขอนแก่น	ชุมแพ	ไชยสอ	หญ้าชั้นอากาศ	KKN61102
3		เมือง	ในเมือง	หญ้าชั้นอากาศ	KKN61103
4	ลำปาง	เถิน	แม่ปะ	หญ้าชั้นอากาศ	LPG61102
5	ลพบุรี				LRI61103
6		ท่าม่วง	บางงา	หญ้าชั้นอากาศ	LRI61104
7					NST61101
8	นครศรีธรรมราช	เฉลิมพระเกียรติ	เชียงเขาม.9	หญ้าชั้นอากาศ	NST61102
9					NST61103
10					PCT61101
11	พิจิตร	ทับคล้อ	ท้ายทุ่ง	หญ้าชั้นอากาศ	PCT61102
12					PCT61104
13	พัทลุง				PL61121
14		ควนขนุน	พนางตุง ม.6	หญ้าชั้นอากาศ	PL61122
15	พิษณุโลก				PLK61107
16		บางระกำ	ชุมแสงสงคราม	หญ้าชั้นอากาศ	PLK61108
17		วังทอง	ชัยนาม	หญ้าชั้นอากาศ	PLK61109
18					PLK61110
19	เพชรบูรณ์				PNB61104
20		เขาค้อ	หนองแม่นา	หญ้าชั้นอากาศ	PNB61105
21		เมืองเพชรบูรณ์	ท่าพล	หญ้าชั้นอากาศ	PNB61106
22		เขาค้อ	หนองแม่นา	หญ้าชั้นอากาศ	PNB61107
23		เมืองเพชรบูรณ์	ท่าพล	หญ้าชั้นอากาศ	PNB61110
24					RBR61109
25	ราชบุรี	จอมบึง	รางบัว	หญ้าชั้นอากาศ	RBR61110
26					RBR61111
27	สิงห์บุรี	ท่าช้าง	โพประทับกษ	หญ้าชั้นอากาศ	SBR61101

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

ไอโซเลขที่	จังหวัด	อำเภอ	ตำบล	พืชอาศัย	ชื่อไอโซเลข
28					SBR61103
29	สิงห์บุรี	ท่าช้าง	โพประจักษ์	หญ้าชั้นอากาศ	SBR61104
30					SBR61105
31					SBR61106
32	ตาก	เมืองตาก	บ้านมะม่วง	หญ้าชั้นอากาศ	TAK61104
33					TAK61105
34	อุดรธานี	เมืองอุดร	บ้านขาว	หญ้าชั้นอากาศ	UDN61106
35					UTI61101
36				หญ้าไม่ทราบพันธุ์	UTI61102
37					UTI61103
38	อุทัยธานี	หนองขาหย่าง	หนองขาหย่าง		UTI61104
39				หญ้าไซ	UTI61105
40					UTI61106
41				หญ้าชั้นอากาศ	UTI61107

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ชื่อไอโซเลท สถานที่เก็บ และพืชอาศัย ของเชื้อราโรคไหม้ที่รวบรวมได้ในฤดูปลูกปี พ.ศ. 2562

ไอโซเลทที่	จังหวัด	อำเภอ	ตำบล	พืชอาศัย	ชื่อไอโซเลท
1	บุรีรัมย์	หนองกี่	ทุ่งกระเต็น	หญ้าชั้นอากาศ	BRM62101
2					BRM62104
3		นางรอง	เสเดา	หญ้าชั้นอากาศ	BRM62118
4					BRM62117
5	ชัยภูมิ	บ้านเขว้า	บ้านเขว้า	หญ้าชั้นอากาศ	CPM62101
6					CPM62102
7					CPM62103
8	ขอนแก่น	เมืองขอนแก่น	พระลับ	หญ้าชั้นอากาศ	KKN62007
9					KKN62008
10			ในเมือง	หญ้าชั้นอากาศ	KKN62012
11					KKN62013
12					KKN62016
13					KSN62001
14	กาฬสินธุ์	ฆ้องชัย	โคกสะอาด	หญ้าชั้นอากาศ	KSN62004
15					KSN62005
16					KSN62006
17	มหาสารคาม	เชียงยืน	โพนทอง	หญ้าชั้นอากาศ	MKM62001
18					MKM62002
19					MKM62003
20	หนองบัวลำภู	นากลาง	นากลาง	หญ้าชั้นอากาศ	MKM62007
21					NBP62002
22					NBP62003
23	หนองคาย	ท่าบ่อ	บ้านเตี๋ย	หญ้าชั้นอากาศ	NKI62003
24					NKI62004
25		เมืองหนองคาย	พระธาตุบังพวน	หญ้าชั้นอากาศ	NKI62005
26					NKI62007

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 (ต่อ)

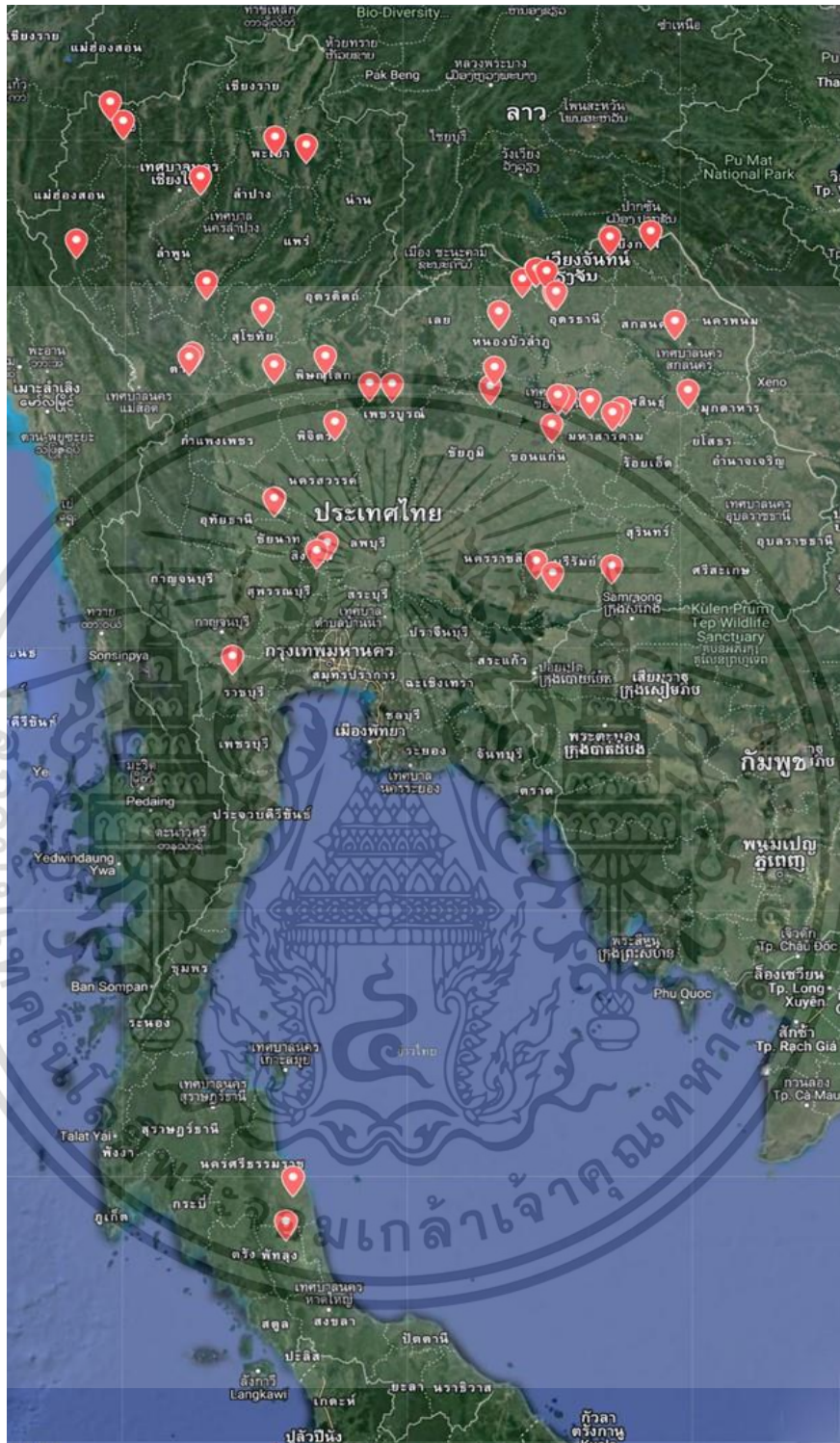
ไอโซเลขที่	จังหวัด	อำเภอ	ตำบล	พืชมงคล	ชื่อไอโซเลข
27	หนองคาย	เมืองหนองคาย	พระธาตุบังพวน	หญ้าชั้นอากาศ	NKI62008
28					NKI62009
29	พิษณุโลก	บางระกำ	ชุมแสงสงคราม	หญ้าชั้นอากาศ	PLK62001
30					PYO62001
31					PYO62004
32	พะเยา	ดอกคำใต้	ดอกคำใต้	หญ้าชั้นอากาศ	PYO62006
33					PYO62016
34		ปัง	ปัง	หญ้าชั้นอากาศ	PYO62019
35	พะเยา	ดอกคำใต้	ดอกคำใต้	หญ้าชั้นอากาศ	PYO62020
36	สกลนคร	เมืองสกลนคร	ขมิ้น	หญ้าชั้นอากาศ	SNK62003
37	สุรินทร์	ปราสาท	ปรีอ	หญ้าชั้นอากาศ	SRN62007
38					SRN62008
39					STI62004
40	สุโขทัย	สวรรคโลก	ป่ากุมเกาะ	หญ้าชั้นอากาศ	STI62008
41					STI62009
42					STI62010
43	ตาก	เมืองตาก	วังหิน	หญ้าชั้นอากาศ	TAK62001
44					TAK62002
45	อุดรธานี	เมืองอุดรธานี	บ้านขาว	หญ้าชั้นอากาศ	UDN62007
46					UDN62008
47	อุทัยธานี	หนองขาหย่าง	หนองขาหย่าง	หญ้าชั้นอากาศ	UTI62001

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ชื่อไอโซเลท สถานที่เก็บ และพืชอาศัย ของเชื้อราโรคไหม้ที่รวบรวมได้ในฤดูปลูกปี พ.ศ. 2563

ไอโซเลทที่	จังหวัด	อำเภอ	ตำบล	พืชอาศัย	ชื่อไอโซเลท
1	บึงกาฬ	ศรีวิไล	ชุมภูพร	หญ้าชั้นอากาศ	BKN63001
2		โซพิสัย	บัวตูม	หญ้าชั้นอากาศ	BKN63002
3					CMI63002
4	เชียงใหม่	สันกำแพง	ร้องวัวแดง	หญ้าชั้นอากาศ	CMI63003
5					CMI63004
6					MSN63001
7		ปาย	ทุ่งยาว	หญ้าไม่ทราบพันธุ์	MSN63002
8					MSN63003
9					MSN63004
10	แม่ฮ่องสอน				MSN63012
11					MSN63013
12		ปางมะผ้า	สบป่อง	หญ้าไม่ทราบพันธุ์	MSN63014
13					MSN63015
14					MSN63016
15		สบเมย	แม่คะตวน	หญ้าไม่ทราบพันธุ์	MSN63017
16	หนองบัวลำภู	นากลาง	นากลาง	หญ้าชั้นอากาศ	NBP63003
17	หนองคาย	ท่าบ่อ	บ้านเดื่อ	หญ้าชั้นอากาศ	NKI63001
18		ดอกคำใต้	ดอกคำใต้	หญ้าชั้นอากาศ	PYO63001
19					PYO63002
20	พะเยา	ปง	ปง	หญ้าชั้นอากาศ	PYO63004
21		ดอกคำใต้	ดอกคำใต้	หญ้าชั้นอากาศ	PYO63005
22	อุดรธานี	บ้านฝื่อ	บ้านฝื่อ	หญ้าชั้นอากาศ	UDN63003

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 แผนที่ระบุตำแหน่งของเชื้อราแต่ละไอโซเลท จุดสีส้ม คือ ตำแหน่งที่สำรวจและเก็บตัวอย่างเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่ระบาดในช่วงฤดูปลูกปี พ.ศ. 2561 – 2563
ดัดแปลงภาพจาก: www.google.com/maps

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลศึกษาพื้นฐานของเชื้อ *Pyricularia* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ RFA และลักษณะของโคนิเดีย

4.2.1 ลักษณะโคโลนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ RFA

จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานของเชื้อรา *Pyricularia* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ RFA จำนวน 110 ไอโซเลท พบว่าเมื่อเชื้อรามีอายุ 14 วัน เชื้อราจะมีลักษณะโคโลนีแตกต่างกัน โดยการศึกษาลักษณะสัณฐานบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA พบว่าลักษณะโคโลนีของเชื้อรามีขอบเรียบจนถึงขอบขรุขระ สีของโคโลนีจะมีตั้งแต่สีขาว สีเขียว จนถึงสีเทาดำ และเชื้อรามีการเจริญเติบโตของโคโลนีอยู่ระหว่าง 5.85 – 9 เซนติเมตร เมื่อนำค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางการเจริญเติบโตของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไปคำนวณค่าทางสถิติแล้วพบว่าเชื้อราไอโซเลท KSN62104 MSN63104 MSN63112 MSN63113 MSN63114 NBP63103 PLK61108 PNB61110 และ PYO62120 มีค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของโคโลนีมากที่สุด มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 9 เซนติเมตร และไอโซเลท KKN61102 มีค่าเฉลี่ยการเจริญเติบโตของโคโลนีน้อยที่สุด มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 5.85 เซนติเมตร

การศึกษาลักษณะสัณฐานเชื้อรา *Pyricularia* sp. จำนวน 110 ไอโซเลท บนอาหารเลี้ยงเชื้อ RFA พบว่าเชื้อราจะมีลักษณะการเจริญเติบโตและสีของโคโลนีที่แตกต่างกัน และสามารถจัดจำแนกได้ 16 กลุ่ม ได้แก่

กลุ่มที่ 1 โคโลนีด้านหน้ามีลักษณะการเจริญเป็นแบบวงแหวนฟู โคโลนีมีสีขาวอมเหลืองปนเทา ขอบเรียบ ด้านหลังมีสีขาวอมเหลืองปนดำ มีทั้งหมด 4 ไอโซเลท คือ PCT61102 NBP62103 PLK62101 และ STI62104

กลุ่มที่ 2 โคโลนีด้านหน้ามีลักษณะการเจริญเป็นแบบวงแหวน มีสีเทาเข้มปนดำ ตรงกลางมีสีขาว ขอบเรียบ ด้านหลังโคโลนีมีสีดำ มีทั้งหมด 24 ไอโซเลท คือ KSN62105 TAK62102 SKN62103 NKI62103 BRM62101 KSN62106 BRM62117 PYO62120 NKI62105 BRM62104 PYO62101 PYO62116 PYO62119 UTI62101 TAK62101 LRI61104 MSN63115 STI62108 UTI61101 UDN63103 RBR61109 UTI61103 NKI62108 และ LRI61103

กลุ่มที่ 3 โคโลนีด้านหน้ามีลักษณะการเจริญแบบวงแหวนฟู โคโลนีมีสีขาวปนเทา ขอบเรียบ ด้านหลังโคโลนีตรงกลางมีสีดำ ถัดออกมามีสีขาว มีทั้งหมด 4 ไอโซเลท คือ NBP62102 MSN63104 MSN63115 และ STI62108

กลุ่มที่ 4 โคโลนีด้านหน้ามีลักษณะการเจริญเป็นแบบวงกลม โคโลนีฟู โคโลนีมีสีขาวปนเทา ขอบเรียบ ด้านหลังโคโลนีตรงกลางมีสีดำ ถัดออกมาจะมีสีเหลืองและสีดำ บริเวณขอบรอบนอกของโคโลนีมีสีขาว มีทั้งหมด 19 ไอโซเลท คือ KKN61101 SBR61101 TAK61105 SBR61105 PCT61104 TAK61104

SBR61103 UDN62107 CPM62101 MKM62101 PYO63104 CMI63104 CMI63103 PYO63101
PYO63105 PYO63102 KSN62104 MKM62102 และ LPG61102

กลุ่มที่ 5 โคลนிட้านหน้ามีลักษณะฟู มีสีขาว ขอบโคลนมีสีขาวฟู ด้านหลังโคลนมีสีขาวปน
เหลืองอ่อน มีทั้งหมด 2 ไอโซเลท คือ PLK61107 และ PLK61108

กลุ่มที่ 6 โคลนிட้านหน้ามีลักษณะการเจริญเป็นแบบวงกลม โคลนมีสีขาว ถัดมาสีเทา ขอบ
เรียบ มีสีเขียวเข้ม ด้านหลังโคลนตรงกลางมีสีดำปนขาวและเหลืองอ่อน บริเวณขอบโคลนมีสีเขียวเข้ม
จนถึงสีดำ มีทั้งหมด 6 ไอโซเลท คือ NST61102 PCT61101 UDN62108 CMI63102 KKN61103 และ
SBR61104

กลุ่มที่ 7 โคลนிட้านหน้ามีลักษณะการเจริญเป็นแบบวงกลมเรียบติดไปกับผิวหน้าอาหาร โคลน
มีสีเทาเข้มและสีดำ ขอบเรียบ ด้านหลังโคลนมีสีดำ มีทั้งหมด 6 ไอโซเลท คือ KKN62112 NKI62109
BKN63102 NKI63101 NST61103 และ PNB61110

กลุ่มที่ 8 โคลนிட้านหน้ามีลักษณะการเจริญเป็นแบบวงแหวนมีสีเทา และมีเส้นใยสีขาวฟูตรง
กลาง ขอบเรียบ ด้านหลังโคลนตรงกลางมีสีขาว ถัดมาจะมีสีดำและบริเวณขอบโคลนจะมีสีขาว มีทั้งหมด
17 ไอโซเลท คือ KKN62113 NKI62104 PYO62104 STI62110 KKN62108 MKM62103 MKM62107
KKN62107 STI62109 UTI61107 PLG61121 PNB61104 KKN62116 UTI61102 PLG61122
BKN63101 และ PLK61110

กลุ่มที่ 9 โคลนிட้านหน้ามีลักษณะการเจริญเป็นแบบวงกลม โคลนมีสีเทาฟู ขอบเรียบมีสีขาว
ด้านหลังมีสีดำ บริเวณขอบมีสีขาว มีทั้งหมด 2 ไอโซเลท คือ MSN63112 และ MSN63113

กลุ่มที่ 10 โคลนிட้านหน้ามีลักษณะการเจริญแบบวงกลม โคลนมีสีดำเรียบไปกับผิวหน้าอาหาร
ด้านบนมีโคลนสีขาวอมเหลืองฟู ด้านหลังโคลนมีสีขาวปนดำ มีทั้งหมด 4 ไอโซเลท คือ NBP63103
MSN63114 MSN63102 และ MSN63103

กลุ่มที่ 11 โคลนிட้านหน้ามีลักษณะการเจริญเป็นแบบวงกลม โคลนมีสีขาวฟูอยู่ตรงกลาง ถัด
มาสีเทาเข้มและสีเทาอ่อน ขอบเรียบ ด้านหลังโคลนมีสีดำปนเหลือง มีทั้งหมด 5 ไอโซเลท คือ
KSN62101 SRN62108 NKI62107 BRM62118 และ PYO62106

กลุ่มที่ 12 โคลนிட้านหน้ามีลักษณะการเจริญเป็นแบบวงกลม โคลนมีสีขาวฟู ขอบเรียบ
ด้านหลังโคลนมีสีขาวอมเหลืองปนเขียว มีทั้งหมด 6 ไอโซเลท คือ CPM62102 CPM62103 PNB61105
SBR61106 PLK61109 และ KKN61102

กลุ่มที่ 13 โคลนிட้านหน้ามีลักษณะการเจริญเป็นแบบวงกลม โคลนมีสีเทาอ่อนฟู ขอบเรียบ
ด้านหลังโคลนมีสีดำ มีทั้งหมด 7 ไอโซเลท คือ RBR61111 PNB61107 PNB61106 UTI61104
RBR61110 MSN63117 และ PYO63104

กลุ่มที่ 14 โคลนிட้านหน้ามีลักษณะการเจริญเป็นแบบวงแหวน มีเส้นใยสีเทาฟูตรงกลาง ถัดมาจะมีสีเทาปนเขียว ขอบเรียบ ด้านหลังมีสีดำ มีทั้งหมด 3 ไอโซเลท คือ UTI61105 UTI61106 และ UDN61106

กลุ่มที่ 15 โคลนிட้านหน้ามีลักษณะการเจริญแบบวงกลม โคลนีสีเทาเข้มฟู ด้านหลังโคลนีสีดำ มีทั้งหมด 2 ไอโซเลท คือ MSN63101 และ MSN63116

และกลุ่มที่ 16 โคลนிட้านหน้ามีลักษณะการเจริญเป็นแบบวงกลม โคลนีสีเทาเข้มฟู มีสีขาว ด้านล่างมีสีเขียวเข้มปนเทา ด้านหลังโคลนีสีดำปนเหลืองตรงกลาง บริเวณขอบโคลนีสีขาว มีทั้งหมด 2 ไอโซเลท คือ NST61101 และ SRN62107 (ตารางที่ 4.6)

พบว่าเชื้อราที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางของโคลนอยู่ระหว่าง 5 – 9 เซนติเมตร เมื่อนำค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของโคลนบนอาหารเลี้ยงเชื้อ RFA ไปคำนวณค่าทางสถิติแล้วพบว่าเชื้อราไอโซเลท LRI61104 PCT61104 PNB61107 PNB61110 RBR61111 TAK61105 UDN61106 UTI61102 และ UTI61106 มีค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของโคลนมากที่สุด มีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 9 เซนติเมตร และไอโซเลท KKN61102 มีค่าเฉลี่ยน้อยที่สุด ที่ 5 เซนติเมตร

จากการทดลองพบว่าลักษณะโคลนของประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในหญ้า มีการเจริญแตกต่างกันทั้งบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ RFA แสดงให้เห็นว่าเชื้อราที่ทำการศึกษาค่อนข้างมีความหลากหลาย อย่างไรก็ตามข้อมูลดังกล่าวไม่สามารถนำมาวิเคราะห์เพื่อระบุสายพันธุ์ของเชื้อราได้ เนื่องจากในการศึกษาลักษณะสัณฐานบนอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นเพียงการศึกษาเบื้องต้นเท่านั้น และข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์ร่วมกับการศึกษาลักษณะทางชีวโมเลกุล เพื่อทำการระบุสายพันธุ์ของเชื้อราที่ถูกต้อง

ตารางที่ 4.6 การจัดกลุ่มไอโซเลทเชื้อรา *Pyricularia* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อ RFA อายุ 14 วัน และลักษณะโคลนของตัวแทนแต่ละกลุ่ม

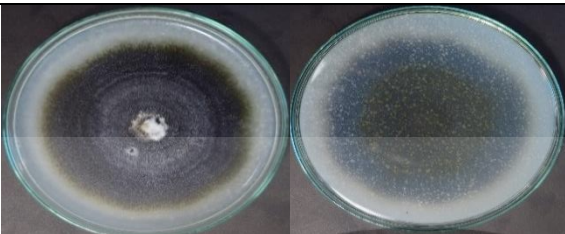
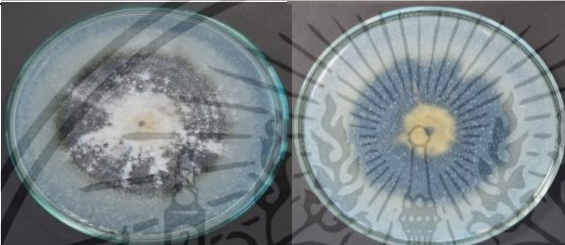


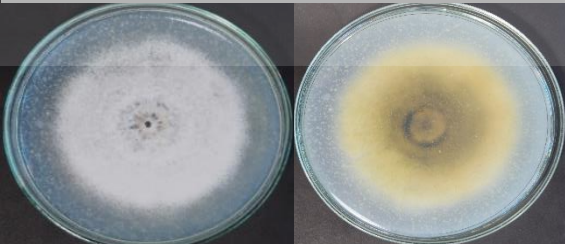
กลุ่มที่	รูปแสดงลักษณะโคลน	ลักษณะโคลน
1	 <p style="text-align: center;">PLK62101</p>	โคลนிட้านหน้ามีลักษณะการเจริญแบบวงแหวนฟู มีสีขาวอมเหลืองปนเทา ขอบเรียบ ด้านหลังมีสีขาวอมเหลืองปนดำ

ตารางที่ 4.6 (ต่อ)

กลุ่มที่	รูปแสดงลักษณะโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
2	 <p>TAK62101</p>	โคโลนีด้านหน้ามีลักษณะการเจริญแบบวงแหวน มีสีเทาเข้มปนดำ ตรงกลางมีสีขาว ขอบเรียบ ด้านหลังมีสีดำ
3	 <p>NBP62102</p>	โคโลนีด้านหน้ามีลักษณะการเจริญแบบวงแหวนฟู มีสีขาวปนเทา ขอบเรียบ ด้านหลังตรงกลางมีสีดำ ถัดออกมาจะมีสีขาว
4	 <p>KSN62104</p>	โคโลนีด้านหน้ามีลักษณะการเจริญแบบวงกลม โคโลนีฟู มีสีขาวปนเทา ขอบเรียบ ด้านหลังตรงกลางมีสีดำ ถัดออกมาจะมีสีเหลืองและสีดำ บริเวณขอบรอบนอกมีสีขาว
5	 <p>PLK61108</p>	โคโลนีด้านหน้ามีลักษณะฟู มีสีขาว ขอบโคโลนีมีสีขาวฟู ด้านหลังมีสีขาวปนเหลืองอ่อน
6	 <p>CMI63102</p>	โคโลนีด้านหน้ามีลักษณะการเจริญแบบวงกลม โคโลนีฟูมีสีขาว ถัดมาจะมีสีเทา ขอบเรียบ มีสีเขียวเข้ม ด้านหลังตรงกลางมีสีดำปนขาวและเหลืองอ่อน บริเวณขอบมีสีเขียวเข้มจนถึงสีดำ

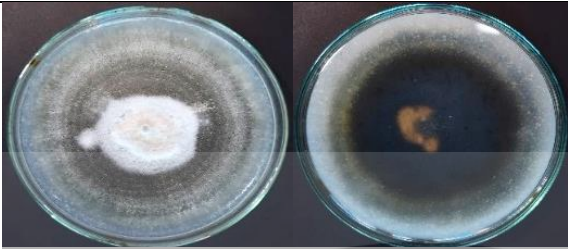


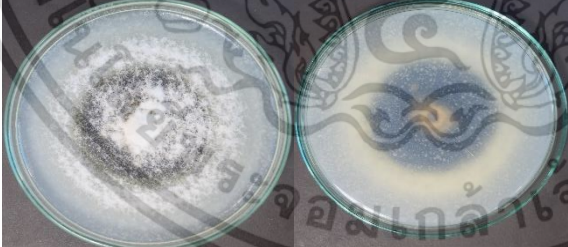
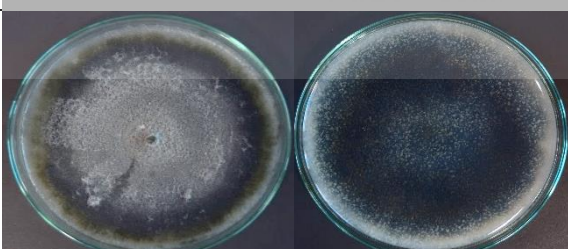
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 (ต่อ)

กลุ่มที่	รูปแสดงลักษณะโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
7	 KKN62112	โคโลนีด้านหน้ามีลักษณะการเจริญแบบวงกลมเรียบติดไปกับผิวหน้าอาหาร โคโลนีมีสีเทาเข้ม และสีดำ ขอบเรียบ ด้านหลังมีสีดำ
8	 KKN62113	โคโลนีด้านหน้ามีลักษณะการเจริญแบบวงแหวนสีเทา และมีเส้นใยสีขาวฟูตรงกลาง ขอบเรียบ ด้านหลังตรงกลางมีสีขาว ถัดมาจะมีสีดำ และบริเวณขอบโคโลนีจะมีสีขาว
9	 MSN63113	โคโลนีด้านหน้ามีลักษณะการเจริญแบบวงกลม โคโลนีมีสีเทาฟู ขอบเรียบมีสีขาว ด้านหลังมีสีดำ บริเวณขอบมีสีขาว
10	 MSN63114	โคโลนีด้านหน้ามีลักษณะการเจริญแบบวงกลม โคโลนีมีสีดำเรียบไปกับผิวหน้าอาหาร โคโลนีสีขาวอมเหลืองฟู ด้านหลังโคโลนีมีสีขาวปนดำ
11	 CPM62103	โคโลนีด้านหน้ามีลักษณะการเจริญแบบวงกลม โคโลนีมีสีขาวฟูอยู่ตรงกลาง ถัดมามีสีเทาเข้ม และสีเทาอ่อน ขอบเรียบ ด้านหลังมีสีดำปนเหลือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 (ต่อ)

กลุ่มที่	รูปแสดงลักษณะโคโลนี	ลักษณะโคโลนี
12	 <p>PYO62120</p>	โคโลนีด้านหน้ามีลักษณะการเจริญแบบวงกลม โคโลนีมีสีขาวฟู ขอบเรียบ ด้านหลังมีสีขาวอมเหลือง ปนเขียว
13	 <p>PNB61107</p>	โคโลนีด้านหน้ามีลักษณะการเจริญแบบวงกลม โคโลนีมีสีเทาอ่อนฟู ขอบเรียบ ด้านหลังมีสีดำ
14	 <p>UTI61106</p>	โคโลนีด้านหน้ามีลักษณะการเจริญแบบวงแหวน มีเส้นใยสีเทาฟูตรงกลาง ถัดมาจะมีสีเทาปนเขียว ขอบเรียบ ด้านหลังมีสีดำ
15	 <p>SRN62107</p>	โคโลนีด้านหน้ามีลักษณะการเจริญแบบวงกลม โคโลนีมีสีเทาเข้มฟู ด้านหลังมีสีดำ
16	 <p>MSN63102</p>	โคโลนีด้านหน้ามีลักษณะการเจริญแบบวงกลม โคโลนีมีขุยมีสีขาวปกคลุม มีสีเขียวเข้มปนเทา ด้านหลังมีสีดำปนเหลืองตรงกลาง บริเวณขอบมีสีขาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 ลักษณะสัณฐานของโคนิเดีย

โคนิเดียของประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่แยกได้หญาที่พบมีรูปร่างแตกต่างกัน โดยโคนิเดียมีลักษณะฐานโค้งมน ปลายแคบ ลักษณะฐานโค้งมนปลายคอดและงุ้มเข้า ลักษณะโค้งคล้ายครีวของค์ และลักษณะคล้ายลูกแพร์เป็นต้น (ภาพที่ 4.2) โคนิเดียมีความยาวเฉลี่ยอยู่ระหว่าง $19.70 \pm 0.45 - 32.91 \pm 1.14$ ไมโครเมตร และมีความกว้างเฉลี่ยอยู่ระหว่าง $5.99 \pm 0.30 - 10.17 \pm 0.14$ ไมโครเมตร โคนิเดียที่มีความกว้างเฉลี่ยน้อยที่สุด คือ ไอโซเลท ST162110 มีความกว้าง 5.99 ± 0.30 ไมโครเมตร ไอโซเลทที่มีความกว้างเฉลี่ยของโคนิเดียมากที่สุดคือ ไอโซเลท CMI63104 มีความกว้าง 10.17 ± 0.14 ไมโครเมตร (ตารางที่ 4.7) ไอโซเลทที่มีความยาวเฉลี่ยของโคนิเดียมากที่สุดคือ ไอโซเลท PNB61107 มีความยาว 32.91 ± 1.14 ไมโครเมตร และไอโซเลทที่มีความยาวเฉลี่ยของโคนิเดียน้อยที่สุดคือ ไอโซเลท RBR61109 มีความยาว 19.70 ± 0.45 ไมโครเมตร (ตารางที่ 4.8) จากการวิเคราะห์ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โคนิเดียมีค่าเฉลี่ยความยาวและความกว้างที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Duncan's New Multiple Range Test (DMRT), $p < 0.05$)

การเปรียบเทียบขนาดของโคนิเดียโดยแบ่งตามพืชอาศัยที่แยกตัวอย่างได้จากหญ้า 3 ชนิด ได้แก่ หญ้าชันอากาศ หญ้าไซ และหญ้าไม่ทราบพันธุ์ โคนิเดียของเชื้อราจำนวน 95 ไอโซเลท ที่แยกได้จากหญ้าชันอากาศมีความยาวเฉลี่ยอยู่ระหว่าง $19.70 \pm 0.45 - 32.91 \pm 1.14$ ไมโครเมตร และมีความกว้างเฉลี่ยอยู่ระหว่าง $5.99 \pm 0.30 - 10.17 \pm 0.14$ ไมโครเมตร เชื้อราจำนวน 3 ไอโซเลท ที่แยกได้จากหญ้าไซมีความยาวเฉลี่ยอยู่ระหว่าง $23.13 \pm 0.52 - 24.62 \pm 0.87$ ไมโครเมตร และมีความกว้างเฉลี่ยอยู่ระหว่าง $7.14 \pm 0.22 - 8.29 \pm 0.22$ ไมโครเมตร และเชื้อราที่แยกได้จากหญ้าที่ไม่ทราบพันธุ์จำนวน 12 ไอโซเลท มีความยาวเฉลี่ยอยู่ระหว่าง $20.15 \pm 0.64 - 28.77 \pm 0.69$ ไมโครเมตร และมีความกว้างเฉลี่ยอยู่ระหว่าง $7.07 \pm 0.17 - 9.04 \pm 0.18$ ไมโครเมตร จากผลการทดลองพบว่าค่าเฉลี่ยความยาวและความกว้างของโคนิเดียมีความใกล้เคียงกัน พบว่าโคนิเดียของเชื้อราที่แยกได้จากหญ้าชันอากาศมีความยาวและความกว้างมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับโคนิเดียของเชื้อราที่แยกได้จากหญ้าไซ และหญ้าไม่ทราบพันธุ์

จากผลการวิเคราะห์ขนาดของโคนิเดียพบว่าขนาดโคนิเดียของเชื้อราที่แยกได้จากหญ้าชันอากาศมีความยาวและความกว้างมากที่สุด มีขนาดใกล้เคียงกับ Qi *et al.* (2019) ที่รายงานว่าเชื้อราสาเหตุโรคไหม้มีการสร้างโคนิเดียขนาดตั้งแต่ $22.07 \pm 1.79 - 29.06 \pm 1.20 \times 8.49 \pm 0.31 - 9.30 \pm 0.39$ ไมโครเมตร และ Ou (1973) รายงานว่าโคนิเดียของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้มีลักษณะรูปร่างไม่แน่นอน อาจเป็น pyriform หรือ obclavate ปลายของโคนิเดียมีลักษณะปลายแคบ และแหลม บางครั้งผนังกันระหว่างเซลล์โค้งเว้าเล็กน้อย โคนิเดียมีลักษณะใสไม่มีสี อย่างไรก็ตามการศึกษาลักษณะสัณฐานยังไม่

สามารถจัดจำแนกหรือระบุชนิดของประชากรเชื้อราสาเหตุโรคใหม่ได้ จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาปฏิกิริยาการก่อโรคนบนพืชอาศัยร่วมกับการศึกษาทางชีวโมเลกุล เพื่อระบุชนิดที่ถูกต้องของเชื้อรา



ภาพที่ 4.2 ตัวอย่างรูปร่างโคนินเดียที่แตกต่างกันของเชื้อราสาเหตุโรคใหม่ที่พบในหญ้า ก) โคนินเดียมีฐานโค้งมนปลายแคบ ข) โคนินเดียมีฐานโค้งมนปลายคอดและงุ้มเข้า ค) โคนินเดียมีฐานโค้งมนปลายทู่ ง) โคนินเดียมีฐานโค้งมนปลายป้าน จ) โคนินเดียมีลักษณะโค้งคล้ายครีวของค้ ฉ) โคนินเดียมีรูปร่างยาวเรียวยปลายแคบ ช) โคนินเดียมีรูปร่างคล้ายลูกแพร์ปลายแหลม ฉ) โคนินเดียมีรูปร่างยาว ฐานโค้งมนปลายทู่ ญ) โคนินเดียมีรูปร่างคล้ายลูกแพร์ ส่วนบนมีความกว้าง ปลายแหลม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ผลวิเคราะห์ทางสถิติความกว้างของโคนินเดีย

ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	ความกว้างเฉลี่ยของโคนินเดีย (ไมโครเมตร) ¹	ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	ความกว้างเฉลี่ยของโคนินเดีย (ไมโครเมตร)
1	CMI63104	10.17 ± 0.14 ^{A₂}	37	PYO62106	8.27 ± 0.19 ^{L-Z(a)}
2	UDN63103	10.11 ± 0.23 ^{AB}	38	MSN63117	8.23 ± 0.17 ^{M-Z(a)b}
3	BRM62118	9.86 ± 0.22 ^{ABC}	39	KSN62104	8.22 ± 0.21 ^{M-Z(ab)}
4	NKI62108	9.56 ± 0.24 ^{BCD}	40	LPG61102	8.19 ± 0.29 ^{N-Z(ab)}
5	LRI61104	9.50 ± 0.30 ^{CDE}	41	NKI62104	8.16 ± 0.17 ^{O-Z(abc)}
6	BKN63101	9.28 ± 0.40 ^{C-F}	42	RBR61110	8.16 ± 0.21 ^{O-Z(abc)}
7	KSN62101	9.23 ± 0.25 ^{D-G}	43	KKN61102	8.15 ± 0.30 ^{O-Z(a-d)}
8	PYO63101	9.22 ± 0.21 ^{D-H}	44	SRN62107	8.13 ± 0.23 ^{O-Z(a-e)}
9	PYO63104	9.18 ± 0.19 ^{D-I}	45	CPM62102	8.10 ± 0.21 ^{O-Z(a-f)}
10	BKN63102	9.16 ± 0.19 ^{D-I}	46	PNB61105	8.08 ± 0.20 ^{P-Z(a-g)}
11	UTI61101	9.04 ± 0.18 ^{D-J}	47	NKI62109	8.05 ± 0.16 ^{P-Z(a-h)}
12	PYO62101	8.94 ± 0.25 ^{E-K}	48	SBR61101	8.04 ± 0.18 ^{P-Z(a-i)}
13	NBP62103	8.93 ± 0.25 ^{E-K}	49	MSN63102	8.02 ± 0.20 ^{O-Z(a-i)}
14	LRI61103	8.88 ± 0.17 ^{F-L}	50	MSN63116	8.02 ± 0.20 ^{R-Z(a-i)}
15	PLK61108	8.80 ± 0.21 ^{F-M}	51	SNK62103	8.00 ± 0.26 ^{R-Z(a-i)}
16	PLK62101	8.77 ± 0.18 ^{F-N}	52	TAK61105	8.00 ± 0.25 ^{R-Z(a-i)}
17	PYO63102	8.70 ± 0.20 ^{F-O}	53	UDN62107	7.99 ± 0.13 ^{R-Z(a-i)}
18	BRM62117	8.70 ± 0.18 ^{F-O}	54	NKI63101	7.98 ± 0.21 ^{S-Z(a-j)}
19	STI62104	8.69 ± 0.22 ^{F-O}	55	PNB61110	7.98 ± 0.31 ^{S-Z(a-j)}
20	KSN62106	8.63 ± 0.21 ^{G-P}	56	MSN63101	7.95 ± 0.22 ^{T-Z(a-k)}
21	PL61122	8.62 ± 0.30 ^{H-Q}	57	UTI62101	7.94 ± 0.30 ^{T-Z(a-k)}
22	NST61101	8.59 ± 0.30 ^{I-R}	58	UTI61103	7.94 ± 0.22 ^{T-Z(a-k)}
23	NST61102	8.58 ± 0.21 ^{I-S}	59	PLK61110	7.90 ± 0.16 ^{U-Z(a-l)}
24	UTI61107	8.54 ± 0.33 ^{J-T}	60	MSN63113	7.89 ± 0.15 ^{U-Z(a-l)}
25	PYO62104	8.51 ± 0.32 ^{J-T}	61	PLK61109	7.88 ± 0.28 ^{V-Z(a-l)}
26	PL61121	8.50 ± 0.22 ^{J-U}	62	UDN61106	7.87 ± 0.24 ^{W-Z(a-m)}
27	SRN62108	8.49 ± 0.29 ^{J-U}	63	NKI62105	7.87 ± 0.14 ^{W-Z(a-m)}
28	TAK62102	8.48 ± 0.20 ^{J-V}	64	UTI61102	7.85 ± 0.33 ^{W-Z(a-m)}
29	KKN61101	8.48 ± 0.12 ^{J-V}	65	CMI63103	7.84 ± 0.21 ^{XYZ(a-m)}
30	CMI63102	8.45 ± 0.17 ^{J-W}	66	SBR61105	7.81 ± 0.18 ^{YZ(a-n)}
31	PLK61107	8.42 ± 0.13 ^{K-X}	67	STI62108	7.79 ± 0.13 ^{YZ(a-n)}
32	NST61103	8.39 ± 0.21 ^{K-Y}	68	SBR61103	7.79 ± 0.23 ^{YZ(a-o)}
33	KKN62116	8.38 ± 0.24 ^{K-Y}	69	KKN62113	7.77 ± 0.26 ^{Z(a-o)}
34	PNB61107	8.38 ± 0.23 ^{K-Y}	70	RBR61111	7.77 ± 0.21 ^{Z(a-o)}
35	TAK62101	8.31 ± 0.28 ^{L-Z}	71	PYO62119	7.77 ± 0.24 ^{Z(a-o)}
36	UTI61104	8.29 ± 0.22 ^{L-Z(a)}	72	PCT61102	7.76 ± 0.15 ^{Z(a-o)}

¹ ค่าเฉลี่ยคำนวณจาก 100 โคนินเดีย

² ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (DMRT, p<0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 (ต่อ)

ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	ความกว้างเฉลี่ยของโคนิดีย (ไมโครเมตร) ¹	ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	ความกว้างเฉลี่ยของโคนิดีย (ไมโครเมตร)
73	CPM62103	7.76 ± 0.19 ^{Z(a-c)2}	92	CPM62101	7.44 ± 0.15 ^{l-t}
74	KKN62108	7.71 ± 0.20 ^{Z(a-p)}	93	MSN63104	7.38 ± 0.12 ^{l-t}
75	NKI62107	7.69 ± 0.14 ^{a-q}	94	PCT61104	7.36 ± 0.23 ^{k-t}
76	SBR61104	7.69 ± 0.18 ^{a-q}	95	KSN62105	7.31 ± 0.32 ^{l-t}
77	NBP63103	7.67 ± 0.24 ^{b-r}	96	PNB61104	7.30 ± 0.15 ^{l-t}
78	UDN62108	7.63 ± 0.21 ^{b-r}	97	RBR61109	7.27 ± 0.17 ^{m-t}
79	PYO62120	7.63 ± 0.19 ^{b-r}	98	MSN63112	7.27 ± 0.16 ^{m-t}
80	STI62109	7.62 ± 0.25 ^{b-r}	99	PCT61101	7.23 ± 0.21 ^{n-t}
81	MKM62103	7.58 ± 0.17 ^{c-s}	100	NKI62103	7.21 ± 0.13 ^{n-t}
82	BRM62101	7.56 ± 0.28 ^{c-s}	101	MSN63115	7.21 ± 0.16 ^{n-t}
83	MKM62102	7.55 ± 0.14 ^{d-s}	102	KKN62107	7.19 ± 0.20 ^{o-t}
84	NBP62102	7.53 ± 0.16 ^{e-s}	103	UTI61105	7.15 ± 0.22 ^{p-t}
85	PYO62116	7.52 ± 0.18 ^{e-s}	104	SBR61106	7.11 ± 0.19 ^{p-t}
86	TAK61104	7.52 ± 0.17 ^{e-s}	105	BRM62104	7.10 ± 0.13 ^{q-t}
87	KKN61103	7.51 ± 0.19 ^{f-s}	106	MSN63114	7.07 ± 0.17 st
88	MSN63103	7.51 ± 0.23 ^{f-s}	107	MKM62101	7.00 ± 0.25 ^{stu}
89	UTI61106	7.50 ± 0.25 ^{f-s}	108	KKN62112	6.87 ± 0.18 ^{tu}
90	MKM62107	7.48 ± 0.16 ^{g-t}	109	PNB61106	6.43 ± 0.14 ^{uv}
91	PYO63105	7.46 ± 0.17 ^{h-t}	110	STI62110	5.99 ± 0.30 ^v

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ผลวิเคราะห์ทางสถิติความยาวของโคนินเดีย

ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	ความยาวเฉลี่ยของโคนินเดีย (ไมโครเมตร) ¹	ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	ความยาวเฉลี่ยของโคนินเดีย (ไมโครเมตร)
1	PNB61107	32.91 ± 1.14 ^{A2}	36	STI62109	26.23 ± 0.44 ^{L-W}
2	SNK62003	32.02 ± 0.84 ^{AB}	37	PYO63104	26.11 ± 0.42 ^{L-X}
3	TAK61105	31.43 ± 1.29 ^{ABC}	38	UTI61107	26.06 ± 1.26 ^{M-Y}
4	KKN61101	31.43 ± 0.96 ^{ABC}	39	BRM62101	25.92 ± 0.77 ^{N-Z}
5	CMI63104	31.22 ± 0.64 ^{ABC}	40	PYO63101	25.89 ± 0.45 ^{N-Z}
6	NST61102	30.58 ± 0.81 ^{BCD}	41	NKI62109	25.86 ± 0.79 ^{N-Z}
7	SRN62107	30.23 ± 0.84 ^{B-E}	42	PL61122	25.82 ± 0.67 ^{O-Z}
8	NST61101	30.20 ± 0.70 ^{B-E}	43	KKN62108	25.79 ± 0.86 ^{O-Z}
9	SBR61101	30.15 ± 1.01 ^{B-F}	44	PYO63102	25.74 ± 0.46 ^{O-Z(a)}
10	LPG61102	30.11 ± 0.58 ^{B-F}	45	UTI61101	25.63 ± 0.76 ^{P-Z(ab)}
11	UDN62108	30.11 ± 0.52 ^{B-F}	46	TAK62101	25.62 ± 0.88 ^{P-Z(ab)}
12	NST61103	29.92 ± 0.85 ^{C-G}	47	PYO62116	25.49 ± 0.87 ^{P-Z(abc)}
13	SBR61104	29.82 ± 0.72 ^{C-H}	48	CMI63102	25.44 ± 0.86 ^{P-Z(abc)}
14	KSN62101	29.35 ± 0.75 ^{C-I}	49	PLK61107	25.43 ± 0.61 ^{P-Z(abc)}
15	MSN63117	28.77 ± 0.69 ^{D-J}	50	PL61121	25.39 ± 0.82 ^{P-Z(a-d)}
16	BKN63101	28.39 ± 1.01 ^{E-K}	51	RBR61110	25.39 ± 0.81 ^{P-Z(a-d)}
17	CPM62102	28.17 ± 0.87 ^{E-L}	52	STI62110	25.30 ± 0.72 ^{Q-Z(a-e)}
18	SBR61106	28.10 ± 1.14 ^{F-M}	53	PLK61108	25.16 ± 0.65 ^{Q-Z(a-f)}
19	LRI61104	27.93 ± 1.23 ^{G-N}	54	PCT61102	25.15 ± 0.83 ^{Q-Z(a-f)}
20	CPM62103	27.80 ± 0.62 ^{H-O}	55	PYO63105	24.93 ± 0.73 ^{R-Z(a-g)}
21	KKN61102	27.79 ± 1.09 ^{H-O}	56	MKM62102	24.87 ± 0.53 ^{S-Z(a-h)}
22	LRI61103	27.78 ± 0.63 ^{H-O}	57	BRM62118	24.76 ± 0.78 ^{S-Z(a-i)}
23	KSN62105	27.47 ± 0.80 ^{I-P}	58	PNB61110	24.73 ± 0.94 ^{S-Z(a-i)}
24	MKM62101	27.46 ± 0.94 ^{I-P}	59	UTI61104	24.62 ± 0.87 ^{T-Z(a-i)}
25	MKM62103	27.21 ± 0.42 ^{J-Q2}	60	NKI62108	24.58 ± 0.55 ^{T-Z(a-i)}
26	BKN63102	27.17 ± 0.62 ^{J-Q}	61	PYO62119	24.51 ± 0.76 ^{TUWXYZ(a-i)}
27	BRM62104	27.12 ± 0.91 ^{J-Q}	62	NKI62105	24.38 ± 0.92 ^{UWXYZ(a-i)}
28	MSN63113	27.05 ± 0.80 ^{J-Q}	63	KSN62106	24.38 ± 0.65 ^{UWXYZ(a-i)}
29	SBR61103	26.97 ± 0.93 ^{J-R}	64	UDN61106	24.32 ± 0.68 ^{UWXYZ(a-i)}
30	STI62108	26.73 ± 1.02 ^{J-S}	65	SRN62108	24.30 ± 0.76 ^{UWXYZ(a-i)}
31	TAK61104	26.72 ± 1.04 ^{J-S}	66	PYO62104	24.29 ± 0.49 ^{UWXYZ(a-i)}
32	UDN63103	26.56 ± 0.63 ^{K-T}	67	MSN63112	24.27 ± 0.62 ^{UWXYZ(a-i)}
33	NBP62103	26.50 ± 0.63 ^{K-T}	68	BRM62117	24.16 ± 0.68 ^{WXYZ(a-k)}
34	CMI63103	26.31 ± 0.55 ^{K-U}	69	NKI62103	24.15 ± 0.50 ^{WXYZ(a-k)}
35	PYO62106	26.25 ± 0.87 ^{L-V}	70	NKI63101	24.14 ± 0.59 ^{XYZ(a-k)}

¹ ค่าเฉลี่ยคำนวณจาก 100 โคนินเดีย

² ข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± S.E. ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (DMRT, p<0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 (ต่อ)

ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	ความยาวเฉลี่ยของโคนิตี (ไมโครเมตร) ^a	ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	ความยาวเฉลี่ยของโคนิตี (ไมโครเมตร)
71	KKN62116	24.14 ± 0.74 ^{XYZ(a-k)}	91	UTI62101	23.12 ± 0.68 ^{f-o}
72	KKN62112	24.12 ± 0.70 ^{XYZ(a-k)}	92	PLK61109	23.105 ± 0.64 ^{f-o}
73	TAK62102	24.09 ± 0.72 ^{XYZ(a-k)}	93	KKN62113	23.08 ± 0.69 ^{f-o}
74	PNB61105	24.07 ± 0.70 ^{XYZ(a-k)}	94	UTI61102	23.03 ± 0.91 ^{g-p}
75	PLK62101	24.05 ± 0.40 ^{XYZ(a-u)}	95	MSN63116	22.83 ± 0.63 ^{h-q}
76	SBR61105	24.04 ± 0.85 ^{XYZ(a-u)}	96	NKI62114	22.83 ± 0.68 ^{h-q}
77	PYO62120	24.00 ± 0.54 ^{YZ(a-l)}	97	MSN63101	22.83 ± 0.79 ^{h-q}
78	KKN61103	23.966 ± 0.80 ^{YZ(a-l)}	98	MSN63104	22.79 ± 0.70 ^{h-q}
79	STI62104	23.95 ± 0.68 ^{Z(a-l)}	99	KKN62107	22.69 ± 0.65 ^{i-q}
80	NBP63103	23.94 ± 1.02 ^{Z(a-l)}	100	MKM62107	22.31 ± 0.35 ^{j-r}
81	NKI62107	23.87 ± 0.82 ^{Z(a-m)}	101	NBP62102	22.08 ± 0.69 ^{k-r}
82	MSN63102	23.86 ± 0.73 ^{Z(a-m)}	102	PLK61110	21.98 ± 0.58 ^{l-r}
83	PNB61104	23.68 ± 0.60 ^{a-n}	103	RBR61111	21.78 ± 0.78 ^{m-s}
84	PCT61104	23.63 ± 0.68 ^{b-n}	104	PNB61106	21.75 ± 0.92 ^{n-s}
85	PYO62101	23.55 ± 0.57 ^{b-n}	105	CPM62101	21.29 ± 0.74 ^{o-s}
86	MSN63103	23.52 ± 0.55 ^{c-n}	106	UDN62107	20.95 ± 0.52 ^{p-s}
87	UTI61103	23.41 ± 0.52 ^{c-n}	107	MSN63115	20.84 ± 0.62 ^{q-s}
88	UTI61106	23.33 ± 0.66 ^{d-o}	108	MSN63114	20.50 ± 0.65 ^{t-s}
89	KSN62104	23.24 ± 0.66 ^{e-o}	109	PCT61101	19.85 ± 0.50 ^s
90	UTI61105	23.13 ± 0.52 ^{f-o}	110	RBR61109	19.70 ± 0.45 ^s

4.3 ผลการตรวจสอบรูปแบบเพศ (mating type) ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้

ตรวจสอบรูปแบบเพศของประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ทั้งหมด 110 ไอโซเลท ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ *Mat* gene ที่จำเพาะเจาะจงต่อคุณสมบัติทางเพศของเชื้อรา *Pyricularia* sp. คือ Mat1-1 และ Mat1-2 เปรียบเทียบกับเชื้อทดสอบมาตรฐาน 70-15 และ GUY11 สำหรับแบบของเพศ Mat1-1 และ Mat1-2 ตามลำดับ จากผลตรวจสอบเชื้อราจำนวน 110 ไอโซเลท พบว่ามีเชื้อราจำนวน 18 ไอโซเลท ได้แก่ PCT61101 PCT61102 PNB61104 RBR61109 RBR61110 STI62104 STI62108 PLK62101 NBP62102 NBP62103 UDN62107 UDN62108 MSN63101 MSN63102 MSN63103 MSN63104 MSN63114 และ MSN63115 คิดเป็นร้อยละ 16.37 เปอร์เซ็นต์ ที่ปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาด 809 คู่เบส แสดงถึงรูปแบบเพศที่เหมือนเชื้อราสายพันธุ์ 70-15 (Mat1-1) และจำนวน 92 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 83.63 เปอร์เซ็นต์ ที่ปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาด 940 คู่เบส แสดงถึงรูปแบบเพศที่เหมือนเชื้อรา

สายพันธุ์ Guy11 (Mat1-2) (ภาพที่ 4.3) โดยประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้หญ้าที่เก็บรวบรวมในฤดูปลูก ปี พ.ศ. 2561 – 2562 จากจังหวัดพิจิตร เพชรบูรณ์ ราชบุรี สุโขทัย พิษณุโลก หนองบัวลำภู และอุดรธานี เชื้อราที่มีรูปแบบเพศทั้งสองแบบ ส่วนในฤดูปลูกปี พ.ศ. 2563 มีเพียงประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้หญ้าที่ เก็บรวบรวมในจังหวัดแม่ฮ่องสอนเท่านั้นที่มีรูปแบบเพศทั้งสองแบบ

จากผลการตรวจสอบรูปแบบเพศของประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้หญ้าพบเชื้อรา 18 ไอโซเลท มี รูปแบบเพศแบบ Mat1-1 และเชื้อรา 92 ไอโซเลท มีรูปแบบเพศแบบ Mat1-2 โดยเชื้อรา 18 ไอโซเลท เป็นเชื้อราที่สามารถแยกเชื้อได้จากพื้นที่ที่มีการแพร่ระบาดของโรคไหม้จากพื้นที่ปลูกข้าวในภาคกลาง ภาคตะวันตก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ โดยเชื้อราไอโซเลท PCT61101 PCT61102 RBR61109 RBR61110 STI62104 STI62108 PLK62101 NBP62102 NBP62103 UDN62107 และ UDN62108 แยกเชื้อได้จากตัวอย่างใบหญ้าชั้นอากาศที่เจริญเติบโตอยู่บริเวณโดยรอบแปลงปลูกข้าวของ เกษตรกร และแปลงทดสอบของศูนย์วิจัยข้าว ในพื้นที่จังหวัดพิจิตร ราชบุรี สุโขทัย พิษณุโลก หนองบัวลำภู และอุดรธานี ไอโซเลท MSN63101 MSN63102 MSN63103 MSN63104 MSN63114 และ MSN63115 แยกเชื้อได้จากตัวอย่างใบหญ้าไม่ทราบพันธุ์ จากจังหวัดแม่ฮ่องสอน ในพื้นที่อำเภอปาย และปางมะผ้า จากการพบประชากรเชื้อราที่มีรูปแบบเพศแบบ Mat1-1 จำนวน 18 ไอโซเลท จะเป็น ประโยชน์ต่อการศึกษาที่จำเป็นต้องใช้เชื้อราที่มีรูปแบบเพศแบบ Mat1-1 ที่แยกได้จากหญ้า เช่น การศึกษาการผสมพันธุ์ของเชื้อราที่มีรูปแบบเพศที่แตกต่างกันในเชื้อราที่แยกได้จากข้าวและหญ้า เพื่อ ศึกษาการสร้างประชากรลูกผสมของเชื้อราหรือศึกษาการกลายพันธุ์ของสายพันธุ์ของเชื้อรา

เชื้อราไอโซเลท PNB61104 เป็นเชื้อราที่แยกได้จากตัวอย่างใบหญ้าที่เจริญอยู่บริเวณพื้นที่แปลง ทดสอบข้าวของศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก ตำบลหนองแม่นา อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ และไอโซเลท MSN63101 MSN63102 MSN63103 MSN63104 MSN63114 และ MSN63115 เป็นเชื้อราที่แยกได้ จากตัวอย่างใบหญ้าที่เจริญอยู่บริเวณพื้นที่แปลงปลูกข้าวของเกษตรกร ตำบลทุ่งยาว อำเภอปาย และ ตำบลสบป่อง อำเภอปางมะผ้า จังหวัดแม่ฮ่องสอน ซึ่งในพื้นที่ดังกล่าวมีรายงานการพบประชากรเชื้อรา สาเหตุโรคไหม้ข้าวที่มีรูปแบบเพศแบบ Mat1-2 (Tansian and Parinthawong, 2018) ซึ่งอาจทำให้เกิด การขยายพันธุ์ของเชื้อราจากข้าวและหญ้าแบบอาศัยเพศในพื้นที่ดังกล่าว เนื่องจากทั้งสองพื้นที่มีเชื้อราที่มี รูปแบบเพศที่แตกต่างกัน และมีสภาพแวดล้อมที่เอื้อต่อการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ Kato *et al.* (1976) ได้ทำการผสมพันธุ์ระหว่างเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในข้าวและหญ้าในประเทศญี่ปุ่น พบว่าเชื้อราทั้งสองชนิด สามารถสร้างประชากรลูกผสมที่สามารถเข้าทำลายข้าวและหญ้าได้ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 Mekwatanakarn *et al.* (1999) รายงานว่าประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในประเทศไทย เป็นสายพันธุ์ female-fertile และ hermaphroditic ที่สามารถสร้าง perithecia ทั้งในเชื้อราที่มีรูปแบบเพศแบบ Mat1-1 และ Mat1-2 อย่างไรก็ตามประชากรเชื้อราที่พบในประเทศไทยส่วนใหญ่มีสถานะเป็นหมัน

(female-sterile) คือไม่สามารถสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศได้ และ Leung and Williams (1985) รายงานว่าเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่แยกได้จากหญ้าตีนกา ข้าวฟ่างสามง่าม และหญ้าวิปึงเลิฟ มีความสมบูรณ์ของเพศสูงกว่าเชื้อราในข้าว เชื้อราที่แยกได้จากหญ้าส่วนใหญ่เป็นสายพันธุ์ hermaphroditic แต่เชื้อราในหญ้ามักมีการสืบพันธุ์ไม่คงที่ และเสี่ยงต่อการสูญเสียการเป็นเชื้อราที่มีความสมบูรณ์ทางเพศซึ่งอาจเกิดจากยีนที่ควบคุมการผสมพันธุ์ของเชื้อราอาจมีเพียงยีนเดียว จากรายงานแสดงให้เห็นว่าประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในประเทศไทยมีโอกาสเกิดการผสมพันธุ์และขยายพันธุ์แบบใช้เพศ หากเกิดการขยายพันธุ์แบบใช้เพศได้ตามธรรมชาติ อาจส่งผลให้เชื้อราเกิดการกลายพันธุ์ และเป็นผลเสียโดยเฉพาะในพื้นที่แปลงปลูกข้าวบนที่สูงที่มีการพบเชื้อราที่มีรูปแบบเพศทั้งสองแบบ ดังนั้นจึงควรเฝ้าระวังการกลายพันธุ์ และการเกิดเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ๆ ในพื้นที่ดังกล่าว



ภาพที่ 4.3 ตัวอย่างผลการตรวจสอบ mating type ด้วยเทคนิคพีซีอาร์ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้จำนวน 110 ไอโซเลท โดยใช้ไพรเมอร์จำเพาะต่อ Mat1-1 และ Mat1-2 เปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน 1000 bp ladder และเชื้อราทดสอบความสมบูรณ์เพศมาตรฐาน 70-15 และ GUY11 สำหรับแบบของเพศ Mat1-1 และ Mat1-2 ตามลำดับ

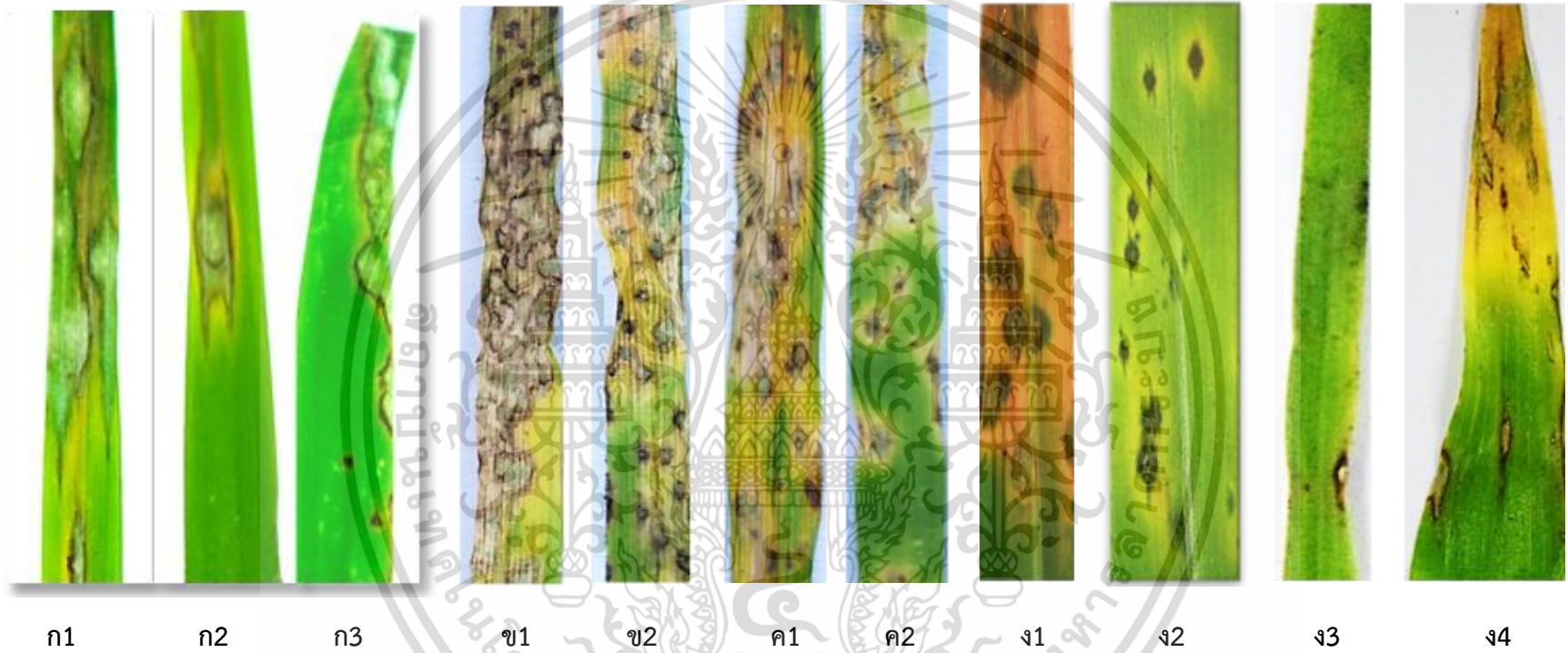
4.4 ผลศึกษาความหลากหลายของรูปแบบปฏิกริยาการเกิดโรคของเชื้อราบนพืชอาศัย

จากผลการศึกษาการก่อโรคของเชื้อรา *Pyricularia* sp. จำนวน 110 ไอโซเลท โดยแบ่งออกเป็นเชื้อราปี 2561 จำนวน 41 ไอโซเลท ปี 2562 จำนวน 47 ไอโซเลท และปี 2563 จำนวน 22 ไอโซเลท บนพืชอาศัย จำนวน 6 ชนิด ได้แก่ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี หญ้าชั้นอากาศ หญ้าขน หญ้าปล้องข้าวนก และหญ้ามาเลเซีย และเปรียบเทียบกับลักษณะอาการที่พบในข้าว พบว่าเชื้อราแต่ละไอโซเลทมีความสามารถในการเข้าทำลายพืชอาศัยได้แตกต่างกัน อาการของโรคไหม้จะเริ่มแสดง 4 วันหลังจากปลูกเชื้อ เริ่มจากแผลจุดขนาดเล็ก ต่อมา 5 – 6 วันหลังการปลูกเชื้อ จะพบแผลขยายเป็นรูปร่างทรงกลม และแผลจะขยายลุกลามไปทั่วทั้งใบ ในพืชอาศัยบางชนิดจะแสดงอาการของแผลเป็นรูปไข่ แผลมีความยาวนานน้อยกว่า 3 มิลลิเมตร หรือ แผลมีความยาวมากกว่า 4 มิลลิเมตร ขอบแผลมีสีน้ำตาล (ภาพที่ 4.4)

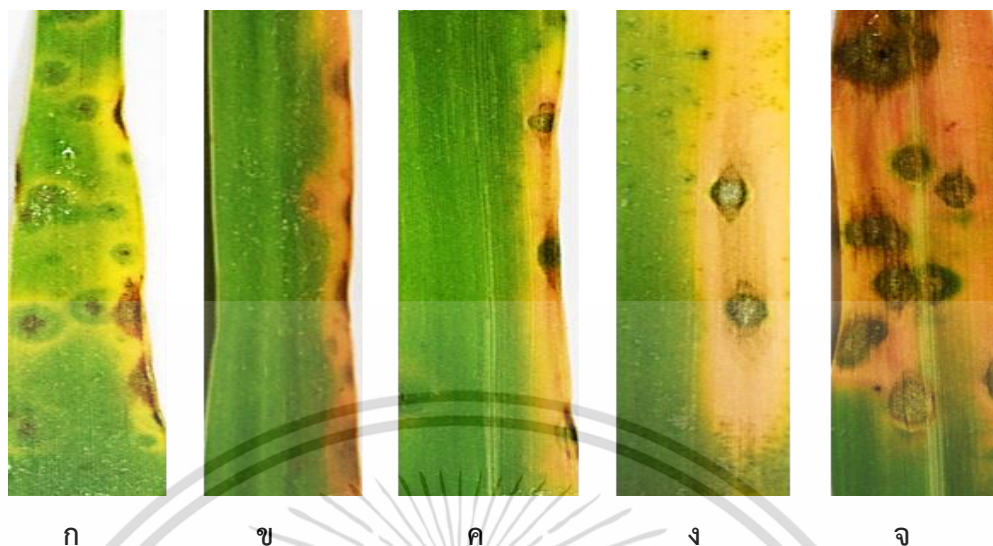
เมื่อนำเชื้อที่แยกได้จากตัวอย่างใบหญ้าไปปลูกเชื้อบนหญ้าชั้นอากาศ ลักษณะอาการที่พบ คือ แผลจุดสีน้ำตาลมีวงสีเขียวหรือสีเหลืองล้อมรอบ (ภาพที่ 4.5ก) แผลมีลักษณะเป็นรูปตาตรงกลางมีสีเทาเข้ม ขอบแผลมีสีน้ำตาล (ภาพที่ 4.5ข) แผลมีลักษณะเป็นรูปตาตรงกลางเป็นวงกลม มีสีเทาอ่อน ขอบแผลมีสีเทาถึงสีเขียว (ภาพที่ 4.5ค) และพบลักษณะอาการแผลเป็นรูปตา มีวงกลมซ้อนทับกันอยู่กลุ่มจนถึงแยกเป็นแผลเดี่ยว (ภาพที่ 4.5ง) แผลมีรูปร่างกลม ขอบแผลมีเทาจนถึงสีเขียวซ้ำ (ภาพที่ 4.6จ) ลักษณะอาการเหล่านี้จะปรากฏหลังจากการปลูกเชื้อไปแล้ว 7 วัน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

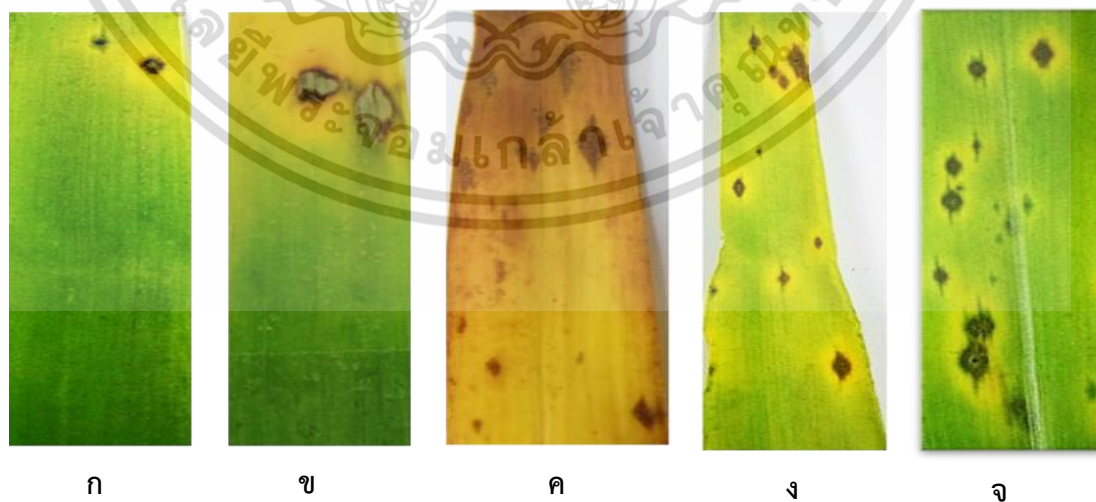


ภาพที่ 4.4 ตัวอย่างลักษณะอาการของโรคไหม้บนพีชอาศัย ก คือ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (ก1 - 3) ข้าวบาร์เลย์ (ข) พันธุ์ บรรบ2 (ข1) พันธุ์ บรรบ9 (ข2) ข้าวสาลี (ค) พันธุ์แพร์ 60 (ค1) พันธุ์ฝาง 60 (ค2) และหญ้า (ง) ได้แก่ หญ้าชั้นอากาศ (ง1) หญ้าขน (ง2) หญ้าปล้องข้าวนก (ง3) และหญ้าม้าลาย (ง4)



ภาพที่ 4.5 ลักษณะอาการของโรคไหม้บนใบกล้วยชั้นอากาศหลังจากทำการปลูกเชื้อไปแล้ว 7 วัน

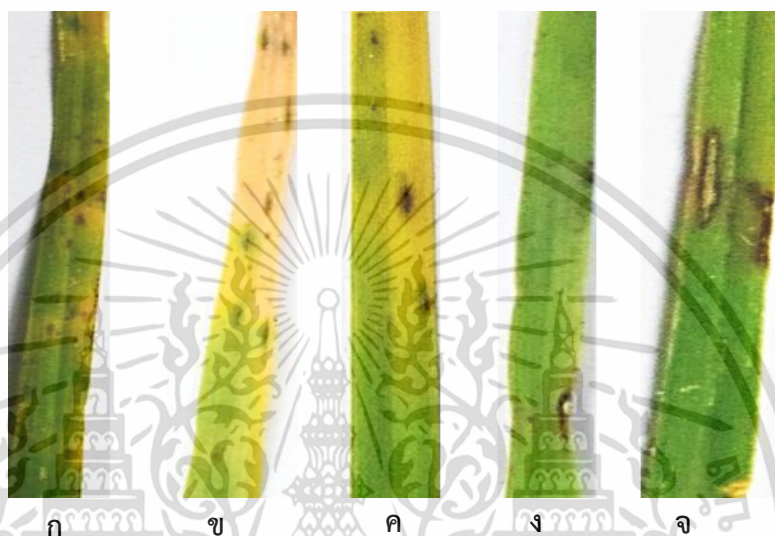
ลักษณะอาการที่พบบนกล้วยخن คือ แผลเป็นจุดสีน้ำตาลจนถึงแผลจุดสีเขียว ขอบแผลสีเหลืองจนถึงสีเขียว (ภาพที่ 4.6ก) แผลมีลักษณะเป็นรูปตาตรงกลางมีสีเทาเข้ม ขอบแผลมีสีน้ำตาล (ภาพที่ 4.6ข) แผลมีลักษณะเป็นรูปตาแผลมีสีน้ำตาลอ่อนจนถึงสีน้ำตาลเข้ม ขอบแผลมีสีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 4.6ค) แผลมีลักษณะเป็นรูปตามีสีเทาตรงกลางแผลขอบแผลมีสีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 4.6ง) และแผลมีลักษณะเป็นรูปตาที่เหลี่ยมขอบแผลมีสีเหลืองซ้อนทับกันหรืออยู่เป็นแผลเดี่ยว แผลมีรูปร่างกลมมีหางขอบแผลมีเทาจนถึงสีเขียวเข้ม และมีวงกลมสีเหลืองล้อมรอบแผล (ภาพที่ 4.6จ) ลักษณะอาการเหล่านี้จะปรากฏหลังจากการปลูกเชื้อไปแล้ว 7 วัน



ภาพที่ 4.6 ลักษณะอาการของโรคไหม้บนกล้วยخن ที่พบหลังจากทำการปลูกเชื้อไปแล้ว 7 วัน

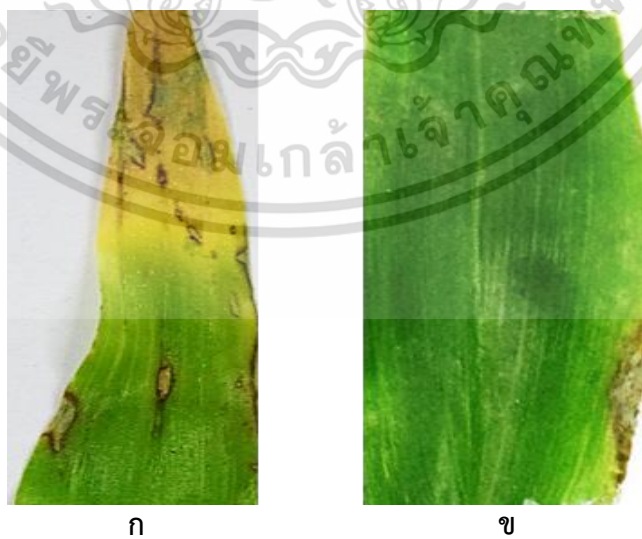
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะอาการที่พบบนหนู่ป่าปล้องข้าวนก แผลเป็นจุดสีน้ำตาลเข้มขอบแผลสีเหลืองหรือไม่มี (ภาพที่ 4.7ก) แผลมีรูปร่างเป็นขีดสีน้ำตาลมีสีเขียวล้อมรอบแผล (ภาพที่ 4.7ข) แผลมีรูปร่างเป็นขีดสีน้ำตาลขอบแผลมีสีน้ำตาล (ภาพที่ 4.7ค) แผลมีรูปร่างเป็นรูปตาตรงกลางเป็นวงกลมมีสีเทาเข้มขอบแผลมีสีน้ำตาล (ภาพที่ 4.7ง) และแผลที่มีลักษณะยาวเป็นรูปตาตรงกลางมีสีเทาอ่อน ขอบแผลมีสีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 4.7จ) ลักษณะอาการเหล่านี้จะปรากฏหลังจากการปลูกเชื้อไปแล้ว 7 วัน



ภาพที่ 4.7 ลักษณะอาการของโรคไหม้บนหนู่ป่าปล้องข้าวนก ที่พบหลังจากทำการปลูกเชื้อไปแล้ว 7 วัน

ลักษณะอาการที่พบบนหนู่ามาเลเซีย แผลมีลักษณะคล้ายรูปตาตรงกลางเป็นวงกลมมีสีเทาเข้มขอบแผลมีสีน้ำตาล และแผลมีรูปร่างไม่ชัดเจน (ภาพที่ 4.8ก) และแผลยาวรูปร่างเป็นรูปตาตรงกลางมีสีเทาอ่อน ขอบแผลมีสีน้ำตาลเข้ม (ภาพที่ 4.8ข) ลักษณะอาการเหล่านี้จะปรากฏหลังจากการปลูกเชื้อไปแล้ว 7 วัน

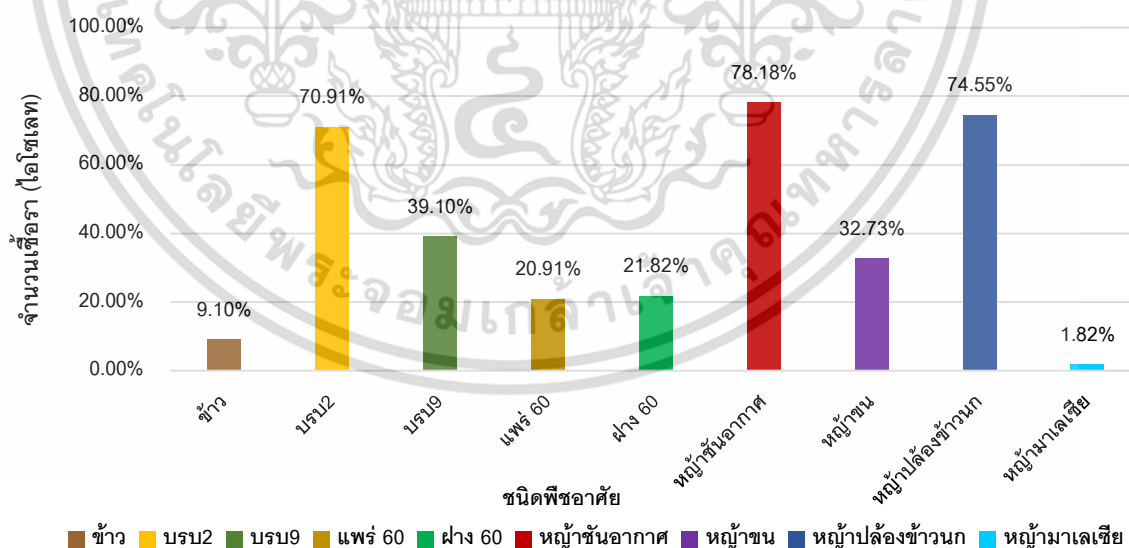


ภาพที่ 4.8 ลักษณะอาการของโรคไหม้บนหนู่ามาเลเซีย ที่พบหลังจากทำการปลูกเชื้อไปแล้ว 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อทำการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคใหม่ที่แยกได้จากหญ้าชั้นอากาศลงบนพีชอคัสเตียม ลักษณะอาการที่พบหลังจากการปลูกเชื้อแล้ว 7 วัน ไม่เหมือนกับลักษณะอาการเดิมก่อนนำมาแยกเชื้อ แต่พบว่าลักษณะอาการที่พบในหญ้าขนและหญ้าปล้องข้าวนกมีลักษณะอาการคือแผลมีรูปร่างกลมมีหาง ขอบแผลมีสีเทาจนถึงสีเขียวเข้ม และมีวงกลมสีเหลืองล้อมรอบแผลพบในหญ้าขนคล้ายกับภาพลักษณะอาการในแบบที่ 1 และแผลมีลักษณะยาวเป็นรูปตาตรงกลางมีสีเทาอ่อน ขอบแผลมีสีน้ำตาลเข้ม พบในหญ้าปล้องข้าวนกคล้ายกับภาพลักษณะอาการในแบบที่ 5 ดังภาพที่ 3.1

เมื่อทำการวิเคราะห์ผลการทดลองจากการเข้าทำลายพีชอคัสเตียมของเชื้อราจำนวน 110 ไอโซเลท ที่แยกได้จากหญ้าชั้นอากาศ หญ้าไซ และหญ้าไม่ทราบพันธุ์ บนพีชอคัสเตียมจำนวน 7 ชนิด คือ ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ข้าวบาร์เลย์พันธุ์ บรบ2 และ บรบ9 ข้าวสาลีพันธุ์ แพร่ 60 และ ฝาง 60 หญ้าชั้นอากาศ หญ้าขน หญ้าปล้องข้าวนก และหญ้ามาเลเซีย พบว่าเชื้อราที่แยกได้จากหญ้าชั้นอากาศจำนวน 86 ไอโซเลทสามารถเข้าทำลายพีชอคัสเตียมได้ คิดเป็น 78.18 เปอร์เซ็นต์จากเชื้อราทั้งหมด มีเชื้อรา 10 ไอโซเลทที่แยกได้จากหญ้าชั้นอากาศ ที่สามารถเข้าทำลายพีชอคัสเตียมที่ใช้ในการทดสอบได้ทั้งหมด ได้แก่ ไอโซเลท KKN61101 LPG61102 PNB61105 SBR61106 TAK61105 CPM62101 CPM62102 CPM62103 MKM62101 และ STI62110 คิดเป็น 9.10 เปอร์เซ็นต์จากเชื้อราทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบว่า มีเชื้อราจำนวน 2 ไอโซเลท ซึ่งแยกได้จากหญ้าชั้นอากาศ และหญ้าไซ ที่สามารถเข้าทำลายหญ้ามาเลเซียได้ ได้แก่ ไอโซเลท PNB61105 และ UTI61106 ตามลำดับ คิดเป็น 1.82 เปอร์เซ็นต์จากเชื้อราทั้งหมด (ภาพที่ 4.9)



ภาพที่ 4.9 จำนวนของไอโซเลทเชื้อราสาเหตุโรคใหม่ที่เข้าทำลายพีชอคัสเตียม ได้แก่ ข้าว ข้าวบาร์เลย์ (บรบ2 และ บรบ9) ข้าวสาลี (แพร่ 60 และ ฝาง 60) หญ้าชั้นอากาศ หญ้าขน หญ้าปล้องข้าวนก และหญ้ามาเลเซีย

จากผลการทดลองพบว่าเชื้อราที่แยกได้จากหญ้าชั้นอากาศสามารถเข้าทำลายพืชอาศัยอื่นที่ไม่ใช่พืชเดิมได้ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Chung *et al.* (2020) ที่ศึกษาความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 100 ไอโซเลท ที่เก็บรวบรวมได้ในปี ค.ศ. 2011 – 2013 ในพื้นที่ประเทศเกาหลีใต้ จากพืชอาศัยจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ ข้าว หญ้าตีนนก หญ้าหางจิ้งจอกเขียว ข้าวฟ่างไม้กวาด และหญ้าข้าวนก และพบว่าเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่แยกได้จากข้าว และหญ้าตีนนก สามารถเข้าทำลายพืชที่ใช้ในการทดสอบได้ทุกชนิด เชื้อราที่แยกได้จากหญ้าหางจิ้งจอกเขียว สามารถเข้าทำลายหญ้าตีนนก ข้าวบาร์เลย์ และข้าวฟ่างไม้กวาด ส่วนเชื้อราที่แยกได้จากข้าวฟ่างไม้กวาด สามารถเข้าทำลายข้าวบาร์เลย์ได้เพียงชนิดเดียว และเชื้อราที่แยกได้จากหญ้าข้าวนก สามารถเข้าทำลายข้าวฟ่างไม้กวาด ข้าวบาร์เลย์ และข้าวสาลีได้

เมื่อจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของเชื้อราโรคไหม้ ด้วยแผนภาพเวนนไดอะแกรม ตามความสามารถของเชื้อทั้ง 110 ไอโซเลทในการเข้าทำลายของพืชอาศัย โดยแบ่งพืชอาศัยออกเป็น 4 ชนิด ได้แก่ ข้าว ข้าวบาร์เลย์ (พันธุ์ บรบ2 และ บรบ9) ข้าวสาลี (พันธุ์แพร์ 60 และ ฟาง 60) และหญ้า (หญ้าชั้นอากาศ หญ้าขน หญ้าปล้องข้าวนก และหญ้ามะเลเชีย) สามารถจัดกลุ่มการเข้าทำลายได้ทั้งหมด 7 กลุ่ม (ภาพที่ 4.10) ดังนี้

กลุ่มที่ 1 คือ กลุ่มที่สามารถเข้าทำลายพืชอาศัยได้ทุกชนิด คือ ข้าว ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี และหญ้า มีเชื้อราจำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท LPG61102 PNB61105 TAK61105 CPM62101 CPM62102 และ MKM62101

กลุ่มที่ 2 คือ กลุ่มที่สามารถเข้าทำลายข้าว ข้าวสาลี และหญ้า แต่ไม่เข้าทำลายข้าวบาร์เลย์ มีเชื้อราจำนวน 3 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท KKN61101 SBR61106 และ CPM62103

กลุ่มที่ 3 คือ กลุ่มที่สามารถเข้าทำลายข้าว ข้าวบาร์เลย์ และหญ้า แต่ไม่เข้าทำลายข้าวสาลี มีเชื้อรา 1 ไอโซเลท คือ STI62110

กลุ่มที่ 4 คือ กลุ่มที่สามารถเข้าทำลายข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี และหญ้า แต่ไม่เข้าทำลายข้าว มีเชื้อราจำนวน 46 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท KKN61103 LRI6103 NST61101 NST61102 PCT61101 PCT61102 PCT61104 PLK61109 PNB61110 RBR61109 RBR61110 RBR61111 SBR61101 TAK61104 UTI61103 UTI61105 UTI61107 BRM62118 KKN62107 KKN62116 MKM62102 MKM62103 NBP62103 NKI62103 NKI62104 NKI62105 NKI62107 NKI62109 PYO62101 PYO62106 PYO62119 SKN62103 SRN62107 SRN62108 STI62109 CMI63102 CMI63103 CMI63104 MSN63101 MSN63104 MSN63114 MSN63115 MSN63116 NKI63101 PYO63101 และ PYO63104

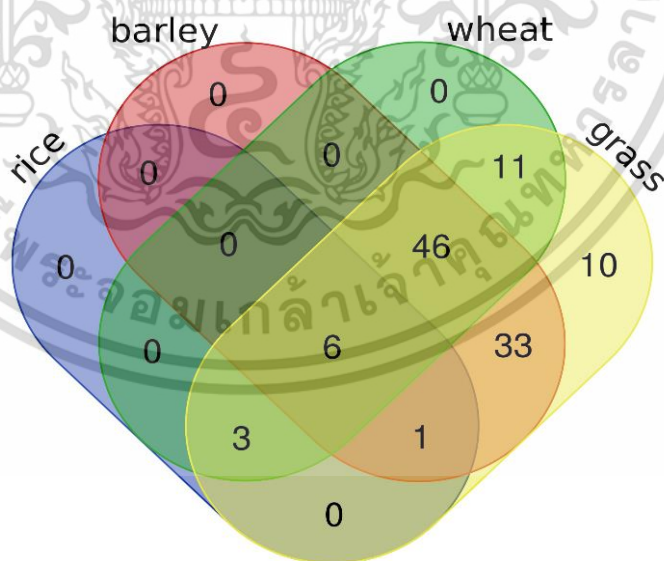
กลุ่มที่ 5 คือ กลุ่มที่สามารถเข้าทำลายข้าวบาร์เลย์ และหญ้า แต่ไม่เข้าทำลายข้าวและข้าวสาลี มีเชื้อราจำนวน 33 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท KKN61102 LRI61104 NST61103 PL61122 PLK61107 PLK61108 PNB61106 SBR61103 SBR61105 UDN61106 UTI61101 UTI61102 UTI61104

UTI61106 BRM62101 BRM62117 KKN62113 KSN62101 KSN62104 KSN62106 MKM62107
NBP62102 NKI62108 PYO62120 STI62104 STI62108 UDN62108 BKN63102 MSN63103
MSN63112 MSN63113 PYO63102 และ UDN63103

กลุ่มที่ 6 คือ กลุ่มที่สามารถเข้าทำลายข้าวสาลี และหญ้า แต่ไม่เข้าทำลายข้าวและข้าวบาร์เลย์ มี
เชื้อราจำนวน 11 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท PL61121 BRM62104 KKN62108 KKN62112 KSN62105
PYO62116 BKN63101 MSN63102 MSN63117 NBP63103 และ PYO63105

กลุ่มที่ 7 คือ กลุ่มที่สามารถเข้าทำลายหญ้าเท่านั้น มีเชื้อราจำนวน 10 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท
PLK6110 PNB61104 PNB61107 SBR61104 PLK62101 TAK62101 TAK62102 UDN62107
PYO62104 และ UTI62101

จากผลการจัดกลุ่มทำการคัดเลือกเชื้อราตัวแทนแต่ละกลุ่มรวม 26 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท
BRM60004.1 NKI61005 LPG61001 และ PYO61001 เป็นตัวแทนกลุ่ม control ไอโซเลท LPG61102
TAK61105 CPM62101 CPM62102 และ MKM62101 เป็นตัวแทนกลุ่มที่ 1 ไอโซเลท KKN61101 และ
SBR61106 เป็นตัวแทนกลุ่มที่ 2 ไอโซเลท STI62110 เป็นตัวแทนกลุ่มที่ 3 ไอโซเลท STI62104 และ
UTI61106 เป็นตัวแทนกลุ่มที่ 5 ไอโซเลท BKN63101 และ MSN63102 เป็นตัวแทนกลุ่มที่ 6 ไอโซเลท
PLK61110 PNB61104 PNB61107 SBR61104 PLK62101 PYO62104 TAK62101 UDN62107
UTI62101 และ TAK62102 เป็นตัวแทนกลุ่มที่ 7 เพื่อส่งวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ และระบุสายพันธุ์
ของเชื้อราแต่ละกลุ่ม



ภาพที่ 4.10 แผนภาพเวนน์ไดอะแกรมสรุปจำนวนไอโซเลทเชื้อราที่สามารถเข้าทำลายพืชอาศัย คือ ข้าว
ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี และหญ้า

4.5 ผลการจัดจำแนกสปีชีส์ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ด้วยข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ

ITS region

จากผลการจัดกลุ่มการเข้าทำลายของเชื้อราจำนวน 110 ไอโซเลท บนพีชอาศัย 4 ชนิด สามารถแบ่งได้เป็น 7 กลุ่ม ทำการคัดเลือกเชื้อราเพื่อเป็นตัวแทนจากแต่ละกลุ่ม รวมทั้งหมด 26 ไอโซเลท นำไปเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอด้วยคูไพโรเมอร์ ITS4 และ ITS5 ได้ผลผลิตดีเอ็นเอขนาดประมาณ 567 คู่เบส (ภาพที่ 4.11) หลังจากนั้นส่งวิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์มีความยาวประมาณ 340 – 540 คู่เบส ที่ประกอบด้วยลำดับนิวคลีโอไทด์ของตำแหน่ง ITS1 (internal transcribed spacer1) ยีน 5.8s rDNA (5.8S ribosomal DNA gene) และตำแหน่ง ITS2 (internal transcribed spacer 2) เมื่อเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS ของตัวอย่างเชื้อราแต่ละไอโซเลทกับลำดับนิวคลีโอไทด์บนฐานข้อมูล GenBank โดยใช้เครื่องมือ Nucleotide BLAST พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างเชื้อรา 11 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท BRM60004.1 NKI61005 LPG61001 PYO61001 LPG61102 TAK61105 CPM62101 CPM62102 KKN61101 SBR61106 และ PNB61104 มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์ ตำแหน่ง ITS ของเชื้อรา *Pyricularia oryzae* ไอโซเลท Guy11 (MT126241.1) 100 เปอร์เซ็นต์ เชื้อรา 4 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท UDN62107 และ MSN63102 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อรา *P. oryzae* ไอโซเลท SLSsh051 (MN947536.1) 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเชื้อราไอโซเลท STI62104 และ PLK62101 มีความคล้ายคลึง 99.78 เปอร์เซ็นต์ เชื้อรา 4 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท PLK61110 MKM62101 TAK62102 และ UTI62101 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อรา *P. oryzae* ไอโซเลท Meh17012B32 100 เปอร์เซ็นต์ และมีเชื้อรา 1 ไอโซเลท คือ PNB61107 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อรา *P. grisea* ไอโซเลท ITDsph107 (MN947540.1) 99.78 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.9)

จากผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ พบว่าเชื้อราส่วนใหญ่มีความคล้ายคลึงกับเชื้อราอ้างอิง *P. oryzae* ทั้ง 3 ไอโซเลท ที่ 100 เปอร์เซ็นต์ มีเชื้อรา 2 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท STI62104 และ PLK62101 มีความคล้ายคลึง 99.78 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเชื้อราทั้งสองไอโซเลทมีลำดับเบสที่ไม่ตรงกับลำดับเบสของเชื้อรา *P. oryzae* ไอโซเลทอ้างอิง SLSsh051 จำนวน 1 ตำแหน่ง คือ ตำแหน่งเบสที่ 87 เชื้อราไอโซเลท PNB61107 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อรา *P. grisea* ไอโซเลท ITDsph107 ที่ 99.78 เปอร์เซ็นต์ มีลำดับเบสแตกต่างกันที่ตำแหน่งเบสที่ 95 โดยเชื้อรา PNB61107 ที่ตำแหน่งเบสที่ 95 มีเบส A แต่เชื้อราไอโซเลทอ้างอิง ITDsph107 มีเบส G ซึ่งทำให้เชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลท มีความคล้ายคลึงกับเชื้อรา *P. oryzae* ไอโซเลทอ้างอิง SLSsh051 และ เชื้อรา *P. grisea* ไอโซเลทอ้างอิง ITDsph107 ไม่ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยคูไพโรเมอร์ ITS4 และ ITS5 สามารถแยกสปีชีส์ของเชื้อรา *P. oryzae* และ *P. grisea* ได้ ซึ่งจากรายงานของ บุญสม และ สายสมร (2555) ที่ได้ศึกษาความหลากหลายและระบุสายพันธุ์ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่แยกได้จากข้าว ผักปลาบ พีชวงศ์ชิง พีชวงศ์

คล้ำ กล้วยแพงโกล่า กล้วยขน กก และกล้วยวชิชอื่น ๆ ที่ปลูกหรือเจริญในบริเวณภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ โดยใช้ไพรเมอร์จำนวน 6 คู่ ได้แก่ คู่ที่ 1 คือไพรเมอร์ ITS4 และ ITS5 ของยีน rDNA-ITS คู่ที่ 2 คือไพรเมอร์ NS1 และ NS4 ของยีน rDNA-NS คู่ที่ 3 คือไพรเมอร์ LROR และ LR5 ของยีน rDNA-LS คู่ที่ 4 คือไพรเมอร์ ACT-512F และ ACT-738R ของยีน actin คู่ที่ 5 คือไพรเมอร์ Bt1a และ Bt1b ของยีน β -tubulin และคู่ที่ 6 คือไพรเมอร์ CAL-228F และ CAL-737R ของยีน calmodulin สามารถแยกความแตกต่างของเชื้อราที่แยกได้จากพืชอาศัยข้าว ธัญพืช กล้วยแพงโกล่า และวชิชอื่น ๆ โดยเชื้อราที่แยกได้มีความคล้ายคลึงกับเชื้อ *P. oryzae* และ *P. grisea* จากการตรวจสอบโดยใช้ยีน rDNA-ITS ยีน actin ยีน β -tubulin และยีน calmodulin อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้ใช้ไพรเมอร์ในการตรวจสอบเพียง 1 คู่ คือ ITS4 และ ITS5 ก็สามารถแยกความแตกต่างของสายพันธุ์ *P. oryzae* และ *P. grisea* ได้



ภาพที่ 4.11 ตัวอย่างแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 567 คู่เบส ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จากการทำปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์ ITS4 และ ITS5 เปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 kb ladder

ตารางที่ 4.9 ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์โดยเปรียบเทียบกับฐานข้อมูลใน GeneBank

กลุ่มที่	ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	พืชอาศัย	ความคล้ายคลึง (%)	ชื่อสายพันธุ์ของเชื้อรา
Control	1	BRM60004.1	ข้าวดอกมะลิ105	100	<i>Pyricularia oryzae</i> ไอโซเลท Guy11
	2	NKI61005	กข6	100	<i>Pyricularia oryzae</i> ไอโซเลท Guy11
	3	LPG61001	กข10	100	<i>Pyricularia oryzae</i> ไอโซเลท Guy11
	4	PYO61001	ข้าวดอกมะลิ105	100	<i>Pyricularia oryzae</i> ไอโซเลท Guy11
1	5	LPG61102		100	<i>Pyricularia oryzae</i> ไอโซเลท Guy11
	6	TAK61105		100	<i>Pyricularia oryzae</i> ไอโซเลท Guy11
	7	CPM62101	หญ้าชันอากาศ	100	<i>Pyricularia oryzae</i> ไอโซเลท Guy11
2	8	CPM62102		100	<i>Pyricularia oryzae</i> ไอโซเลท Guy11
	9	MKM62101		100	<i>Pyricularia oryzae</i> ไอโซเลท Meh17012B32
5	10	KKN61101	หญ้าชันอากาศ	100	<i>Pyricularia oryzae</i> ไอโซเลท Guy11
	11	SBR61106		100	<i>Pyricularia oryzae</i> ไอโซเลท Guy11
6	12	STI62104	หญ้าชันอากาศ	99.78	<i>Pyricularia oryzae</i> ไอโซเลท SLSsh051
7	13	MSN63102	หญ้าไม่ทราบพันธุ์	100	<i>Pyricularia oryzae</i> ไอโซเลท SLSsh051
	14	PLK61110		100	<i>Pyricularia oryzae</i> ไอโซเลท Meh17012B32
	15	PNB61104		100	<i>Pyricularia oryzae</i> ไอโซเลท Guy11
	16	PNB61107		99.78	<i>Pyricularia grisea</i> ไอโซเลท ITDsph107
	17	TAK62102	หญ้าชันอากาศ	100	<i>Pyricularia oryzae</i> ไอโซเลท Meh17012B32
	18	UDN62107		100	<i>Pyricularia oryzae</i> ไอโซเลท SLSsh051
	19	UTI62101		100	<i>Pyricularia oryzae</i> ไอโซเลท Meh17012B32
	20	PLK62101		99.78	<i>Pyricularia oryzae</i> ไอโซเลท SLSsh051

ผลการสร้างแผนภูมิวิวัฒนาการต้นไม้ วิเคราะห์ด้วยวิธี Maximum Likelihood (ML) จากโปรแกรม MEGA11 ที่ค่า bootstrap เท่ากับ 1000 สามารถจัดกลุ่มเชื้อราได้จำนวน 4 กลุ่ม (clade) (ภาพที่ 4.12) ดังนี้

กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยเชื้อราจำนวน 11 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท BRM60004.1 NKI61005 LPG61001 PYO61001 LPG61102 TAK61105 CPM62101 CPM62102 KKN61101 SBR61106 และ PNB61104 เป็นเชื้อราที่มีความคล้ายกับเชื้อรา *P. oryzae* ไอโซเลท Guy11 มีค่าความเชื่อมั่น 83 เปอร์เซ็นต์

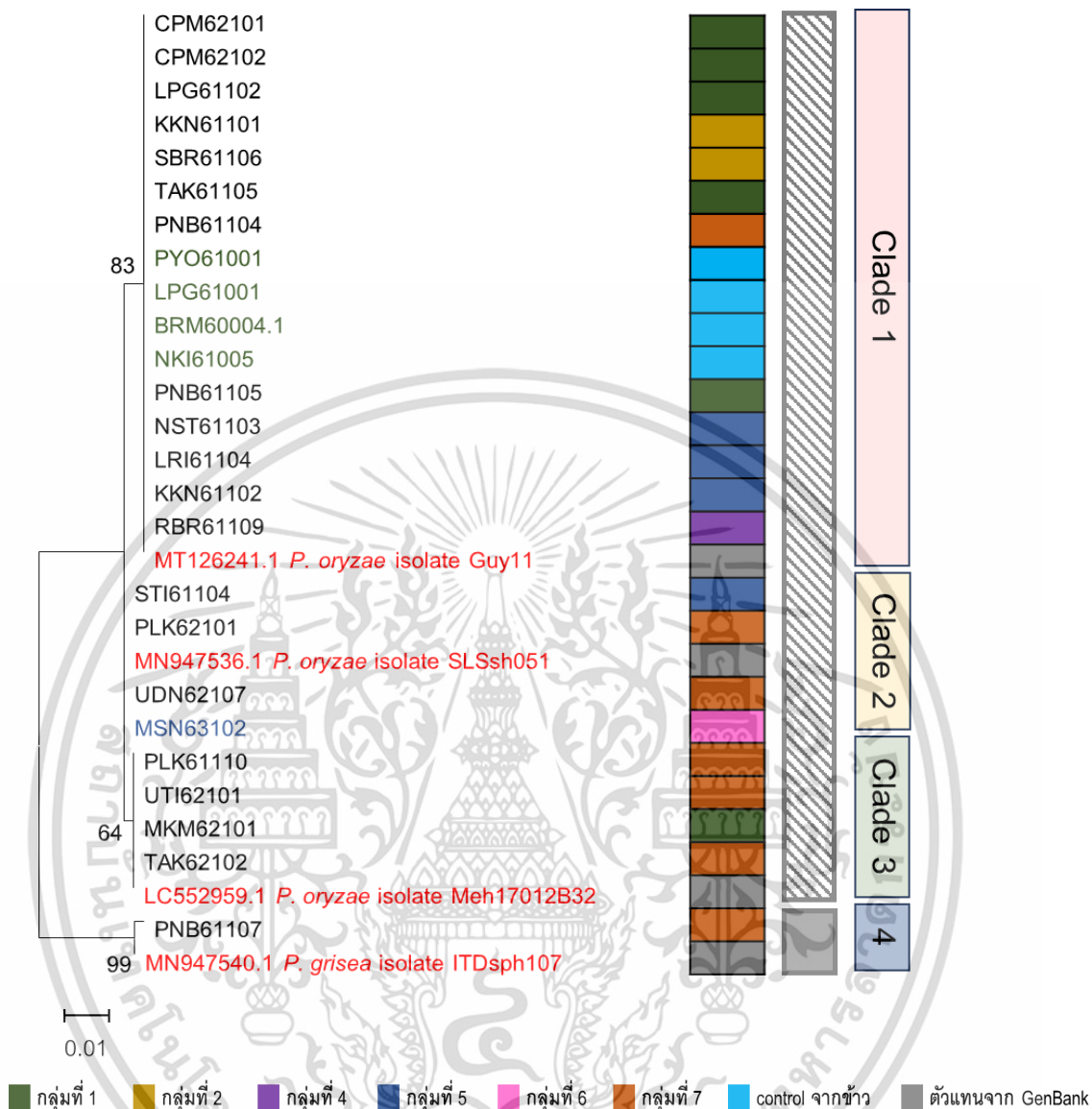
กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยเชื้อราจำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท UDN62107 MSN63102 STI62104 และ PLK62101 เป็นเชื้อราที่มีความคล้ายกับเชื้อรา *P. oryzae* ไอโซเลท SLSsh051

กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยเชื้อราจำนวน 4 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท PLK61110 MKM62101 TAK62102 และ UTI62101 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อรา *P. oryzae* ไอโซเลท Meh17012B32 มีค่าความเชื่อมโยง 64 เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ 4 มีเชื้อรา 1 ไอโซเลท คือ PNB61107 มีความคล้ายคลึงกับเชื้อรา *P. grisea* ไอโซเลท ITDsph107 มีค่าความเชื่อมโยง 99 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.12)

จากผลการศึกษาทั้งลักษณะสัณฐาน ปฏิกริยาการก่อโรคบนพืชอาศัย และลักษณะทางชีวโมเลกุล ร่วมกับการสร้างแผนภูมิวิวัฒนาการต้นไม้ของเชื้อรา พบว่าลักษณะสัณฐานไม่สามารถระบุชนิดของเชื้อรา ที่แยกได้จากตัวอย่างหญ้าอย่างชัดเจน เนื่องจากลักษณะสัณฐานของเชื้อรา สีโคโลนิบนอาหารเลี้ยงเชื้อ และรูปร่างโคนิเดียมีความคล้ายคลึงกัน แต่ในการศึกษาลักษณะทางชีวโมเลกุลร่วมกับการสร้างแผนภูมิวิวัฒนาการต้นไม้ของเชื้อรา สามารถจำแนกเชื้อราสาเหตุโรคใหม่หญ้าออกเป็น 2 สปีชีส์ คือ *P. oryzae* และ *P. grisea* โดยเชื้อราที่จัดอยู่ในกลุ่มที่ 1 – 3 คือ เชื้อรา *P. oryzae* แยกได้จากหญ้าชั้นอากาศ และหญ้าไม่ทราบสายพันธุ์ เชื้อราที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้มีความสามารถในการเข้าทำลายพืชอาศัยที่ใช้ทดสอบได้แตกต่างกัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าพืชอาศัยไม่ได้เป็นตัวกำหนดสายพันธุ์ของเชื้อรา และเชื้อราทั้งสองชนิดสามารถปรับตัวให้เข้าทำลายพืชอาศัยชนิดอื่นๆ ได้ ตามรายงานของ Zhong *et al.* (2016) เชื้อสาเหตุโรคพืชสามารถปรับตัวเพื่อเข้าทำลายพืชอาศัยข้ามชนิดได้ ดังนั้นจึงไม่ควรระบุว่าเชื้อราสาเหตุโรคใหม่สปีชีส์ *P. oryzae* ทุกไอโซเลทสามารถเข้าทำลายข้าวได้ อย่างไรก็ตามเชื้อราที่มีความคล้ายคลึงกับ *P. grisea* จำนวน 1 ไอโซเลท คือ PNB61107 ซึ่งแยกได้จากหญ้าชั้นอากาศ และเป็นเชื้อราที่ไม่สามารถเข้าทำลายข้าวและข้าวสาลีได้ เชื้อรานี้ถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ 7 ตามแผนภาพเวนนไดอะแกรมที่แสดงความสัมพันธ์ในการเข้าทำลายพืชอาศัยของเชื้อรา ตามรายงาน de Assis Reges *et al.* (2016) ศึกษาปฏิกริยาการก่อโรคบนพืชอาศัย จากเชื้อราสาเหตุโรคใหม่ที่แยกได้จากข้าวและหญ้า พบว่าเชื้อรา *P. grisea* ที่แยกได้จากหญ้าไม่สามารถเข้าทำลายข้าวสาลีได้

ดังนั้นข้อมูลลักษณะสัณฐานและปฏิกริยาการก่อโรคบนพืชอาศัย จึงไม่เพียงพอต่อการระบุสปีชีส์ของเชื้อราสาเหตุโรคใหม่ที่แยกได้จากหญ้า จำเป็นต้องมีการศึกษาลักษณะทางชีวโมเลกุลเพื่อจัดจำแนกและระบุสปีชีส์ที่ถูกต้องของเชื้อรา



ภาพที่ 4.12 แผนภูมิวิวัฒนาการต้นไม้ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ ที่ได้จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ บริเวณ ITS ด้วยวิธี Maximum Likelihood (ML) ด้วยโปรแกรม MEGA11 ที่ค่า bootstrap เท่ากับ 1000 แบ่งออกเป็น 2 สปีชีส์ กลุ่มสีเหลี่ยมลายเฉียง คือ กลุ่มเชื้อ *P. oryzae* กลุ่มสีเหลี่ยมสีเทา คือ กลุ่มเชื้อ *P. grisea* โดยตัวอักษรสีเขียวแทนเชื้อราที่แยกได้จากข้าว ตัวอักษรสีดำแทนเชื้อราที่แยกได้จากหญ้าชั้นอากาศ อักษรสีฟ้าแทนเชื้อราที่แยกได้จากหญ้าไม่ทราบพันธุ์ เปรียบเทียบกับผลการจัดความสัมพันธ์ของเชื้อราด้วยเวนวน์ไดอะแกรม

4.6 ผลการศึกษาความหลากหลายของรูปแบบปฏิกิริยาการเกิดโรคของเชื้อราบนข้าวพันธุ์แนะนำของไทย และข้าวสายพันธุ์ที่มีถิ่นกำเนิดในท้องถิ่น (Near Isogenic Lines; NILs)

4.6.1 การศึกษาความหลากหลายของรูปแบบปฏิกิริยาการเกิดโรคของเชื้อราบนข้าวพันธุ์แนะนำ

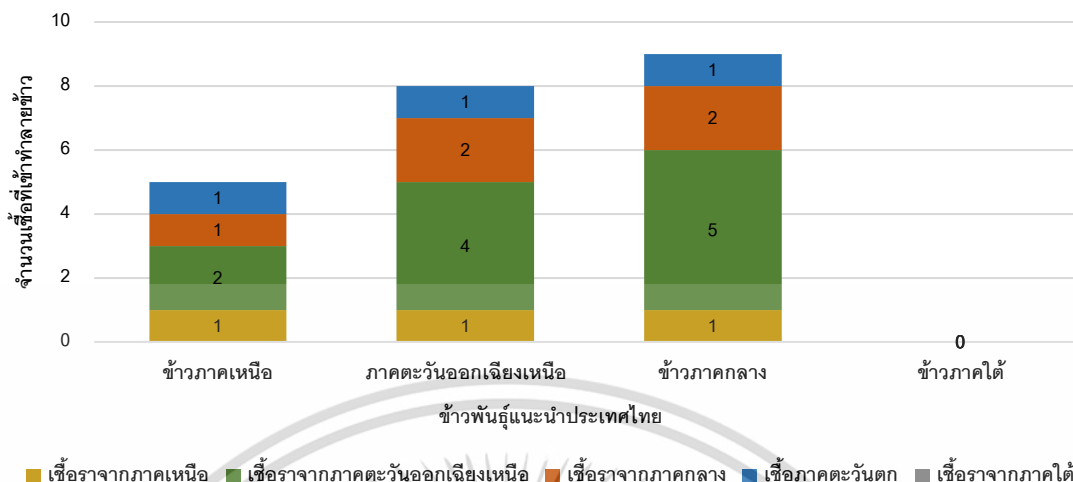
จากผลการศึกษาการก่อโรคของเชื้อรา *Pyricularia* sp. จำนวน 110 ไอโซเลท บนข้าวพันธุ์แนะนำพบว่าเชื้อราแต่ละไอโซเลทมีความสามารถในการเข้าทำลายข้าวพันธุ์แนะนำที่ใช้ทดสอบจำนวน 40 พันธุ์ ได้แตกต่างกัน โดยเชื้อราที่เก็บรวบรวมได้จากปี พ.ศ. 2561 ที่มีความรุนแรงสูงที่สุดมีค่า *Vilurence Index* (VI) 0.15 คือ เชื้อราไอโซเลท LPG61102 และ TAK61105 ซึ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากจังหวัดลำปาง และตาก เชื้อราสามารถก่อโรครุนแรง (ระดับคะแนน 5 และ 6) บนข้าวจำนวน 6 พันธุ์ โดยเชื้อราไอโซเลท LPG61102 แยกเชื้อได้จากจังหวัดลำปาง สามารถก่อโรครุนแรงบนข้าวพันธุ์ กข59 สุพรรณบุรี 60 ชัยนาท 1 กขผ3 กข29 และ กข15 ซึ่งมีพื้นที่ส่งเสริมการปลูกอยู่ในเขตภาคกลาง และภาคเหนือ และเชื้อราไอโซเลท TAK61105 แยกเชื้อได้จากจังหวัดตาก สามารถก่อโรครุนแรงบนข้าวพันธุ์ กข59 พิษณุโลก 60-1 สุพรรณบุรี 1 เหนียวอุบล 1 สุพรรณบุรี 2 และ สุพรรณบุรี 60 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวที่ไม่จำเพาะต่อภูมิภาคที่เชื้อไอโซเลทนี้อาศัยอยู่ และมีพื้นที่ส่งเสริมการปลูกอยู่ในเขตภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ยกเว้นข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 2 และ สุพรรณบุรี 60 ที่มีพื้นที่ส่งเสริมการปลูกอยู่ในเขตภาคตะวันตก ส่วนเชื้อราที่แยกได้จากฤดูปลูกปี พ.ศ. 2562 มีค่า VI สูงที่สุด มีค่า VI เท่ากับ 0.15 คือ STI62110 ซึ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากจังหวัดสุโขทัย เชื้อราสามารถก่อโรครุนแรง (ระดับคะแนน 5 และ 6) บนข้าวจำนวน 6 พันธุ์ คือ ข้าวพันธุ์ กข61 พิษณุโลก 1 เหนียวอุบล 1 สุพรรณบุรี 90 สันป่าตอง 1 และ กข15 เป็นสายพันธุ์ข้าวมีจำเพาะต่อภูมิภาคที่เชื้อไอโซเลทนั้นๆ อาศัยอยู่ ยกเว้นข้าวพันธุ์เหนียวอุบล 1 และสันป่าตอง 1 ที่มีพื้นที่ส่งเสริมการปลูกอยู่ในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือ ส่วนเชื้อราที่แยกได้จากฤดูปลูกปี พ.ศ. 2563 จำนวน 22 ไอโซเลท พบว่าไม่สามารถก่อโรค และก่อโรคไม่รุนแรงบนข้าวพันธุ์แนะนำของไทย

เมื่อเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์กับความสามารถของเชื้อราในการเข้าทำลายพืชอาศัยตามแผนภาพเวนนีไดอะแกรม พบว่าเชื้อราในกลุ่มที่ 1 (ก่อโรคบนพืชอาศัยได้ทุกชนิด) จำนวน 6 ไอโซเลท ทุกไอโซเลทสามารถก่อโรครุนแรงบนข้าวพันธุ์แนะนำ ในจำนวนนี้ไอโซเลท LPG61102 และ TAK61105 มีค่าดัชนีความรุนแรง (VI) สูงที่สุด เท่ากับ 0.15 เชื้อราสามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์แนะนำได้จำนวน 6 พันธุ์ ในขณะที่กลุ่มที่ 2 (ก่อโรคบนข้าว ข้าวสาลี และหญ้า แต่ไม่ก่อโรคบนข้าวบาร์เลย์) จำนวน 3 ไอโซเลท เชื้อราทุกไอโซเลทสามารถก่อโรครุนแรง เชื้อราที่ก่อโรครุนแรงมากที่สุด คือ ไอโซเลท KKN61101 ซึ่งเป็นเชื้อราที่แยกได้จากจังหวัดขอนแก่น มีค่าดัชนีความรุนแรง (VI) เท่ากับ 0.05 เชื้อราสามารถเข้าทำลายข้าว

พันธุ์แนะนำได้จำนวน 2 พันธุ์ และกลุ่มที่ 3 (ก่อโรคบนข้าว ข้าวบาร์เลย์ และหญ้า แต่ไม่ก่อโรคบนข้าว สาลี) คือไอโซเลท STI62110 ซึ่งเป็นเชื้อราที่แยกได้จากจังหวัดสุโขทัย มีค่าดัชนีความรุนแรง (VI) เท่ากับ 0.15 สามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์แนะนำได้จำนวน 6 พันธุ์ ส่วนเชื้อราในกลุ่มที่ 4 – 7 ก่อโรคไม่รุนแรง หรือไม่สามรถก่อโรคบนข้าวพันธุ์แนะนำได้

เมื่อวิเคราะห์การเข้าทำลายของเชื้อราโดยจัดกลุ่มพันธุ์ข้าวตามพื้นที่ส่งเสริมการเพาะปลูก และจัดกลุ่มไอโซเลทเชื้อตามแหล่งที่มาของเชื้อรา พบว่าเชื้อราจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีความสามารถในการเข้าทำลายพันธุ์ข้าวที่ส่งเสริมการปลูกในภูมิภาคต่างๆ ได้มากที่สุด คือ สามารถเข้าทำลายพันธุ์ข้าวที่มีพื้นที่ส่งเสริมการปลูกในภาคกลาง (5 ไอโซเลท) รองลงมา คือ ข้าวภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (4 ไอโซเลท) และข้าวภาคเหนือ (2 ไอโซเลท) ตามลำดับ เชื้อราจากภาคกลางสามารถเข้าทำลายพันธุ์ข้าวที่มีพื้นที่ส่งเสริมการปลูกในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลางได้ จำนวน 1 2 และ 2 พันธุ์ ตามลำดับ ส่วนเชื้อราจากภาคเหนือ และภาคตะวันตก สามารถเข้าทำลายพันธุ์ข้าวที่มีพื้นที่ส่งเสริมการปลูกในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง ได้ภูมิภาคละ 1 พันธุ์ ส่วนเชื้อราจากภาคใต้พบว่าก่อโรคไม่รุนแรงหรือไม่สามารถก่อโรคบนข้าวในภูมิภาคใดได้เลย และไม่พบเชื้อราที่สามารถเข้าทำลายพันธุ์ข้าวที่มีพื้นที่การเพาะปลูกในภาคใต้ได้ (ภาพที่ 4.13)

ผลการทดสอบปฏิบัติการก่อโรคของเชื้อราบนข้าวพันธุ์แนะนำ พบว่าเชื้อราไอโซเลท LPG61102 TAK61105 และ STI62110 สามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์แนะนำได้มากที่สุด มีค่าดัชนีความรุนแรงเท่ากับ 0.15 ซึ่งเป็นเชื้อราจากภาคเหนือ ภาคตะวันตก และภาคกลาง เชื้อราสามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์แนะนำในระดับรุนแรงจำนวน 6 พันธุ์ เชื้อราไอโซเลท LPG61102 สามารถเข้าทำลายพันธุ์ข้าวที่ไม่ได้มีพื้นที่ส่งเสริมการปลูกในภาคเหนือได้ คือ ข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 60 กขผ3 และ กข15 ซึ่งมีพื้นที่ส่งเสริมการปลูกในภาคกลางและภาคอีสาน เชื้อราไอโซเลท TAK61105 สามารถเข้าทำลายพันธุ์ข้าวที่ไม่ได้มีพื้นที่ส่งเสริมการปลูกในภาคตะวันตกได้ คือ ข้าวพันธุ์ กข59 พิษณุโลก 60-1 และเหนียวอุบล 1 ซึ่งมีพื้นที่ส่งเสริมการปลูกในภาคกลางและภาคอีสาน และเชื้อราไอโซเลท STI62110 สามารถเข้าทำลายพันธุ์ข้าวที่ไม่ได้มีพื้นที่ส่งเสริมการปลูกในภาคกลางได้ คือ ข้าวพันธุ์เหนียวอุบล 1 สันป่าตอง 1 และ กข15 ซึ่งมีพื้นที่ส่งเสริมการปลูกในภาคเหนือและภาคอีสาน ซึ่งความรุนแรงของเชื้อราในการก่อโรคใหม่ในข้าวแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกัน อาจเป็นเพราะเชื้อราที่มาจากแต่ละพื้นที่มีการก่อโรคที่เฉพาะเจาะจงต่อพันธุ์ข้าวที่มีการปลูกประจำในพื้นที่นั้นๆ และยีนต้านทานโรคใหม่ในข้าวบางพันธุ์แสดงความต้านทานได้เฉพาะพื้นที่และฤดูปลูกข้าว (พูนศักดิ์ และคณะ, 2550) Mekwatanakarn *et al.* (2000) รายงานว่าเชื้อราสาเหตุโรคใหม่ในประเทศไทยมีความแปรปรวนและหลากหลายมากกว่าแหล่งปลูกข้าวอื่น ๆ ของโลก โดยเชื้อราที่มีความแตกต่างกันไปตามแหล่งปลูกข้าว ฤดูปลูก และระยะการเจริญเติบโตของข้าว



ภาพที่ 4.13 จำนวนไอโซเลทของเชื้อราที่แยกได้แต่ละภาค ที่สามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์แนะนำในแต่ละภูมิภาคในประเทศไทย

เมื่อวิเคราะห์ค่าดัชนีความต้านทาน (Resistance Index; RI) ของข้าวพันธุ์แนะนำ พบว่าข้าวพันธุ์ กข14 มีค่าดัชนีความต้านทานอยู่ที่ 1.00 แสดงถึงความสามารถต้านทานต่อเชื้อราได้มากที่สุด (ตารางที่ 4.10) ซึ่งพบว่าไม่มีเชื้อราที่สามารถเข้าทำลายข้าวสายพันธุ์นี้ได้ ข้าวสายพันธุ์นี้เป็นพันธุ์ข้าวรับรองของกรมการข้าวที่มีรายงานความต้านทานโรคไหม้ในประเทศไทย (กรมการข้าว, 2559) และเป็นพันธุ์ข้าวที่ทางกรมการข้าวส่งเสริมให้มีการเพาะปลูกในเขตภาคเหนือตอนบน

เมื่อสร้างแผนภาพเดนโดแกรมเพื่อแสดงความสัมพันธ์ของเชื้อราตามความสามารถในการก่อโรคด้วยโปรแกรม NTSYSpC 2.10p โดยการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน (Similarity coefficient; SimInt) ด้วยวิธี Canberra จากนั้นจัดกลุ่มจากค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนด้วยวิธี SHAN ได้แผนภาพแสดงในภาพที่ 4.14 ที่ระดับความเหมือน 80 เปอร์เซ็นต์ สามารถแบ่งกลุ่มเชื้อราออกเป็น 10 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 มีเชื้อราจำนวน 101 ไอโซเลท กลุ่มที่ 2 – 10 มีกลุ่มละ 1 ไอโซเลท โดยพบว่าเชื้อรากลุ่มที่ไม่ก่อโรคบนข้าวพันธุ์แนะนำ มีค่าดัชนีความรุนแรง (VI) เท่ากับ 0.00 มีจำนวน 100 ไอโซเลท ส่วนใหญ่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน คือ กลุ่มที่ 1 และมีเพียงไอโซเลท PLK61107 ที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ 9 เนื่องจากเชื้อราสามารถก่อโรคได้รุนแรงปานกลางบนข้าวจำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์สังข์หยดพัทลุง และ กข10 และเชื้อราที่ก่อโรคบนข้าวพันธุ์แนะนำได้มากที่สุด คือ ไอโซเลท LPG61102 TAK61105 และ STI62110 ซึ่งมีค่าดัชนีความรุนแรง (VI) อยู่ที่ 0.15 ถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ 4 8 และ 10 ตามลำดับ เชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลทนี้สามารถก่อโรครุนแรงบนข้าวจำนวนทั้งหมด 6 พันธุ์ ซึ่งเชื้อราที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันนั้นอาจมีการเข้าทำลายพันธุ์ข้าวทดสอบพันธุ์เดียวกันในระดับการก่อโรคที่ใกล้เคียงกันหรือเข้าทำลายข้าวพันธุ์ทดสอบที่จำนวนเท่ากันหรือใกล้เคียงกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 ค่าดัชนีความรุนแรง (Virulence index; VI) ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้จำนวน 110 ไอโซเลทบนข้าวพันธุ์แนะนำ 40 พันธุ์

ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	VI	ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	VI
1	KKN61101	0.05	28	SBR61103	0
2	KKN61102	0	29	SBR61104	0
3	KKN61103	0	30	SBR61105	0
4	LPG61102	0.15	31	SBR61106	0.03
5	LRI61103	0	32	TAK61104	0
6	LRI61104	0	33	TAK61105	0.15
7	NST61101	0	34	UDN61106	0
8	NST61102	0	35	UTI61101	0
9	NST61103	0	36	UTI61102	0
10	PCT61101	0	37	UTI61103	0
11	PCT61102	0	38	UTI61104	0
12	PCT61104	0	39	UTI61105	0
13	PLG61121	0	40	UTI61106	0
14	PLG61122	0	41	UTI61107	0
15	PLK61107	0	42	BRM62101	0
16	PLK61108	0	43	BRM62104	0
17	PLK61109	0	44	BRM62117	0
18	PLK61110	0	45	BRM62118	0
19	PNB61104	0	46	CPM62101	0.08
20	PNB61105	0.03	47	CPM62102	0.08
21	PNB61106	0	48	CPM62103	0.03
22	PNB61107	0	49	KKN62107	0
23	PNB61110	0	50	KKN62108	0
24	RBR61109	0	51	KKN62112	0
25	RBR61110	0	52	KKN62113	0
26	RBR61111	0	53	KKN62116	0
27	SBR61101	0	54	KSN62101	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 (ต่อ)

ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	VI	ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	VI
55	KSN62104	0	83	STI62110	0.15
56	KSN62105	0	84	TAK62101	0
57	KSN62106	0	85	TAK62102	0
58	MKM62101	0.13	86	UDN62107	0
59	MKM62102	0	87	UDN62108	0
60	MKM62103	0	88	UTI62101	0
61	MKM62107	0	89	BKN63101	0
62	NBP62102	0	90	BKN63102	0
63	NBP62103	0	91	CMI63102	0
64	NKI62103	0	92	CMI63103	0
65	NKI62104	0	93	CMI63104	0
66	NKI62105	0	94	MSN63101	0
67	NKI62107	0	95	MSN63102	0
68	NKI62108	0	96	MSN63103	0
69	NKI62109	0	97	MSN63104	0
70	PLK62101	0	98	MSN63112	0
71	PYO62101	0	99	MSN63113	0
72	PYO62104	0	100	MSN63114	0
73	PYO62106	0	101	MSN63115	0
74	PYO62116	0	102	MSN63116	0
75	PYO62119	0	103	MSN63117	0
76	PYO62120	0	104	NBP63103	0
77	SKN62103	0	105	NKI63101	0
78	SRN62107	0	106	PYO63101	0
79	SRN62108	0	107	PYO63102	0
80	STI62104	0	108	PYO63104	0
81	STI62108	0	109	PYO63105	0
82	STI62109	0	110	UDN63103	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 ค่าดัชนีความต้านทาน (Resistance index; RI) ของข้าวพันธุ์แนะนำ 40 พันธุ์ ต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้จำนวน 110 ไอโซเลท

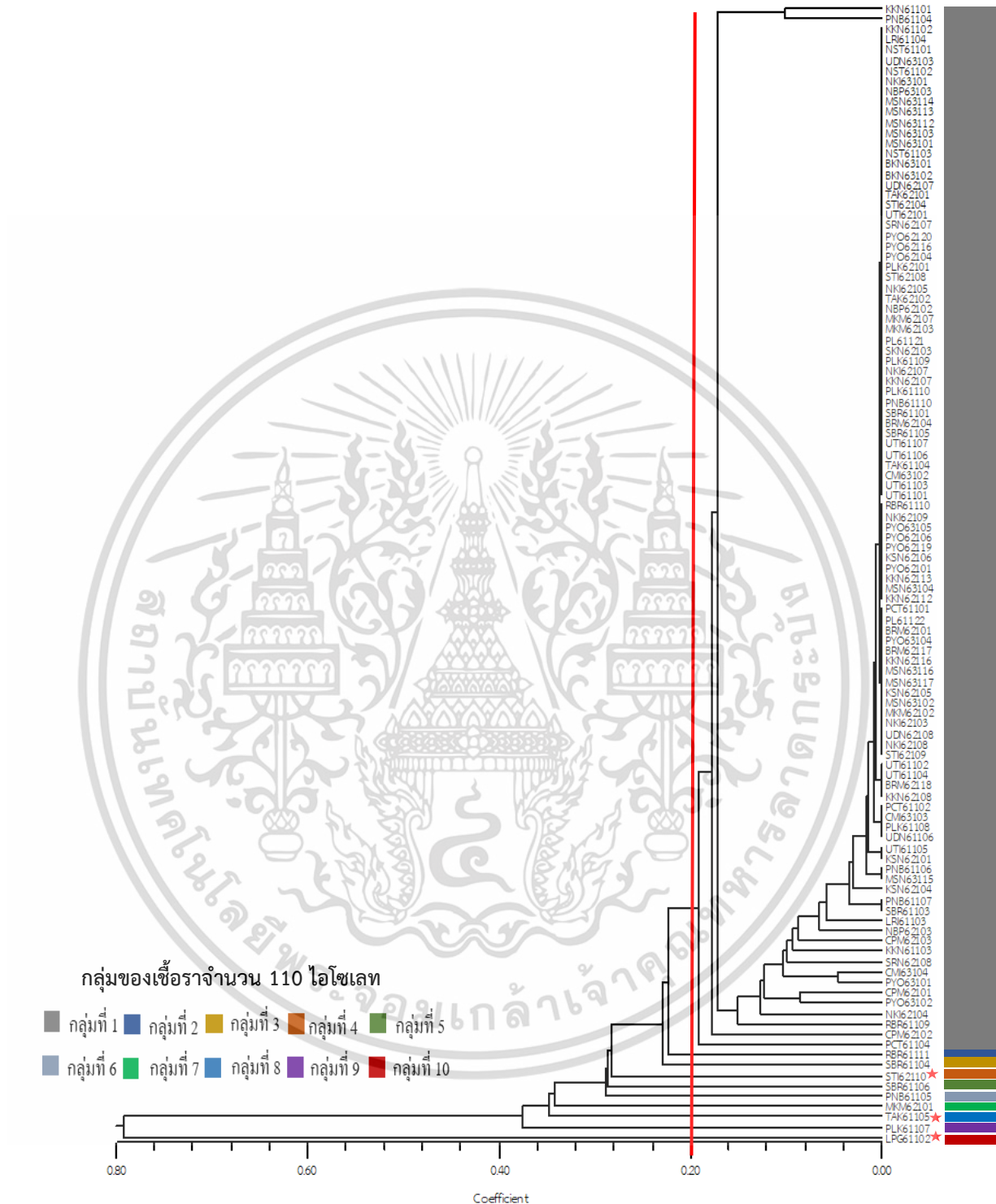
ลำดับที่	ชื่อพันธุ์ข้าว	พื้นที่การเพาะปลูกข้าว	การแสดงออกต่อโรคไหม้ข้าว	RI
1	กข27	ภาคกลาง	ต้านทานต่อโรคไหม้	0.98
2	กข41	ภาคเหนือ	ต้านทานต่อโรคไหม้	0.97
3	กข6	ภาคเหนือและภาคอีสาน	อ่อนแอต่อโรคไหม้	0.92
4	กข43	ไม่พบข้อมูล	ต้านทานต่อโรคไหม้	0.97
5	กข59	ภาคเหนือ	ต้านทานต่อโรคไหม้	0.95
6	กข7	ทุกภูมิภาค	อ่อนแอต่อโรคไหม้	0.89
7	กข61	ภาคเหนือและภาคกลาง	ต้านทานต่อโรคไหม้	0.89
8	เจ้าขาวเชียงใหม่	ภาคเหนือ	ต้านทานต่อโรคไหม้	0.94
9	พิษณุโลก 3	ภาคเหนือ	ไม่พบข้อมูล	0.90
10	เจ้าหอมพิษณุโลก 1	ภาคเหนือและภาคกลาง	ต้านทานต่อโรคไหม้	0.87
11	เจ้าหอมคลองหลวง 1	ภาคกลาง	ต้านทานต่อโรคไหม้	0.95
12	กข31	ภาคกลาง	อ่อนแอต่อโรคไหม้	0.83
13	พิษณุโลก 60-1	ภาคกลาง	ต้านทานต่อโรคไหม้	0.93
14	สุพรรณบุรี 1	ไม่พบข้อมูล	ต้านทานต่อโรคไหม้	0.72
15	เหนียวอุบล 1	ภาคอีสาน	อ่อนแอต่อโรคไหม้	0.89
16	สุพรรณบุรี 2	ภาคกลาง ตะวันออกและตะวันตก	ต้านทานต่อโรคไหม้	0.74
17	สุพรรณบุรี 3	ภาคกลาง	ต้านทานต่อโรคไหม้	0.90
18	พิษณุโลก 2	ไม่พบข้อมูล	อ่อนแอต่อโรคไหม้	0.97
19	สุพรรณบุรี 60	ภาคกลาง ตะวันออกและตะวันตก	ต้านทานต่อโรคไหม้	0.95
20	สุพรรณบุรี 90	ภาคกลาง	ต้านทานต่อโรคไหม้	0.93
21	สกลนคร	ภาคอีสาน	อ่อนแอต่อโรคไหม้	0.95
22	ชัยนาท 1	ไม่พบข้อมูล	ต้านทานต่อโรคไหม้	0.97
23	ปทุมธานี 1	ภาคกลาง	ต้านทานต่อโรคไหม้	0.98

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 (ต่อ)

ลำดับที่	ชื่อพันธุ์ข้าว	พื้นที่การเพาะปลูกข้าว	การแสดงออกต่อโรคไหม้ข้าว	RI
24	เล็บนกปัตตานี	ภาคใต้	อ่อนแอต่อโรคไหม้	0.95
25	พलयงมปราจีนบุรี	ภาคกลางและภาคตะวันออก	ต้านทานต่อโรคไหม้	0.90
26	ปราจีนบุรี 2	ภาคกลางและภาคตะวันออก	ต้านทานต่อโรคไหม้	0.83
27	สังข์หยดพัทลุง	ภาคใต้	อ่อนแอต่อโรคไหม้	0.72
28	หางยี 71	ภาคอีสาน	ต้านทานต่อโรคไหม้	0.87
29	ข้าวหอมแดง	ภาคอีสาน	ต้านทานต่อโรคไหม้	0.63
30	ข้าวญี่ปุ่น DOA1	ภาคเหนือและภาคอีสาน	อ่อนแอต่อโรคไหม้	0.93
31	กข8	ภาคอีสาน	ไม่พบข้อมูล	0.86
32	หอมชลสิทธิ์	ไม่พบข้อมูล	ไม่พบข้อมูล	0.52
33	กขผ3	ภาคกลาง	ต้านทานต่อโรคไหม้	0.51
34	ข้าวญี่ปุ่น DOA2	ภาคเหนือ	อ่อนแอต่อโรคไหม้	0.90
35	กข29	ภาคกลางและภาคเหนือ	ไม่พบข้อมูล	0.78
36	สันป่าตอง 1	ภาคเหนือ	ต้านทานต่อโรคไหม้	0.94
37	แพร์ 1	ภาคเหนือ	อ่อนแอต่อโรคไหม้	0.94
38	กข10	ไม่พบข้อมูล	ไม่พบข้อมูล	0.91
39	กข14	ไม่พบข้อมูล	ต้านทานต่อโรคไหม้	1.00
40	กข15	ภาคเหนือและภาคอีสาน	อ่อนแอต่อโรคไหม้	0.92

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.14 แผนภาพเดนโดแกรมแสดงการจัดกลุ่มเชื้อสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 110 ไอโซเลท ตามรูปแบบปฏิบัติการการก่อโรคบนข้าวพันธุ์แนะนำจำนวน 40 พันธุ์ เชื้อราที่มีค่ามีดัชนีความรุนแรง (VI) สูงสุด คือ ไอโซเลท LPG61102 TAK61105 และ STI62110 (★)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6.2 ผลศึกษาความหลากหลายของรูปแบบปฏิริยาการเกิดโรคของเชื้อราบนข้าวสายพันธุ์ที่มียีนต้านทานเดี่ยว (Near Isogenic Lines; NILs)

ผลการทดสอบปฏิริยาการก่อโรคของเชื้อรา 110 ไอโซเลท บนต้นกล้าข้าว NILs จำนวน 31 สายพันธุ์ ด้วยการพ่นโคนิเดียแขวนลอยลงบนต้นกล้าข้าว ประเมินผลหลังจากการปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 วัน โดยให้ระดับคะแนนการเกิดโรค 0 – 6 และจัดกลุ่มระดับคะแนน ดังนี้ กลุ่มที่ 1 มีผลคะแนน 0 – 2 คือ ข้าวแสดงอาการแผลจุดตาย หรือ necrotic lesion แสดงถึงลักษณะความต้านทาน และเป็นผลมาจากปฏิริยาระหว่าง *R* gene และ *AVR* gene กลุ่มที่ 2 มีผลคะแนน 3 – 4 ข้าวแสดงลักษณะต้านทานปานกลาง และกลุ่มที่ 3 มีผลคะแนน 5 – 6 ข้าวแสดงถึงความอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา ซึ่งแสดงว่าไม่ปรากฏปฏิริยาระหว่าง *R* gene และ *AVR* gene จากนั้นนำผลคะแนน 5 – 6 ที่เกิดจากการปลูกเชื้อไปคำนวณค่าดัชนีความรุนแรง (Virulence Index; VI) ของเชื้อราแต่ละไอโซเลท โดยคัดเลือกเฉพาะไอโซเลทที่มีผลคะแนน 5 – 6 บนข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 หรือ LTH ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอไปคำนวณพบเชื้อรา 10 ไอโซเลท มีค่า VI อยู่ระหว่าง 0 ถึง 0.35 (ตารางที่ 4.12)

เมื่อวิเคราะห์ค่าดัชนีความรุนแรง (Virulence Index; VI) ของเชื้อรา พบว่ามีค่า VI ตั้งแต่ 0 – 0.35 โดยเชื้อราที่ก่อโรคบนข้าว NILs ได้มากที่สุด (VI = 0.35) คือ ไอโซเลท STI62110 จากจังหวัดสุโขทัย รองลงมาคือ ไอโซเลท TAK61105 จากจังหวัดตาก (VI = 0.23) แสดงให้เห็นว่าเชื้อราไอโซเลท STI62110 ไม่มียีนก่อโรค 11 ยีน ได้แก่ ยีน *AVR-Pia AVR-Piks AVR-Piz AVR-Piz-t AVR-Pita AVR-Pib AVR-Pish AVR-Pi1 AVR-Pi12 AVR-Pi11* และ *AVR-Piz-5* และไอโซเลท TAK61105 ไม่มียีนก่อโรค 12 ยีน ได้แก่ ยีน *AVR-Pia AVR-Pish AVR-Pik AVR-Pikp AVR-Pikh AVR-Piks AVR-Pita AVR-Pita-2 AVR-Pi3 AVR-Pi5(t) AVR-Pi12* และ *AVR-Pi11* และพบว่าเชื้อราที่ไม่ก่อโรค (Score 0 – 2) บนข้าว NILs มีจำนวน 10 ไอโซเลท มีค่า VI เท่ากับ 0.00 แสดงว่าข้าวอาจไม่ใช่พืชอาศัยของเชื้อราเหล่านี้ (ตารางที่ 4.12)

ตารางที่ 4.12 ค่าดัชนีความรุนแรง (Virulence index; VI) ของเชื้อราสาเหตุโรคใหม่จำนวน 10 ไอโซเลทบนข้าว NILs 31 สายพันธุ์

ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	VI	ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	VI
1	KKN61101	0.19	6	MKM62101	0
2	SBR61106	0.03	7	PNB61105	0.19
3	CPM62101	0	8	TAK61105	0.23
4	CPM62102	0	9	STI62110	0.35
5	CPM62103	0.03	10	LPG61102	0.13

ผลการวิเคราะห์ค่าดัชนีความต้านทาน (Resistance Index; RI) ของข้าว NILs โดยใช้ผลคะแนนระหว่าง 0 – 2 ของเชื้อราจำนวน 10 ไอโซเลท ผลการวิเคราะห์พบว่า มีค่า RI ตั้งแต่ 0.20 – 1.00 โดยพบว่า ข้าว NILs สายพันธุ์ IRBLkm-Ts IRBL9-W IRBL20-IR24 และ IRBLta-CP1 ที่มียีนต้านทาน *Pikm Pi9 Pi20* และ *Pi-ta* มีค่า RI เท่ากับ 1.00 ซึ่งเชื้อรา 10 ไอโซเลท อาจมียีน *AVR-Pikm AVR-Pi9 AVR-Pi20* และ *AVR-Pi-ta* ที่เข้าคู่ (compatible) กับ *Pikm Pi9 Pi20* และ *Pi-ta* ตามลำดับ ในขณะที่ข้าว NILs สายพันธุ์ IRBLa-A ที่มียีนต้านทาน *Pia* มีค่า RI ต่ำที่สุดคือ 0.20 (ภาพที่ 4.15, ตารางที่ 4.13)

จากการวิเคราะห์ผลการทดลองพบว่ายีนต้านทาน *Pia* ไม่สามารถต้านทานต่อเชื้อราจำนวน 8 ไอโซเลท โดยเชื้อราสามารถก่อโรครุนแรงบนข้าวสายพันธุ์ IRBLa-A ด้วยเหตุนี้ยีนต้านทาน *Pia* จึงไม่เหมาะสำหรับนำมาใช้เป็นยีนต้านทานในการปรับปรุงพันธุ์ข้าว จากรายงานของ Hu *et al.* (2022) ทำการปลูกเชื้อลงบนข้าวพันธุ์ IRBLa-A ที่มียีนต้านทาน *Pia* พบว่าเชื้อราทุกไอโซเลทที่ใช้ในการทดสอบสามารถก่อโรครุนแรงบนข้าวพันธุ์ IRBLa-A ซึ่งแสดงให้เห็นว่าข้าวพันธุ์ IRBLa-A ที่มียีนต้านทาน *Pia* อาจเริ่มสูญเสียความต้านทานหรือไม่สามารถต้านทานต่อเชื้อราได้ และเชื้อราที่ก่อโรครุนแรงบนข้าว NILs ส่วนใหญ่ไม่มียีนก่อโรคที่มีปฏิสัมพันธ์กับยีนต้านทานในข้าว ได้แก่ ยีน *Pia Pi19 Pita Pita2* และ *Piks* ยีนก่อโรคเหล่านี้อาจเป็นยีนที่ไม่จำเป็นในการก่อโรคของเชื้อราที่แยกได้จากหญ้า ตามรายงานของ Chung *et al.* (2020) ที่ศึกษาการกระจายตัวของยีนก่อโรค (*AVR gene*) ในเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 198 ไอโซเลท ที่แยกได้จากข้าว และพืชอาศัยที่แตกต่างกัน 5 ชนิด (หญ้าก้ามปู หญ้าหางจิ้งจอกเขียว หญ้าปล้องข้าวนก ข้าวฟ่างไม้กวาด และข้าวฟ่างหางจิ้งจอก) โดยใช้เทคนิค PCR ในการตรวจสอบยีนที่จำเพาะกับยีนก่อโรค จำนวน 8 ยีน ได้แก่ *AVR-Pita AVR-Pita3 AVR-Pia AVR-Pikm AVR-Piz-t AVR1-CO39 PWL2* และ *ACE1* จากรายงานพบว่าการกระจายตัวของยีนในเชื้อราแต่ละไอโซเลท ขึ้นอยู่กับพืชอาศัยของเชื้อรา ไอโซเลทที่แยกได้จากหญ้าปล้องข้าวนก และข้าวฟ่างไม้กวาด มีจำนวนยีนก่อโรคมามากที่สุด เชื้อราที่แยกได้จากหญ้าปล้องข้าวนกทั้งหมด มียีน *AVR-Pita3 AVR-Pia AVR-Pikm AVR-Piz-t AVR1-CO39 PWL2* และ *ACE1* และมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อราที่ศึกษามียีน *AVR-Pita* และ *AVR-Pii* เชื้อราที่แยกได้จากข้าวฟ่างไม้กวาด มียีนก่อโรคทั้งหมด ยกเว้นยีน *AVR-Pita* เชื้อราที่แยกได้จากหญ้าก้ามปู และหญ้าหางจิ้งจอกเขียว มียีนก่อโรคที่เหมือนกันและมีเชื้อราเพียง 10 เปอร์เซ็นต์ ที่มียีนก่อโรค ยีน *AVR-Pii* และ *AVR-Piz-t* ในส่วนของเชื้อราที่แยกได้จากข้าว 82.40 – 100 เปอร์เซ็นต์ มียีนก่อโรค *AVR-Pita AVR-Pita3 AVR-Pikm AVR-Piz-t PWL2* และ *ACE1* ในขณะที่ยีน *AVR-Pia AVR-Pii* และ *AVR1-CO39* พบน้อยมาก ยีน *PWL2* พบมากที่สุด ในเชื้อราที่แยกได้จากข้าวฟ่างหางจิ้งจอก

จากผลการทดลองนี้พบว่าเชื้อราทั้ง 10 ไอโซเลท สามารถเข้าทำลาย NILs ได้แตกต่างกัน และเชื้อราถูกจัดอยู่ในกลุ่มตามแผนภาพเวนน์ไดอะแกรมกลุ่มที่ 1 – 3 เมื่อเปรียบเทียบยีนก่อโรคของเชื้อราทั้งสามกลุ่มกับความสามารถในการก่อโรคบนพืชอาศัย พบว่าเชื้อราในกลุ่มที่ 1 (ก่อโรคบนพืชอาศัยทุก

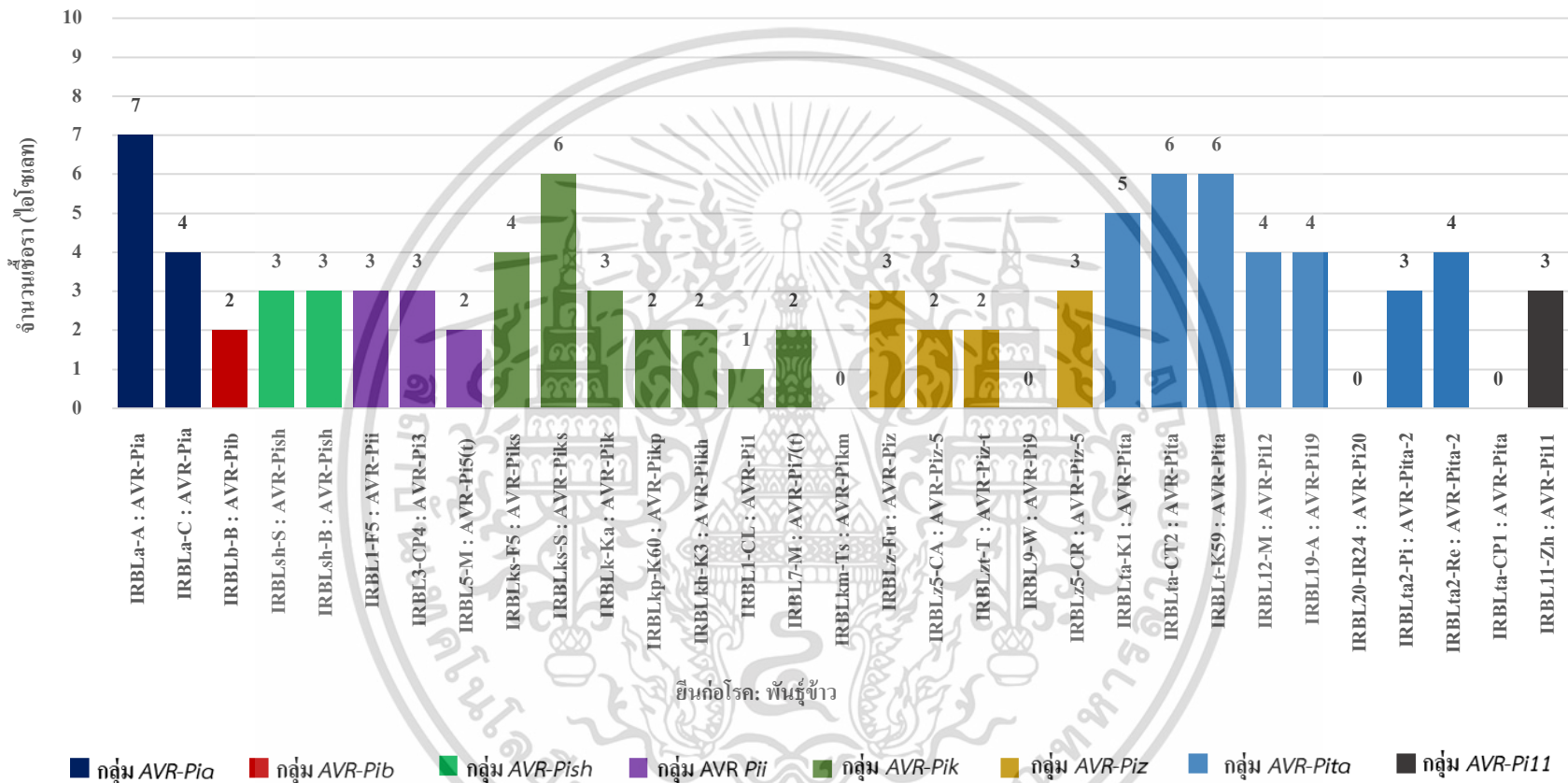
ชนิด) ส่วนใหญ่มียีน AVR-Pia AVR-Pii AVR-Pikp AVR-Piz AVR-Piz-t AVR-Pita AVR-Pib AVR-Pish AVR-Pi1 AVR-Pi7(t) AVR-Pi9 AVR-Pi19 AVR-Pikm และ AVR-Pi20 เชื้อรากลุ่มที่ 2 (ก่อโรคนข้าว ข้าวสาลี และหญ้า แต่ไม่ก่อโรคนข้าวบาร์เลย์) ยีนก่อโรคที่พบมากที่สุดคือ AVR-Pia AVR-Pikh AVR-Piz-5 AVR-Pib AVR-Pita AVR-Pish AVR-Pi1 AVR-Pi12 AVR-Pikm AVR-Pi9 AVR-Pi20 AVR-Pi11 และ AVR-Pita-2 และกลุ่มที่ 3 (ก่อโรคนข้าว ข้าวบาร์เลย์ และหญ้า แต่ไม่ก่อโรคนข้าวสาลี) ยีนก่อโรคที่พบคือ AVR-Pii AVR-Pik AVR-Pikp AVR-Pikh AVR-Piz-5 AVR-Pi3 AVR-Pi5(t) AVR-Pi7(t) AVR-Pi9 AVR-Pi12 AVR-Pikm AVR-Pi20 AVR-Pita และ AVR-Pita-2 ซึ่งยีนเหล่านี้อาจจะมีความสำคัญต่อเชื้อราสำหรับการก่อโรคใหม่ นอกจากนี้ยังพบว่ายีนก่อโรคในเชื้อราทั้งสามกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน ยีนก่อโรคที่พบในเชื้อรากลุ่มที่ 1 สามารถพบได้ในเชื้อรากลุ่มที่ 2 และ 3 เช่นกัน ในขณะที่ความสามารถในการก่อโรคใหม่ของเชื้อราทั้งสามกลุ่มมีความแตกต่างกัน ดังนั้นการที่เชื้อราสามารถก่อโรคใหม่บนข้าวได้ อาจไม่ได้ขึ้นอยู่กับยีนก่อโรคเพียงอย่างเดียว แต่อาจขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ ที่ส่งผลต่อการเกิดโรค เช่น สภาพแวดล้อม การเจริญเติบโตของพืช และความต้านทานของพืช Longya *et al.* (2020) ได้รายงานวาลักษณะสัณฐานและพันธุกรรมของประชากรเชื้อราสาเหตุโรคนข้าวในประเทศไทยมีความหลากหลายสูง ความแปรปรวนทางพันธุกรรม หรือการปรับตัวของจีโนมของเชื้อราเป็นกลไกหนึ่งที่เชื้อราใช้ในการหลีกเลี่ยงกระบวนการต้านทานโรคของข้าว ทำให้เชื้อราสามารถเข้าทำลายข้าวได้

เมื่อวิเคราะห์ระดับคะแนนและสร้างแผนภาพเดนโดแกรมเพื่อแสดงความสัมพันธ์ของเชื้อราตามความสามารถในการก่อโรคด้วยโปรแกรม NTSYSpc 2.10p โดยการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือน (Similarity coefficient; SimInt) ด้วยวิธี Canberra จากนั้นจัดกลุ่มจากค่าสัมประสิทธิ์ความเหมือนด้วยวิธี SHAN ได้แผนภาพแสดงในภาพที่ 4.16 ที่ระดับความเหมือน 60 เปอร์เซ็นต์ สามารถแบ่งกลุ่มเชื้อราออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 มีเชื้อราเพียง 1 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท KKN61101 กลุ่มที่ 2 มีเชื้อราจำนวน 6 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท SBR61106 CPM62101 CPM62102 CPM62103 MKM62101 และ LPG61102 กลุ่มที่ 3 มีจำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท PNB61105 และ STI62110 และกลุ่มที่ 4 มีเพียง 1 ไอโซเลท คือ ไอโซเลท TAK61105 และเชื้อราที่ก่อโรคนข้าว NILs ได้มากที่สุด คือ ไอโซเลท STI62110 ซึ่งมีค่าดัชนีความรุนแรง (VI) อยู่ที่ 0.35 ถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ 3 สามารถก่อโรคนข้าว NILs ได้รุนแรง จำนวนทั้งหมด 11 สายพันธุ์

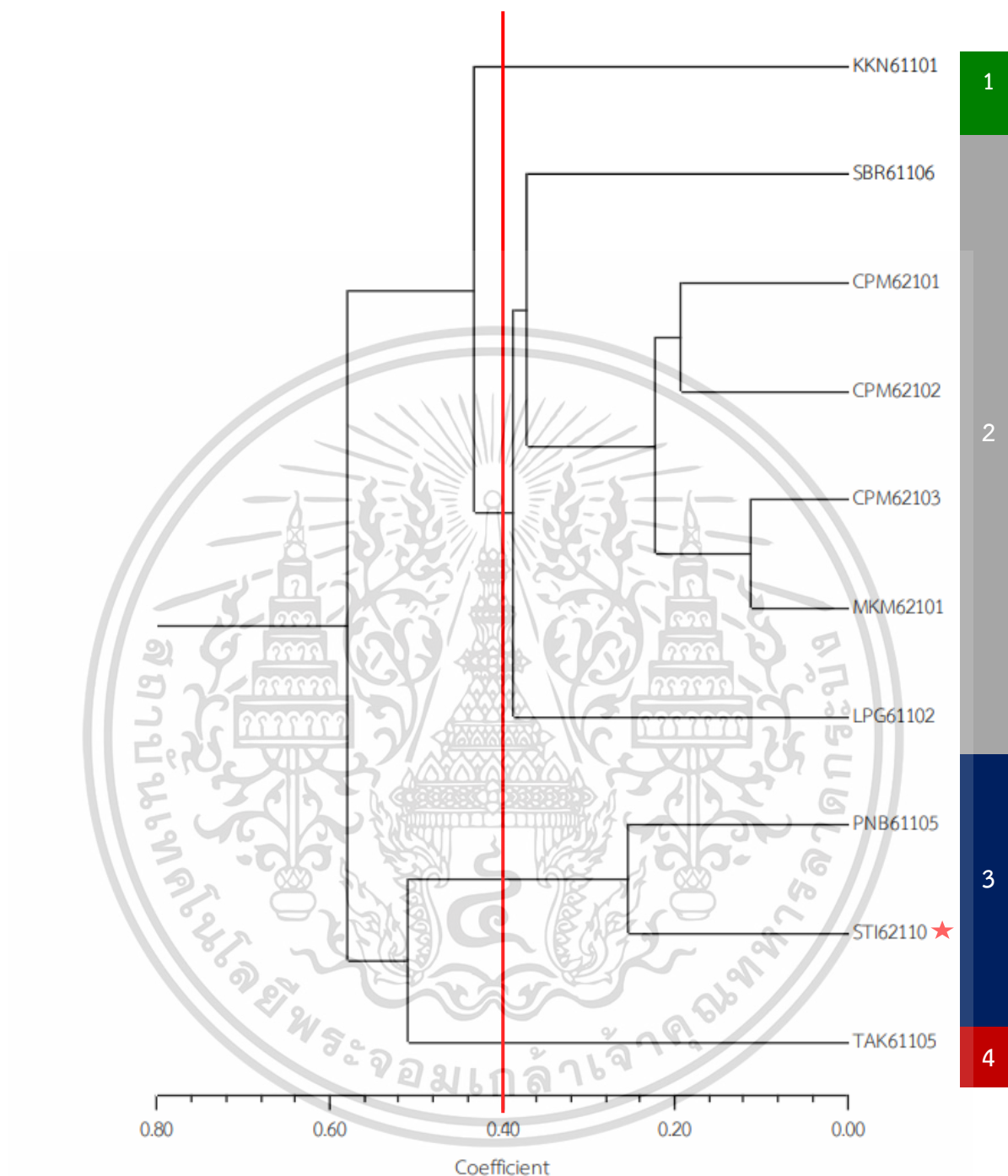
ตารางที่ 4.13 ค่าดัชนีความต้านทาน (Resistance index; RI) ของข้าว NILs 31 สายพันธุ์ ต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้จำนวน 10 ไอโซเลต

ลำดับที่	ยีนต้านทาน : พันธุ์ข้าว	RI	ลำดับที่	ยีนต้านทาน : พันธุ์ข้าว	RI
1	AVR-Pia : IRBLa-A	0.2	17	AVR-Pish : IRBLsh-B	0.7
2	AVR-Pia : IRBLa-C	0.6	18	AVR-Pi1 : IRBL1-CL	0.9
3	AVR-Pij : IRBL1-F5	0.7	19	AVR-Pi3 : IRBL3-CP4	0.7
4	AVR-Piks : IRBLks-F5	0.6	20	AVR-Pi5(t) : IRBL5-M	0.8
5	AVR-Piks : IRBLks-S	0.4	21	AVR-Pi7(t) : IRBL7-M	0.8
6	AVR-Pik : IRBLk-Ka	0.7	22	AVR-Pi9 : IRBL9-W	1
7	AVR-Pikp : IRBLkp-K60	0.8	23	AVR-Pi12 : IRBL12-M	0.6
8	AVR-Pikh : IRBLkh-K3	0.8	24	AVR-Pi19 : IRBL19-A	0.6
9	AVR-Piz : IRBLz-Fu	0.7	25	AVR-Pikm : IRBLkm-Ts	1
10	AVR-Piz-5 : IRBLz5-CA	0.8	26	AVR-Pi20 : IRBL20-IR24	1
11	AVR-Piz-t : IRBLzt-T	0.8	27	AVR-Pita-2 : IRBLta2-Pi	0.7
12	AVR-Pita : IRBLta-K1	0.5	28	AVR-Pita-2 : IRBLta2-Re	0.6
13	AVR-Pita : IRBLta-CT2	0.4	29	AVR-Pita : IRBLta-CP1	1
14	AVR-Pib : IRBLb-B	0.8	30	AVR-Pi11 : IRBL11-Zh	0.7
15	AVR-Pita : IRBLt-K59	0.4	31	AVR-Piz-5 : IRBLz5-C(R)	0.7
16	AVR-Pish : IRBLsh-S	0.7			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.15 จำนวนเชื้อราที่แสดงปฏิกิริยา compatible (5 – 6; เกิดโรครุนแรง) บนข้าว NILs ที่มียืนต้นทานเดียว จำนวน 31 พันธุ์ จัดกลุ่มตามแอลลีลของ ยีนก่อโรคใหม่



ภาพที่ 4.16 แผนภาพการจัดกลุ่มเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 10 ไอโซเลท ตามรูปแบบปฏิกิริยาการก่อโรคบนข้าวพันธุ์ที่มียืนต้นทานเดี่ยว (Near Isogenic Lines; NILs) เชื้อราที่มีค่ามีดัชนีความรุนแรง (VI) สูงสุด คือ ไอโซเลท STI62110 (★)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

ผลการสำรวจและเก็บตัวอย่างโรคไหม้ข้าวในเขตภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก ภาคตะวันตก และภาคใต้ ของประเทศไทยในฤดูปลูกปี พ.ศ. 2561 จำนวน 66 ตำแหน่ง ปี พ.ศ. 2562 จำนวน 59 ตำแหน่ง และปี พ.ศ. 2563 จำนวน 75 ตำแหน่ง สามารถเก็บตัวอย่างรวมทั้ง 3 ปีได้ 200 ตำแหน่ง แยกเชื้อราได้สปอร์เดี่ยวจำนวน 110 ไอโซเลท ผลศึกษาลักษณะทางสัณฐานบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA และ RFA เมื่อเชื้อรามีอายุ 14 วัน พบว่าเชื้อรามีลักษณะแตกต่างกัน คือ ลักษณะโคโลนีของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA มีขอบเรียบจนถึงขอบขรุขระ สีของโคโลนีมีตั้งแต่สีขาว สีเขียว จนถึงสีเทา ดำ ลักษณะสัณฐานบนอาหารเลี้ยงเชื้อ RFA มีลักษณะการเจริญเติบโตและสีของโคโลนีที่แตกต่างกันและสามารถจัดจำแนกได้ 16 กลุ่ม โคินิเดียมีลักษณะตั้งแต่ฐานโค้งมน ปลายแคบ ลักษณะฐานโค้งมนปลายคอดและงุ้มเข้า ลักษณะโค้งคล้ายครีวของค์ และลักษณะคล้ายลูกแพร์ โคินิเดียที่มีความกว้างเฉลี่ยมากที่สุด คือ ไอโซเลท CMI63104 (10.17 ± 0.14 ไมโครเมตร) ส่วนไอโซเลทที่มีความกว้างเฉลี่ยของโคินิเดีย น้อยที่สุดคือ ไอโซเลท STI62110 (5.99 ± 0.30 ไมโครเมตร) ไอโซเลทที่มีความยาวเฉลี่ยของโคินิเดียมากที่สุดคือ ไอโซเลท PNB61107 (32.91 ± 1.14 ไมโครเมตร) และไอโซเลทที่มีความยาวเฉลี่ยของโคินิเดีย น้อยที่สุดคือ ไอโซเลท RBR61109 (19.70 ± 0.45 ไมโครเมตร)

การตรวจสอบรูปแบบเพศของเชื้อรา 110 ไอโซเลท พบแบบของเพศเชื้อราทั้งสองชนิด เชื้อรา จำนวน 16.37 เปอร์เซ็นต์ มีแบบของเพศเป็นแบบ Mat1-1 และ 83.63 เปอร์เซ็นต์ มีแบบของเพศเป็นแบบ Mat1-2 เชื้อราที่แยกได้จากตำบลหนองแม่เฒ่า อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ ตำบลทุ่งยาว อำเภอปาย และตำบลสบป่อง อำเภอปางมะผ้า จังหวัดแม่ฮ่องสอน มีแบบของเพศทั้ง 2 แบบ จึงควรเฝ้าระวังการขยายพันธุ์แบบอาศัยเพศของเชื้อราจากข้าวและหญ้าในพื้นที่ดังกล่าว

ผลการทดสอบปฏิกริยาการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้บนพืชอาศัย พบว่ามีเชื้อราเพียง 6 ไอโซเลท ที่สามารถเข้าทำลายพืชอาศัยได้ทุกชนิด ได้แก่ ไอโซเลท LPG61102 PNB61105 TAK61105 CPM62101 CPM62102 และ MKM62101 และพืชอาศัยที่พบว่ามี ความอ่อนแอต่อเชื้อรามากที่สุด คือ หญ้าชั้นอากาศ หญ้าปล้องข้าวนก และข้าวบาร์เลย์พันธุ์ บรรบ2 พบว่ามีเชื้อราจำนวน 78.18 74.55 และ 70.19 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อราทั้งหมดที่เข้าทำลายได้ และพืชอาศัยที่พบว่ามีเชื้อราเข้าทำลายได้น้อยที่สุด คือ หญ้ามาเลเซีย มีเชื้อราสามารถเข้าทำลายได้เพียง 2 ไอโซเลท หรือคิดเป็น 1.82 เปอร์เซ็นต์ จัดกลุ่มเชื้อราตามความสามารถในการก่อโรคบนพืชอาศัยได้ 7 กลุ่ม คัดเลือกเชื้อราตัวแทนจากแต่ละกลุ่มรวม

26 ไอโซเลท เพื่อส่งวิเคราะห์ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่ง ITS พบว่าลำดับนิวคลีโอไทด์ของเชื้อรา มีความคล้ายคลึงกับลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ ITS ของเชื้อรา *Pyricularia oryzae* และเชื้อรา *P. grisea* โดยเชื้อราที่จัดอยู่ในกลุ่มที่มีความคล้ายคลึงกับ *P. oryzae* มีความสามารถในการเข้าทำลายพืชอาศัยที่ใช้ทดสอบได้แตกต่างกัน แสดงว่าพืชอาศัยไม่ได้เป็นปัจจัยกำหนดสปีชีส์ของเชื้อรา และเชื้อราทั้งสองสปีชีส์สามารถปรับตัวให้เข้าทำลายพืชอาศัยชนิดอื่นๆ

ผลการศึกษาปฏิบัติการการเกิดโรคของเชื้อราบนข้าวพันธุ์แนะนำของไทยจำนวน 40 พันธุ์ พบว่าเชื้อราแต่ละไอโซเลทมีความสามารถในการเข้าทำลายข้าวพันธุ์แนะนำที่ใช้ทดสอบได้แตกต่างกัน เมื่อวิเคราะห์และเปรียบเทียบความสามารถในการเข้าทำลายของเชื้อราตามแผนภาพเวเนนไดอะแกรม พบว่าเชื้อรากลุ่มที่ 1 – 3 สามารถก่อโรครุนแรงบนข้าวพันธุ์ข้าวแนะนำทุกไอโซเลท ส่วนเชื้อราในกลุ่มที่ 4 – 7 ไม่สามารถก่อโรคบนข้าวพันธุ์แนะนำได้ ในกลุ่มที่ 1 เชื้อราที่มีความรุนแรงในการก่อโรคมามากที่สุด คือ ไอโซเลท LPG61102 และ TAK61105 ซึ่งเป็นเชื้อราที่แยกได้จากจังหวัดลำปาง และตาก มีค่าดัชนีความรุนแรง (VI) เท่ากับ 0.15 กลุ่มที่ 2 เชื้อราที่มีความรุนแรงในการก่อโรคมามากที่สุด คือ ไอโซเลท KKN61101 ซึ่งเป็นเชื้อราที่แยกได้จากจังหวัดขอนแก่น มีค่าดัชนีความรุนแรง (VI) เท่ากับ 0.05 และกลุ่มที่ 3 คือ ไอโซเลท STI62110 ซึ่งเป็นเชื้อราที่แยกได้จากจังหวัดสุโขทัย มีค่าดัชนีความรุนแรง (VI) เท่ากับ 0.15 โดยเชื้อราในกลุ่มที่ 1 และ 3 สามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์แนะนำได้มากที่สุด เมื่อจัดกลุ่มเชื้อราตามพื้นที่การเก็บตัวอย่างและพื้นที่เพาะปลูกของข้าวพันธุ์แนะนำ พบว่าเชื้อราจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีความสามารถในการเข้าทำลายข้าวในภูมิภาคต่างๆ ได้มากที่สุด รองลงมาคือเชื้อราจากภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันตก ส่วนเชื้อราจากภาคใต้พบว่าก่อโรคไม่รุนแรงหรือไม่สามารถก่อโรคบนข้าวจากภูมิภาคใดได้ และไม่พบเชื้อราที่สามารถเข้าทำลายพันธุ์ข้าวที่มีพื้นที่การเพาะปลูกในภาคใต้ได้ ข้าวพันธุ์ กข14 มีค่าดัชนีความต้านทานอยู่ที่ 1.00 แสดงถึงความสามารถต้านทานต่อเชื้อราได้ทุกไอโซเลทที่ใช้ทดสอบ ผลการวิเคราะห์การจัดกลุ่มและสร้างแผนภาพความหลากหลายของเชื้อโรคใหม่สามารถจัดกลุ่มได้ 10 กลุ่ม ที่ความเหมือน 80 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเชื้อที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันมีความสามารถในการก่อโรคที่คล้ายกัน มีการเข้าทำลายข้าวพันธุ์ทดสอบที่จำนวนเท่ากัน หรือใกล้เคียงกัน

ผลการทดสอบปฏิบัติการการก่อโรคของเชื้อราบนข้าวที่มียืนต้านทานเดี่ยว (NILs) จำนวน 31 สายพันธุ์ สามารถระบุยืนก่อโรค (AVR gene) ในเชื้อราแต่ละไอโซเลทได้จากปฏิสัมพันธ์ระหว่างโปรตีน AVR ของเชื้อราและโปรตีน R ในข้าว จากจำนวนเชื้อราที่ทดสอบทั้งหมด 110 ไอโซเลท พบว่ามีเชื้อราจำนวน 100 ไอโซเลท ที่ไม่สามารถเข้าทำลายข้าว NILs ได้ แสดงว่าข้าวอาจไม่ใช่พืชอาศัยของเชื้อราเหล่านี้ เมื่อคัดเลือกเฉพาะไอโซเลทที่มีผลคะแนน 5 – 6 บนข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 หรือ LTH ซึ่งเป็น

พันธุ์อ่อนแอไปวิเคราะห์ผล พบว่ามีเชื้อราเพียง 10 ไอโซเลท ที่สามารถก่อโรคบนข้าวทั้งสองพันธุ์ได้ จากนั้นเลือกใช้ผลคะแนนระหว่าง 0 – 2 บนข้าว NILs ที่แสดงปฏิกิริยา incompatible เพื่อระบุยีนก่อโรคที่พบ โดยยีนก่อโรคที่พบมากที่สุด คือ AVR-Pikm AVR-Pi9 AVR-Pi20 และ AVR-Pita คิดเป็น 100 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าเชื้อรา 10 ไอโซเลทอาจมียีนก่อโรคเหล่านี้ และยีนก่อโรคที่พบน้อยที่สุดคือยีน AVR-Pia คิดเป็น 30 เปอร์เซ็นต์ เชื้อที่ก่อโรครุนแรงบนข้าว NILs บางสายพันธุ์แสดงว่าเชื้อราไม่มียีนก่อโรคที่มีปฏิสัมพันธ์กับยีนต้านทานในข้าว ได้แก่ ยีน *Pia Pi19 Pita Pita2* และ *Piks* ยีนก่อโรคเหล่านี้อาจเป็นยีนที่ไม่จำเป็นในการก่อโรคของเชื้อราที่แยกได้จากหญ้า ผลวิเคราะห์ค่าดัชนีความรุนแรง (VI) ของเชื้อรา พบว่าเชื้อราที่สามารถก่อโรคบนข้าว NILs (ระดับคะแนน 5 –6) ได้จำนวนมากที่สุด ได้แก่ STI62110 จากจังหวัดสุโขทัย รองลงมา คือ ไอโซเลท TAK61105 จากจังหวัดตาก มีค่า VI อยู่ที่ 0.35 และ 0.23 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบยีนก่อโรคของเชื้อราทั้งสามกลุ่ม พบว่าเชื้อราในกลุ่มที่ 1 (ก่อโรคบนพืชอาศัยทุกชนิด) ส่วนใหญ่มียีน AVR-Pia AVR-Pii AVR-Pikp AVR-Piz AVR-Piz-t AVR-Pita AVR-Pib AVR-Pish AVR-Pi1 AVR-Pi7(t) AVR-Pi9 AVR-Pi19 AVR-Pikm และ AVR-Pi20 เชื้อราในกลุ่มที่ 2 (ก่อโรคบนข้าว ข้าวสาลี และหญ้า แต่ไม่ก่อโรคบนข้าวบาร์เลย์) ยีนก่อโรคที่พบมากที่สุดคือ AVR-Pia AVR-Pikh AVR-Piz-5 AVR-Pib AVR-Pita AVR-Pish AVR-Pi1 AVR-Pi12 AVR-Pikm AVR-Pi9 AVR-Pi20 AVR-Pi11 และ AVR-Pita-2 และกลุ่มที่ 3 (ก่อโรคบนข้าว ข้าวบาร์เลย์ และหญ้า แต่ไม่ก่อโรคบนข้าวสาลี) ยีนก่อโรคที่พบคือ AVR-Pii AVR-Pik AVR-Pikp AVR-Pikh AVR-Piz-5 AVR-Pi3 AVR-Pi5(t) AVR-Pi7(t) AVR-Pi9 AVR-Pi12 AVR-Pikm AVR-Pi20 AVR-Pita และ AVR-Pita-2 นอกจากนี้ยังพบว่ายีนก่อโรคที่พบในเชื้อราทั้งสามกลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน ยีนก่อโรคที่พบในเชื้อราในกลุ่มที่ 1 สามารถพบได้ในเชื้อราในกลุ่มที่ 2 และ 3 เช่นกัน ในขณะที่ความสามารถในการก่อโรคใหม่ของเชื้อราทั้งสามกลุ่มมีความแตกต่างกัน ดังนั้นการที่เชื้อราสามารถก่อโรคใหม่บนข้าวได้อาจไม่ได้ขึ้นอยู่กับยีนก่อโรคเพียงอย่างเดียว แต่อาจขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ ที่ส่งผลต่อการเกิดโรค เช่น สภาพแวดล้อม การเจริญเติบโตของพืช และความต้านทานของพืช

เอกสารอ้างอิง

กรมการข้าว. 2559. **องค์ความรู้เรื่องข้าว**. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก:

<http://www.ricethailand.go.th/rkb3/title-index.php-file=content.php&id=116.htm>.

บุญสม บุษบรรณ และ สายสมร ลำยอง. 2555. “ความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ (*Pyricularia* spp.) และการผลิตสารออกฤทธิ์ต้านราสาเหตุโรคไหม้ของข้าวจากราเอนโดไฟท์ที่แยกได้จากพืชใบเลี้ยงเดี่ยว”: **รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์** (No. 76633). สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม. 45 หน้า.

พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์. 2548. “ความหลากหลายและแนวทางการพัฒนาข้าวต้านทานโรคไหม้.” **เอกสารวิชาการ**. ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี: กรมวิชาการเกษตร. 61 หน้า.

พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ พะยอม โคเบลล์ อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ ถนอมจิตร ฤทธิมนตรี กุลชนา เกศสุวรรณ ชนสิริน กลิ่นมณี และ สงวน เทียงดีฤทธิ์. 2550. “การตรวจสอบความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวในประเทศไทย.” **วารสารวิชาการข้าว**. 1(1): 52 – 64.

สรินนา อ่างรุ่ง ธิดา เดชฮวบ เนตรนภิส เขียวขำ อรุมา เพี้ยซ้าย วันวิสา ศิริวรรณ และ ศรีเมฆ ชาวโพพาง. 2560. “การจำแนกเชื้อรา *Pyricularia* species ที่แยกจากข้าวและหญ้าด้วยลักษณะสัณฐานวิทยา และ Pot2 rep – PCR.” **วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร**. 49(1): 27 – 43.

เสาวลักษณ์ อัคราช ประภา ศรีพิจิตต์ และ ธาณี ศรีวงศ์ชัย. 2554. “การวิเคราะห์จัดกลุ่มความต้านทานเชื้อโรคไหม้ของข้าวพันธุ์ปรับปรุงด้วยเชื้อที่เก็บรวบรวมใหม่.” หน้า 581 – 588. ใน **เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 49: สาขาพืช**. กรุงเทพมหานคร. 659 หน้า.

อนงค์ จันท์ศรีกุล และ นันทินี ศรีจุมปา. 2542. “โรคไหม้ของต้นหงส์เหิร ก้ามกุ้งสีทอง ข้าว และวัชพืช.” **เพื่อนเกษตร**. 10(10): 34 – 40.

อภิชาติ วรรณวิจิตร ธาณี ศรีวงศ์ชัย และ ธีรยุทธ ตูจันดา. 2552. “การค้นหายีนต้านทานโรคไหม้ในข้าว.” หน้า 1 – 2. ใน **นิทรรศการงานวิจัยบนเส้นทางงานวิจัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วันที่ 30 มกราคม – 7 กุมภาพันธ์ 2552 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพมหานคร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์**.

Agrios, G.N. 1988. **Plant Pathology**, 3rd. ed. Academic Press, Incorporation: New York 803 p.

Agrios, G.N. 1997. **Plant Pathology**, 4th ed. Academic Press, Incorporation: California 635 p.

- Al Noman, M.A., Hosen, S. and Shamsi, S. 2021. "Morphological and molecular characterization of *Pyricularia oryzae* isolates causing wheat blast in Bangladesh." **Indian Phytopathology** 74: 123 – 131.
- Borromeo, E.S., Nelson, R.J., Bonman, J.M. and Leung, H. 1993. Genetic differentiation among isolates of *Pyricularia* infecting rice and weed hosts. **Journal of Phytopathology** 83: 393 – 399.
- Castroagudín, V.L., Moreira, S.I., Pereira, D.A., Moreira, S.S., Brunner, P.C., Maciel, J.L. and Ceresini, P.C. 2016. "*Pyricularia graminis-tritici*, a new *Pyricularia* species causing wheat blast." **Persoonia-Molecular Phylogeny and Evolution of Fungi** 37(1): 199 – 216.
- Ceresini, P.C., Castroagudín, V.L., Rodrigues, F.Á., Rios, J.A., Aucique-Pérez, C.E., Moreira, S.I. and McDonald, B.A. 2019. "Wheat blast: from its origins in South America to its emergence as a global threat." **Molecular Plant Pathology** 20(2): 155 – 172.
- Cesari, S., Thilliez, G., Ribot, C., Chalvon, V., Michel, C., Jauneau, A. and Kroj, T. 2013. "The rice resistance protein pair RGA4/RGA5 recognizes the *Magnaporthe oryzae* effectors AVR-Pia and AVR1-CO39 by direct binding." **The Plant Cell** 25(4): 1463 – 1481.
- Cesari, S., Kanzaki, H., Fujiwara, T., Bernoux, M., Chalvon, V., Kawano, Y., Shimamoto, K., Dodds, P., Terauchi, R. and Kroj, T. 2014. "The NB-LRR proteins RGA4 and RGA5 interact functionally and physically to confer disease resistance." **The European Molecular Biology Organization Journal** 33: 1941 – 59.
- Chandrasrikul, A. and Srijumpa, N. 1999. "Blast disease of Globba, Heliconia, rice and weeds." **Pueankaset** 10(10): 34 – 40.
- Chumley, F.G. and Valent, B. 1990. "Genetic analysis of melanin deficient, nonpathogenic mutants of *Magnaporthe grisea*." **Molecular Plant - Microbe Interaction** 3: 135 – 143.
- Chung, H., Goh, J., Han, S.S., Roh, J.H., Kim, Y., Heu, S., Shim, H.K., Jeong, D.G., Kang, I.J. and Yang, J.W. 2020. "Comparative pathogenicity and host ranges of *Magnaporthe oryzae* and related species." **The Plant Pathology Journal** 36(4): 305 – 313.

- D'Ávila, L.S., Lehner, M.S., Filippi, M.C.C., Scheuermann, K.K. and Del Ponte, E.M. 2016. "Genetic structure and mating type analysis of the *Pyricularia oryzae* population causing widespread epidemics in southern Brazil." **Tropical Plant Pathology** 41(5): 297 – 305.
- De Assis Reges, J.T., Negrisoli, M.M., Dorigan, A.F., Castroagudín, V.L., Maciel, J.L.N. and Ceresini, P.C. 2016. "*Pyricularia pennisetigena* and *P. zingibericola* from invasive grasses infect signal grass, barley and wheat." **Pesquisa Agropecuária Tropical** 46(2): 206 – 214.
- Flor, H.H. 1971. "Current status of the gene-for-gene concept." **Annual Review of Phytopathology** 9: 275 – 296.
- Gladieux, P., Condon, B., Ravel, S., Soanes, D., Maciel, J.L.N., Nhani Jr, A. and Fournier, E. 2018. "Gene flow between divergent cereal- and grass-specific lineages of the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*." **The American Society for Microbiology** 9(1): 19 – 17.
- Han, J., Wang, X., Wang, F., Zhao, Z., Li, G., Zhu, X. and Chen, L. 2021. "The fungal effector Avr-Pita suppresses innate immunity by increasing COX activity in rice mitochondria." **Rice** 14: 1 – 11.
- Hashioka, Y. 1965. "Effect of environmental factors development of causal fungus, infection, disease development and epidemiology in rice blast disease." pp 153 – 161. in Ou, S.H. (ed). **Rice Blast Disease**. International Rice Research Institute, Los Banos, Laguna, Philippines.
- Hawksworth, D.L. 2011. "A new dawn for the naming of fungi: impacts of decisions made in Melbourne in July 2011 on the future publication and regulation of fungal names." **International Mycological Association** 2(2): 155 – 162.
- Heath, M.C., Valent, B., Howard, R.J. and Chumley, F.G. 1990. "Interactions of two strains of *Magnaporthe grisea* with rice, goose grass, and weeping love grass." **Canadian Journal of Botany** 68:1627 – 1637.
- Hu, Z.J., Huang, Y.Y., Lin, X.Y., Feng, H., Zhou, S.X., Xie, Y., and Wang, W.M. 2022. "Loss and natural variations of blast fungal avirulence genes breakdown rice resistance genes in the Sichuan Basin of China." **Frontiers in Plant Science** 13: 788876.

- Hussin, N.A. 2020. "Isolation and characterization of *Pyricularia oryzae* isolated from lowland rice in Sarawak, Malaysian Borneo." **Malaysian Journal of Microbiology** 16(1): 58 – 67.
- Kankanala, P., Mosquera, G., Khang, C.H., Ponce, G.V. and Valent, B. 2009. "Cellular and molecular analyses of biotrophic invasion in rice blast disease." pp. 83 – 91. in Wang, G.L. and Valent, B. (eds). **Advances in Genetics, Genomics and Control of Rice Blast Disease**. Dordrecht, Springer Netherlands.
- Kanzaki, H., Yoshida, K., Saitoh, H., Fujisaki, K., Hirabuchi, A., Alaux, L. and Terauchi, R. 2012. "Arms race coevolution of *Magnaporthe oryzae* AVR-Pik and rice *Pik* genes driven by their physical interactions." **The Plant Journal** 72(6): 894 – 907.
- Kato, H., Yamaguchi, T., and Nishihara, N. 1976. The perfect state of *Pyricularia oryzae* Cav. in culture. **Japanese Journal of Phytopathology** 42(4): 507 – 510.
- Kirtphaiboon, S., Humphries, U., Khan, A and Yusuf, A. 2021. "Model of rice blast disease under tropical climate conditions." **Chaos, Solitons and Fractals** 143: 110530.
- Klaubauf, S., Tharreau, D., Fournier, E., Groenewald, J.Z., Crous, P.W., De Vries, R.P. and Lebrun, M.H. 2014. "Resolving the polyphyletic nature of *Pyricularia* (*Pyriculariaceae*)." **Studies in Mycology** 79: 85 – 120.
- Kolmer, J.A. and Ellingboe, A.H. 1988. "Genetic relationships between fertility and pathogenicity and virulence to rice in *Magnaporthe grisea*." **Canadian Journal of Botany** 66(5): 891 – 897.
- Leung, H., and Williams, P.H. 1985. "Genetic analyses of electrophoretic enzyme variants, mating type, and hermaphroditism in *Pyricularia oryzae* Cavara." **Canadian Journal of Genetics and Cytology** 27(6): 697 – 704.
- Longya, A., Chaipanya, C., Franceschetti, M., Maidment, J.H.R., Banfield, M.J. and Jantasuriyarat, C. 2019. "Gene duplication and mutation in the emergence of a novel aggressive allele of the AVR-Pik effector in the rice blast fungus." **Molecular Plant-Microbe Interactions** 32(6): 740 – 749.

- Longya, A., Talumphai, S. and Jantasuriyarat, C. 2020. "Morphological characterization and genetic diversity of rice blast fungus, *Pyricularia oryzae*, from Thailand using ISSR and SRAP markers." **Journal of Fungi** 6(1): 38.
- Luo, Y., Teng, P.S., Fabellar, N.G. and TeBeest, D.O. 1997. "A rice-leaf blast combined model for simulation of epidemics and yield loss." **Agricultural Systems** 53: 27 – 39.
- Luo, J. and Zhang, N. 2013. "*Magnaporthiopsis*, a new genus in *Magnaporthaceae* (Ascomycota)." **Mycologia** 105(4): 1019 – 1029.
- Mekwatanakarn, P., Kositratana, W., Levy, M. and Zeigler, R.S. 2000. "Pathotype and avirulence gene diversity of *Pyricularia grisea* in Thailand as determined by rice lines near-isogenic for major resistance genes." **Plant Disease** 84: 60 – 70.
- Mekwatanakarn, P., Kositratana, W., Phomraksa, T. and Zeigler, R.S. 1999. "Sexually fertile *Magnaporthe grisea* rice pathogens in Thailand." **Plant Disease** 83: 939 – 943.
- Miki, S., Matsui, K., Kito, H., Otsuka, K., Ashizawa, T., Yasuda, N., Fukiya, S., Sato, J., Hirayae, K., Fujita, Y., Nakajima, T., Tomita, F. and Sone, T. 2009. "Molecular cloning and characterization of the *AVR-Pia* locus from a Japanese field isolate of *Magnaporthe oryzae*." **Molecular Plant Pathology** 10(3): 361 – 374.
- Ou, S.H. 1973. (ed). **Rice Diseases**. Commonwealth Mycological Institute. Kew, England. 368 p.
- Ou, S.H. 1980. "Pathogen variability and host resistance in rice blast disease." **Annual Review of Phytopathology** 18: 167 – 187.
- Ou, S.H. 1985. **Rice Diseases**. Second ed. Commonwealth Mycological Institute. Kew, England. 380 p.
- Park, C.H., Chen, S., Shirsekar, G., Zhou, B., Khang, C.H., Songkumarn, P. and Wang, G.L. 2012. "The *Magnaporthe oryzae* effector Avr-Piz-t targets the RING E3 ubiquitin ligase APIP6 to suppress pathogen-associated molecular pattern-triggered immunity in rice." **The Plant Cell** 24(11): 4748 – 4762.
- Park, C.H., Shirsekar, G., Bellizzi, M., Chen, S., Songkumarn, P., Xie, X., and Wang, G.L. 2016. "The E3 ligase APIP10 connects the effector Avr-Piz-t to the NLR receptor Piz-t in rice." **Public Library of Science** 12(3): e1005529.

- Peyyala, R. and Farman, M.L. 2006. “*Magnaporthe oryzae* isolates causing gray leaf spot of perennial ryegrass possess a functional copy of the AVR1-CO39 avirulence gene.” **Molecular Plant Pathology** 7: 157 – 165.
- Qi, H., Yang, J., Yin, C., Zhao, J., Ren, X., Jia, S., and Zhang, G. 2019. “Analysis of *Pyricularia oryzae* and *P. grisea* from different hosts based on multilocus phylogeny and pathogenicity associated with host preference in China.” **Phytopathology** 109: 1433 – 1440.
- Ray, S., Singh, P.K., Gupta, D.K., Mahato, A.K., Sarkar, C., Rathour, R., Singh, N.K. and Sharma, T.R. 2016. “Analysis of *Magnaporthe oryzae* genome reveals a fungal effector, which is able to induce resistance response in transgenic rice line containing resistance gene, *Pi54*.” **Frontiers in Plant Science** 7: 1 – 16.
- Rini, P., Dipankar, M., and Naik, B.S. 2017. “Effect of different meteorological parameters on the development and progression of rice leaf blast disease in western Odisha.” **International Journal of Plant Protection** 10: 52 – 57.
- Rossmann, A.Y., Howard, R.J. and Valent, B. 1990. “*Pyricularia grisea* the correct name for the rice blast disease fungus.” **Mycologia** 82(4): 509 – 512.
- Roumen, E., Levy, M. and Nottoghem, J.L. 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.
- Samanta, S., Dhua, U., Nayak, S., Behera, L. and K Mukherjee, A. 2014. “Mating types analysis of *Magnaporthe oryzae* populations by molecular methods.” **The Open Biotechnology Journal** 8: 6 – 12.
- Singh, R., Dangol, S., Chen, Y., Choi, J., Cho, Y.S., Lee, J.E. and Jwa, N.S. 2016. “*Magnaporthe oryzae* effector AVR-Pii helps to establish compatibility by inhibition of the rice NADP-malic enzyme resulting in disruption of oxidative burst and host innate immunity.” **Molecules and Cells** 39(5): 426.
- Sirithunya, P., Sreewongchai, T., Sriprakhon, S., Toojinda, T., Pimpisithavorn, S., Kosawang, C. and Smitamana, P. 2008. “Assessment of genetic diversity in Thai isolates of *Pyricularia grisea* by random amplification of polymorphic DNA.” **Journal of Phytopathology** 156(4): 196 – 204.

- Srivastava, D., Shamim, M., Kumar, D., Pandey, P., Khan, N.A. and Singh, K.N. 2014. "Morphological and molecular characterization of *Pyricularia oryzae* causing blast disease in rice (*Oryza sativa*) from north India." **International Journal of Scientific and Research Publications** 4: 1 – 9.
- Sutthiphai, T., Damchuay, K., Neupane, R.C., Longya, A., Sriwongchai, T., Songkumarn, P. and Jantasuriyarat, C. 2022. "Genetic variation of avirulence genes (*AVR-Pi9*, *AVR-Pik*, *AVR-Pita1*) and genetic diversity of rice blast fungus, *Pyricularia oryzae*, in Thailand." **Plant Pathology** 71(2): 322 – 333.
- Suzuki, H. 1975. "Meteorological factors in the epidemiology of rice blast." **Annual Review of Phytopathology** 13: 239 – 256.
- Tang, M., Ning, Y., Shu, X., Dong, B., Zhang, H., Wu, D. and Zhou, B. 2017. "The Nup98 homolog APIP12 targeted by the effector *AVR-Piz-t* is involved in rice basal resistance against *Magnaporthe oryzae*." **Rice** 10: 1 – 11.
- Tansian, P. and Parinthawong, N. 2018. "Mating type and genetic diversity analysis of *Pyricularia oryzae* collected from Thai rice varieties." **International Journal of Agricultural Technology** 14(7): 2041 – 2050.
- Tsuda, M. and Ueyama, A. 1982. "A comment from a taxonomical viewpoint on the perfect state of the blast fungus (abstract in Japanese)." **Annual Review of Phytopathology Japan** 48: 340.
- Urashima, A.S., Igarashi, S. and Kato, H. 1993. "Host range, mating type, and fertility of *Pyricularia grisea* from wheat in Brazil." **Plant Disease** 77: 1211 – 1216.
- Valent, B. and Chumley, F.G. 1994. "Avirulence genes and mechanisms of genetic instability in the rice blast fungus." pp. 111 – 134. in Zeigler, R.S., Leong, S.A. and Teng, P.S. (eds.). **Rice Blast Disease**. Commonwealth Agriculture Bureaux International, Wallingford United Kingdom.
- Valent, B., Farman, M., Tosa, Y., Begerow, D., Fournier, E., Gladieux, P. and Zhang, N. 2019. "*Pyricularia graminis-tritici* is not the correct species name for the wheat blast fungus: response to Ceresini *et al.*" **Molecular Plant Pathology** 20(2): 173.
- Victoria, F.J. and Zeigler, R.S. 1993. "Pathogenic variability in *Pyricularia grisea* at a rice blast "hot spot" breeding site in eastern Colombia." **Plant Disease** 77: 1029 – 1035.

- Wang, R., Ning, Y., Shi, X., He, F., Zhang, C., Fan, J. and Wang, G.L. 2016. “Immunity to rice blast disease by suppression of effector-triggered necrosis.” **Current Biology** 26(18): 2399 – 2411.
- Wang, L., Zhao, L., Zhang, X., Zhang, Q., Jia, Y., Wang, G. and Yang, S. 2019. “Large-scale identification and functional analysis of NLR genes in blast resistance in the Tetep rice genome sequence.” **Proceedings of the National Academy of Sciences** 116(37): 18479 – 18487.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. 1990. “Amplification and direct sequencing of fungi ribosomal RNA genes for phylogenetics.” pp. 315 – 322. in Innis, M.A, Gelfand, D.H, Sninsky, J.J, White, T.J. (eds.). **PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications**. Academic Press, San Diego, United States.
- Wingfield, M.J., De Beer, Z.W., Slippers, B., Wingfield, B.D., Groenewald, J.Z., Lombard, L. and Crous, P.W. 2012. “One fungus, one name promotes progressive plant pathology.” **Molecular Plant Pathology** 13(6): 604 – 613.
- Wu, J., Kou, Y., Bao, J., Li, Y., Tang, M., Zhu, X., Ponaya, A., Xiao, G., Li, J., Li, C., Song, M.Y., Cumagun, C.J.R., Deng, Q., Lu, G., Jeon, J.S., Naqvi, N.I. and Zhou, B. 2015. “Comparative genomics identifies the *Magnaporthe oryzae* avirulence effector AVR-Pi9 that triggers Pi9-mediated blast resistance in rice.” **New Phytologist** 206: 1463 – 1475.
- Yaegashi, H. and Yamada, M. 1986. “Pathogenic race and mating type of *Pyricularia oryzae* from Soviet Union, China, Nepal, Thailand, Indonesia and Colombia.” **Japanese Journal of Phytopathology** 52(2): 225 – 234.
- Yoshida, K., Saitoh, H., Fujisawa, S., Kanzaki, H., Matsumura, H., Yoshida, K., Tosa, Y., Chuma, I., Takano, Y., Win, J., Kamoun, S. and Terauchi, R. 2009. “Association genetics reveals three novel avirulence genes from the rice blast fungal pathogen *Magnaporthe oryzae*.” **Plant Cell** 21(5): 1573 – 1591.
- Younas, M.U., Wang, G., Du, H., Zhang, Y., Ahmad, I., Rajput, N. and Zuo, S. 2023. “Approaches to reduce rice blast disease using knowledge from host resistance and pathogen pathogenicity.” **International Journal of Molecular Sciences** 24(5): 4985.

- Zhai, K., Deng, Y., Liang, D., Tang, J., Liu, J., Yan, B. and He, Z. 2019. "RRM transcription factors interact with NLRs and regulate broad-spectrum blast resistance in rice." **Molecular Cell** 74(5): 996 – 1009.
- Zhang, S., Wang, L., Wu, W., He, L., Yang, X. and Pan, Q. 2015. "Function and evolution of *Magnaporthe oryzae* avirulence gene *AVR-Pib* responding to the rice blast resistance gene *Pib*." **Scientific Reports** 5: 11642.
- Zhong, Z., Norvinyeku, J., Chen, M., Bao, J., Lin, L., Chen, L., Lin, Y., Wu, X., Cai, Z., Zhang, Q., Lin, X., Hong, Y., Huang, J., Xu, L., Zhang, H., Chen, L., Tang, W., Zheng, H., Chen, X., Wang, Y., Lian, B., Zhang, L., Tang, H., Lu, G., Ebbole, D.J., Wang, B. and Wang, Z. 2016. "Directional selection from host plants is a major force driving host specificity in *Magnaporthe* species." **Scientific Reports** 6: 25591.
- Zhou, B., Qu, S., Liu, G., Dolan, M., Sakai, H., Lu, G. and Wang, G.L. 2006. "The eight amino-acid differences within three leucine-rich repeats between Pi2 and Piz-t resistance proteins determine the resistance specificity to *Magnaporthe grisea*." **Molecular Plant-Microbe Interactions** 19(11): 1216 – 1228.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ WA (Water agar) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

Agar powder	17 กรัม
Water	1000 มิลลิลิตร

ทำการชั่งวุ้นให้ได้ในปริมาณที่กำหนด ทำการต้มน้ำปริมาณ 500 มิลลิลิตร แล้วนำวุ้นลงไปต้มผสมให้เข้ากัน ต้มจนวุ้นละลาย แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (Potato dextrose agar) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

Potato	200 กรัม
Glucose	20 กรัม
Agar powder	17 กรัม

ตัดมันฝรั่งให้เป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต้มมันฝรั่งกับน้ำกลั่นปริมาณ 500 มิลลิลิตร จนมันฝรั่งสุก กรองเอามันฝรั่งออกด้วยผ้าขาวบาง เติมน้ำตาล dextrose และ agar powder ต้มจนน้ำตาลและวุ้นละลาย แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.3 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Rice Flour Agar (RFA) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

Rice Flour	20 กรัม
Yeast extract	2 กรัม
Agar powder	20 กรัม

เริ่มจากนำข้าวหอมมะลิมาป่นให้ละเอียด แล้วนำข้าวหอมมะลิที่ป่นแล้วมาร้อนผ่านตะแกรง หลังจากนั้นทำการชั่งข้าว วุ้นและยีสต์ให้ได้ในปริมาณที่กำหนด ทำการต้มน้ำ ใส่ข้าวที่บดละเอียดแล้วลงไปนึ่งน้ำที่ต้มปริมาณ 500 มิลลิลิตร สังเกตว่าถ้าเมล็ดข้าวเริ่มสุก ให้เติมวุ้นและยีสต์ลงไปผสมให้เข้ากัน ต้มให้วุ้นละลาย แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.4 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB (Potato dextrose broth) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

Potato	200 กรัม
Glucose	20 กรัม

ตัดมันฝรั่งให้เป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต้มมันฝรั่งกับน้ำกลั่นปริมาณ 500 มิลลิลิตร จนมันฝรั่งสุก กรองเอามันฝรั่งออกด้วยผ้าขาวบาง เติมน้ำตาล dextrose ต้มจนน้ำตาลละลาย

แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร นำไปนั่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. การเตรียมสารละลาย

2.1 การเตรียม 500 mM EDTA, pH 8.0

EDTA	186.1 กรัม
น้ำกลั่น	800 มิลลิลิตร

ชั่ง EDTA 186.1 กรัม ผสมน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ปรับ pH ด้วย NaOH เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดันอากาศของไอน้ำที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

2.2 การเตรียมสารละลาย 50x TAE ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

Tris	242 กรัม
Glacial acetic acid	57.1 กรัม
500 mM EDTA, pH 8.0	100 มิลลิลิตร

ทำการละลาย Tris และ Glacial acetic acid ในน้ำกลั่นปริมาตร 800 มิลลิลิตร เติม EDTA ความเข้มข้น 500 มิลลิโมลาร์ที่มีค่า pH เท่ากับ 8 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน และปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แรงดันอากาศของไอน้ำที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีของเชื้อรา 110 ไอโซเลทบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีอายุ 14 วัน

ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง โคโลนีบนอาหาร PDA* (ซม.)	ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง โคโลนีบนอาหาร PDA* (ซม.)
1	BKN63101	7.17 ^{m-p}	29	MKM62102	7.77 ^{XYZ(a-h)}
2	BKN63102	8.28 ^{F-T}	30	MKM62103	8.63 ^{A-F}
3	BRM62101	7.52 ^{f-m}	31	MKM62107	8.47 ^{C-M}
4	BRM62104	7.72 ^{Z(a-j)}	32	MSN63101	8.22 ^{I-V}
5	BRM62117	8.00 ^{R-Z(ab)}	33	MSN63102	8.10 ^{M-Y}
6	BRM62118	8.02 ^{Q-Z(a)}	34	MSN63103	8.72 ^{A-D}
7	CMI63102	8.67 ^{A-E}	35	MSN63104	9.00 ^A
8	CMI63103	8.13 ^{L-X}	36	MSN63112	9.00 ^A
9	CMI63104	8.12 ^{L-X}	37	MSN63113	9.00 ^A
10	CPM62101	7.57 ^{d-l}	38	MSN63114	9.00 ^A
11	CPM62102	7.87 ^{V-Z(a-f)}	39	MSN63115	7.90 ^{U-Z(a-e)}
12	CPM62103	8.77 ^{ABC}	40	MSN63116	8.68 ^{A-E}
13	KKN61101	7.67 ^{a-j}	41	MSN63117	8.23 ^{H-V}
14	KKN61102	5.85 ^t	42	NBP62102	8.60 ^{B-H}
15	KKN61103	8.20 ^{J-V}	43	NBP62103	7.97 ^{S-Z(abc)}
16	KKN62107	8.53 ^{B-J}	44	NBP63103	9.00 ^A
17	KKN62108	7.52 ^{f-m}	45	NKI62103	8.45 ^{C-N}
18	KKN62112	5.97 st	46	NKI62104	8.00 ^{R-Z(ab)}
19	KKN62113	8.38 ^{D-Q}	47	NKI62105	8.07 ^{O-Z}
20	KKN62116	7.23 ^{l-p}	48	NKI62107	8.22 ^{I-V}
21	KSN62101	7.90 ^{U-Z(a-e)}	49	NKI62108	8.22 ^{I-V}
22	KSN62104	9.00 ^A	50	NKI62109	8.20 ^{J-V}
23	KSN62105	8.58 ^{B-I}	51	NKI63101	8.47 ^{C-M}
24	KSN62106	8.02 ^{Q-Z(a)}	52	NST61101	8.12 ^{L-X}
25	LPG61102	7.13 ^{nop}	53	NST61102	8.32 ^{E-S}
26	LRI61103	7.97 ^{S-Z(abc)}	54	NST61103	8.10 ^{M-Y}
27	LRI61104	7.38 ^{i-o}	55	PCT61101	7.97 ^{S-Z(abc)}
28	MKM62101	8.25 ^{G-U}	56	PCT61102	8.17 ^{J-W}

* ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (LSD, p<0.01) ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง		ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง	
		โคโลนีบนอาหาร PDA* (ชม.)				โคโลนีบนอาหาร PDA* (ชม.)	
57	PCT61104	8.40	^{C-P}	84	SBR61103	8.08	^{N-Z}
58	PLG61121	7.10	^{nop}	85	SBR61104	7.27	^{k-o}
59	PLG61122	7.55	^{e-l}	86	SBR61105	6.28	^{rs}
60	PLK61107	8.03	^{P-Z(a)}	87	SBR61106	8.42	^{C-O}
61	PLK61108	9.00	^A	88	SNK62103	8.00	^{R-Z(ab)}
62	PLK61109	8.10	^{M-Y}	89	SRN62107	8.48	^{C-L}
63	PLK61110	8.47	^{C-M}	90	SRN62108	7.77	^{XYZ(a-h)}
64	PLK62101	7.40	^{h-o}	91	STI62104	7.63	^{b-k}
65	PNB61104	7.92	^{T-Z(a-e)}	92	STI62108	8.17	^{J-W}
66	PNB61105	8.20	^{J-V}	93	STI62109	8.70	^{A-D}
67	PNB61106	8.12	^{L-X}	94	STI62110	8.38	^{D-Q}
68	PNB61107	8.77	^{ABC}	95	TAK61104	7.72	^{Z(a-j)}
69	PNB61110	9.00	^A	96	TAK61105	7.68	^{a-j}
70	PYO62101	8.25	^{G-U}	97	TAK62101	8.52	^{B-K}
71	PYO62104	7.35	^{j-o}	98	TAK62102	8.62	^{B-G}
72	PYO62106	8.32	^{E-S}	99	UDN61106	7.62	^{c-k}
73	PYO62116	7.03	^{op}	100	UDN62107	8.28	^{F-T}
74	PYO62119	7.10	^{nop}	101	UDN62108	7.47	^{g-n}
75	PYO62120	9.00	^A	102	UDN63103	8.87	^{AB}
76	PYO63101	7.97	^{S-Z(abc)}	103	UTI61101	6.88	^{pq}
77	PYO63102	7.73	^{YZ(a-i)}	104	UTI61102	7.97	^{S-Z(abc)}
78	PYO63104	8.70	^{A-D}	105	UTI61103	7.82	^{W-Z(a-g)}
79	PYO63105	8.43	^{C-O}	106	UTI61104	7.88	^{U-Z(a-f)}
80	RBR61109	8.15	^{K-W}	107	UTI61105	7.60	^{c-l}
81	RBR61110	8.58	^{B-I}	108	UTI61106	6.55	^{qr}
82	RBR61111	8.37	^{D-R}	109	UTI61107	7.93	^{T-Z(a-d)}
83	SBR61101	6.37	^r	110	UTI62101	7.37	^{i-o}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีของเชื้อรา 110 ไอโซเลทบนอาหารเลี้ยงเชื้อ RFA ที่มีอายุ 14 วัน

ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง		ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง	
		โคโลนีบนอาหาร RFA* (ชม.)				โคโลนีบนอาหาร RFA* (ชม.)	
1	BKN63101	7.18	^{V-Z(a-j)}	31	MKM62107	7.42	^{M-Z(a-e)}
2	BKN63102	7.03	^{b-l}	32	MSN63101	7.75	^{E-S}
3	BRM62101	7.32	^{Q-Z(a-g)}	33	MSN63102	7.27	^{T-Z(a-h)}
4	BRM62104	7.47	^{K-Z(a-d)}	34	MSN63103	8.0167	^{D-G}
5	BRM62117	6.93	^{f-n}	35	MSN63104	8.0167	^{D-G}
6	BRM62118	6.28	^{pq}	36	MSN63112	7.40	^{N-Z(a-f)}
7	CMI63102	7.05	^{a-l}	37	MSN63113	6.80	^{h-o}
8	CMI63103	7.58	^{F-X}	38	MSN63114	7.85	^{D-O}
9	CMI63104	7.42	^{M-Z(a-e)}	39	MSN63115	8.00	^{D-H}
10	CPM62101	7.52	^{I-Z(a)}	40	MSN63116	7.80	^{E-P}
11	CPM62102	7.43	^{L-Z(a-d)}	41	MSN63117	6.58	^{I-p}
12	CPM62103	7.28	^{S-Z(a-g)}	42	NBP62102	7.90	^{D-L}
13	KKN61101	7.87	^{D-N}	43	NBP62103	7.85	^{D-O}
14	KKN61102	5.00	^r	44	NBP63103	7.92	^{D-K}
15	KKN61103	7.87	^{D-N}	45	NKI62103	6.78	^{i-o}
16	KKN62107	6.53	^{m-p}	46	NKI62104	7.28	^{S-Z(a-g)}
17	KKN62108	7.37	^{P-Z(a-f)}	47	NKI62105	7.15	^{W-Z(a-k)}
18	KKN62112	7.62	^{F-W}	48	NKI62107	6.85	^{S-n}
19	KKN62113	7.38	^{O-Z(a-f)}	49	NKI62108	7.78	^{E-Q}
20	KKN62116	7.18	^{V-Z(a-j)}	50	NKI62109	7.67	^{E-U}
21	KSN62101	6.75	^{j-p}	51	NKI63101	8.05	^{DEF}
22	KSN62104	7.45	^{K-Z(a-d)}	52	NST61101	8.75	^{AB}
23	KSN62105	7.48	^{K-Z(abc)}	53	NST61102	8.60	^{ABC}
24	KSN62106	7.72	^{E-T}	54	NST61103	7.28	^{S-Z(a-g)}
25	LPG61102	7.07	^{Z(a-k)}	55	PCT61101	7.85	^{D-O}
26	LRI61103	7.77	^{E-R}	56	PCT61102	7.15	^{W-Z(a-k)}
27	LRI61104	9.00	^A	57	PCT61104	9.00	^A
28	MKM62101	7.87	^{D-N}	58	PLG61121	6.68	^{k-p}
29	MKM62102	7.88	^{D-M}	59	PLG61122	8.67	^{AB}
30	MKM62103	7.13	^{XYZ(a-k)}	60	PLK61107	5.97	^q

* ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง		ลำดับที่	ชื่อไอโซเลท	ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง	
		โคโลนีบนอาหาร RFA*	(ชม.)			โคโลนีบนอาหาร RFA*	(ชม.)
61	PLK61108	7.05	^{a-l}	86	SBR61105	7.43	^{L-Z(a-d)}
62	PLK61109	6.33	^{opq}	87	SBR61106	7.53	^{H-Z}
63	PLK61110	8.13	^{CDE}	88	SNK62103	7.08	^{Z(a-k)}
64	PLK62101	7.98	^{D-I}	89	SRN62107	7.28	^{S-Z(a-g)}
65	PNB61104	7.28	^{S-Z(a-g)}	90	SRN62108	7.10	^{YZ(a-k)}
66	PNB61105	7.58	^{F-X}	91	STI62104	7.70	^{E-U}
67	PNB61106	8.30	^{BCD}	92	STI62108	7.70	^{E-U}
68	PNB61107	9.00	^A	93	STI62109	7.80	^{E-P}
69	PNB61110	9.00	^A	94	STI62110	7.18	^{V-Z(a-j)}
70	PYO62101	6.95	^{e-n}	95	TAK61104	7.32	^{Q-Z(a-g)}
71	PYO62104	7.02	^{c-l}	96	TAK61105	9.00	^A
72	PYO62106	7.02	^{c-l}	97	TAK62101	7.23	^{U-Z(a-i)}
73	PYO62116	7.58	^{F-X}	98	TAK62102	7.72	^{E-T}
74	PYO62119	7.63	^{F-V}	99	UDN61106	9.00	^A
75	PYO62120	7.03	^{b-l}	100	UDN62107	7.17	^{V-Z(a-j)}
76	PYO63101	7.48	^{K-Z(abc)}	101	UDN62108	7.30	^{R-Z(a-g)}
77	PYO63102	7.25	^{T-Z(a-i)}	102	UDN63103	5.97	^q
78	PYO63104	7.97	^{D-J}	103	UTI61101	6.30	^{pq}
79	PYO63105	7.98	^{D-I}	104	UTI61102	9.00	^A
80	RBR61109	7.77	^{E-R}	105	UTI61103	7.08	^{Z(a-k)}
81	RBR61110	7.57	^{G-Y}	106	UTI61104	7.50	^{J-Z(ab)}
82	RBR61111	9.00	^A	107	UTI61105	7.50	^{J-Z(ab)}
83	SBR61101	7.37	^{P-Z(a-f)}	108	UTI61106	9.00	^A
84	SBR61103	8.00	^{D-H}	109	UTI61107	7.00	^{d-m}
85	SBR61104	6.48	^{nop}	110	UTI62101	7.42	^{M-Z(a-e)}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 3 ข้อมูลระดับคะแนนการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ 110 ไอโซเลทบนข้าวพันธุ์แนะนำ 40 พันธุ์

ไอโซเลท/ พันธุ์ข้าว	กข27	กข41	กข6	กข43	กข59	กข7	กข61	เจ้าขาวเซียงใหม่	พันธุ์โลก 3	เจ้าหอมพันธุ์โลก 1	เจ้าหอมคลองหลวง 1	กข31	พันธุ์โลก 60-1	สุพรรณบุรี 1	เหนียวอุบล 1	สุพรรณบุรี 2	สุพรรณบุรี 3	พันธุ์โลก 3	สุพรรณบุรี 60	สุพรรณบุรี 90	สกลนคร	ชัยนาท 1	ปทุมธานี 1	เสียบกบปัดธานี	พलयงมปราจีนบุรี	ปราจีนบุรี 2	สังขยตพหสูง	หางยี 71	ข้าวหอมแดง	ข้าวญี่ปุ่น DOA1	กข8	หอมชลสิทธิ์	กขผ3	ข้าวญี่ปุ่น DOA2	กข29	ต้นป่าตอง 1	แพร่ 1	กข10	กข14	กข15	ขาวตอมะลิ 105	
KKN61101	0	0	5	0	1	0	0	0	0	0	5	0	1	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	-	0	0	0	0	-	-	0	0	0	0	0	-	0	0	4	5	
KKN61102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
KKN61103	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	-	0	0	1	0	
LPG61102	0	1	-	0	6	-	3	3	-	-	1	-	2	1	-	2	2	6	2	0	6	2	1	2	1	3	-	2	0	1	1	6	-	6	-	-	3	0	6	5		
LRI61103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	-	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	
LRI61104	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
NST61101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
NST61102	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	-	-	0	-	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	0	0	-	-	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
NST61103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PCT61101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0	-	0	0	0	0	-	0	0	-	-	-	0	-	0	-	-	0	-	0	0	-	0	0	-	0	0	0	
PCT61102	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	-	-	0	-	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0	-	-	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	
PCT61104	0	0	0	0	-	-	0	0	0	-	4	4	0	4	4	-	0	0	-	4	4	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
PL61121	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
PL61122	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	
PLK61107	1	0	0	0	0	0	0	-	-	0	-	1	0	-	1	1	0	-	0	0	0	0	1	-	0	3	-	2	-	1	0	0	-	2	0	-	3	0	2	-		
PLK61108	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	0	-	-	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
PLK61109	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
PLK61110	0	0	-	0	0	0	0	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
PNB61104	0	0	1	0	1	-	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	1	2	
PNB61105	4	0	5	0	4	0	-	0	0	0	4	0	0	4	0	4	0	0	4	0	0	0	0	2	0	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	2	0	0	5	

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

ไอซีเลข/ พันธุ์ข้าว	กข27	กข41	กข6	กข43	กข59	กข7	กข61	เจ้าชาเวียงใหม่	พิษณุโลก 3	เจ้าหอมพิษณุโลก 1	เจ้าหอมคลองหลวง 1	กข31	พิษณุโลก 60-1	สุพรรณบุรี 1	เหนียวอุบล 1	สุพรรณบุรี 2	สุพรรณบุรี 3	พิษณุโลก 3	สุพรรณบุรี 60	สุพรรณบุรี 90	สกลนคร	ชัยนาท 1	ปทุมธานี 1	เสียบกบปัดธานี	พลาญงามปราจีนบุรี	ปราจีนบุรี 2	สังข์หยดพัทลุง	หางยี่ 71	ข้าวหอมแดง	ข้าวญี่ปุ่น DOA1	กข8	หอมขลิบที่	กขผ3	ข้าวญี่ปุ่น DOA2	กข29	สันป่าตอง 1	แพร่ 1	กข10	กข14	กข15	ขาวดอกมะลิ 105				
NBP62103	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	-	-	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
NKI62103	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
NKI62104	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
NKI62105	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
NKI62107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
NKI62108	0	-	0	-	0	-	0	0	0	-	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	0	0	0	0	0	
NKI62109	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
PLK62101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
PYO62101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
PYO62104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
PYO62106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
PYO62116	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
PYO62119	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
PYO62120	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
SKN62103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
SRN62107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	
SRN62108	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	-	4	-	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0		
STI62104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0		
STI62108	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
STI62109	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
STI62110	0	4	0	4	0	-	5	0	0	5	0	0	-	5	-	0	0	0	5	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	0		

ตารางผนวกที่ 4 ข้อมูลระดับคะแนนการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ 110 ไอโซเลทบนข้าวที่มียืนต้นทานเดียว (NILs) 31 สายพันธุ์

ไอโซเลท/ พันธุ์ข้าว	IRBLa-A	IRBLa-C	IRBL1-F5	IRBLks-F5	IRBLks-S	IRBLk-Ka	IRBLkp-K60	IRBLkh-K3	IRBLz-Fu	IRBLz5-CA	IRBLzt-T	IRBLta-K1	IRBLta-CT2	IRBLb-B	IRBLt-K59	IRBLsh-S	IRBLsh-B	IRBL1-CL	IRBL3-CP4	IRBL5-M	IRBL7-M	IRBL9-W	IRBL12-M	IRBL19-A	IRBLkm-Ts	IRBL20-IR24	IRBLta2-Pi	IRBLta2-Re	IRBLta-CP1	IRBL11-Zh	IRBLz5-C(R)	LTH
KKN61101	5	0	5	5	4	0	0	0	4	0	0	6	0	0	4	3	2	2	5	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0	0	0	5
KKN61102	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	0	0	0	0
KKN61103	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	-	0	1	0
LPG61102	5	0	4	0	0	1	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	2	0	5	6	0	0	0	0	0	0	6	4	1	0	3	6
LRI61103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
LRI61104	0	0	0	1	0	-	0	0	-	0	1	1	0	0	2	2	2	0	0	0	-	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	0
NST61101	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0
NST61102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0
NST61103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PCT61101	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	4	0
PCT61102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0
PCT61104	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PLG61121	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	-	0	0	
PLG61122	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	2	2	0	0	0	0	0	2	0	0	1	4	0	-	0	1	0	0
PLK61107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PLK61108	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0
PLK61109	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PLK61110	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PNB61104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PNB61105	4	5	0	5	4	0	0	0	0	3	5	3	3	5	3	0	3	0	0	2	0	1	-	5	0	0	0	0	0	4	5	5
PNB61106	0	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ)

ไอซีเลข/ พันธุ์ข้าว	IRBLa-A	IRBLa-C	IRBL1-F5	IRBLks-F5	IRBLks-S	IRBLk-Ka	IRBLkp-K60	IRBLkh-K3	IRBLz-Fu	IRBLz5-CA	IRBLzt-T	IRBLta-K1	IRBLta-CT2	IRBLb-B	IRBLt-K59	IRBLsh-S	IRBLsh-B	IRBL1-CL	IRBL3-CP4	IRBL5-M	IRBL7-M	IRBL9-W	IRBL12-M	IRBL19-A	IRBLkm-Ts	IRBL20-IR24	IRBLta2-Pi	IRBLta2-Re	IRBLta-CP1	IRBL11-Zh	IRBLz5-C(R)	LTH
PNB61107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0
PNB61110	4	0	0	0	1	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
RBR61109	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	
RBR61110	1	0	0	0	0	-	0	0	0	-	2	0	0	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	
RBR61111	4	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	0
SBR61101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SBR61103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	
SBR61104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	
SBR61105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0
SBR61106	4	1	4	0	5	4	4	0	0	0	2	0	0	0	0	2	0	0	0	1	0	0	0	-	0	0	-	0	2	0	-	5
TAK61104	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0
TAK61105	4	4	2	4	6	6	3	3	0	1	1	1	5	0	5	0	4	2	6	5	0	0	4	0	0	0	4	6	0	4	2	5
UDN61106	3	0	3	0	4	-	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
UTI61101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-	0	0	0	0	-	0	0	-	0	-	
UTI61102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0
UTI61103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0
UTI61104	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	1	0	
UTI61105	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
UTI61106	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	4	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
UTI61107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	3	0	0	0	2	0
BRM62101	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ)

ไอซีเลข/ พันธุ์ข้าว	IRBLa-A	IRBLa-C	IRBL1-F5	IRBLks-F5	IRBLks-S	IRBLk-Ka	IRBLkp-K60	IRBLkh-K3	IRBLz-Fu	IRBLz5-CA	IRBLzt-T	IRBLta-K1	IRBLta-CT2	IRBLb-B	IRBLt-K59	IRBLsh-S	IRBLsh-B	IRBL1-CL	IRBL3-CP4	IRBL5-M	IRBL7-M	IRBL9-W	IRBL12-M	IRBL19-A	IRBLkn-Ts	IRBL20-IR24	IRBLta2-Pi	IRBLta2-Re	IRBLta-CP1	IRBL11-Zh	IRBLz5-C(R)	LTH	
BRM62104	0	-	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	-	0	-	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	
BRM62117	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
BRM62118	0	0	0	0	0	0	0	-	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
CPM62101	4	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	
CPM62102	4	0	0	0	3	0	0	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	
CPM62103	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	4	0	0	5	0	0	0	-	-	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	4	
KKN62107	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
KKN62108	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0	0	0	
KKN62112	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
KKN62113	-	-	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	-	-	0	0	
KKN62116	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
KSN62101	0	0	0	0	0	0	0	-	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	
KSN62104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
KSN62105	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
KSN62106	0	-	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
MKM62101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	4	4	0	4	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	5
MKM62102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
MKM62103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MKM62107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NBP62102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NBP62103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ)

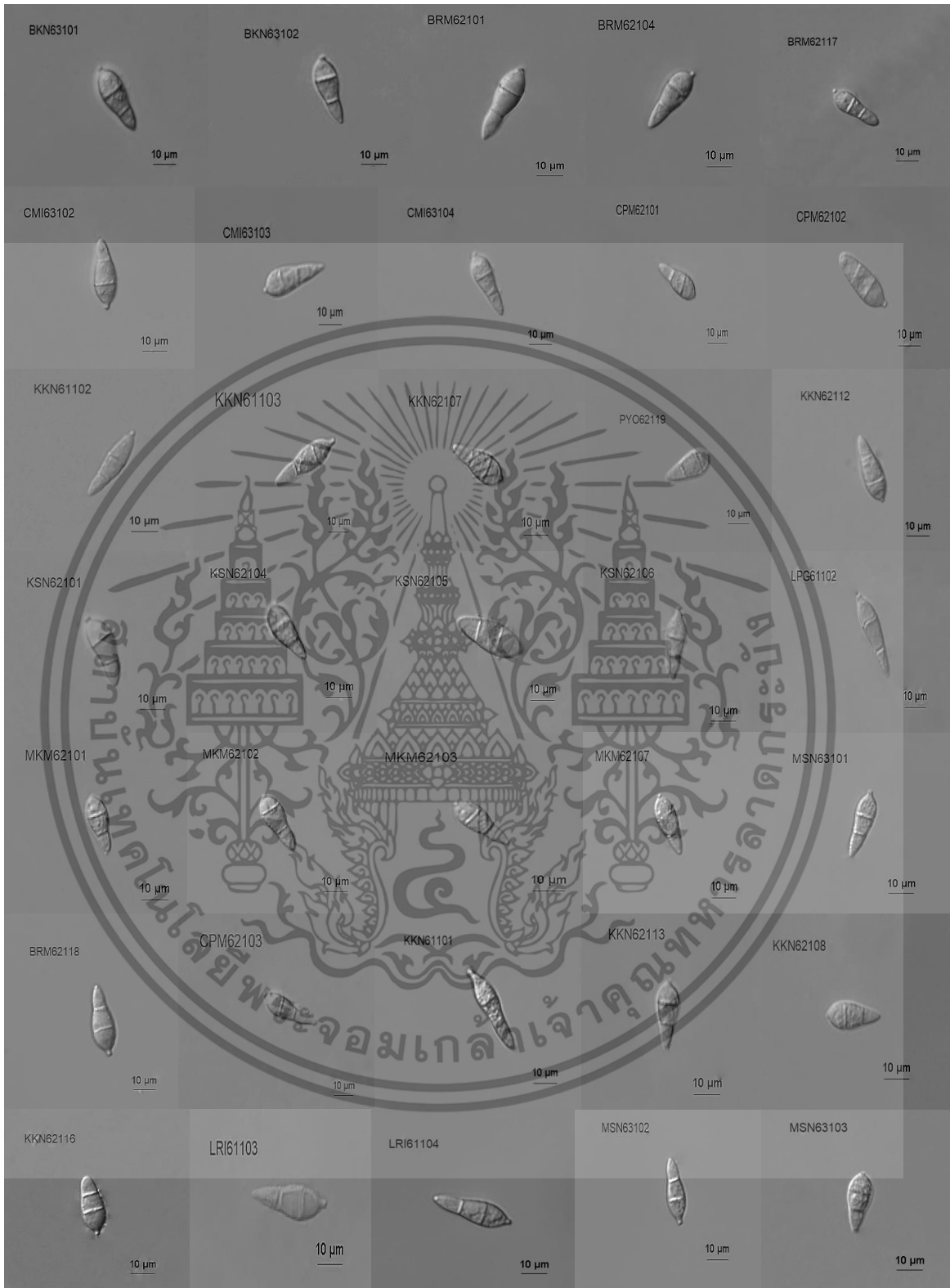
ไอซีเลข/ พันธุ์ข้าว	IRBLa-A	IRBLa-C	IRBL1-F5	IRBLks-F5	IRBLks-S	IRBLk-Ka	IRBLkp-K60	IRBLkh-K3	IRBLz-Fu	IRBLz5-CA	IRBLzt-T	IRBLta-K1	IRBLta-CT2	IRBLb-B	IRBLt-K59	IRBLsh-S	IRBLsh-B	IRBL1-CL	IRBL3-CP4	IRBL5-M	IRBL7-M	IRBL9-W	IRBL12-M	IRBL19-A	IRBLkm-Ts	IRBL20-IR24	IRBLta2-Pi	IRBLta2-Re	IRBLta-CP1	IRBL11-Zh	IRBLz5-C(R)	LTH
NKI62103	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	1	0	1	-	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0
NKI62104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NKI62105	0	0	0	1	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NKI62107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NKI62108	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NKI62109	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PLK62101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PYO62101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	-	0	-	0	0	0	0	-	0	0	0	0	-	0
PYO62104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PYO62106	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PYO62116	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	-	1	-	0	-	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
PYO62119	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PYO62120	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
SKN62103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0
SRN62107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
SRN62108	0	0	0	0	0	0	-	-	-	0	0	0	0	-	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
STI62104	0	0	0	-	-	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
STI62108	0	1	0	0	0	0	0	-	0	-	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	1	0	0	
STI62109	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	
STI62110	4	6	0	6	6	0	0	0	3	1	6	5	6	3	6	6	4	3	0	0	0	2	0	5	0	0	0	0	0	6	6	5
TAK62101	0	0	0	0	0	0	0	-	-	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ)

ไอซีเลข/ พันธุ์ข้าว	IRBLa-A	IRBLa-C	IRBL1-F5	IRBLks-F5	IRBLks-S	IRBLk-Ka	IRBLkp-K60	IRBLkh-K3	IRBLz-Fu	IRBLz5-CA	IRBLzt-T	IRBLta-K1	IRBLta-CT2	IRBLb-B	IRBLt-K59	IRBLsh-S	IRBLsh-B	IRBL1-CL	IRBL3-CP4	IRBL5-M	IRBL7-M	IRBL9-W	IRBL12-M	IRBL19-A	IRBLkm-Ts	IRBL20-IR24	IRBLta2-Pi	IRBLta2-Re	IRBLta-CP1	IRBL11-Zh	IRBLz5-C(R)	LTH
TAK62102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
UDN62107	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
UDN62108	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
UTI62101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BKN63101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
BKN63102	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CMI63102	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CMI63103	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
CMI63104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MSN63101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0	-	0	0	0
MSN63102	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MSN63103	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MSN63104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MSN63112	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MSN63113	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MSN63114	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MSN63115	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MSN63116	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
MSN63117	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NBP63103	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-	0	0	0	0	0	0	0	0	0
NKI63101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

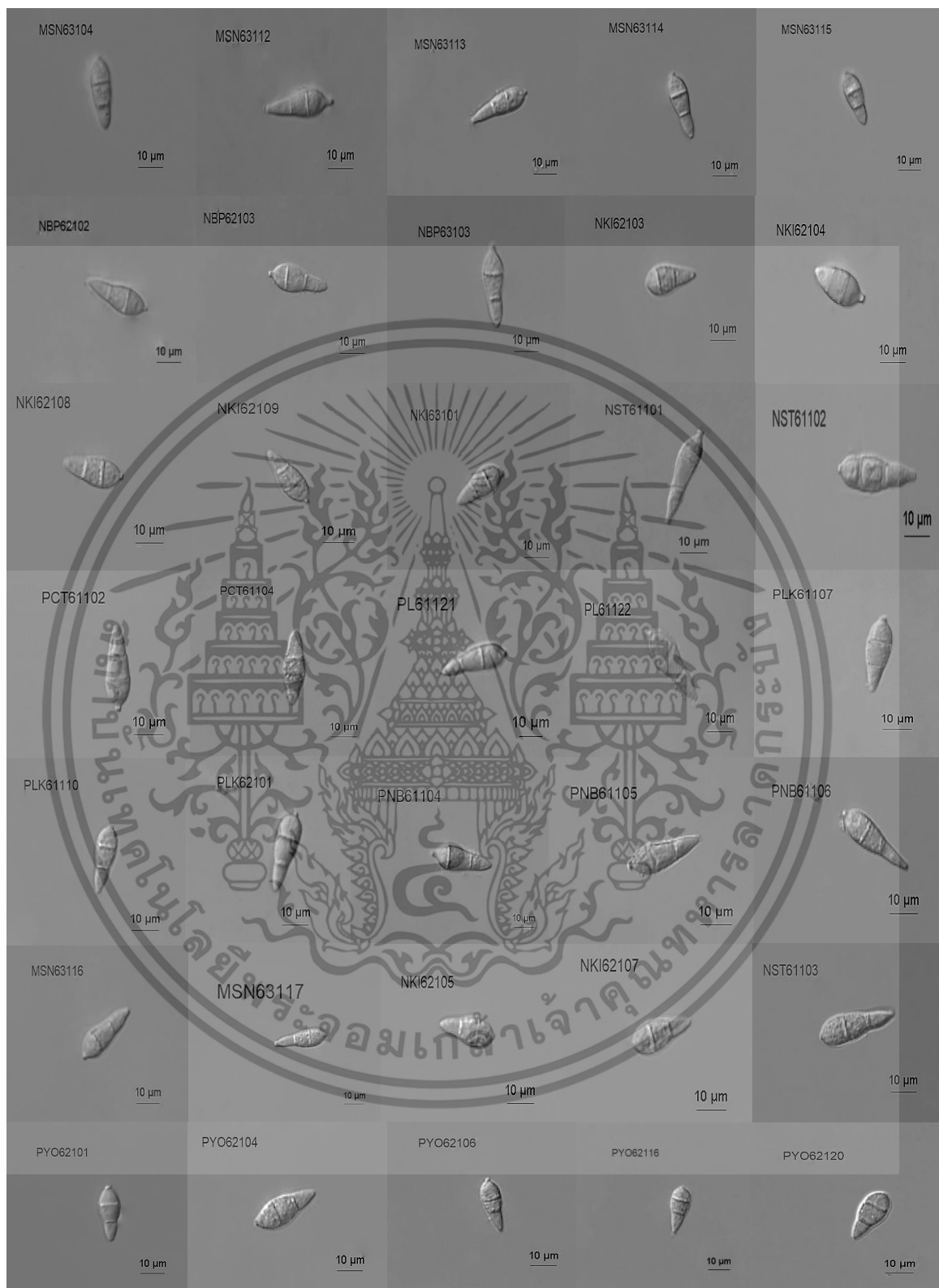
ตารางผนวกที่ 4 (ต่อ)

ไอซีเลท/ พันธุ์ข้าว	IRBLa-A	IRBLa-C	IRBL1-F5	IRBLks-F5	IRBLks-S	IRBLk-Ka	IRBLkp-K60	IRBLkh-K3	IRBLz-Fu	IRBLz5-CA	IRBLzt-T	IRBLta-K1	IRBLta-CT2	IRBLb-B	IRBLt-K59	IRBLsh-S	IRBLsh-B	IRBL1-CL	IRBL3-CP4	IRBL5-M	IRBL7-M	IRBL9-W	IRBL12-M	IRBL19-A	IRBLkm-Ts	IRBL20-IR24	IRBLta2-Pi	IRBLta2-Re	IRBLta-CP1	IRBL11-Zh	IRBLz5-C(R)	LTH
PYO63101	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PYO63102	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PYO63104	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
PYO63105	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
UDN63103	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0



ภาพผนวกที่ 1 ลักษณะของโคนเดี่ยวของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ 110 ไอโซเลท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 1 (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ 1 (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```

PNB61107      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCTCGCC 60
MN947540.1    GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCTCGCC 60
PLK61110      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
UTI62101      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
MKM62101      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
TAK62102      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
LC552959.1    GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
STI61104      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
PLK62101      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
UDN62107      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
MSN63102      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
MN947536.1    GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
CPM62102      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
BRM60004.1    GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
NKI61005      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
LPG61001      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
PYO61001      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
PNB61104      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
TAK61105      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
SBR61106      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
KKN61101      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
LPG61102      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
CPM62101      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
PNB61105      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
NST61103      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
LRI61104      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
KKN61102      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
RBR61109      GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
MT126241.1-P. GAGTTGAAAAACTCCAACCCCTGTGAACATAACCTCTGTCGTTGCTTCGGCGGGCACGCC 60
*****

PNB61107      CGCCGGAGGTTACAAACTCTTGTGATTTTTTAAATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 120
MN947540.1    CGCCGGAGGTTACAAACTCTTGTGATTTTTTAGCATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 120
PLK61110      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
UTI62101      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
MKM62101      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
TAK62102      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
LC552959.1    CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
STI61104      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 118
PLK62101      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 118
UDN62107      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
MSN63102      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
MN947536.1    CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
CPM62102      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
BRM60004.1    CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
NKI61005      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
LPG61001      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
PYO61001      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
PNB61104      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
TAK61105      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
SBR61106      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
KKN61101      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
LPG61102      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
CPM62101      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
PNB61105      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
NST61103      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
LRI61104      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
KKN61102      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
RBR61109      CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
MT126241.1-P. CGCCGGAGGTTCAAAACTCTTATT---TTTTCCAGTATCTCTGAGCTAAAAGACAAATA 117
*****

```

ภาพผนวกที่ 2 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของตัวอย่างเชื้อราที่ทำการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม Clustal Omega * แสดงถึงลำดับเบสที่เหมือนกัน

PNB61107 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 180
 MN947540.1 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 180
 PLK61110 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 UTI62101 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 MKM62101 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 TAK62102 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 LC552959.1 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 STI61104 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 178
 PLK62101 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 178
 UDN62107 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 MSN63102 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 MN947536.1 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 CPM62102 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 BRM60004.1 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 NKI61005 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 LPG61001 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 PYO61001 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 PNB61104 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 TAK61105 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 SBR61106 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 KKN61101 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 LPG61102 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 CPM62101 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 PNB61105 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 NST61103 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 LRI61104 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 KKN61102 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 RBR61109 ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177
 MT126241.1-P. ATCAAACTTTCAACAACGGATCTCTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATG 177

 PNB61107 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 240
 MN947540.1 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 240
 PLK61110 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 LTI62101 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 MKM62101 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 TAK62102 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 LC552959.1 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 STI61104 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 238
 PLK62101 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 238
 UDN62107 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 MSN63102 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 MN947536.1 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 CPM62102 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 BRM60004.1 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 NKI61005 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 LPG61001 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 PYO61001 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 PNB61104 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 TAK61105 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 SBR61106 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 KKN61101 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 LPG61102 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 CPM62101 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 PNB61105 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 NST61103 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 LRI61104 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 KKN61102 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 RBR61109 CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237
 MT126241.1-P. CGATAAGTAATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCG 237

ภาพผนวกที่ 2 (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```

PNB61107      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 300
MN947540.1    CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 300
PLK61110      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
UT162101      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
MKM62101      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
TAK62102      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
LC552959.1    CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
STI61104      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 298
PLK62101      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 298
UDN62107      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
MSN63102      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
MN947536.1    CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
CPM62102      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
BRM60004.1    CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
NKI61005      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
LP661001      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
PYO61001      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
PNB61104      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
TAK61105      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
SBR61106      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
KKN61101      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
LP661102      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
CPM62101      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
PNB61105      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
NST61103      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
LRI61104      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
KKN61102      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
RBR61109      CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
MT126241.1-P. CCCGCCGATATTCCGGCGGGCATGCCTGTTCCGAGCGTCATTTCAACCCCTCAAGCCCGCCG 297
*****

PNB61107      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 360
MN947540.1    TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 360
PLK61110      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
UT162101      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
MKM62101      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
TAK62102      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
LC552959.1    TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
STI61104      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 358
PLK62101      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 358
UDN62107      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
MSN63102      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
MN947536.1    TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
CPM62102      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
BRM60004.1    TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
NKI61005      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
LP661001      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
PYO61001      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
PNB61104      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
TAK61105      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
SBR61106      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
KKN61101      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
LP661102      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
CPM62101      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
PNB61105      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
NST61103      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
LRI61104      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
KKN61102      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
RBR61109      TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
MT126241.1-P. TTGGTGTGGGGGCCCGGGTCCCGCGGGCCCGGGGCCCAAGTTCATCGGCGGGGTC 357
*****

```

ภาพผนวกที่ 2 (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

```

PNB61107      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGCTCGGCCCGTCAC 420
MN947540.1    GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGCTCGGCCCGTCAC 420
PLK61110      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
UTI62101      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
MKM62101      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
TAK62102      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
LC552959.1    GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
STI61104      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 415
PLK62101      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 415
UDN62107      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
MSN63102      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
MN947536.1    GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
CPM62102      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
BRM60004.1    GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
NKI61005      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
LPG61001      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
PYO61001      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
PNB61104      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
TAK61105      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
SBR61106      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
KKN61101      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
LPG61102      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
CPM62101      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
PNB61105      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
NST61103      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
LRI61104      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
KKN61102      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
RBR61109      GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
MT126241.1-P. GTCGGTACTAGAGCGCAGTAAAAACGCGGTAAAACGCGAACCTCGT--TCGGAT-CGTCC 414
*****
PNB61107      CGGCGCGCACCAGCCGCTAAACCCCAAACTTCAAAGG 460
MN947540.1    CGGCGCGCACCAGCCGCTAAACCCCAAACTTCAAAGG 460
PLK61110      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TCTTTAAAGG 453
UTI62101      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TCTTTAAAGG 453
MKM62101      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TCTTTAAAGG 453
TAK62102      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TCTTTAAAGG 453
LC552959.1    CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TCTTTAAAGG 453
STI61104      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TTTTAAAGG 454
PLK62101      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TTTTAAAGG 454
UDN62107      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TTTTAAAGG 453
MSN63102      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TTTTAAAGG 453
MN947536.1    CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TTTTAAAGG 453
CPM62102      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TTTTAAAGG 453
BRM60004.1    CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TTTTAAAGG 453
NKI61005      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TTTTAAAGG 453
LPG61001      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TTTTAAAGG 453
PYO61001      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TTTTAAAGG 453
PNB61104      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TTTTAAAGG 453
TAK61105      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TTTTAAAGG 453
SBR61106      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TTTTAAAGG 453
KKN61101      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TTTTAAAGG 453
LPG61102      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TTTTAAAGG 453
CPM62101      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TTTTAAAGG 453
PNB61105      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TTTTAAAGG 452
NST61103      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TTTTAAAGG 452
LRI61104      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TTTTAAAGG 452
KKN61102      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TTTTAAAGG 452
RBR61109      CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TTTTAAAGG 452
MT126241.1-P. CGGCGTGCTCCAGCCGCTAAACCCCAAT-TTTTAAAGG 453
*****

```

ภาพผนวกที่ 2 (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาววารีย์ เหล่าเพิ่มสุข
วัน เดือน ปีเกิด	24 สิงหาคม พ.ศ. 2537 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร
ที่อยู่ปัจจุบัน	บ้านเลขที่ 110/70 หมู่บ้านเคหะชุมชนร่มเกล้า แขวงคลองสองต้นนุ่น เขตลาดกระบัง จังหวัดกรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2560 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเกษตรศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ผลงานทางวิชาการ	Laophemsuk, W. and Parinthawong, N. (2020) Identification of Morphology and Pathogenicity of <i>Pyricularia</i> sp. Causing Blast Disease in Grass. p. 130 – 136. in <i>Proceeding of The 8th International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development (8th ICIST) in November 19-22, 2019 at Huiyuan International Hotel, Jingde, Anhui Province, P.R. China.</i>