การประเมินความหลากหลายของเชื้อราโรคไหม้ข้าว (*Pyricularia grisea*) ที่เก็บรวบรวมในประเทศไทย

DIVERSITY ASSESSMENT OF RICE BLAST FUNGUS (*PYRICULARIA GRISEA*) COLLECTED IN THAILAND

นวรัตน์ ใจหอม

NAWARAT JAIHOM

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเกษตรศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2558

KMITL-2015-AG-M-065-204

การประเมินความหลากหลายของเชื้อราโรคไหม้ข้าว (*Pyricularia grisea*) ที่เก็บรวบรวมในประเทศไทย

DIVERSITY ASSESSMENT OF RICE BLAST FUNGUS (*PYRICULARIA GRISEA*) COLLECTED IN THAILAND

นวรัตน์ ใจหอม

NAWARAT JAIHOM

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเกษตรศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2558

KMITL-2015-AG-M-065-204

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การประเมินความหลากหลายของเชื้อราโรคไหม้ข้าว (*Pyricularia grisea*) ที่เก็บรวบรวมในประเทศไทย

DIVERSITY ASSESSMENT OF RICE BLAST FUNGUS (*PYRICULARIA GRISEA*) COLLECTED IN THAILAND

นวรัตน์ ใจหอม

NAWARAT JAIHOM

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเกษตรศาสตร์

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2558

KMITL-2015-AG-M-065-204

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DIVERSITY ASSESSMENT OF RICE BLAST FUNGUS (*PYRICULARIA GRISEA*) COLLECTED IN THAILAND

NAWARAT JAIHOM

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN AGRICULTURE

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2015

KMITL-2015-AG-M-065-204

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2015

FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การประเมินความหลากหลายของเชื้อราโรคไหม้ข้าว (*Pyricularia grisea*) ที่เก็บรวบรวมในประเทศไทย

Diversity Assessment of Rice Blast Fungus (*Pyricularia grisea*) Collected in Thailand

นักศึกษา นางสาวนวรัตน์ ใจหอม

รหัสประจำตัว 55641109

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา เกษตรศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ดร.นงลักษณ์ เภรินทวงค์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม -

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
รศ.ดร.พรหมมาศ	ดูหากาญจน์	
ผศ.ดร.ชัชวาล	จันทราสุริยารัตน์	
รศ.ดร.สมยศ	เดชภิรัตนมงคล	
ผศ.ดร.ธีรวัฒน์	ศรุตโยภาส	
ดร.นงลักษณ์	เภรินทวงค์	

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

วัน / เดือน/ ปี ที่สอบ 3 ธันวาคม 2558

สถานที่สอบ ห้องประชุมคณะเทคโนโลยีการเกษตร (ชั้น 1 ตึกบุนนาค L)

คณบดีรับรองแล้ว

มณฑล แก่นมณี

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.มณฑล แก่นมณี)

คณบดีคณะเทคโนโลยีการเกษตร

วันที่ 28 เดือน ธันวาคม พ.ศ. 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การประเมินความหลากหลายของเชื้อราโรคไหม้ข้าว (*Pyricularia grisea*) ที่เก็บรวบรวมในประเทศไทย
นักศึกษา	นวรัตน์ ใจหอม
รหัสประจำตัว	55641109
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)
สาขาวิชา	เกษตรศาสตร์
พ.ศ.	2558
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ดร.นงลักษณ์ เภรินทวงค์

บทคัดย่อ

โรคไหม้ของข้าว เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia grisea* เป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดความเสียหายและมีการระบาดของโรคอย่างกว้างขวาง สามารถเข้าทำลายได้ทุกส่วนของต้นข้าว เชื้อรามีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงสามารถปรับตัวได้อย่างรวดเร็วในการเข้าทำลายข้าวที่มีความต้านทานโรคได้ในไม่กี่ฤดู วัตถุประสงค์ในงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาความหลากหลายของเชื้อราโรคไหม้ที่ได้เก็บรวบรวมในประเทศไทยทั้งหมด 57 ไอโซเลท โดยการตรวจสอบแบบของการผสมพันธุ์ (Mating type) ของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ด้วยไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อ *Mat* gene พบว่าเชื้อราโรคไหม้ 53 ไอโซเลท มียีนที่ควบคุมแบบการผสมพันธุ์เป็น *mat1-2* จำนวน 49 ไอโซเลท และ *mat1-1* จำนวน 4 ไอโซเลท การประเมินความหลากหลายโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล *Magnaporthe grisea* Microsatellite (MGM) จำนวน 14 เครื่องหมาย ที่มีศักยภาพในการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ และจัดกลุ่มโดยใช้โปรแกรม NTSYSpc 2.10 จากค่าความเหมือนที่ 80 เปอร์เซ็นต์ สามารถจัดกลุ่มได้ 4 กลุ่ม ผลการจัดกลุ่มพบว่าไม่ได้ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของเชื้อ การประเมินความรุนแรงของเชื้อโรคไหม้บนข้าวขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรคพบระดับการเกิดโรคตั้งแต่ระดับ 0-6 ในการประเมินความรุนแรงและจัดกลุ่มเชื้อโรคไหม้ข้าวจำนวน 57 ไอโซเลท บนข้าวพันธุ์แนะนำจำนวน 25 พันธุ์ สามารถแยกได้เป็น 14 pathotype เชื้อราบางไอโซเลทสามารถก่อโรคบนพันธุ์ข้าวที่ต้านทานได้ในระดับที่รุนแรง และบางไอโซเลทที่เก็บได้ในแต่ละภูมิภาคมีปฏิกิริยาการก่อโรคเฉพาะเจาะจงต่อพันธุ์ข้าวที่มีการปลูกประจำในภูมิภาคนั้น และผลการประเมินการก่อโรคของเชื้อโรคไหม้จำนวน 48 ไอโซเลท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บนพันธุ์ข้าวชุดคู่แฝด (NILs) จำนวน 32 พันธุ์ สามารถจัดกลุ่มความหลากหลายของเชื้อได้ 25 pathotype ผลการจัดกลุ่มพบว่าเชื้อรามีความหลากหลายสูง เชื้อราที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันมีความสามารถในการก่อโรคที่รุนแรงคล้ายกันและเป็นเชื้อที่มาจากแหล่งเดียวกัน และพบว่ายีนต้านทาน *Pi z* สามารถต้านทานเชื้อโรคไหม้ที่ทดสอบได้มากที่สุด ยีนต้านทานที่ไม่สามารถต้านทานเชื้อโรคไหม้ที่ได้ทดสอบได้เลยคือ *Pi t*, *Pi a* และ *Pi z-5*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Diversity Assessment of Rice Blast Fungus (*Pyricularia grisea*) Collected in Thailand
Student	Nawarat Jaihom
Student ID.	55641109
Degree	Master of Science in Agriculture
Program	Agriculture
Year	2015
Thesis Advisor	Dr. Nonglak Parinthawong

Abstract

Rice blast disease caused by the fungus *Pyricularia grisea*, is a major damage and a widespread outbreak of rice growing area in Thailand. The fungus can destroy all parts of rice plant. The fungus is high genetic diversity, they can adapt to destroy resistant rice cultivars in few growing seasons. The objective of this research was to study the diversity of 57 blast isolates collected in Thailand. By mating type checking of 53 isolates using primers specific to *Mat* gene has shown that 49 isolates are *mat1-2* while 4 isolates are *mat1-1*. Diversity assessment using 14 potential *Magnaporthe grisea* microsatellite (MGM) markers and the analysis using NTSYSpc 2.10 program at similarity of 80% resulted in 4 groups, where genetic relationship does not depend on the source of blast isolates. Disease assessment on Khao dawk mali 105 (KDML 105) which is susceptible to the blast disease was done. The result showed that the level of disease ranging is vary from 0-6. Disease assessment of 57 blast isolates was conducted on 25 rice cultivars. The blast isolates were grouped into 14 pathotypes. Some fungal isolates can cause disease on resistant cultivars in severe levels and some isolates collected from different region have the disease reaction specific to rice cultivars that are grown in the region. The pathogenicity analysis of 48 isolates on 32 near isogenic lines (NILs) rice varieties grouped the fungi into 25 pathotypes. The result revealed that the fungus is highly diverse. The fungi that have ability to cause severe disease or come from the same source are grouped together. The results showed that

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

the resistant gene *Pi z* could resisted to numbers of blast isolates. While the *Pi t*, *Pi a* and *Pi z-5* showed no resistant to any isolates tested in the experiment.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณ ดร. นงลักษณ์ เภรินทวงค์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำและแนวทางแก้ไขปัญหาที่เป็นประโยชน์ต่อการทำวิทยานิพนธ์แก่ข้าพเจ้าตลอดมา ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. สมยศ เดชภิรัตนมงคล รศ.ดร. พรหมมาศ คูหากาญจน์ ผศ.ดร. ธีรวัฒน์ ศรุตโยภาส และ ผศ.ดร. ชัชวาล จันทราสุริยารัตน์ กรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้ความรู้ตลอดจนคำแนะนำทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ดร. พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ ที่ให้ความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์ข้าว NILs ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ และภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อราโรคไหม้ที่ใช้ในการทดสอบ

ขอขอบคุณ คุณเพ็ญนภา ตันเซียน คุณวรวุฒิ เอื้อมงคลการ และคุณจุฬาลักษณ์ ตลับนาค ที่ให้คำแนะนำและช่วยเหลือข้าพเจ้าด้วยดีตลอดมา

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่งจากศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร สำนักงานบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ (AG-BIO/PERDO-CHE)

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณบิดา มารดา และครอบครัวของข้าพเจ้า ที่คอยเป็นกำลังใจและให้การสนับสนุนในการทำวิทยานิพนธ์ทำให้ข้าพเจ้าสามารถทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

นวรัตน์ ใจหอม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย…… I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ…….. III

กิตติกรรมประกาศ…… V

สารบัญ……. VI

สารบัญตาราง…… XI

สารบัญตารางภาคผนวก……..... XII

สารบัญภาพ…….. XIII

บทที่ 1 บทนำ…… 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา……. 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย…… 2

1.3 สถานที่ดำเนินงาน……... 2

1.4 ผลคาดว่าจะได้รับ…… 2

บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง…… 3

2.1 โรคไหม้ของข้าว (Rice blast disease)……. 3

2.1.1 ประวัติ…… 3

2.1.2 ลักษณะอาการของโรค……... 3

2.2 เชื้อราสาเหตุโรคไหม้…….. 4

2.2.1 สถานะทางอนุกรมวิธาน…… 5

2.2.2 วงจรชีวิตและวงจรการเกิดโรคของเชื้อรา…….. 5

2.2.2.1 วงจรชีวิต…… 5

2.2.2.2 วงจรการเกิดโรค…… 6

2.3 ความสัมพันธ์ระหว่างยีนก่อโรคในเชื้อรากับยีนต้านทานโรคของพืช…… 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4 เครื่องหมาย (Marker)……. 8

2.4.1 เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยา (Morphological Marker)…… 8

2.4.2 เครื่องหมายทางโมเลกุล (Molecular Marker)…… 8

2.4.2.1 เครื่องหมายโปรตีน (Protein Marker)……... 9

2.4.2.2 เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ (DNA Marker)…….. 9

2.5 ความแปรปรวนและความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อรา

สาเหตุโรคไหม้……..... 11

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย……... 17

3.1 อุปกรณ์และวัสดุการวิจัย……... 18

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย……... 20

3.2.1 การสำรวจเก็บตัวอย่างเชื้อโรคไหม้และการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์

โดยวิธี Tissue transplanting method…… 20

3.2.2 การตรวจสอบ Mating type ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้……..….. 20

3.2.2.1 การสกัดดีเอ็นเอจากเส้นใยเชื้อรา *P. grisea*…… 20

3.2.2.2 การตรวจสอบปริมาณและคุณภาพของดีเอ็นเอ

ด้วยการวัดค่าดูดกลืนแสง และเทคนิคอะกาโรส

เจลอิเล็กโตรโฟรีซีส…… 21

3.2.2.3 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพร์เมอร์ *Mat gene*

ด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction)……... 21

3.2.3 การวิเคราะห์การจัดกลุ่มความหลากหลายของเชื้อราโดยใช้

เครื่องหมายโมเลกุล SSR……..... 23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.3.1 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction)…… 23

3.2.3.2 การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำพีซีอาร์…… 23

3.2.3.3 การวิเคราะห์ข้อมูลความหลากหลายของเชื้อราโรคไหม้และประเมินศักยภาพของเครื่องหมายโมเลกุล SSR…… 24

3.2.4 การวิเคราะห์ความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้บนข้าวพันธุ์แนะนำของไทย…… 27

3.2.4.1 พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการทดสอบ…….... 27

3.2.4.2 การทดสอบการเกิดโรคของเชื้อ *P. grisea* บนต้นกล้าข้าว…….…. 27

3.2.4.3 การวิเคราะห์การจัดกลุ่มความหลากหลายของเชื้อราโรคไหม้…… 28

3.2.4.4 การคำนวณค่าดัชนีความรุนแรงของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ (Virulence index, VI)…….. 29

3.2.4.5 การคำนวณค่าดัชนีความต้านทานของข้าว (Resistance index, RI)…….…… 29

3.2.5 การวิเคราะห์ความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้บนข้าว Near Isogenic Lines (NILs)…….. 29

3.2.5.1 พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการทดสอบ…… 29

3.2.5.2 การทดสอบการเกิดโรคของเชื้อ *P. grisea* บนต้นกล้าข้าว NILs…… 30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.5.3 การวิเคราะห์การจัดกลุ่มความหลากหลายของเชื้อราโรคไหม้..... 31

3.2.5.4 การคำนวณค่าดัชนีความรุนแรงของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ (Virulence index, VI) ที่ทดสอบบนข้าว NILs..... 32

3.2.4.5 การคำนวณค่าดัชนีความต้านทานของข้าว (Resistance index, RI) ที่ทดสอบบนข้าว NILs 32

บทที่ 4 ผลการทดลอง..... 33

4.1 การสำรวจและเก็บรวบรวมเชื้อรา *P. grisea* ในประเทศไทย..... 33

4.2 การตรวจสอบ Mating type ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้โดยใช้ไพรเมอร์ *Mat gene*..... 33

4.3 การประเมินความหลากหลายของประชากรเชื้อรา *P. grisea* โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR..... 39

4.3.1 การประเมินศักยภาพของเครื่องหมายโมเลกุล SSR..... 39

4.3.2 ผลการวิเคราะห์การจัดกลุ่มความหลากหลายของเชื้อราโรคไหม้โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR..... 39

4.4 การประเมินความหลากหลายและความรุนแรงของเชื้อรา *P. grisea*..... 49

4.4.1 การจัดกลุ่มความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อรา *P. grisea* ที่เข้าทำลายข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105..... 49

4.4.2 การประเมินความหลากหลายและความรุนแรงของเชื้อรา *P. grisea* ที่ทดสอบบนข้าวพันธุ์แนะนำของไทย..... 49

4.4.3 การประเมินความหลากหลายและความรุนแรงของเชื้อรา *P. grisea* ที่ทดสอบบนข้าวชุด NILs..... 54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง……...……...……..……... 60

5.1 การสำรวจและเก็บรวบรวมเชื้อรา *P. grisea* ในประเทศไทย……..……. 60

5.2 การตรวจสอบ Mating type ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้……..… 60

5.3 การประเมินความหลากหลายของประชากรเชื้อรา *P. grisea* โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR……... 61

5.4 การประเมินความหลากหลายและความรุนแรงของเชื้อรา *P. grisea* ที่ทดสอบบนข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ข้าวพันธุ์แนะนำและชุดข้าว NILs..... 62

บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง……..……... 65

บรรณานุกรม……..……... 67

ภาคผนวก……..…… 73

ประวัติผู้เขียน……..…… 109

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ยีนก่อโรคไหม้ที่มีการศึกษาและรายงานไว้จนถึงปัจจุบัน……...…… 8

3.1 ลำดับเบสและขนาดของผลผลิตของไพรเมอร์ *Mat* gene ที่ใช้ในการตรวจสอบ mating type ของเชื้อรา *P. grisea*……..…… 22

3.2 ลำดับเบสของไพรเมอร์และขนาดของผลผลิตของเครื่องหมายโมเลกุล *Magnaporthe grisea* Microsatellite (MGM) ที่ใช้ในการศึกษา……..…….. 26

3.3 รายชื่อพันธุ์ข้าว Near Isogenic Lines (NILs) จำนวน 32 สายพันธุ์ และยีนต้านทานโรคไหม้…….. 30

4.1 แสดงรายชื่อและแหล่งที่มาของเชื้อรา *P. grisea* ที่เก็บรวบรวมได้และใช้ในการทดลองทั้งหมด 57 ไอโซเลท……..……... 34

4.2 สรุปผลการตรวจสอบ Mating type ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้……..….. 37

4.3 แสดงค่า polymorphic information content (PIC) ของเครื่องหมายโมเลกุล MGM จำนวน 14 เครื่องหมาย……...……. 40

4.4 แสดงค่าดัชนีความรุนแรง (VI) ของเชื้อรา *P. grisea* จำนวน 57 ไอโซเลท ที่ทดสอบบนข้าวพันธุ์แนะนำ……..……..……... 53

4.5 ค่าดัชนีความต้านทาน (RI) ของพันธุ์ข้าวแนะนำจำนวน 25 พันธุ์ ที่ทดสอบกับเชื้อราโรคไหม้ 57 ไอโซเลท……..…. 54

4.6 แสดงค่าดัชนีความรุนแรง (VI) ของเชื้อรา *P. grisea* จำนวน 48 ไอโซเลท ที่ทดสอบบนข้าวชุด NILs……..……..…… 58

4.7 ค่าดัชนีความต้านทาน (RI) ของพันธุ์ข้าวชุด NILs จำนวน 32 สายพันธุ์ ที่ทดสอบกับเชื้อราโรคไหม้ 48 ไอโซเลท…… 59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตารางภาคผนวก

ตารางผนวกที่ หน้า

1 ข้อมูลรูปแบบดีเอ็นเอในการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมและจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของเชื้อโดยใช้โปรแกรม NTSYSpc 2.10……. 80

2 ข้อมูลปฏิกิริยาการก่อโรคของเชื้อโรคไม้บนข้าวพันธุ์แนะนำในการวิเคราะห์การจัดกลุ่มเชื้อโรคไหม้โดยใช้โปรแกรม NTSYSpc 2.10……... 101

3 ข้อมูลปฏิกิริยาการก่อโรคของเชื้อโรคไม้บนข้าว NILs ในการวิเคราะห์การจัดกลุ่มเชื้อโรคไหม้โดยใช้โปรแกรม NTSYSpc 2.10…….…… 106

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 แสดงลักษณะอาการของโรคไหม้ข้าว (rice blast disease)…..…….. 4

2.2 แสดงลักษณะของ conidia และ conidiophore ของเชื้อรา *P. grisea*……..…… 6

2.3 แสดงวงจรชีวิตและวงจรการก่อโรคของเชื้อรา *P. grisea* Sacc……..…….. 6

3.1 ลักษณะอาการโรคไหม้และระดับคะแนนการเกิดโรค 7 ระดับ……..…… 28

3.2 ลักษณะอาการโรคไหม้และระดับการเกิดโรค 6 ระดับ……..…… 31

4.1 ผลการตรวจสอบ Mating type ของเชื้อราโรคไหม้ โดยใช้ไพรเมอร์ MAT1-1 ซึ่งเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb DNA ladder (M) และเชื้อราทดสอบความสมบูรณ์เพศมาตรฐาน GUY11 และ 70-15……..……..…… 35

4.2 ผลการตรวจสอบ Mating type ของเชื้อราโรคไหม้โดยใช้ไพรเมอร์ MAT1-2 ซึ่งเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb DNA ladder (M) และเชื้อราทดสอบความสมบูรณ์เพศมาตรฐาน GUY11 และ 70-15……..……..……. 36

4.3 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM447 (M คือ 10 bp DNA ladder)..... 41

4.4 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM35 (M คือ 10 bp DNA ladder)..... 41

4.5 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM192 (M คือ 10 bp DNA ladder)…….. 42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.6 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM185 (M คือ 10 bp DNA ladder)..... 42

4.7 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM436 (M คือ 10 bp DNA ladder)..... 43

4.8 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM209 (M คือ 10 bp DNA ladder)..... 43

4.9 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM237 (M คือ 10 bp DNA ladder)..... 44

4.10 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM249 (M คือ 10 bp DNA ladder)..... 44

4.11 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM453 (M คือ 10 bp DNA ladder)..... 45

4.12 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM110 (M คือ 10 bp DNA ladder)..... 45

4.13 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM266 (M คือ 10 bp DNA lad..... 46

4.14 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM400 (M คือ 10 bp DNA ladder)..... 46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.15 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM282 (M คือ 10 bp DNA ladder)……... 47

4.16 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM414 (M คือ 10 bp DNA ladder)…… 47

4.17 เดนโดรแกรมแสดงการจัดกลุ่มความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 53 ไอโซเลท โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR จำนวน 14 เครื่องหมาย……..... 48

4.18 เดนโดรแกรมแสดงการจัดกลุ่มความหลากหลายของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 57 ไอโซเลท ที่ทดสอบบนข้าวพันธุ์แนะนำจำนวน 25 พันธุ์……... 51

4.19 แสดงเดนโดรแกรมการจัดกลุ่มความหลากหลายของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 48 ไอโซเลท ที่ทดสอบบนข้าวชุด NILs จำนวน 32 พันธุ์ ข้าวพันธุ์ IR64 และข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105…….. 57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ข้าวเป็นสินค้าเกษตรที่สำคัญของประเทศไทย ทั้งการบริโภคของประชากรภายในประเทศและการส่งออกไปยังต่างประเทศ ประเทศไทยผลิตข้าวได้มากเป็นอันดับที่ 6 ของโลก (กรมการข้าว. 2555) ในปีเพาะปลูก 2555/56 ประเทศไทยมีปริมาณผลผลิตข้าวนาปีและนาปรังรวม 38.0 ล้านตันข้าวเปลือก (ธนาคารแห่งประเทศไทย. 2556) ซึ่งในปี 2556 มีการส่งออกข้าวปริมาณ 6.97 ล้านตันข้าวสาร มูลค่า 137,861 ล้านบาท เมื่อเปรียบเทียบกับปี 2555 พบว่ามีปริมาณการส่งออกเพิ่มขึ้นร้อยละ 0.2 (กรมการค้าต่างประเทศ. 2557) โดยพื้นที่ปลูกข้าวกระจายอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศ แต่อุปสรรคในการผลิตข้าวคือปัญหาที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อโรคหลายชนิด โดยเฉพาะเชื้อราสาเหตุโรคไหม้

เชื้อรา *Pyricularia grisea* Sacc. ซึ่งเป็นเชื้อสาเหตุโรคไหม้ของข้าว (rice blast disease) มีชื่อเรียกในระยะสืบพันธุ์แบบใช้เพศว่า *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr. เป็นสาเหตุสำคัญที่ก่อให้เกิดความเสียหายและมีการระบาดของโรคอย่างกว้างขวางทั้งในประเทศไทยและในประเทศอื่นๆที่มีการปลูกข้าวทั่วโลก สำหรับประเทศไทยนั้นมีการระบาดของโรคมากโดยเฉพาะในพื้นที่ปลูกข้าวภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งมีสภาพภูมิอากาศและความชื้นเหมาะสมต่อการเข้าทำลายของเชื้อราโรคไหม้นี้ โดยเชื้อราสามารถเข้าทำลายได้ทุกส่วนของต้นข้าว ในทั้ง 3 ระยะ คือ ระยะต้นกล้า ระยะแตกกอ และระยะออกรวง โดยเฉพาะการเกิดโรคในระยะออกรวงทำให้มีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ด น้ำหนัก และขนาดของเมล็ดลดลง (พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ และคณะ. 2550) ส่งผลให้ผลผลิตข้าวลดลงอย่างมากในแต่ละปี ในปี 2535 พบการระบาดของโรคไหม้ในระยะออกรวงบริเวณภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย มีพื้นที่ปลูกข้าวได้รับความเสียหายประมาณ 1.2 ล้านไร่ (Disthaporn. 1994) และในปี 2553 พบการระบาดในจังหวัดมหาสารคาม อุบลราชธานี และบุรีรัมย์ ในช่วงเดือนกันยายน-ธันวาคม มีพื้นที่ได้รับความเสียหายมากกว่า 793,200 ไร่ (ศรีสวัสดิ์ ขันทอง และคณะ. 2553) เชื้อราชนิดนี้เป็นเชื้อราที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรม สามารถปรับตัวให้เข้าทำลายข้าวได้อย่างรวดเร็วภายในระยะเวลาไม่กี่ชั่วอายุ (Ou. 1985) Giatgong and Frederiksen (1969) ศึกษาเกี่ยวกับความแปรปรวนทางพันธุกรรมของเชื้อราชนิดนี้พบว่าเกิดจากการกลายพันธุ์และการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศทำให้เกิดเชื้อสายพันธุ์ใหม่ๆ เชื้อราจึงสามารถปรับตัวได้อย่างรวดเร็วในการเข้าทำลายข้าว ด้วยเหตุนี้การศึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกี่ยวกับความรุนแรงและความหลากหลายของเชื้อโรคไหม้นี้จะเป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความต้านทานเชื้อโรคไหม้ได้ครอบคลุมทั่วทุกภาคของประเทศไทยได้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อเก็บรวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าว (*Pyricularia grisea*) ที่แพร่ระบาดในประเทศไทย

1.2.2 เพื่อศึกษาแบบของการผสมพันธุ์ (Mating type) ของประชากรเชื้อรา *P. grisea* ที่เก็บรวบรวมได้ในประเทศไทยโดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะเจาะจง

1.2.3 เพื่อศึกษาความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวในประเทศไทยโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR

1.2.4 เพื่อจัดจำแนกรูปแบบปฏิกิริยาการเกิดโรค (pathotype) ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้บนข้าว Near Isogenic Lines (NILs) และข้าวพันธุ์แนะนำของไทย

1.3 สถานที่ดำเนินงาน

ห้องปฏิบัติการโรคพืช ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถเก็บรวบรวมเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่กระจายในประเทศไทยได้ครอบคลุมทุกภูมิภาคที่มีการปลูกข้าว

1.4.2 ทราบถึงแบบของการผสมพันธุ์ (Mating type) ของประชากรเชื้อรา *P. grisea* ที่เก็บรวบรวมได้ในประเทศไทย

1.4.3 ทราบถึงความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่องหมายโมเลกุล SSR

1.4.4 ทราบถึงความหลากหลายและรูปแบบปฏิกิริยาการเกิดโรคของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่ได้ทดสอบบนข้าว NILs และข้าวพันธุ์แนะนำของไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โรคไหม้ของข้าว (Rice blast disease)

2.1.1 ประวัติ

โรคไหม้ของข้าว หรือโรคไหม้คอรวง หรือโรคข้อลำต้นเน่า ทั้งนี้เป็นการเรียกชื่อตามลักษณะอาการของโรคที่เกิดกับต้นข้าวในแต่ละระยะการเจริญเติบโต โรคนี้เป็นที่รู้จักกันมาตั้งแต่สมัยโบราณหลายร้อยปีมาแล้ว มีการพบครั้งแรกในประเทศอิตาลี เมื่อปี ค.ศ.1560 เรียกโรคดังกล่าวว่า “Brusone” ต่อมามีรายงานจากประเทศจีนในปี ค.ศ. 1637 บรรยายลักษณะอาการของโรคนี้ว่าเกิดจากความร้อนซึ่งเมล็ดดูดแสงอาทิตย์ไปเก็บไว้ และมีการเรียกชื่อโรคว่า “rice fever disease” ต่อมาในสหรัฐอเมริกาพบโรคนี้ในปี ค.ศ. 1876 เรียกโรคนี้ว่า “Blast” หรือ “Rotten neck”

สำหรับประเทศไทยมีรายงานว่าพบโรคนี้ครั้งแรกเมื่อปี พ.ศ. 2496 โดยแผนกโรควิทยา กองพืชพันธุ์ กรมกสิกรรม โดยเกิดกับข้าวพันธุ์หอมเศรษฐี ที่สถานีทดลองเกษตรกลางบางเขน และบริเวณใกล้สถานีรถไฟมักกะสัน สันนิษฐานว่าโรคนี้อาจติดมากับข้าวที่มาจากประเทศญี่ปุ่นสมัยสงครามโลกครั้งที่ 2 หรืออาจมีโรคนี้อยู่แล้วแต่ยังไม่เกิดการระบาดรุนแรง ต่อมามีการพบโรคนี้แพร่ระบาดทั่วทุกภาคของประเทศไทยที่มีการปลูกข้าว (ชวาลา บุรณศิริ. 2531)

2.1.2 ลักษณะอาการของโรค

เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ของข้าวนี้สามารถเข้าทำลายข้าวได้ทุกระยะตั้งแต่ระยะกล้าไปจนถึงข้าวออกรวง โดยเชื้อจะสร้างโคนิเดีย (conidia) ปลิวไปในอากาศ ตกลงบนใบข้าว เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม โคนิเดียจะเริ่มสร้างเส้นใยและสร้างแอพเพรสซอเรียม (appressorium) แทงเข้าไปในใบข้าวและเจริญใช้อาหารในใบข้าว ทำให้เกิดโรคใบไหม้ข้าว (leaf blast) การเข้าทำลายของเชื้อโรคไหม้นี้มักเกิดในเวลากลางคืนซึ่งมีอุณหภูมิค่อนข้างเย็นและมีความชื้นสูงเหมาะสม

ในระยะกล้า พบอาการของโรคเริ่มแรกเป็นจุดสีน้ำตาลขนาดเล็ก 1–2 มิลลิเมตร จากนั้นแผลจะเริ่มขยายใหญ่ขึ้นและเปลี่ยนเป็นจุดสีเทาลักษณะช้ำน้ำ ขนาดของแผลประมาณ 2–3 มิลลิเมตร จะพบลักษณะของแผลนี้เมื่อเชื้อโรคเข้าทำลายได้ 3–5 วัน ต่อมาแผลจุดช้ำน้ำจะเปลี่ยนเป็นรูปตาสีเทาขอบแผลสีน้ำตาล ขนาดของแผลกว้างประมาณ 3–5 มิลลิเมตร และยาว 5– 15 มิลลิเมตร อาการเช่นนี้จะพบมากเมื่อเชื้อเข้าทำลายได้ 7–10 วัน (ภาพที่ 2.1) ในกรณีที่มีการระบาดรุนแรงจะพบจุดช้ำน้ำจำนวนมากทั่วทั้งใบทำให้ใบแห้งตายคล้ายถูกน้ำร้อนลวก และทำให้ต้นกล้าฟุบตายได้ในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะแตกกอ พบเชื้อเข้าทำลายได้ที่ใบ กาบใบ ข้อต่อใบ และข้อต่อลำต้น อาการส่วนใหญ่จะพบจุดสีน้ำตาลรูปตา ตรงกลางแผลเป็นสีเทา ขนาดแผลมักจะใหญ่กว่าแผลที่พบในระยะกล้า อาการที่ข้อต่อใบและข้อต่อลำต้นจะพบแผลมีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ ใบข้าวจะหลุดง่าย

ระยะออกรวง เชื้อสามารถเข้าทำลายได้ที่รวงข้าวจนถึงคอรวง ในระยะนี้เรียกว่าโรคไหม้คอรวง (panicle blast) โดยสปอร์ของเชื้อราจะงอกเส้นใยเข้าทำลายรวงข้าวทำให้รวงข้าวมีเมล็ดลีบเปลือกเมล็ดข้าวมีสีเทาดำของสปอร์ ในกรณีที่รวงข้าวสามารถยืดขึ้นมาก่อนที่เชื้อโรคไหม้เข้าทำลาย เชื้อก็ยังสามารถเข้าทำลายที่คอรวงโดยบริเวณที่เชื้อเข้าทำลายจะมีสีเทาดำ เมล็ดไม่สะอาดและลีบเป็นจำนวนมาก ถ้าเกิดการระบาดอย่างรุนแรงจะพบรวงข้าวลีบทั้งรวงและรวงข้าวหักง่ายในบริเวณที่เชื้อเข้าทำลาย (พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์. 2548)

ภาพที่ 2.1 แสดงลักษณะอาการของโรคไหม้ข้าว (rice blast disease)

2.2 เชื้อราสาเหตุโรคไหม้

เชื้อรา *Pyricularia grisea* Sacc. มีชื่อเรียกเชื้อนี้ในระยะที่พบการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (teleomorph) ว่า *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barr. มีรูปแบบการดำรงชีพแบบ hemibiotrophic คือ ในช่วงชีวิตแรกมีการดำรงชีพแบบ biotrophic ได้รับสารอาหารจากเซลล์พืชที่มีชีวิต และในช่วงชีวิตที่สองมีการดำรงชีพแบบ necrotrophic ได้รับสารอาหารจากเซลล์พืชที่ตายแล้ว (Kankanala *et al*., 2009) เชื้อรานี้มีความสามารถเข้าทำลายพืชตระกูลหญ้าได้ไม่น้อยกว่า 50 ชนิด เช่น ข้าว (*Oryza sativa* L.) ข้าวสาลี (*Triticum aestivum*) พืชตระกูลมิลเล็ท เช่น *Eleusine* spp., *Echinochloa* spp., *Panicum* spp., และ *Setaria* spp. เป็นต้น (Uddin *et al*., 2003) และในประเทศไทยยังไม่พบระยะการเจริญแบบอาศัยเพศในธรรมชาติ (พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์. 2548)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1 สถานะทางอนุกรมวิธาน

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

Kingdom Eumycota
Sub Division Deuteromycotina
Class Deuteromycetes
Order Moniliales
Family Moniliaceae
Genus *Pyricularia*

2.2.2 วงจรชีวิตและวงจรการก่อโรคของเชื้อรา

2.2.2.1 วงจรชีวิต

ในระยะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (imperfect stage) มีการสร้างโคนิเดียบนโคนิดิโอฟอร์ (conidiophore) รูปร่างของโคนิดิโอฟอร์มีลักษณะยาว (cylinder) เป็นส่วนก้านที่ช่วยพยุงโคนิเดียไว้ ส่วนมากที่ฐานมักโตกว่าส่วนปลาย มักเกิดเป็นกลุ่มโผล่มาจากปากใบหรือจากผนังเซลล์พืช อาจไม่มีสีหรือมีสีเขียวมะกอกอ่อน มีผนังกั้นตั้งแต่ 2 – 8 ผนังกั้น ต่อ 1 โคนิดิโอฟอร์ รูปร่างของ โคนิเดียมีตั้งแต่แบบ pyriform จนถึง obclavate (ด้านปลายแคบกว่าด้านโคน) โคนิเดียมีสีใส (hyaline) ส่วนมากมี 2 ผนังกั้น ขนาดของโคนิเดียจะแตกต่างกันตามพืชอาศัยและสภาพแวดล้อม (Ou. 1985) (ภาพที่ 2.2)

ในระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (perfect stage) มีการสร้างเส้นใยแบบ bipolar mating type คือ การที่เชื้อจะผสมพันธุ์กันได้ก็ต่อเมื่อเส้นใยของเชื้อที่มีคุณสมบัติที่แตกต่างกันทางเพศ (mating type) มีการสร้าง fruiting body แบบ perithecium ภายในบรรจุ ascospore ที่อยู่ภายในถุง ascus ในบางครั้งเชื้อผสมพันธุ์กันได้ไม่สมบูรณ์อาจจะพบเชื้อสร้างเนื้อเยื่อ perithecia แต่เชื้อไม่สามารถสร้าง ascospore ภายในถุง ascus ได้ (พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์. 2548)

การอยู่ข้ามฤดูของเชื้อสาเหตุในเขตร้อน พบ conidia อยู่ในอากาศ (air – borne conidia) เชื้อราอาศัยอยู่บนต้นข้าวที่เป็นโรคและ alternative host (Ou. 1985) conidia และ conidiophore จะมีชีวิตอยู่ในเมล็ดข้าวได้นานที่สุด 2 และ 4 ปี ตามลำดับ ซึ่งมีผลทำให้เมล็ดมีความงอกและการเจริญเติบโตต่ำ conidia สามารถแพร่กระจายไปได้โดยลมเป็นระยะไกลและตรวจพบได้ที่ระดับความสูง 2,000 เมตรจากพื้นดิน (Ou. 1985)

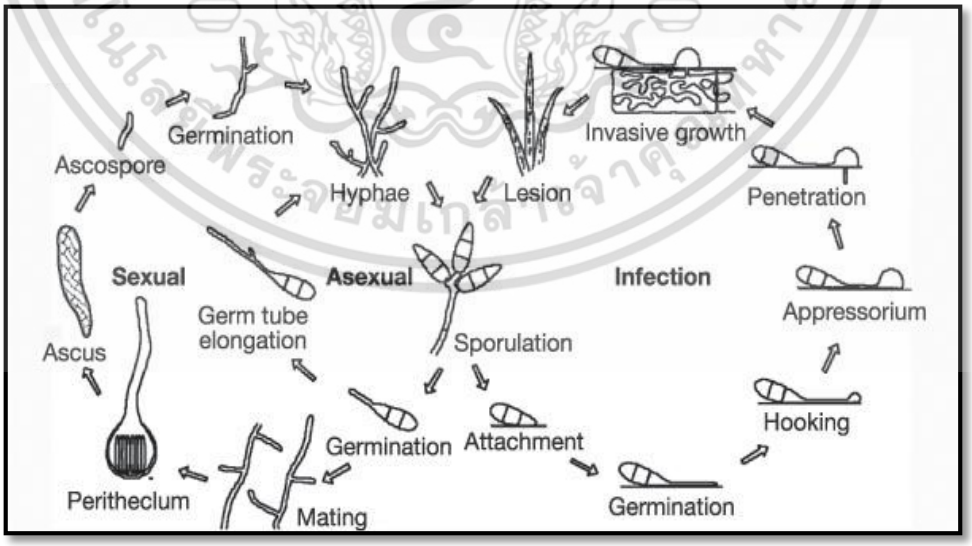
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2.2 วงจรการก่อโรค

เชื้อรา *P. grisea* นี้ มีรูปแบบการดำรงชีพแบบ hemibiotrophic คือ ในช่วงชีวิตแรกมีการดำรงชีพแบบ biotrophic ได้รับสารอาหารจากเซลล์พืชที่มีชีวิต และในช่วงชีวิตที่สองมีการดำรงชีพแบบ necrotrophic ได้รับสารอาหารจากเซลล์พืชที่ตายแล้ว (Kankanala *et al*., 2009) โดยเชื้อราจะสร้างสปอร์ปลิวไปในอากาศ ในการเข้าทำลายของเชื้อโรคไหม้นี้เกิดในช่วงเวลากลางคืนซึ่งมีอุณหภูมิค่อนข้างเย็นและมีความชื้น อุณหภูมิอยู่ในช่วง 25 – 30 องศาเซลเซียส สปอร์จะเริ่มงอกเมื่อพบสภาพแวดล้อมเหมาะสมเพียง 30 – 90 นาที โดยอาศัยน้ำที่อยู่ที่ผิวใบงอก germtube และสร้าง appressorium ใช้เวลาประมาณ 2 – 4 ชั่วโมง เพื่อทำหน้าที่เกาะยึดเพื่อที่จะใช้ penetration peg แทงเข้าไปในใบและเจริญใช้อาหารในใบข้าว จึงทำให้เกิดโรคใบไหม้ข้าว (leaf blast) (ภาพที่ 2.3) (พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์. 2548)

ภาพที่ 2.2 แสดงลักษณะของ conidia และ conidiophore ของเชื้อรา *P. grisea*

ที่มา http://www.forestryimages.org/browse/detail.cfm?imgnum=5390482



ภาพที่ 2.3 แสดงวงจรชีวิตและวงจรการเกิดโรคของเชื้อรา *P. grisea*

ที่มา Dean *et al*. (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ความสัมพันธ์ระหว่างยีนก่อโรคในเชื้อรากับยีนต้านทานโรคของพืช

ปฏิสัมพันธ์ระหว่างพืชกับเชื้อสาเหตุโรคพืชนั้นขึ้นอยู่กับระดับความต้านทานของพืชอาศัยและระดับความสามารถในการก่อโรคของเชื้อสาเหตุโรค เชื้อสาเหตุโรคสายพันธุ์ที่ก่อความรุนแรงแก่พืชอย่างเด่นชัด เรียกว่าสายพันธุ์ virulent ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อสาเหตุโรคสายพันธุ์นี้และพืชอ่อนแอ (succeptible host) เรียกว่า compatible interaction ส่วนเชื้อสาเหตุโรคสายพันธุ์ที่มีผลกระทบต่อพืชน้อย เรียกว่าสายพันธุ์ avirulent ปฏิสัมพันธ์ระหว่างเชื้อสาเหตุโรคสายพันธุ์นี้และพืชต้านทาน เรียกว่า incompatible interaction (ปิยะดา ตันตสวัสดิ์. 2554) การเกิดโรคในพืชเป็นผลมาจากปฏิกิริยาระหว่างพืชและเชื้อสาเหตุโรคซึ่งพืชอาจต้านทานหรืออ่อนแอต่อเชื้อสาเหตุโรค และเชื้อสาเหตุโรคอาจเข้าทำลายพืชหรือไม่สามารถเข้าทำลายพืชได้

การเกิดโรคคือผลของปฏิกิริยาระหว่างยีนที่อยู่ในพืชและยีนที่อยู่ในเชื้อสาเหตุโรค เรียกทฤษฎีนี้ว่า gene-for-gene โดย Flor (1971) ได้อธิบายว่า เนื่องจากวิวัฒนาการของความสัมพันธ์ระหว่างพืชอาศัยและเชื้อสาเหตุโรค ทำให้เกิดระบบพันธุกรรมระหว่างพืชและเชื้อสาเหตุโรคที่มีปฏิสัมพันธ์ซึ่งกันและกันในแบบยีนต่อยีน คือ ยีนต้านทานของพืชแต่ละยีนจะมีความจำเพาะเจาะจงต่อยีนก่อโรคในเชื้อสาเหตุโรค นั่นคือ หากมียีนหนึ่งที่ควบคุมปฏิกิริยาในพืชย่อมมียีนอีกยีนหนึ่งที่คู่กันซึ่งทำหน้าที่ควบคุมปฏิกิริยาในเชื้อสาเหตุโรคและการแสดงออกของความต้านทาน (resistant) จะเกิดขึ้นก็ต่อเมื่อยีนที่เข้าคู่กันทั้งในพืชและในเชื้อสาเหตุโรคเป็นยีนเด่น (dominance gene) เท่านั้น หากยีนใดยีนหนึ่งเป็นยีนด้อย (recessive gene) จะแสดงความไม่ต้านทานโรคหรืออ่อนแอต่อโรค (susceptible) ดังนั้นแม้ว่าต้นพืชจะมียีนต้านทานโรคไหม้อยู่ 1 ยีนหรือมีมากกว่าก็ตาม พืชจะถูกเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลายได้ก็ต่อเมื่อถูกเชื้อโรคที่มียีนก่อโรคแบบ recessive gene เข้าทำลาย ซึ่งเชื้อราสาเหตุโรคไหม้นั้นมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง สามารถปรับตัวให้เข้าทำลายพืชได้ในระยะเพียงไม่กี่ชั่วอายุ ด้วยการปรับเปลี่ยนจากยีนที่เป็น dominance gene ให้เป็น recessive gene เพื่อเข้าทำลายพืชได้ (กฤษฎา สัมพันธรักษ์. 2551 ; ดำเนิน กะละดี. 2541)

ยีนก่อโรค (Avirulence gene (Avr) หรือ Effector gene) นี้ คือยีนที่มีบทบาทสำคัญในการก่อให้เกิดโรค มีการแสดงออกเป็นโปรตีนในรูปแบบเอนไซม์ที่ใช้ในขบวนการก่อโรคและถูกส่งผ่านเข้าไปในเซลล์พืช การทำงานของ effector จะไปกระตุ้นการทำงานของกลไกป้องกันที่ขึ้นอยู่กับยีนต้านทาน (R gene) ในพืช เมื่อเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลายพืชที่มียีนต้านทานจะกระตุ้นให้โปรตีน receptor ของพืชสามารถตรวจจับโปรตีน effector แล้วส่งผลให้เกิดการส่งสัญญาณให้เซลล์ตอบสนองต่อการบุกรุกของเชื้อก่อโรค เกิดขบวนการต้านทานโรคและเกิดการตอบสนองอย่างรวดเร็ว (Hypersensitive response ; HR) โดยเกิดการตายอย่างเฉียบพลันของเซลล์ที่ถูกบุกรุกและเซลล์ข้างเคียงที่ถูกเชื้อโรคบุกรุก แต่ในกรณีที่พืชไม่สามารถต้านทานโรคได้นั้นเชื้อสาเหตุโรคจะส่ง effector เข้าไปภายในเซลล์พืชเพื่อยับยั้งกระบวนการต้านทานโรคทำให้พืชนั้นแสดงอาการของโรคออกมาส่งผลให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลผลิตลดลงและตายในที่สุด (นงลักษณ์ เภรินทวงค์. 2556 ; Hammond-Kosack and Jonas. 1997 ; Rouxel and Balesdent. 2010)

ตารางที่ 2.1 ยีนก่อโรคไหม้ที่มีการศึกษาและรายงานไว้จนถึงปัจจุบัน

ยีนก่อโรค	โครโมโซม	อ้างอิง
Avr Pita	3	Orbach *et al*. (2000)
Avr Piz	3	Luo *et al*. (2005)
Avr Piz-t	7	Luo *et al*. (2005)
Avr Pi15	6	Ma *et al*. (2006)
Avr Pii	7	Yasuda *et al*. (2006)
Avr Pia	7	Chen *et al*. (2007)
Avr Pit	1	Chen *et al*. (2007)
Avr-JHN(lb), *Avr-JHN(pb)*	2	Sreewongchai *et al*. (2009)
Avr Pik^{m}	1,4	Yan *et al*. (2012)

2.4 เครื่องหมาย (Marker)

เครื่องหมาย (marker) เป็นสิ่งบ่งชี้ความเป็นเอกลักษณ์ของสิ่งมีชีวิต สามารถแยกความแตกต่างและความหลากหลายทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิตได้ เครื่องหมายที่ใช้บ่งบอกความแตกต่างนี้มี 2 ประเภท คือ เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยา (morphological marker) และเครื่องหมายทางโมเลกุล (molecular marker)

2.4.1 เครื่องหมายทางสัณฐานวิทยา (Morphological Marker)

เป็นการใช้วิธีเปรียบเทียบลักษณะภายนอกทางสัณฐานวิทยาหรือทางสรีรวิทยา ลักษณะที่ตรวจสอบนี้มักจะขึ้นกับสภาพแวดล้อมอาจทำให้การตรวจสอบผลผิดพลาดได้ จึงต้องใช้ผู้ที่มีความชำนาญเป็นพิเศษ

2.4.2 เครื่องหมายทางโมเลกุล (Molecular Marker)

เครื่องหมายทางโมเลกุลมี 2 ระดับ คือ ระดับโปรตีน และระดับดีเอ็นเอ ในระดับโปรตีนเป็นการตรวจสอบที่โมเลกุลของโปรตีนชนิดต่างๆ ระดับดีเอ็นเอเป็นการตรวจสอบความแตกต่างของลำดับนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2.1 เครื่องหมายโปรตีน (Protein Marker)

เป็นการตรวจสอบสิ่งมีชีวิตโดยใช้ความแตกต่างของโมเลกุลโปรตีน ใช้วิธีแยกโมเลกุลของโปรตีนด้วยเทคนิคอิเล็กโตรโฟรีซิส แล้วจึงย้อมดูแถบของโปรตีนจำเพาะ ข้อดีของการตรวจสอบโปรตีนคือ สามารถตรวจได้หลายตำแหน่ง ค่าใช้จ่ายไม่สูงมาก และแถบของโปรตีนนี้มีการข่มร่วมกันแบบ codominance ช่วยให้แยกความแตกต่างระหว่างแถบโปรตีนแบบโฮโมไซกัสและเฮเทอโรไซกัสได้ (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2552)

2.4.2.2 เครื่องหมายโมเลกุลดีเอ็นเอ (DNA Markers)

เครื่องหมายดีเอ็นเอ หมายถึง ลำดับเบสช่วงหนึ่งของดีเอ็นเอที่ใช้เป็นเครื่องหมายบ่งชี้ความจำเพาะของสิ่งมีชีวิต โดยอาจมีตำแหน่งอยู่บนโครโมโซม ในนิวเคลียสหรือในออร์แกเนลล์ การที่สามารถใช้ดีเอ็นเอเป็นเครื่องหมายได้เนื่องจากมีการจัดเรียงตัวของนิวคลีโอไทด์ในโมเลกุลของดีเอ็นเอที่มีความแตกต่างกันหรือมีโพลีมอร์ฟิซึม (polymorphism) ของลำดับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอ ซึ่งความแตกต่างหรือ polymorphism ของลำดับเบสในโมเลกุลของดีเอ็นเอทำให้สิ่งมีชีวิตมีความแตกต่างกันและสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลได้ ในการศึกษาความหลากหลายของเชื้อรานั้นได้มีการนำเครื่องหมายโมเลกุลต่างๆ มาใช้ประโยชน์ในการวิจัยเพื่อให้เกิดความชัดเจนมากขึ้น เช่น เครื่องหมายโมเลกุล Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Restriction fragment length polymorphism (RFLP), Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP), Single Nucleotide Polymorphism (SNP) และ Simple Sequence Repeats (SSR) ซึ่งแต่ละเครื่องหมายนั้นก็มีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกันไป (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2552 ; สุรีพร เกตุงาม. 2546)

2.4.2.2.1 เครื่องหมายโมเลกุล Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)

เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่ได้มีการพัฒนาขึ้นเพื่อใช้ตรวจสอบความแตกต่างของสิ่งมีชีวิต โดยอาศัยหลักการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยปฏิกิริยาพีซีอาร์แบบสุ่ม ที่ไม่จำเป็นต้องทราบข้อมูลเกี่ยวกับลำดับเบสของดีเอ็นเอเป้าหมาย เนื่องจากไพรเมอร์ที่ใช้ไม่จำเพาะเจาะจงกับบริเวณใดบริเวณหนึ่งของดีเอ็นเอ (arbitrary primer) วิธีการนี้มีข้อดีคือ ไม่ยุ่งยากซับซ้อน สามารถทำได้ง่าย สะดวก และรวดเร็ว ค่าใช้จ่ายในการตรวจสอบค่อนข้างต่ำ เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้มีไม่มากนักเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่นๆ ข้อจำกัดของวิธีนี้คือ ในบางครั้งอาจเกิดแถบดีเอ็นเอที่ไม่เฉพาะเจาะจง ทำให้แปลผลผิดพลาดได้ และไม่สามารถบอกความแตกต่างระหว่างโฮโมไซกัสและเฮเทอโรไซกัสได้ (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2552 ; สุรีพร เกตุงาม. 2546)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2.2.2 เครื่องหมายโมเลกุล Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)

เป็นเครื่องหมายดีเอ็นเอที่พัฒนาโดยอาศัยความแตกต่างของขนาดดีเอ็นเอที่เกิดจากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ (restriction enzyme) สิ่งมีชีวิตต่างชนิดกันย่อมมีลำดับเบสของดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน ความแตกต่างหรือความหลากหลายของสิ่งมีชีวิตส่งผลให้ตำแหน่งจดจำ (recognition site) ของเอนไซม์ตัดจำเพาะนั้นเปลี่ยนแปลงไป เมื่อนำมาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะชนิดเดียวกันจะได้ขนาดและจำนวนชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน เรียกว่า เกิดโพลีมอร์ฟิซึม (polymorphisms) สามารถตรวจสอบได้โดยอาศัยหลักการเข้าคู่ (hybridization) ของดีเอ็นเอที่มีเบสคู่สมกัน (complementary) ระหว่างดีเอ็นเอตรวจสอบ (probe) กับชิ้นดีเอ็นเอเหล่านั้น ทำให้ตรวจพบความแตกต่างของสายพันธุ์สิ่งมีชีวิตได้ เครื่องหมายนี้มีข้อดี คือ การตรวจสอบจะเจาะจงที่ยีนหรือตำแหน่งที่แน่นอนบนโครโมโซม (locus specific marker) ผลที่ได้จึงมีความแม่นยำและสามารถทำซ้ำได้ผลเหมือนเดิม (reproducibility) นอกจากนี้เครื่องหมายอาร์เอฟแอลพียังแสดงการ ข่มร่วมกัน (codominant marker) ซึ่งจะช่วยให้แยกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตระหว่างกลุ่มที่เป็นโฮโมไซกัส และ เฮเทอโรไซกัสได้ ข้อจำกัด คือ ขั้นตอนยุ่งยาก ซับซ้อน และใช้เวลานานค่าใช้จ่ายในการดำเนินการสูง ดีเอ็นเอที่ใช้ต้องมีปริมาณมากและต้องทำให้บริสุทธิ์ไม่เช่นนั้นจะไม่สามารถตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะได้ นอกจาก นี้วิธีการตรวจสอบต้องผ่านขั้นตอน Southern hybridization และดีเอ็นเอโพรบที่ใช้นั้นต้องผ่านการโคลนหรือทำให้บริสุทธิ์เสียก่อนและถ้าติดฉลากดีเอ็นเอโพรบด้วยสารกัมมันตรังสีอาจมีอันตรายถ้าไม่มีการระมัดระวังที่ดีพอ ดังนั้นจึงต้องทำด้วยความระมัดระวังในพื้นที่ที่ควบคุม (สุรีพร เกตุงาม. 2546)

2.4.2.2.3 เครื่องหมายโมเลกุล Amplified Fragment Length Polymorphism (AFLP)

เป็นเครื่องหมายที่ตรวจสอบความแตกต่างของชิ้นดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ แล้วนำมาเพิ่มปริมาณด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ วิธีการนี้เป็นการรวมจุดเด่นหรือความน่าเชื่อถือของ RFLP และประสิทธิภาพของปฏิกิริยาพีซีอาร์เข้าด้วยกัน เครื่องหมาย AFLP จัดเป็น “high throughput markers” เนื่องจากปฏิกิริยาแต่ละครั้งสามารถให้เครื่องหมายโมเลกุลได้จำนวนมาก นอกจากนี้ยังมีลักษณะเด่นหลายประการ คือ จำนวนเครื่องหมายโมเลกุลครอบคลุมทั้งจีโนม (extensive genome coverage) ในปฏิกิริยาหนึ่งๆ สามารถตรวจสอบดีเอ็นเอได้หลายตำแหน่ง (multilocus) พร้อมๆ กัน ใช้ปริมาณดีเอ็นเอเริ่มต้นในการทำปฏิกิริยาจำนวนน้อยและเมื่อทำการตรวจสอบซ้ำจะให้ผลเหมือนเดิม (reproducibility) นอกจากนี้ ยังไม่ต้องการข้อมูลลำดับเบสของดีเอ็นเอที่ต้องการตรวจสอบ ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่เกิดจากการทำ AFLP มีลักษณะเป็นลายพิมพ์แบบสุ่ม (random fingerprint) ความแตกต่างหรือ polymorphism ที่เกิดขึ้นระหว่างสิ่งมีชีวิตที่ตรวจสอบเกิดจากการมีหรือไม่มีแถบดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากการถ่ายทอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะของแถบดีเอ็นเอที่แสดงลักษณะข่ม (dominance) ต่อการไม่มีแถบดีเอ็นเอ (สุรีพร เกตุงาม. 2546)

2.4.2.2.4 เครื่องหมายโมเลกุล Single Nucleotide Polymorphism (SNP)

เป็นความแตกต่างของดีเอ็นเอเพียง 1 นิวคลีโอไทด์ ซึ่งเกิดจากการกลายพันธุ์แบบ point mutation ปัจจุบันสามารถพบ SNP จำนวนมากกระจายอยู่ทั้งจีโนม ข้อดีของเครื่องหมายนี้คือ มีจำนวนมากครอบคลุมทั้งจีโนมจึงให้ความละเอียดสูงมาก แต่มีข้อเสียคือ ในบาง SNP อาจไม่ให้ความแตกต่างระหว่างตัวอย่างที่นำมาศึกษา (ปิยะดา ตันตสวัสดิ์. 2554)

2.4.2.2.5 เครื่องหมายโมเลกุล Simple Sequence Repeats (SSR) หรือ Microsatellite

เป็นกลุ่มดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสซ้ำ (repetitive DNA) พบในจีโนมของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่ศึกษา ความผันแปรของจำนวนเบสซ้ำในจีโนมของสิ่งมีชีวิตนั้นสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นเครื่องหมายโมเลกุลในการแยกความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตได้ดีโดย polymorphism ที่เกิดขึ้นนั้น เป็นผลเนื่องมาจากจำนวนครั้งของเบสซ้ำของไมโครแซทเทลไลท์ในโลกัสหนึ่งๆ มีตั้งแต่ 1-6 เบส โดยเบสซ้ำหนึ่งเบส เรียกว่า mono-nucleotide repeat เช่น $(A)_n$ ซ้ำสองเบส เรียกว่า di-nucleotide repeat เช่น $(CA)_n$ ซ้ำสามเบส เรียกว่า tri-nucleotide repeat เช่น $(TAA)_n$ โดยที่ n เป็นจำนวนซ้ำ เบสซ้ำเหล่านี้พบกระจายอยู่บริเวณต่างๆ ของจีโนมประมาณ 10^4-10^5 โลกัส ไมโครแซทเทลไลท์เป็นส่วนที่มีการกลายพันธุ์โดยการลดลงหรือเพิ่มขึ้นของจำนวนชุดซ้ำได้ง่าย การตรวจสอบดีเอ็นเอโดยการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณที่รวมเอาส่วนของไมโครแซทเทลไลท์ไว้ภายในจึงทำให้มีโอกาสได้ขนาดดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน ไมโครแซทเทลไลท์มีชื่อเรียกแตกต่างกันไป เช่น Simple Sequence Repeats (SSR), Simple Sequence Length Polymorphisms (SSLP) และ Sequence-tagged Microsatellite Site (STMS) (สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2552 ; สุรีพร เกตุงาม. 2546)

2.5 ความแปรปรวนและความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้

ความแปรปรวนและความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้นั้น เกิดจากหลายสาเหตุ เช่น การกลายพันธุ์ การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ การรวมตัวของยีนแบบ parasexual และการเคลื่อนย้ายของประชากรเชื้อจากพื้นที่หนึ่งไปสู่อีกแหล่งหนึ่ง ทำให้ตรวจพบสายพันธุ์เชื้อโรคไหม้ที่แตกต่างไปจากเดิม (พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์. 2548)

ความแปรปรวนที่เกิดจากการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศนั้น เชื้อราจะมีตำแหน่งของยีนที่ควบคุมการผสมพันธุ์คือ mat1 ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือ *mat1-1* และ *mat1-2* โดยที่สามารถพบเส้นใยของเชื้อราที่มีคุณสมบัติแตกต่างกันทางเพศได้เมื่อนำเชื้อราที่มีแบบควบคุมการผสมพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่างกันมาเลี้ยงบนอาหารเฉพาะ แบ่งออกได้เป็น 4 ประเภท คือ hermaphrodite คือ เชื้อที่มีการสร้าง perithecia อยู่ทั้งในด้านของเชื้อทดสอบความสมบูรณ์เพศมาตรฐานและในด้านของเชื้อที่นำมาทดสอบความสมบูรณ์เพศ male fertile คือ เชื้อที่มีลักษณะเป็นเพศผู้สมบูรณ์เพศ จะมีการสร้าง perithecia อยู่เฉพาะในด้านของเชื้อทดสอบความสมบูรณ์เพศมาตรฐาน male sterile คือ เชื้อที่มีลักษณะเป็นเพศผู้แต่เป็นหมัน และ female fertile คือ เชื้อที่มีลักษณะเป็นเพศเมียสมบูรณ์เพศ มีการสร้าง perithecia อยู่เฉพาะในด้านของเชื้อที่นำมาทดสอบความสมบูรณ์เพศ (Zeigler. 1998 ; พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์. 2548) Consolo *et al*. (2005) ได้ศึกษาเกี่ยวกับประเภทของการผสมพันธุ์ของเชื้อราโรคไหม้จำนวน 125 ไอโซเลท ที่เก็บรวบรวมในประเทศอาร์เจนตินาระหว่างปี ค.ศ. 2000 และ 2003 โดยใช้ไพรเมอร์ที่เฉพาะเจาะจงต่อยีนที่ควบคุมการผสมพันธุ์ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นโดยใช้กระบวนการพีซีอาร์ และวิธีการผสมพันธุ์กับเชื้อทดสอบความสมบูรณ์เพศมาตรฐานคือ GUY11 และ KA9 ซึ่งมีแบบของการผสมพันธุ์เป็น *mat1-2* พบว่าเชื้อทั้งหมดมีแบบของการผสมพันธุ์เป็น *mat1-1* ที่สามารถผสมพันธุ์กันได้กับเชื้อทดสอบความสมบูรณ์เพศมาตรฐาน และรายงานของ Takan *et al*. (2011) ศึกษา mating type ของประชากรเชื้อราโรคไหม้ในแอฟริกาตะวันตกพบว่า 29% ของไอโซเลททั้งหมดเป็น *mat1-1* และ 79% เป็น *mat1-2* ซึ่งมีภาวะเจริญพันธุ์ต่ำ การศึกษาในด้านของ mating type นี้จะทำให้ทราบถึงประเภทของการผสมพันธุ์ของเชื้อราในแหล่งต่างๆ ซึ่งถ้าเชื้อรามีประเภทของการผสมพันธุ์ที่สามารถผสมพันธุ์กันได้ก็จะทำให้ก็จะพบว่าเชื้อราในพื้นที่นั้นมีความหลากหลายมากยิ่งขึ้นและเมื่อเชื้อรามีการผสมพันธุ์กันได้นั้นอาจจะทำให้เชื้อในรุ่นต่อๆ มามีความรุนแรงเพิ่มมากขึ้นและสามารถเข้าทำลายพันธุ์ข้าวที่ต้านทานโรคได้

อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ และพูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ (2552) ได้ศึกษาความหลากหลายของรูปแบบการตอบสนองของยีนต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรค (pathotype) ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวในภาคเหนือตอนล่าง ในระหว่างปี 2550-2551 โดยได้เริ่มทำการจำแนกกลุ่มของ pathotype ตั้งแต่ปี 2546 เป็นต้นมา ทำการเก็บเชื้อสาเหตุโรคไหม้ที่ทำให้เกิดอาการบนข้าวต่างพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลกและแปลงนาเกษตรกรในเขตภาคเหนือตอนล่างได้ทั้งสิ้น 80 ไอโซ-เลท โดยเลือกเก็บจากอาการบนข้าวที่มีฐานพันธุกรรมหลากหลายทั้งจากนิเวศนาชลประทาน นาน้ำฝน ข้าวพื้นเมือง และข้าวไร่ ทำเชื้อให้บริสุทธิ์โดยวิธี single spore isolation จากนั้นจำแนก pathotype โดยการนำมาทดสอบกับชุดข้าว Near Isogenic Lines (NILs) ของสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) ที่พัฒนาจากข้าวพันธุ์เดียวกัน จึงมีฐานพันธุกรรมคล้ายกัน เว้นแต่การมียีนต้านทานโรคไหม้ที่แตกต่างกันสายพันธุ์ละ 1 ยีน รวมทั้งหมด 18 สายพันธุ์ จากผลการทดสอบพบว่า สามารถจำแนกเชื้อสาเหตุที่ความคล้ายคลึงกัน 80% ได้ 13 pathotype ในส่วนของยีนต้านทาน พบว่ายีนที่ต้านทานเชื้อสาเหตุที่ทดสอบมากที่สุดอยู่ในระดับ 25-33% ของจำนวนเชื้อสาเหตุที่ทดสอบ ได้แก่ *Pi 4a(t)* (33.33%), *Pi ta2* (31.15%), *Pi 1* จาก IRBL1-CL (29.03%) และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pi k, Pi k-p, Pi k-h (25.00%) ในจำนวนนี้พบว่ายีน *Pi k-p* เป็นยีนต้านทานที่สามารถต้านทานโรคได้สม่ำเสมอที่สุดในช่วงของการทดสอบระหว่างปี 2546-2551

พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ และคณะ (2550) ได้ศึกษาและตรวจสอบความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวในประเทศไทย โดยการใช้พันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทานเดี่ยวมาจำแนกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวและความรุนแรงของเชื้อต่อพันธุ์ข้าวมาตรฐาน ดำเนินการทดลองปี พ.ศ. 2545-2548 ในแปลงทดลองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ได้แก่ ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี และสถานีทดลองข้าวขอนแก่น ในภาคเหนือที่ศูนย์วิจัยข้าวแพร่ ภาคเหนือตอนล่างที่ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก และภาคใต้ที่ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง เก็บตัวอย่างเชื้อโรคไหม้ที่เข้าทำลายใบข้าวและคอรวงในพันธุ์ทดสอบมาตรฐานโดยวิธีการแยกเชื้อให้ได้สปอร์เดี่ยว แล้วนำเชื้อบริสุทธิ์ไปทดสอบความรุนแรงในการเข้าทำลายของเชื้อบนพันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทานเดี่ยว 18 สายพันธุ์ จากเชื้อจำนวน 2,476 ไอโซเลท สามารถจำแนกเชื้อได้ 623 pathptype แบ่งออกเป็น 145 pathotype ที่พบประจำ และ 340 pathotype ที่หายาก พบว่าประชากรโรคไหม้ข้าวในประเทศไทยมีความหลากหลายสูงมีค่าดัชนีความหลากหลายเท่ากับ 0.83 ยีนต้านทานในข้าวบางพันธุ์แสดงความต้านทานได้เฉพาะพื้นที่และฤดูปลูกข้าว สายพันธุ์ที่พบประจำมีความรุนแรงน้อยกว่าสายพันธุ์ที่หายาก ภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบเชื้อเข้าทำลายมากที่สุด โดยเฉพาะในศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี สายพันธุ์เชื้อโรคไหม้ที่พบทั่วไปเป็นประจำทุกภาคของประเทศไทยมีความหลากหลายของเชื้อสูง ยีนต้านทานโรคไหม้ที่มีศักยภาพแสดงความต้านทานต่อเชื้อโรคไหม้ทั่วประเทศ ได้แก่ กลุ่ม *Pi 1* (*Pi 1*, *Pi 1(t)*^{LAC}, *Pi 1(t)*^{TTP}, *Pi 1*^{CL}), กลุ่ม *Pi k* (*Pi k, Pi k-p, Pi k-h*) ยีนต้านทานที่ดีคือ *Pi ta*^{2}, *Pi 5* และ *Pi 9* คู่ของยีนที่แสดงความต้านทานได้ดีที่สุด ได้แก่ *Pi 1* - *Pi 9* และ *Pi ta*^{2} - *Pi 1*^{CL} โดยเชื้อเข้าทำลายคู่ของยีนได้น้อยมาก ได้มีการแนะนำให้ใช้คู่ของยีนเหล่านี้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานต่อโรคไหม้ และใช้เชื้อที่มีความหลากหลายทั้งทางด้านความรุนแรงในการก่อโรคและสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน ประกอบการทดสอบและคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้

พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ และคณะ (2554) ศึกษาความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในพื้นที่ปลูกข้าวภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ในปี 2548 – 2552 พบประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีความหลากหลายมาก จำแนกสายพันธุ์เชื้อได้ทั้งสิ้นจำนวน 552 pathotype จากประชากรทั้งสิ้น 2,293 ไอโซเลท สายพันธุ์เชื้อที่พบประจำมีความรุนแรงน้อยกว่าสายพันธุ์เชื้อที่พบยาก ยีนต้านทานโรคไหม้ที่แสดงความต้านทานได้ดีได้แก่ กลุ่ม *Pi k* (*Pi k, Pi k-p, Pi k-h*) กลุ่ม *Pi 1* (*Pi 1, Pi 1*^{LAC}, *Pi 1*^{TTP}, *Pi 1*^{CL}) กลุ่มอื่นๆ (*Pi z-5, Pi ta*^{2} , *Pi 9*) ส่วนคู่ของยีนต้านทานที่แสดงความต้านทานได้ดีมากต่อโรคไหม้ได้แก่ *Pi kh – Pi 9, Pi ta*^{2} *– Pi 1*^{CL}, และ *Pi 1*^{CL} *– Pi 9* การพัฒนาข้าวหอมมะลิให้ต้านทานโรคไหม้ ได้สายพันธุ์ข้าวอายุเบา (ข้าวที่ออกดอกประมาณต้นเดือนกันยายน) จำนวน 6 สายพันธุ์ และเปรียบเทียบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลผลิตในนาเกษตรกรในปี 2553 ซึ่งมีการระบาดของโรคไหม้ในระยะข้าวออกรวง พบผลผลิตสูงกว่าพันธุ์ กข15 ระหว่าง 11 – 34 เปอร์เซ็นต์ และสายพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้อายุปานกลาง (ข้าวที่ออกดอกประมาณกลางเดือนกันยายนถึงต้นเดือนตุลาคม) จำนวน 9 สายพันธุ์ ให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นพันธุ์เปรียบเทียบมาตรฐาน ระหว่าง 1.6 – 9 เปอร์เซ็นต์

เสาวลักษณ์ อัครราช และคณะ (2554) ทดสอบความต้านทานโรคไหม้ระยะต้นกล้าในข้าว 24 พันธุ์ด้วยเชื้อโรคไหม้ที่แยกเก็บจากพื้นที่ปลูกข้าว 7 จังหวัด ในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยในฤดูกาลเพาะปลูกปี 2551/52 โดยใช้เชื้อโรคไหม้จำนวน 24 สายพันธุ์ พบว่าข้าวแต่ละพันธุ์มีความสามารถในการต้านทานต่อเชื้อที่แตกต่างกัน เมื่อวิเคราะห์จัดกลุ่มข้าวด้วยลักษณะความต้านทานโรคไหม้สามารถแบ่งกลุ่มข้าวออกเป็น 3 กลุ่มคือ กลุ่มที่ 1 พันธุ์ข้าวที่ต้านทานต่อเชื้อทุกสายพันธุ์ มี 7 พันธุ์ ได้แก่ CNT1, IR64, JHN, RD29, RD31, RD41 และ CT13432 กลุ่มที่ 2 พันธุ์ข้าวที่ต้านทานต่อเชื้อบางสายพันธุ์ และ กลุ่มที่ 3 พันธุ์ข้าวที่อ่อนแอต่อเชื้อทุกสายพันธุ์ ได้แก่ KDML105 และ RD6 ซึ่งผลการจัดกลุ่มพันธุ์ข้าวดังกล่าวสามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลสำหรับวางแผนการใช้พันธุ์และเป็นแหล่งพันธุกรรมในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานโรคไหม้

Chen *et al*. (2001) ทำการศึกษา pathotype ของเชื้อราโรคไหม้ข้าว (*P. grisea*) ที่เก็บรวบรวมจากภาคกลางและภาคใต้ของประเทศจีน จำนวน 792 ไอโซเลท นำมาทดสอบบนข้าว NILs ที่พัฒนาจากข้าว indica จำนวน 6 สายพันธุ์ และข้าว japonica จำนวน 7 สายพันธุ์ จากการทดสอบ pathotype ของเชื้อราด้วยข้าว indica NILs พบว่ามี 48 pathotype และ japonica NILs พบว่ามี 82 pathotype และเมื่อทดสอบเชื้อราทั้งหมดกับพันธุ์ข้าวทั้ง 2 ชนิดร่วมกันนั้น พบว่ามีการจัดกลุ่มออกได้เป็น 344 pathotype ความแตกต่างกันของ pathotype นั้น เนื่องมาจากพื้นที่ที่เก็บรวบรวมเชื้อรานั้นมีความแตกต่างกัน

Sirithunya *et al*. (2008) ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อรา *P. grisea* ในประเทศไทย โดยเก็บรวบรวมเชื้อสาเหตุโรคไหม้จากข้าว ข้าววัชพืช ข้าวบาร์เลย์ และข้าวป่า รวมทั้งหมด 174 ไอโซเลท ตรวจสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราโดยใช้เทคนิค RAPD แล้วจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของเชื้อราแต่ละไอโซเลทได้เป็น 9 กลุ่ม คือ กลุ่ม A, B, C, D, E, F, G, H และ I โดยพบว่าเชื้อในกลุ่ม B, C และ H มีความโดดเด่นที่สุดพบมากถึง 70 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อสาเหตุทั้งหมดในการศึกษานี้ จากการศึกษาการแพร่กระจายของเชื้อราทั้ง 4 กลุ่ม พบว่าเชื้อในกลุ่ม A จะพบเฉพาะในบริเวณภาคใต้ของประเทศไทย ในขณะที่สายพันธุ์กลุ่ม B และ C จะมีความแปรปรวนของประชากรค่อนข้างสูง นอกจากนี้จากการวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (Principal component analysis : PCA) บนพื้นฐานของความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อรา *P. grisea* จำนวน 174 ไอโซเลต พบว่า เชื้อทั้งหมดที่เก็บได้จากข้าว ข้าววัชพืช ข้าวบาร์เลย์ และข้าวป่า มีความแตกต่างทางพันธุกรรมน้อยมาก แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *P. grisea* นี้สามารถถ่ายทอดกันระหว่างพืชต่างชนิดกันได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *P. grisea* พบในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง โดยพบว่าภาคเหนือเป็นแหล่งที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อรา *P. grisea* มากที่สุด

Consolo *et al*. (2008) ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อรา *P. oryzae* ที่เก็บรวบรวมในประเทศอาร์เจนตินาจำนวน 161 ไอโซเลท ที่แยกได้จากข้าว 15 สายพันธุ์ จากแหล่งปลูกข้าว 9 แหล่ง ในระหว่างปี 2000 – 2005 และศึกษาลักษณะความหลากหลายโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล *Pot-2* จากการวิเคราะห์การจัดกลุ่มความเหมือนที่ 70 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสามารถจำแนกความหลากหลายของเชื้อราได้จำนวน 5 กลุ่ม คือ A, B, C, D และ E ที่มี 11, 22, 4, 1 และ 4 haplotype ตามลำดับ ซึ่ง haplotype หมายถึง รูปแบบของ genotype ที่แตกต่างกันในกลุ่มประชากร โดยที่ กลุ่มสายพันธุ์ B มีจำนวนไอโซเลทเชื้อรามากที่สุด 38% ซึ่งแยกได้จากข้าวจำนวน 4 สายพันธุ์ จากแหล่งปลูกข้าว 5 แหล่ง ในทางตรงกันข้ามกลุ่มสายพันธุ์ A และ B ไม่พบ haplotype ของเชื้อราที่เก็บจากแหล่งเดียวกัน แต่ในกลุ่มสายพันธุ์ C และ E พบ haplotype ของเชื้อราที่เก็บจากแหล่งเดียวกัน และจากการทดสอบความรุนแรงของเชื้อราบนพันธุ์ข้าว NILs และพันธุ์ข้าวทางการค้า สามารถจัดกลุ่มได้ 41 pathotype และเมื่อวิเคราะห์ความเหมือนของเชื้อราโดยใช้ข้อมูลจากลายพิมพ์ดีเอ็นเอและ pathotype ร่วมกัน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่าประชากรเชื้อรา *P. oryzae* ส่วนใหญ่ในประเทศอาร์เจนตินานั้นมีความหลากหลายทาง pathotype สูง และมีลักษณะทางพันธุกรรมที่ไม่ซับซ้อน

Madhavan *et al*. (2014) ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของเชื้อรา *M. grisea* ที่เก็บรวบรวมจากข้าว (*Oryza sativa*), หญ้า buffel (*Cenchrus ciliaris*), ข้าวฟ่างนิ้วมือ (*Eleusine coracana*) และหญ้าขน (*Brachiaria mutica*) โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล RAPD พบว่าค่าความเหมือนทางพันธุกรรมของเชื้อราต่ำสุดและสูงสุดอยู่ในช่วง 19.1 ถึง 95.9% ในการจัดกลุ่มของเชื้อราโดยวิธี UPGMA สามารถจัดออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม A และ B โดยพบว่าในกลุ่ม A มีเพียงเชื้อรา 1 ไอโซเลท คือ CBECC1 ที่แยกได้จากหญ้า buffel และไอโซเลทอื่นๆ ถูกจัดให้อยู่ในกลุ่ม B แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *M. grisea* ที่นำมาทดสอบนั้นมีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง เนื่องจากในกลุ่มนี้ประกอบไปด้วยเชื้อราที่มีแหล่งที่มาและพืชอาศัยต่างกัน

Motlagh *et al*. (2015) ได้ประเมินความหลากหลายของเชื้อรา *P. grisea* ที่เก็บรวบรวมในเมือง Guilan ในประเทศอิหร่าน โดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์จำนวน 14 เครื่องหมายในการ วิเคราะห์ พบว่าเครื่องหมาย SSR43,44 มีค่า polymorphic information content (PIC) สูงสุดคือ 0.85 และจัดกลุ่มความเหมือนของเชื้อราโดยวิธี UPGMA สามารถจัดกลุ่มได้เป็น 3 lineages ที่ระดับความเหมือน 67% พบว่ากลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยประชากรเชื้อรามากที่สุด ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับผลการวิเคราะห์องค์ประกอบแกนหลัก (Principal coordinate analysis) ที่สามารถจัดกลุ่มออกได้เป็น 3 กลุ่มเช่นกัน แสดงให้เห็นว่าเครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์เป็นเครื่องหมายที่ดีและเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์โครงสร้างของเชื้อ *P. grisea*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพ็ญนภา ตันเซียน และคณะ (2557) ได้วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในประเทศไทยจำนวน 19 ไอโซเลท โดยใช้เครื่องหมาย *Magnaporthe grisea* microsatellite (MGM) จำนวน 14 เครื่องหมาย พบว่าเครื่องหมาย MGM มีค่า Polymorphism information content (PIC) อยู่ระหว่าง 0 ถึง 0.8 เป็นเครื่องหมายที่มีศักยภาพดีและเหมาะสมในการใช้เพื่อศึกษาความหลากหลายของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ และจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของเชื้อราโดยวิธี SAHN สามารถจัดกลุ่มได้ 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม 1 คิดเป็น 73 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อทั้งหมด ซึ่งเป็นเชื้อจากบริเวณภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง กลุ่ม 2 คิดเป็น 15 เปอร์เซ็นต์ของเชื้อทั้งหมด เป็นเชื้อจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคใต้ และพบเชื้อจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือแยกออกเป็นเชื้อเดี่ยว ในกลุ่ม 3 และ 4 กลุ่มความสัมพันธ์ของพันธุกรรมเชื้อไม่ได้ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มีการระบาดของโรคไหม้ เชื้อมีการกระจายอย่างกว้างขวางในภาคต่างๆ ของประเทศไทย และบริเวณที่มีการระบาดของโรคในจังหวัดเดียวกันมีจำนวนเชื้อเข้าทำลายข้าวมากกว่า 1 ไอโซเลท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และวัสดุการวิจัย

3.1.1 เชื้อราสาเหตุโรคไหม้

3.1.1.1 เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่เก็บรวบรวมในประเทศไทย (ตารางที่ 4.1)

3.1.1.2 เชื้อราทดสอบความสมบูรณ์เพศมาตรฐาน 70-15 (MAT1-1)

3.1.1.3 เชื้อราทดสอบความสมบูรณ์เพศมาตรฐาน GUY11 (MAT1-2)

3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อรา

3.1.2.1 Rice flour agar (RFA)

3.1.2.2 Oat meal agar (OMA)

3.1.2.3 Water agar (WA)

3.1.2.4 Potato dextrose broth (PDB)

3.1.3 อุปกรณ์

3.1.3.1 อุปกรณ์สำหรับปลูกเชื้อ

3.1.4.2 กล้อง Stereo microscope

3.1.3.3 กล้อง Compound microscope

3.1.3.4 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.1.3.5 หลอดแก้วปลายแหลม

3.1.3.6 น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

3.1.3.7 ปากคีบ, เข็มเขี่ยเชื้อ, cork borer

3.1.3.8 ภาชนะแก้วดูดความชื้น (desiccator)

3.1.3.9 กระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร เบอร์ 1

3.1.3.10 แอลกอฮอล์ 70 %

3.1.3.11 จานเลี้ยงเชื้อ

3.1.3.12 ตู้อบความร้อนแห้ง (hot air oven)

3.1.3.13 หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3.14 เจลาติน (Gelita AG, Germany)

3.1.3.15 ถาดหลุมและกระบะพลาสติกสำหรับปลูก

3.1.3.16 เครื่องแก้วต่างๆ

3.1.3.17 ไมโครปิเปต (Gilson, France)

3.1.3.18 PCR plate (Thermo Scientific, UK)

3.1.3.19 microtube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร

3.1.3.20 Tip ขนาดต่างๆ

3.1.3.21 ชุด Polyacrylamide Gel Electrophoresis (Bio-Active, UK)

3.1.3.22 ชุด Agarose Gel Electrophoresis (Biorad, PAC200, USA)

3.1.3.23 เครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า (Consort, Germany)

3.1.3.24 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (Schott, cG 842, Germany)

3.1.3.25 เครื่องชั่งไฟฟ้า

3.1.3.26 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Eppendrof, Model 5418, USA)

3.1.3.27 เครื่องปั่นสารและให้ความร้อน (Wisestir, MSH-20A, Korea)

3.1.3.28 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Eppendrof, Model 6132, Germany)

3.1.3.29 เครื่องเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ (Biometra, Germany)

3.1.4 พันธุ์ข้าวทดสอบ

3.1.4.1 ข้าวพันธุ์แนะนำของประเทศไทย จำนวน 25 พันธุ์

3.1.4.2 ข้าว Near Isogenic Lines (NILs) จำนวน 32 พันธุ์

3.1.4.3 ข้าวพันธุ์หอมนิล ซึ่งเป็นพันธุ์ต้านทานโรคไหม้

3.1.4.4 ข้าวพันธุ์ IR64 ซึ่งเป็นพันธุ์ต้านทานโรคไหม้

3.1.4.5 ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอต่อโรคไหม้

3.1.5 ธาตุอาหารพืช

3.1.5.1 ปุ๋ยสูตร 46-0-0 ($N-P_2O_5-K_2O$)

3.1.6 สารเคมี

3.1.6.1 absolute ethyl alcohol (Merck, Germany)

3.1.6.2 acetic acid (VWR international S.A.S., France)

3.1.6.3 agarose gel (Vivantis, Malaysia)

3.1.6.4 ammonium persulphate (Ajax Finechem, Australia)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.6.5 bromophenol blue (Ajax Finechem, Australia)

3.1.6.6 boric acid (VWR international, UK)

3.1.6.7 β-mercaptoethanol (Merck, Germany)

3.1.6.8 chloroform (Merck, Germany)

3.1.6.9 ethidium bromide (Vivantis, Malaysia)

3.1.6.10 ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt (Univar, Australia)

3.1.6.11 formaldehyde (Ajax Finechem, Australia)

3.1.6.12 formamide (AppliChem, Germany)

3.1.6.13 Gel Save (AppliChem, Germany)

3.1.6.14 Glass Bond (Nationnal diagnostics, USA)

3.1.6.15 glycerol (APS Finechem, Australia)

3.1.6.16 isoamyl alcohol (Merck, Germany)

3.1.6.17 isopopanol (Merck, Germany)

3.1.6.18 phenol (Merck, Germany)

3.1.6.19 N,N,N′,N′ - tetramethylethylenediamine (EMD chemicals, Germany)

3.1.6.20 Tris (hydroxymethyl) aminomethane (Bio Basic Inc., USA)

3.1.6.21 silver nitrate (Merck, Germany)

3.1.6.22 sodium acetate (Ajax Finechem, Australia)

3.1.6.23 sodium chloride (Ajax Finechem, Australia)

3.1.6.24 sodium dodecyl sulfate (Bio Basic Inc., USA)

3.1.6.25 urea (Ajax Finechem, Australia)

3.1.6.26 xylene cyanol (Asia Pacific Specialty chemicals, Australia)

3.1.7 ดีเอ็นเอมาตรฐาน

3.1.7.1 10 bp DNA Ladder (Invitrogen, USA)

3.1.7.1 1 Kb DNA Ladder (Thermo Scientific, UK)

3.1.8 เครื่องหมายดีเอ็นเอ

3.1.8.1 เครื่องหมาย *Magnaporthe grisea* microsatellite (MGM) จำนวน 14 เครื่องหมาย ที่ครอบคลุมทั้ง 7 โครโมโซม ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ (Yan *et al*. 2008) (ตารางที่ 3.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วิธีดำเนินการวิจัย

3.2.1 การสำรวจเก็บตัวอย่างเชื้อโรคไหม้และการแยกเชื้อให้บริสุทธิ์โดยวิธี Tissue transplanting method

สำรวจและเก็บตัวอย่างข้าวที่แสดงอาการของโรคไหม้ที่มีการระบาดในพื้นที่ปลูกข้าวในภาคกลางและภาคตะวันออกของประเทศไทย และเชื้อราโรคไหม้ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ และภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ การแยกเชื้อจากตัวอย่างโรคข้าวที่เก็บให้บริสุทธิ์ทำตามวิธีการของ Sirithunya *et al*. (2008) โดยเตรียมจานเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ตัดกระดาษทิชชูที่ผ่านการฆ่าเชื้อให้ได้ขนาดเท่ากับจานเลี้ยงเชื้อแล้ววางลงในจานเลี้ยงเชื้อ หยดน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจนกระดาษมีความชื้นที่พอเหมาะ ตัดส่วนของข้าวที่แสดงอาการโรคให้เป็นชิ้นเล็กๆ โดยให้ส่วนของข้าวที่แสดงอาการของโรคไหม้ และมีส่วนที่ไม่แสดงอาการติดมาด้วย นำมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ใช้ปากคีบที่ผ่านการฆ่าเชื้อ คีบชิ้นส่วนขึ้นมาแล้วซับด้วยกระดาษทิชชูให้แห้ง นำไปวางบนกระดาษทิชชูในจานเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ (moist chamber) บ่มไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้อราสร้างโคนิเดีย เมื่อครบกำหนดตรวจหาโคนิเดียด้วยกล้อง stereo microscope แล้วใช้หลอดแก้วปลายแหลมแตะที่ปลายโคนิเดียย้ายไปวางที่ผิวหน้าอาหารในจานเลี้ยงเชื้อซึ่งมีอาหาร WA บ่มให้เชื้อราเจริญเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วใช้แท่งแก้วปลายแหลมเขี่ยตรงส่วนปลายของโคนิเดียที่งอก ย้ายลงอาหาร RFA ปล่อยให้เชื้อราเจริญสร้างเส้นใย แล้วนำมาตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อีกครั้งก่อนทำการเก็บเชื้อราแบบแห้ง ด้วยการนำกระดาษกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว วางลงบนอาหาร RFA แล้ววางเชื้อ *P. grisea* ลงบนกระดาษกรองบ่มทิ้งไว้เพื่อให้เส้นใยของเชื้อราเจริญอยู่บนกระดาษกรอง นำกระดาษกรองออกจากจานเลี้ยงเชื้อ นำไปทำให้แห้งในภาชนะแก้วดูดความชื้น เป็นเวลา 10 วัน เมื่อแห้งแล้วนำมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.2.2 การตรวจสอบ Mating type ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้

3.2.2.1 การสกัดดีเอ็นเอจากเส้นใยเชื้อรา *P. grisea*

นำกระดาษกรองที่มีเชื้อราแต่ละไอโซเลทมาเลี้ยงบนอาหาร RFA ประมาณ 3 วัน ใช้ cork borer เจาะชิ้นวุ้นที่มีเชื้อราย้ายลงในอาหารเหลว Potato dextrose broth (PDB) จำนวน 5 ชิ้น เขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 4-6 วัน เก็บเกี่ยวเส้นใยเชื้อราเพื่อใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ ตามวิธีการของ Matsumato *et al*. (1999) โดยบดเส้นใยเชื้อราด้วยไนโตรเจนเหลว และแบ่งใส่หลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร (microtube) เติม Lysis buffer 600 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปบ่ม ที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง นำมาปั่นเหวี่ยงที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14,000 รอบ/นาที นาน 5 นาที ดูดส่วนใสด้านบนปริมาณ 600 ไมโครลิตร ใส่ใน microtube ใหม่ จากนั้นเติม phenol : chloroform : isoamyl alcohol (25:24:1) 1 เท่า (600 ไมโครลิตร) นำไป vortex และปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 รอบ/นาที นาน 20 นาที ดูดส่วนใสด้านบนใส่ microtube ใหม่ปริมาณ 500 ไมโครลิตร แล้วเติม phenol/chloroform/isoamyl alcohol (25:24:1) 1 เท่า (500 ไมโครลิตร) อีกครั้ง นำไป vortex และปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 รอบ/นาที นาน 20 นาที ดูดส่วนใสด้านบนใส่ microtube ใหม่ปริมาณ 300 ไมโครลิตร ตกตะกอนดีเอ็นเอด้วย 3M sodium acetate ปริมาณ 30 ไมโครลิตร และ absolute ethanol ปริมาณ 600 ไมโครลิตร พลิกหลอดไปมา นำไปบ่มไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส นานข้ามคืน จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 รอบ/นาที นาน 15 นาที แล้วเทสารละลายทิ้ง ล้างตะกอนดีเอ็นเอด้วย 70% ethanol ปริมาณ 400 ไมโครลิตร พลิกหลอดไปมา นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 14,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที แล้วเทสารละลายทิ้ง ตากตะกอนดีเอ็นเอใน heat box อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เมื่อตะกอนแห้งแล้วละลายตะกอนด้วย TE buffer 50 ไมโครลิตร เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

3.2.2.2 การตรวจสอบปริมาณและคุณภาพของดีเอ็นเอด้วยการวัดค่าดูดกลืนแสงและเทคนิคอะกาโรสเจลอิเล็กโตรโฟรีซีส

วัดความเข้มข้นของดีเอ็นเอเชื้อราที่สกัดได้ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร (A_{260}) โดยเจือจางดีเอ็นเอที่สัดส่วน 1:100 (dH_2O ปริมาตร 99 ไมโครลิตร และดีเอ็นเอปริมาตร 1 ไมโครลิตร) และนำมาคำนวณแบ่งปริมาณดีเอ็นเอ 10 นาโนกรัม เพื่อใช้เป็นดีเอ็นเอเริ่มต้นในปฏิกิริยาพีซีอาร์และเก็บดีเอ็นเอที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอโดยนำดีเอ็นเอที่สกัดได้ความเข้มข้น 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ปริมาณ 5 ไมโครลิตร ผสมกับ 10X loading dye ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วหยอดสารละลายทั้งหมดลงในหลุมของแผ่นเจลอะกาโรส ความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ ปล่อยให้โมเลกุลของดีเอ็นเอเคลื่อนที่ในเครื่องอิเล็กโตรโฟรีซีสที่แรงเคลื่อนกระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 45 นาที โดยมีสารละลาย 0.5X TAE buffer เป็นตัวกลางในการนำกระแสไฟฟ้า ย้อมเจลในสารละลายเอทธิเดียมโบรไมด์ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นเป็นเวลา 5 นาที ตรวจดูแถบและขนาดของดีเอ็นเอด้วยเครื่อง UV transilluminator

3.2.2.3 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอโดยใช้ไพร์เมอร์ *Mat gene* ด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction)

ตรวจสอบ Mating type ของเชื้อสาเหตุโรคไหม้โดยใช้ไพรเมอร์ *Mat* gene เป็นยีนที่ควบคุมการผสมพันธุ์ซึ่งที่เฉพาะเจาะจงต่อ mating type ของเชื้อรา *P. grisea* คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

mat1-1 และ *mat1-2* (ตารางที่ 3.1) ตามวิธีการของ Samanta *et al*. (2014) และเปรียบเทียบกับเชื้อไอโซเลท 70-15 (*mat1-1*) และ GUY11 (*mat1-2*) ซึ่งเป็นเชื้อทดสอบความสมบูรณ์เพศมาตรฐานที่ทราบ mating type แล้ว

การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์โดยเตรียมปฏิกิริยาพีซีอาร์ในปริมาตรรวม 10 ไมโครลิตร ประกอบด้วย dH_2O ปริมาณ 5.6 ไมโครลิตร, 10X buffer ปริมาณ 1 ไมโครลิตร, 2.5 มิลลิโมลาร์ $MgCl_2$ ปริมาณ 1 ไมโครลิตร, 0.5 มิลลิโมลาร์ dNTPs ปริมาณ 0.8 ไมโครลิตร, 5 ยูนิตต่อไมโครลิตร Taq polymerase ปริมาตร 0.1 ไมโครลิตร (Thermo Scientific, USA), ส่วนผสมระหว่าง forward primer และ reverse primer (5 μM) ปริมาณ 0.5 ไมโครลิตร และดีเอ็นเอเชื้อราความเข้มข้น 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ปริมาณ 1 ไมโครลิตร ขั้นตอนในการทำปฏิกิริยาประกอบด้วยขั้นตอน 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 จากนั้นตรวจสอบผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ด้วยเทคนิค agarose gel electrophoresis โดยนำผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ปริมาณ 2 ไมโครลิตร ผสมกับ 10X loading dye ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วหยอดสารละลายทั้งหมดลงในหลุมของแผ่นเจลอะกาโรส ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ ปล่อยให้โมเลกุลของดีเอ็นเอเคลื่อนที่ในเครื่องอิเล็กโตรโฟรีซีสที่แรงเคลื่อนกระแส ไฟฟ้า 100 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที โดยมีสารละลาย 0.5x TAE buffer เป็นตัวกลางในการนำกระแสไฟฟ้า ย้อมเจลในสารละลายเอทธิเดียมโบรมายด์ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรเป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นเป็นเวลา 5 นาที ตรวจดูแถบและขนาดของดีเอ็นเอด้วยเครื่อง UV transilluminator

ตารางที่ 3.1 ลำดับเบสและขนาดของผลผลิตของไพรเมอร์ *Mat* gene ที่ใช้ในการตรวจสอบ mating type ของเชื้อรา *P. grisea*

ไพรเมอร์		ลำดับเบส (5′ – 3′)	ขนาดผลผลิต (bp)
MAT1-1	Forward	TCAGCTCGCCCAAATCAACAAT	809
	Reverse	ACTCAAGACCCGGCACGAACAT	
MAT1-2	Forward	GAGTTGCCTGCCCGCTTCTG	940
	Reverse	GGCTTGGTCGTTGGGGATTGT	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3 การวิเคราะห์การจัดกลุ่มความหลากหลายของเชื้อราโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR

3.2.3.1 การเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอด้วยปฏิกิริยาพีซีอาร์ (Polymerase chain reaction)

เตรียมปฏิกิริยาพีซีอาร์ในปริมาตรรวม 10 ไมโครลิตร ประกอบด้วย dH_2O ปริมาณ 5.6 ไมโครลิตร, 10X buffer ปริมาณ 1 ไมโครลิตร, 2.5 มิลลิโมลาร์ $MgCl_2$ ปริมาณ 1 ไมโครลิตร, 0.5 มิลลิโมลาร์ dNTPs ปริมาณ 0.8 ไมโครลิตร, 5 ยูนิตต่อไมโครลิตร Taq polymerase ปริมาณ 0.1 ไมโครลิตร (Thermo Scientific, USA), ส่วนผสมระหว่าง forward primer และ reverse primer (5μM) ของไพรเมอร์ MGM ปริมาตร 0.5 ไมโครลิตร และดีเอ็นเอเชื้อราความเข้มข้น 10 นาโนกรัมต่อไมโครลิตร ปริมาณ 1 ไมโครลิตร ขั้นตอนในการทำปฏิกิริยาประกอบด้วยขั้นตอน 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

3.2.3.2 การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำพีซีอาร์

วิเคราะห์ผลที่ได้จากการทำพีซีอาร์ด้วยเทคนิค polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) โดยใช้ polyacrylamide gel ความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์ และย้อมสีแถบดีเอ็นเอด้วย silver nitrate ตามวิธีการของ Benbouza *et al.* (2006) ดังนี้

3.2.3.2.1 การเตรียม chamber และกระจก

ทำความสะอาด chamber โดยเช็ดด้วย ethanol 95 เปอร์เซ็นต์ 3 ครั้ง จากนั้นเช็ดด้วย clear view (glass shield) เพื่อป้องกันเจลเกาะติดกับ chamber โดยใช้กระดาษ kimwipes และเช็ดด้วย ethanol 95 เปอร์เซ็นต์ อีก 2 ครั้ง โดยใช้กระดาษ kimwipes แผ่นเดิม เพื่อเกลี่ยสารให้ทั่ว จากนั้นเตรียมกระจกโดยเช็ดด้วย ethanol 95 เปอร์เซ็นต์ 3 ครั้ง เพื่อทำความสะอาด เคลือบกระจกด้วย Glass Bond ปริมาณ 1,000 ไมโครลิตร โดยใช้กระดาษ kimwipes และเช็ดด้วย ethanol 95 เปอร์เซ็นต์ อีก 2 ครั้ง โดยใช้กระดาษ kimwipes แผ่นเดิม เพื่อเกลี่ยสารให้ทั่ว นำ chamber และกระจกมาประกอบเข้าชุดโดยวาง spacer ไว้ตรงขอบทั้งสองข้างของ chamber ก่อนที่จะวางกระจกทับเพื่อให้เกิดช่องว่างระหว่าง chamber กับกระจก วางกระจกโดยหันด้านที่เช็ดเข้าหา chamber ใช้ clamp หนีบกระจกเข้ากับ chamber

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3.2.2 การเตรียม polyacrylamide gel

เตรียม polyacrylamide gel ที่ความเข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์ acrylamide gel ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ที่ประกอบด้วย 40% acrylamide solution ปริมาณ 7.5 มิลลิลิตร ยูเรีย 21.03 กรัม และ 10X TBE 5 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 10% APS (ammonium persulphate) ปริมาณ 250 ไมโครลิตร และ TEMED (N,N,N′,N′ - tetramethylethylenediamine) ปริมาณ 100 ไมโครลิตร เขย่าวนให้เข้ากัน จากนั้นเทเจลลงในช่องระหว่างกระจกกับ chamber จนเต็ม แล้วเสียบหวีด้านที่ไม่มีซี่แหลมลงไปด้านบน ตั้งทิ้งไว้รอให้เจลเซตตัวประมาณ 2 ชั่วโมง

3.2.3.2.3 Polyacrylamide Gel Electrophoresis (PAGE)

เมื่อเจลเซตตัวดีแล้วประกอบ chamber เข้ากับชุด PAGE (Bio-Active, UK) เท 1x TBE buffer ส่วนบนของกระจกก่อน โดยเทให้ท่วมขอบ gel ส่วนที่เหลือให้เทที่ฐานเพื่อเป็นสะพานกระแสไฟฟ้า จากนั้นดึงหวีออก ต่อสายไฟเข้ากับเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า ทำการ pre-run โดยใช้กำลังไฟที่ 100 วัตต์ 30 นาที เมื่อครบเวลาปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้า เสียบหวีโดยให้ด้านแหลมปักลงเจล หยอดตัวอย่างผลิตภัณฑ์พีซีอาร์ปริมาณ 2 ไมโครลิตร ที่เติม sequencing dye ปริมาณ 10 ไมโครลิตร ลงในช่องแต่ละช่องจนครบ เปิดเครื่องจ่ายกระแสไฟฟ้าใช้กำลังไฟที่ 45 วัตต์ นานประมาณ 5 นาที ดึงหวีออกแล้ว run ต่อนาน 1 ชั่วโมง 30 นาที

3.2.3.2.4 การย้อมแถบสีดีเอ็นเอ

ย้อมสีแถบดีเอ็นเอด้วย silver nitrate ($AgNO_3$) ตามวิธีการของ Benbouza *et al*., (2006) โดยนำกระจกที่มีเจลติดอยู่แช่ในสารละลาย fixer ที่แช่เย็นแล้ว ปริมาณ 2 ลิตร ที่ประกอบด้วย absolute alcohol 10 เปอร์เซ็นต์ และ acetic acid 0.5 เปอร์เซ็นต์ นำไปเขย่านาน 5 นาที เมื่อครบเวลานำกระจกออกมาแช่สารละลาย silver nitrate ที่ประกอบด้วย silver nitrate ($AgNO_3$) ปริมาณ 3 กรัม และ formaldehyde 37 เปอร์เซ็นต์ แช่นาน 7 นาที จากนั้นนำกระจกออกมาล้าง silver nitrate ส่วนเกินออก โดยนำกระจกจุ่มลงในน้ำกลั่นแล้วยกกระจกขึ้นทันทีย้ายกระจกมาแช่ในสารละลาย developer ปริมาณ 2 ลิตร เขย่าจนแถบดีเอ็นเอปรากฏ จากนั้นนำออกมาแช่ในสารละลาย fixer นาน 2 นาที แล้วนำกระจกล้างน้ำกลั่นโดยเขย่าทิ้งไว้ นาน 5 นาที และผึ่งให้แห้ง

3.2.3.3 การวิเคราะห์ข้อมูลความหลากหลายของเชื้อราโรคไหม้และประเมินศักยภาพของเครื่องหมายโมเลกุล SSR

3.2.3.3.1 การวิเคราะห์การจัดกลุ่มความหลากหลายของเชื้อราโรคไหม้

แปลงรูปแบบดีเอ็นเอที่ปรากฏชัดเจนภายหลังการย้อมให้เป็นข้อมูลตัวเลขเพื่อนำมาวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมและจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYSpc 2.10p จากนั้นวิเคราะห์ค่า Similarity เลือก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวเลือกของการวิเคราะห์เป็น SimInt โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์ของ Canberra เลือกวิธีการจัดกลุ่มโดยใช้วิธี SHAN เพื่อสร้างแผนภาพความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อโรคไหม้

3.2.3.3.2 การประเมินศักยภาพของเครื่องหมายโมเลกุล SSR

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาความหลากหลายของเชื้อราโรคไหม้ โดยเลือกใช้เครื่องหมาย *Magnaporthe grisea* Microsatellite (MGM) จำนวน 14 เครื่องหมาย โดยการเลือกมาโครโมโซมละ 2 เครื่องหมาย (ตารางที่ 3.2) ที่ได้รับการพัฒนาโดย Department of Agronomy, College of Agriculture & Biotechnology, Zhejiang University, China ซึ่งพัฒนามาจาก 446 simple sequence repeat (SSR) loci ของเชื้อราจำนวน 9 ไอโซเลท ประกอบด้วย Guy11, 2539, 81278, 97045B, 8-7-1, 8-65-1, 98-277-1, 99-06-2 และ 96-4-1a และพัฒนาได้เป็นเครื่องหมาย SSR ได้ จำนวน 313 เครื่องหมายที่กระจายอยู่บนโครโมโซมของเชื้อรา ทั้ง 7 โครโมโซม (Yan *et al.* 2008)

วิเคราะห์ค่า polymorphic information content (PIC) เพื่อประเมินศักยภาพของเครื่องหมายโมเลกุล SSR โดยใช้สูตร (Yan *et al*. 2008) ดังนี้

$$PIC_i = 1 - \sum_{j=1}^{n} p^2_{ij}$$

โดย *n* คือ จำนวนอัลลีลของเครื่องหมาย *i* และ *Pij* คือ ความถี่ของอัลลีล *j* สำหรับเครื่องหมาย *i*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.2 ลำดับเบสของไพรเมอร์และขนาดของผลผลิตของเครื่องหมายโมเลกุล *Magnaporthe grisea* Microsatellite (MGM) ที่ใช้ในการศึกษา

โครโมโซม	เครื่องหมาย		ลำดับเบส (5′ – 3′)	ขนาดผลผลิต (bp)
1	MGM447	Forward	AGACTTGTTACTCGGGTCTTGA	160
		Reverse	CCAGATGTCACTCCCCTGTA	
1	MGM35	Forward	GTTGAATTACCTTTCGGACTGG	281
		Reverse	AAGGACTTTGCTCAGACCGTAG	
2	MGM192	Forward	GGAGGGCGTCACTGTACCTA	175
		Reverse	ATGAGGCATGTACCCCAAAA	
2	MGM185	Forward	AATGCTTCGAGGTCCCAGT	219
		Reverse	GCTTATCGACGGCGTATTTG	
3	MGM436	Forward	GACCTTTATCGGATGCGTGT	166
		Reverse	CACACAGTGGCCATCTAACG	
3	MGM209	Forward	TCACCCTCAACTGCAGTCAT	203
		Reverse	GTTGCCGCTGTTGTTGAATA	
4	MGM237	Forward	AACCTGAAGCTCCTCGACAG	163
		Reverse	ATGGGGGCTGTACTTGTGTC	
4	MGM249	Forward	CGAGAAGAAGACGGTCAAGG	186
		Reverse	CATCTTTGGCCAGTTTGTCA	
5	MGM453	Forward	CACCACTTTATGGCGCAGT	208
		Reverse	ACCTAGGTAGGTATACATGTTGTT	
5	MGM110	Forward	ACCGGGTAGTGATGGACTCA	295
		Reverse	AATCGTATGCGGCTGAGTTT	
6	MGM266	Forward	TGTGGTGGGTGATCTTGTTG	295
		Reverse	ATTCCCGGCGAGAGAGATT	
6	MGM400	Forward	GGCATTACCCAAGAAGCAAA	168
		Reverse	CTCGTTGCAGATGGTGATGA	
7	MGM282	Forward	TTGGCTGGCAAGACAGTTAAT	164
		Reverse	GGGCTTTGTCTATTCCAGCA	
7	MGM414	Forward	ACGTACACGTCCCTGACACA	187
		Reverse	CTGATCCACATGAGCCACAC	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.4 การวิเคราะห์ความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้บนข้าวพันธุ์แนะนำของไทย

3.2.4.1 พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการทดสอบ

พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการทดสอบรูปแบบการทำให้เกิดโรคและความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้เป็นข้าวพันธุ์แนะนำจำนวน 25 พันธุ์ คือ เจ้าหอมนิล, กข6, กข7, กข8, กข29, กข31, กข41, กข43, สุพรรณบุรี 1, สุพรรณบุรี 2, สุพรรณบุรี 3, สุพรรณบุรี 60, สุพรรณบุรี 90, สกลนคร, หอมชลสิทธิ์, พลายงามปราจีนบุรี, ข้าวเล็บนกปัตตานี, กว.ก.1, กว.ก.2, ชัยนาท 1, ปทุมธานี 1, พิษณุโลก 2, ขาวดอกมะลิ 105, เหนียวอุบล 1, และสังข์หยดพัทลุง

ปลูกข้าวที่ใช้ในการทดสอบลงในถาดหลุมขนาด 18 x 28 เซนติเมตร (5 x 7 หลุม) โดยใช้ 1 หลุมต่อ 1 พันธุ์ พันธุ์ละ 2 ต้น ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และเจ้าหอมนิล ปลูกจำนวน 5 หลุมหลุมละ 2 ต้น เพื่อใช้เป็นพันธุ์ตรวจสอบ ทำจำนวน 2 ซ้ำ ต่อการปลูกเชื้อ 1 ไอโซเลท ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 ก่อนปลูกเชื้อ 7 วัน

3.2.4.2 การทดสอบการเกิดโรคของเชื้อ *P. grisea* บนต้นกล้าข้าว

นำต้นกล้าข้าวที่ใช้ในการทดสอบที่อายุครบ 14 วัน พ่นด้วยสารแขวนลอยสปอร์ของแต่ละไอโซเลทที่มีความเข้มข้นของสปอร์ 10^5 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาณ 80 มิลลิลิตร และผสมสารละลายเจลาติน 2% ปริมาณ 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเก็บในห้องปรับอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ใช้กล่องที่ปิดด้วยพลาสติกสีดำครอบถาดข้าวไว้และเติมน้ำให้ท่วมถาดหลุมเพื่อเพิ่มความชื้น บ่มไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปไว้ในสภาพธรรมชาติและทำการฉีดพ่นน้ำทุกๆ 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 2 วัน ประเมินปฏิกิริยาก่อโรคของเชื้อราแต่ละไอโซเลทภายหลังการปลูกเชื้อ 7 วัน และให้คะแนนการเกิดโรคโดยใช้ระดับคะแนนการเกิดโรค 7 ระดับ (Roumen *et al.* 1997) ดังนี้ (ภาพที่ 3.1)

0 คือ ไม่ปรากฏแผล

1 คือ แผลจุดกลมสีน้ำตาลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 0.5 มิลลิเมตร

2 คือ เกิดแผลกลมหรือยาวรีเล็กน้อยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 0.5 – 1 มิลลิเมตร

3 คือ เกิดแผลจุดเล็ก ขนาดประมาณ 1–3 มิลลิเมตร มีจุดสีเทาตรงกลางแผล

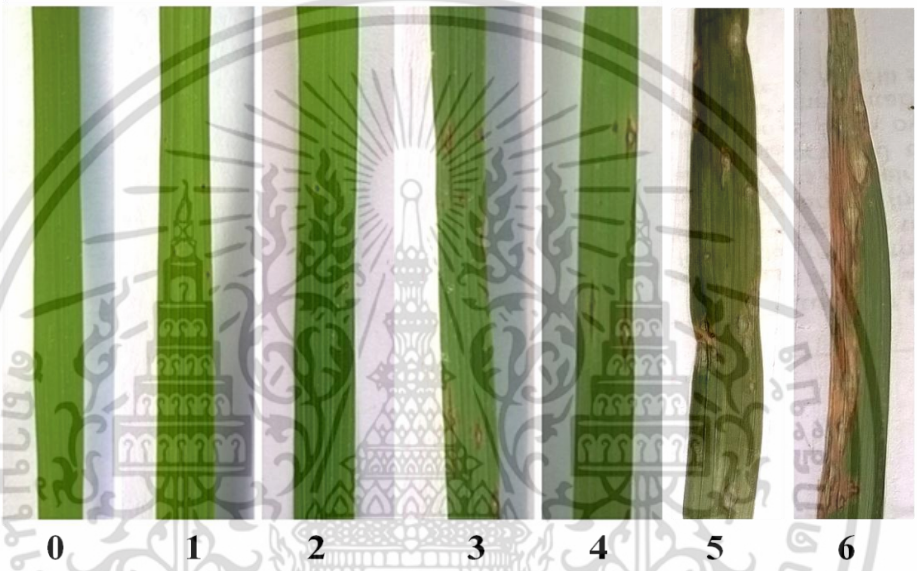
4 คือ เกิดแผลจุดขนาดประมาณ 3 มิลลิเมตร หรือยาวกว่า แผลเป็นสีเทามีขอบแผลสีน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5 คือ เกิดแผลสีเทาเกาะกันเป็นกลุ่ม มีขอบแผลสีน้ำตาล เป็นอาการที่แสดงถึงความอ่อนแอต่อโรค

6 คือ เกิดแผลลุกลามยาวติดต่อกันเป็นสีเทา ไม่มีขอบแผลที่แน่นอน เป็นอาการที่แสดงถึงความอ่อนแอต่อโรค

แบ่งความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อราออกเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ระดับ 0-2 เป็นกลุ่มที่แสดงถึงความไม่รุนแรงในการก่อโรค ในระดับ 3-4 เป็นกลุ่มที่แสดงถึงความรุนแรงปานกลาง และในระดับ 5-6 เป็นกลุ่มที่แสดงถึงความรุนแรงมาก



ภาพที่ 3.1 ลักษณะอาการโรคไหม้และระดับคะแนนการเกิดโรค 7 ระดับ

3.2.4.3 การวิเคราะห์การจัดกลุ่มความหลากหลายของเชื้อราโรคไหม้

วิเคราะห์การจัดกลุ่มปฏิกิริยาก่อโรคของเชื้อราบนข้าวพันธุ์ทดสอบโดยใช้ค่าเฉลี่ยของคะแนนการเกิดโรคของเชื้อราแต่ละไอโซเลทที่ได้ทดสอบบนพันธุ์ข้าวแต่ละพันธุ์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYSpc 2.10p จากนั้นวิเคราะห์ค่า Similarity เลือกตัวเลือกของการวิเคราะห์เป็น SimInt โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์ของ Canberra เลือกวิธีการจัดกลุ่มโดยใช้วิธี SHAN เพื่อสร้างแผนภาพความหลากหลายของเชื้อสาเหตุโรคไหม้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.4.4 การคำนวณค่าดัชนีความรุนแรงของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ (Virulence index, VI)

คำนวณค่าดัชนีความรุนแรงของเชื้อ *P. grisea* โดยนำจำนวนพันธุ์ข้าวที่เป็นโรค (infected variety) หารด้วยจำนวนพันธุ์ข้าวทั้งหมดที่ทดสอบตามสูตร (ดัดแปลงมาจาก เสาวลักษณ์ อัครราช และคณะ. 2554)

$$VI = \frac{\text{No. of infected variety}}{\text{No. of tested variety}}$$

3.2.4.5 การคำนวณค่าดัชนีความต้านทานของข้าว (Resistance index, RI)

คำนวณค่าดัชนีความต้านทานต่อเชื้อโรคไหม้ของข้าวแต่ละสายพันธุ์ โดยนำจำนวนไอโซเลทเชื้อที่ไม่สามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์นั้นได้ (avirulence isolate) หารด้วยจำนวนเชื้อทั้งหมดที่ทดสอบตามสูตร (ดัดแปลงมาจาก เสาวลักษณ์ อัคราช และคณะ. 2554)

$$RI = \frac{\text{No. of avirulence isolate}}{\text{No. of tested isolate}}$$

3.2.5 การวิเคราะห์ความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้บนข้าว Near Isogenic Lines (NILs)

3.2.5.1 พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการทดสอบ

พันธุ์ข้าวที่ใช้ในทดสอบเป็นข้าว Near Isogenic Lines (NILs) จำนวน 32 สายพันธุ์ ที่มียีนต้านทานโรคไหม้ ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีพื้นฐานพันธุกรรมมาจากข้าวพันธุ์ Lijiangxintuanheigu (LTH) ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานีดังตารางที่ 3.3 และข้าวพันธุ์ IR64 และขาวดอกมะลิ 105

ปลูกข้าว NILs ลงในถาดหลุมขนาด 24 x 28 เซนติเมตร (6 x 7 หลุม) โดยใช้ 1 หลุมต่อ 1 พันธุ์ พันธุ์ละ 2 ต้น ส่วนข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ IR64 ปลูกจำนวน 5 หลุมหลุมละ 2 ต้น เพื่อใช้เป็นพันธุ์ตรวจสอบ ทำจำนวน 2 ซ้ำ ต่อการปลูกเชื้อ 1 ไอโซเลท ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 ก่อนปลูกเชื้อ 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.3 รายชื่อพันธุ์ข้าว Near Isogenic Lines (NILs) จำนวน 32 สายพันธุ์ และยีนต้านทานโรคไหม้

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

3.2.5.2 การทดสอบการเกิดโรคของเชื้อ *P. grisea* บนต้นกล้าข้าว NILs

นำต้นกล้าข้าวพันธุ์ทดสอบที่อายุครบ 14 วัน พ่นด้วยสารแขวนลอยสปอร์ของแต่ละไอโซเลท ที่มีความเข้มข้นของสปอร์ 10^5 สปอร์/มิลลิลิตร ปริมาณ 80 มิลลิลิตร และผสมสารละลายเจลาติน 2% ปริมาณ 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเก็บในห้องปรับอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ใช้กล่องที่ปิดด้วยพลาสติกสีดำครอบถาดข้าวไว้และเติมน้ำให้ท่วมถาดหลุมเพื่อเพิ่มความชื้น บ่มไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปไว้ในสภาพธรรมชาติและทำการฉีดพ่นน้ำทุกๆ 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 2 วัน ประเมินปฏิกิริยาก่อโรคของเชื้อราแต่ละไอโซเลทภายหลังการปลูกเชื้อ 7 วัน และให้คะแนนการเกิดโรคโดยใช้ระดับคะแนนการเกิดโรค 6 ระดับ (Mackill and Bonman. 1992) ดังนี้ (ภาพที่ 3.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0 คือ ไม่ปรากฏแผล

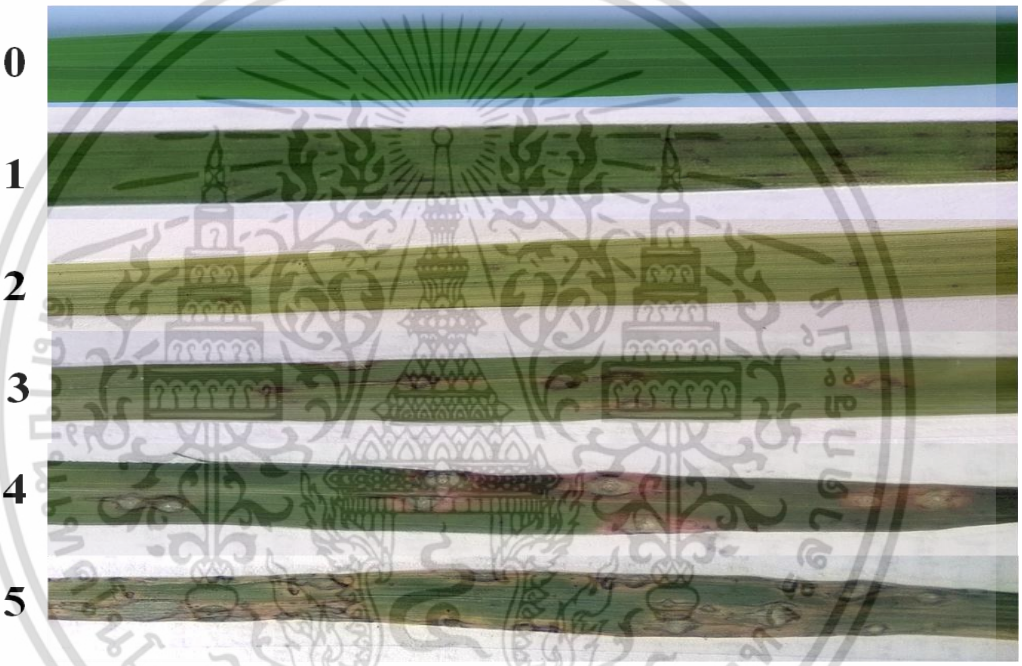
1 คือ แผลจุดสีน้ำตาลเล็ก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร

2 คือ แผลจุดสีน้ำตาลเล็ก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-1 มิลลิเมตร

3 คือ แผลค่อนข้างกลมถึงวงรี ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-3 มิลลิเมตร ตรงกลางแผลมีสีเทาขอบแผลสีน้ำตาล

4 คือ แผลมีลักษณะเป็นรูปกระสวยขนาดแผล 3 มิลลิเมตร หรือยาวกว่าแต่ไม่ติดต่อกัน

5 คือ แผลมีลักษณะไหม้ติดต่อกันครึ่งหนึ่งหรือมากกว่าของใบ



ภาพที่ 3.2 ลักษณะอาการโรคไหม้และระดับการเกิดโรค 6 ระดับ

3.2.5.3 การวิเคราะห์การจัดกลุ่มความหลากหลายของเชื้อราโรคไหม้

วิเคราะห์การจัดกลุ่มปฏิกิริยาก่อโรคของเชื้อราบนข้าวพันธุ์ทดสอบโดยใช้ค่าเฉลี่ยของคะแนนการเกิดโรคของเชื้อราแต่ละไอโซเลทที่ได้ทดสอบบนพันธุ์ข้าวแต่ละพันธุ์ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป NTSYSpc 2.10p จากนั้นวิเคราะห์ค่า Similarity เลือกตัวเลือกของการวิเคราะห์เป็น SimInt โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์ของ Canberra เลือกวิธีการจัดกลุ่มโดยใช้วิธี SHAN เพื่อสร้างแผนภาพความหลากหลายของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ โดยในการทดลองนี้จะใช้เชื้อราไอโซเลทที่มีข้อมูลสูญหาย (missing data) ไม่เกิน 10 ข้อมูล มาใช้ในการจัดกลุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.5.4 การคำนวณค่าดัชนีความรุนแรงของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ (Virulence index, VI) ที่ทดสอบบนข้าว NILs

คำนวณค่าดัชนีความรุนแรงของเชื้อ *P. grisea* โดยนำจำนวนพันธุ์ข้าวที่เป็นโรค (infected variety) หารด้วยจำนวนพันธุ์ข้าวทั้งหมดที่ทดสอบ ตามสูตร (ดัดแปลงมาจาก เสาวลักษณ์ อัคราช และคณะ. 2554)

$$VI = \frac{\text{No. of infected variety}}{\text{No. of tested variety}}$$

3.2.5.5 การคำนวณค่าดัชนีความต้านทานของข้าว (Resistance index, RI) ที่ทดสอบบนข้าว NILs

คำนวณค่าดัชนีความต้านทานต่อเชื้อโรคไหม้ของข้าวแต่ละสายพันธุ์ โดยนำจำนวนไอโซเลทเชื้อที่ไม่สามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์นั้นได้ (avirulence isolate) หารด้วยจำนวนเชื้อทั้งหมดที่ทดสอบตามสูตร (ดัดแปลงมาจาก เสาวลักษณ์ อัคราช และคณะ. 2554)

$$RI = \frac{\text{No. of avirulence isolate}}{\text{No. of tested isolate}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลอง

4.1 การสำรวจและเก็บรวบรวมเชื้อรา *P. grisea* ในประเทศไทย

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมเชื้อรา *P. grisea* ในแหล่งที่มีการระบาดของโรคไหม้ข้าวในประเทศไทยนั้น สามารถเก็บรวบรวมเชื้อได้จำนวน 57 ไอโซเลท โดยแบ่งออกเป็น เชื้อราที่ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานีจำนวน 23 ไอโซเลท เชื้อราที่ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยข้าวพัทลุงจำนวน 3 ไอโซเลท เชื้อราที่ได้รับความอนุเคราะห์จากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) จำนวน 3 ไอโซเลท เชื้อราที่ได้รับความอนุเคราะห์จากภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จำนวน 3 ไอโซเลท และเชื้อโรคไหม้ที่เก็บเพิ่มเติม จำนวน 25 ไอโซเลท (ตารางที่ 4.1) และพบว่าพื้นที่ที่มีการปลูกข้าวในภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีการระบาดของโรคไหม้ที่รุนแรงมากกว่าภาคกลางและภาคตะวันออก และนอกจากนี้พบว่าเชื้อโรคไหม้ข้าวมีการระบาดมากที่สุดในช่วงเดือนสิงหาคมถึงเดือนตุลาคม โดยพบการระบาดของโรคบริเวณส่วนของใบข้าวในระยะกล้ามากที่สุด

4.2 การตรวจสอบ Mating type ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้โดยใช้ไพรเมอร์ *Mat gene*

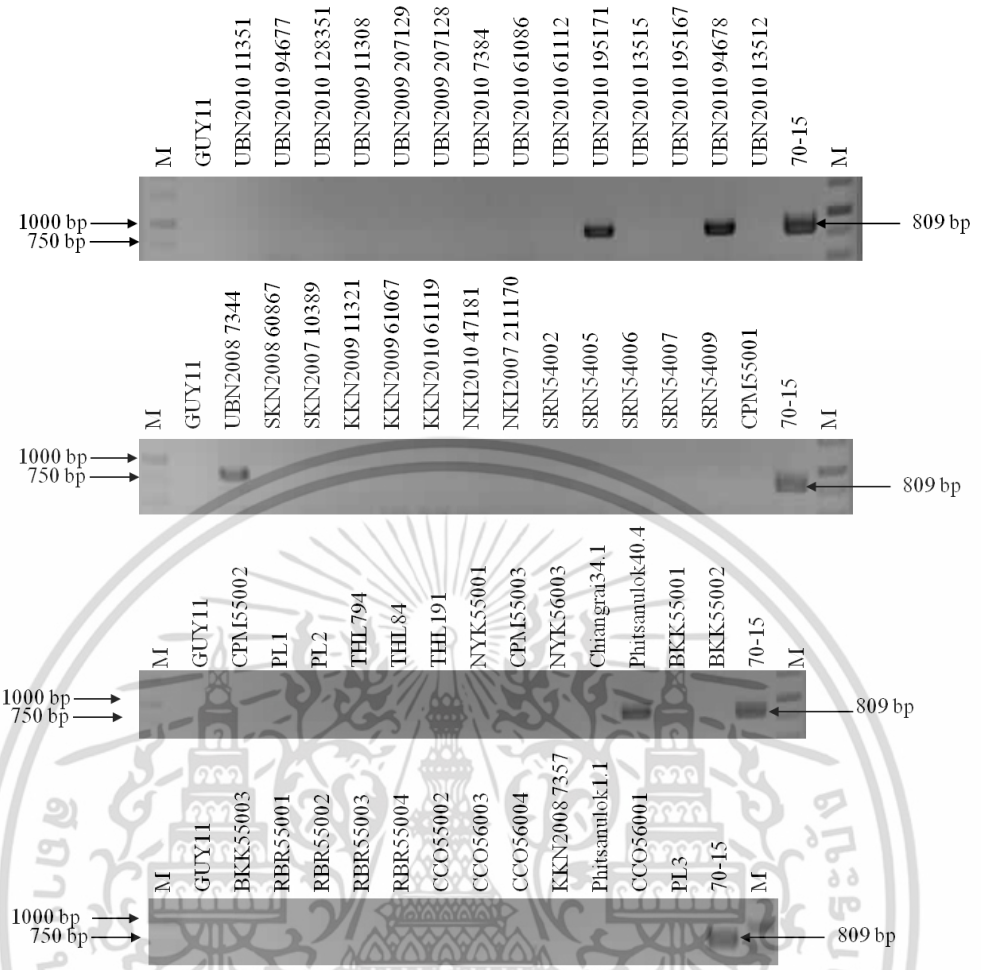
จากการตรวจสอบ Mating type ของเชื้อสาเหตุโรคไหม้โดยใช้ไพรเมอร์ *Mat* gene ที่เฉพาะเจาะจงต่อ mating type ของเชื้อรา *P. grisea* คือ MAT1-1 และ MAT1-2 ผลการทำซ้ำ 2 ครั้ง พบว่าเชื้อราที่เป็น *mat 1-1* มีจำนวน 4 ไอโซเลท ซึ่งปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาด 809 คู่เบส เหมือนกับเชื้อราไอโซเลท 70-15 ที่เป็นเชื้อทดสอบความสมบูรณ์เพศมาตรฐานที่ทราบ mating type แล้ว และเชื้อราที่เป็น *mat1-2* มีจำนวน 49 ไอโซเลท ซึ่งปรากฏแถบดีเอ็นเอขนาด 940 คู่เบส เหมือนกับเชื้อราไอโซเลท GUY11 ที่เป็นเชื้อทดสอบความสมบูรณ์เพศมาตรฐานที่ทราบ mating type แล้ว (ภาพที่ 4.1 - 4.2) ดังตารางที่ 4.2 จะเห็นได้ว่าเชื้อราโรคไหม้ในที่เก็บรวบรวมได้นี้ส่วนใหญ่จะมียีนที่ควบคุมแบบการผสมพันธุ์เป็น *mat1-2* มากกว่า *mat1-1*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 แสดงรายชื่อและแหล่งที่มาของเชื้อรา *P. grisea* ที่เก็บรวบรวมได้และใช้ในการทดลองทั้งหมด 57 ไอโซเลท

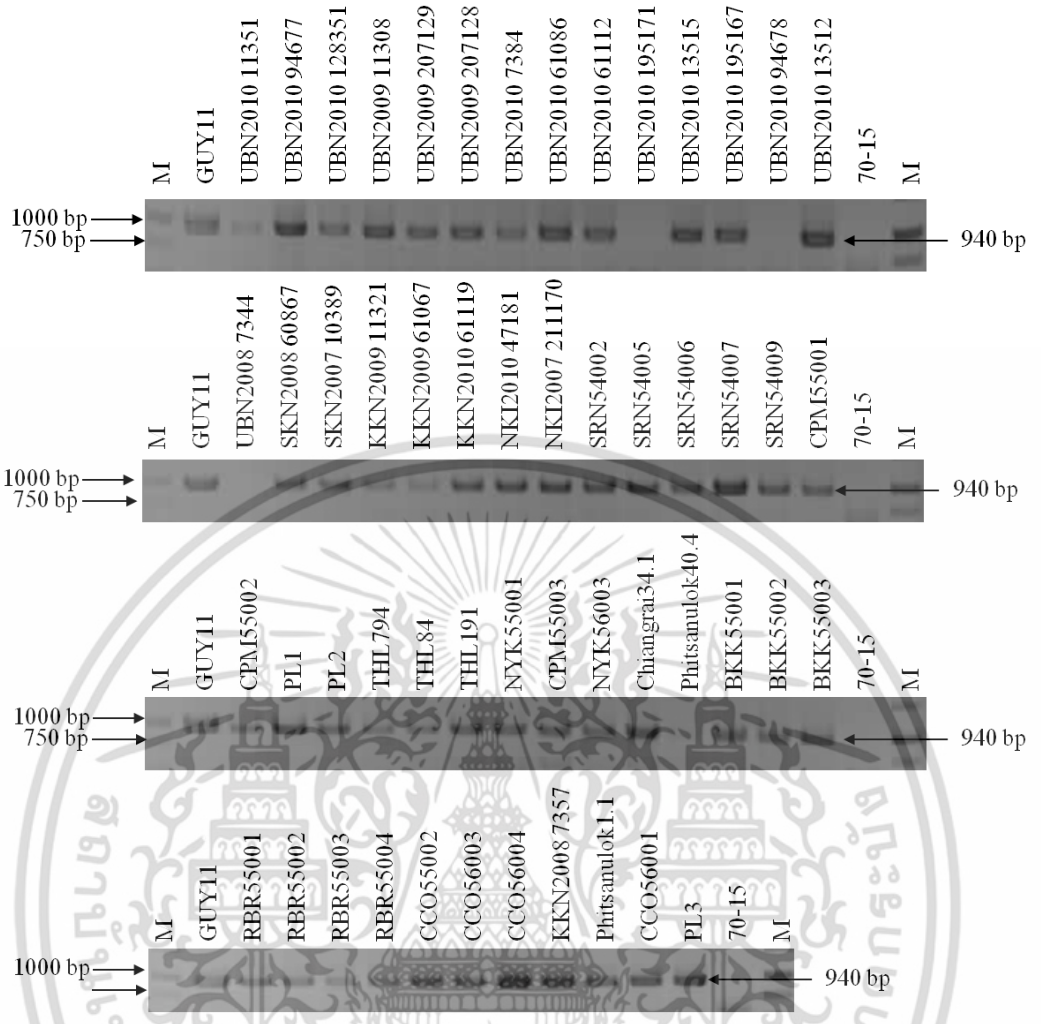
จังหวัด	ไอโซเลท	แหล่งที่มา
อุบลราชธานี	UBN2010 7384, UBN2010 11351, UBN2009 11308, UBN2010 13515, UBN2010 61112, UBN2009 207129, UBN2009 207128, UBN2010 13512, UBN2009 128351, UBN2010 195167, UBN2010 61086, UBN2010 195171, UBN2010 94678, UBN2008 7344, UBN2010 94677	ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี
หนองคาย	NKI2007 211170, NKI2010 47181	
สกลนคร	SKN2008 60867, SKN2007 10389	
ขอนแก่น	KKN2009 11321, KKN2010 61119, KKN2008 7357, KKN2009 61067	
เชียงราย	Chiangrai34.1	ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
พิษณุโลก	Phitsanulok1.1, Phitsanulok40.4	
ราชบุรี	THL84	สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ
พิษณุโลก	THL191	
พัทลุง	PL1, PL2, PL3	ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง
สุรินทร์	SRN54001, SRN54002, SRN54003, SRN54004, SRN54005, SRN54006, SRN54007, SRN54009	เชื้อโรคไหม้ที่เก็บเพิ่มเติม
ชัยภูมิ	CPM55001, CPM55002, CPM55003	
กรุงเทพฯ	BKK55001, BKK55002, BKK55003	
ราชบุรี	THL794, RBR55001, RBR55002, RBR55003, RBR55004	
ฉะเชิงเทรา	CCO55002, CCO56001, CCO56003, CCO56004	
นครนายก	NYK55001, NYK55002, NYK56003	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 ผลการตรวจสอบ Mating type ของเชื้อราโรคไหม้ โดยใช้ไพรเมอร์ MAT1-1 ซึ่งเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb DNA ladder (M) และเชื้อราทดสอบความสมบูรณ์เพศมาตรฐาน GUY11 และ 70-15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 ผลการตรวจสอบ Mating type ของเชื้อราโรคไหม้โดยใช้ไพรเมอร์ MAT1-2 ซึ่งเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐาน 1 Kb DNA ladder (M) และเชื้อราทดสอบความสมบูรณ์เพศมาตรฐาน GUY11 และ 70-15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 สรุปผลการตรวจสอบ Mating type ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้

ลำดับที่	ไอโซเลท	แหล่งที่มา	Mating type
1	Phitsanulok40.4	พิษณุโลก	*mat 1-1*
2	UBN2010 195171	อุบลราชธานี	*mat 1-1*
3	UBN2010 94678	อุบลราชธานี	*mat 1-1*
4	UBN2008 7344	อุบลราชธานี	*mat 1-1*
5	Chiangrai34.1	เชียงราย	*mat1-2*
6	Phitsanulok1.1	พิษณุโลก	*mat1-2*
7	THL84	พิษณุโลก	*mat1-2*
8	THL191	พิษณุโลก	*mat1-2*
9	UBN2010 7384	อุบลราชธานี	*mat1-2*
10	UBN2010 11351	อุบลราชธานี	*mat1-2*
11	UBN2009 11308	อุบลราชธานี	*mat1-2*
12	UBN2010 13515	อุบลราชธานี	*mat1-2*
13	UBN2010 61112	อุบลราชธานี	*mat1-2*
14	UBN2010 195167	อุบลราชธานี	*mat1-2*
15	UBN2010 61086	อุบลราชธานี	*mat1-2*
16	UBN2010 94677	อุบลราชธานี	*mat1-2*
17	UBN2009 207129	อุบลราชธานี	*mat1-2*
18	UBN2009 207128	อุบลราชธานี	*mat1-2*
19	UBN2009 128351	อุบลราชธานี	*mat1-2*
20	NKI2007 211170	หนองคาย	*mat1-2*
21	NKI2010 47181	หนองคาย	*mat1-2*
22	SKN2008 60867	สกลนคร	*mat1-2*
23	SKN2007 10389	สกนคร	*mat1-2*
24	KKN2009 11321	ขอนแก่น	*mat1-2*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

ลำดับที่	ไอโซเลท	แหล่งที่มา	Mating type
25	KKN2010 61119	ขอนแก่น	*mat1-2*
26	KKN2008 7357	ขอนแก่น	*mat1-2*
27	KKN2009 61067	ขอนแก่น	*mat1-2*
28	THL794	ราชบุรี	*mat1-2*
29	RBR55001	ราชบุรี	*mat1-2*
30	RBR55002	ราชบุรี	*mat1-2*
31	RBR55003	ราชบุรี	*mat1-2*
32	RBR55004	ราชบุรี	*mat1-2*
33	BKK55001	กรุงเทพมหานคร	*mat1-2*
34	BKK55002	กรุงเทพมหานคร	*mat1-2*
35	BKK55003	กรุงเทพมหานคร	*mat1-2*
36	NYK55001	นครนายก	*mat1-2*
38	NYK56003	นครนายก	*mat1-2*
39	CCO55002	ฉะเชิงเทรา	*mat1-2*
40	CCO56001	ฉะเชิงเทรา	*mat1-2*
41	CCO56003	ฉะเชิงเทรา	*mat1-2*
42	CCO56004	ฉะเชิงเทรา	*mat1-2*
43	SRN54002	สุรินทร์	*mat1-2*
44	SRN54005	สุรินทร์	*mat1-2*
45	SRN54006	สุรินทร์	*mat1-2*
46	SRN54007	สุรินทร์	*mat1-2*
47	SRN54009	สุรินทร์	*mat1-2*
48	CPM55001	ชัยภูมิ	*mat1-2*
49	CPM55002	ชัยภูมิ	*mat1-2*
50	CPM55003	ชัยภูมิ	*mat1-2*
51	PL1	พัทลุง	*mat1-2*
52	PL2	พัทลุง	*mat1-2*
53	PL3	พัทลุง	*mat1-2*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การประเมินความหลากหลายของประชากรเชื้อรา *P. grisea* โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR

4.3.1 การประเมินศักยภาพของเครื่องหมายโมเลกุล SSR

จากการวิเคราะห์ความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 53 ไอโซเลท โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR จำนวน 14 เครื่องหมาย คือ MGM447, MGM35, MGM192, MGM185, MGM204, MGM209, MGM237, MGM249, MGM453, MGM110, MGM266, MGM400, MGM282 และ MGM414 ที่ครอบคลุมโครโมโซมเชื้อราทั้ง 7 โครโมโซม สามารถแยกความแตกต่างของพันธุกรรมเชื้อสาเหตุโรคไหม้ได้ (ภาพที่ 4.3-4.16) พบเครื่องหมาย MGM มีค่า PIC อยู่ระหว่าง 0.30 ถึง 1 แสดงถึงความมีศักยภาพของเครื่องหมายโมเลกุล SSR ในการใช้เพื่อวิเคราะห์ความหลากหลายของพันธุกรรมเชื้อสาเหตุโรคไหม้ (ตารางที่ 4.3)

4.3.2 ผลการวิเคราะห์การจัดกลุ่มความหลากหลายของเชื้อราโรคไหม้โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR

ผลการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมและจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ด้วยโปรแกรม NTSYSpc 2.10p จากค่าสัมประสิทธิ์ความต่างที่ 80 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.17) สามารถจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของเชื้อราโรคไหม้ได้เป็น 4 กลุ่ม ดังนี้กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยเชื้อสาเหตุโรคไหม้ 48 ไอโซเลท แบ่งออกเป็นกลุ่มย่อย 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1.1 ประกอบด้วยเชื้อที่มีแหล่งที่มาจากภาคเหนือ คือ THL84, THL191 และ Chiangrai34.1 ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือ UBN2010 11351, UBN2009 128351, UBN200911308 , UBN2010 7384, UBN2010 94677, UBN2009 207129, UBN2009 207128, UBN2010 61112, UBN2010 13515, UBN2010 13512, UBN2010 195167 และ SKN2008 60867 ภาคกลาง คือ RBR55002 และ RBR55004 ภาคตะวันออก คือ NYK56003, CCO55002, CCO56003 และ CCO56004 กลุ่มที่ 1.2 ประกอบด้วยเชื้อที่มีแหล่งที่มาจากภาคเหนือ คือ Phitsanulok1.1 ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือ CPM55001, CPM55002, CPM55003, KKN2009 11321, KKN2010 61119, KKN2008 7357, KKN2009 61067, SKN2007 10389, NKI2007 211170, NKI2010 47181, SRN54002, SRN54005, SRN54006, SRN54007 และ SRN54009 ภาคกลาง คือ RBR55001, RBR55003, BKK55001, BKK55002, BKK55003 และ THL794 ภาคตะวันออก คือ NYK55001 และ CCO56001 ภาคใต้ คือ PL1, PL2 และ PL3 กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยเชื้อสาเหตุโรคไหม้ 1 ไอโซเลท เป็นเชื้อสาเหตุโรคไหม้ที่มีแหล่งที่มาจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือ UBN2010 61086 กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยเชื้อสาเหตุโรคไหม้ 2 ไอโซเลท เป็นเชื้อสาเหตุโรคไหม้ที่มีแหล่งที่มาจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ คือ UBN2010 195171 และ UBN2010 94678 กลุ่มที่ 4 ประกอบด้วยเชื้อสาเหตุโรคไหม้ที่มีแหล่งที่มา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากบริเวณภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ คือ UBN2008 7344 และ Phitsanulok40.4 ตามลำดับ

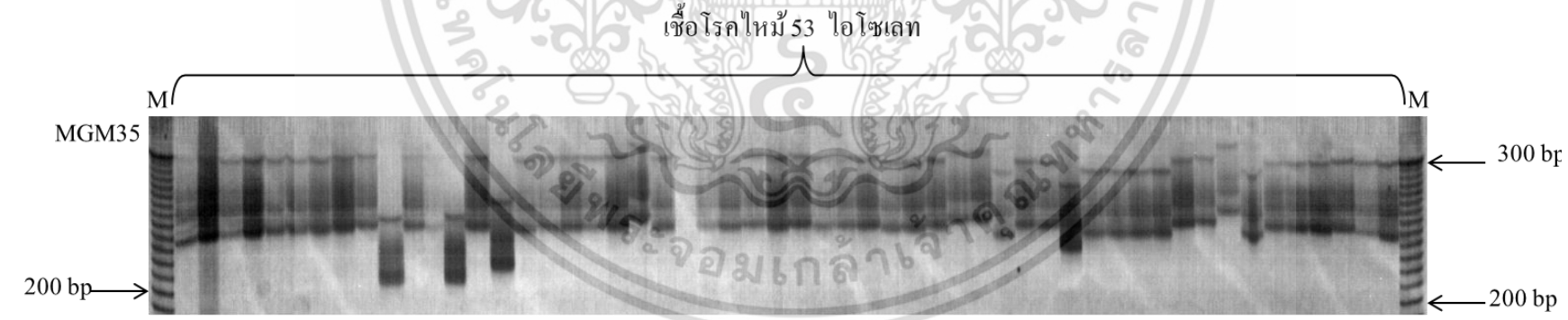
ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อเมื่อวิเคราะห์ในด้านของอายุหรือปีที่เก็บรวบรวมเชื้อนั้น เชื้อบางไอโซเลทที่เก็บในปีเดียวกันและสถานที่เดียวกันถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มย่อยเดียวกัน เช่น เชื้อโรคไหม้ที่มีแหล่งที่มาจากจังหวัดอุบลราชธานีคือ UBN2009 128351 และ UBN2009 11308, UBN2010 13515 และ UBN2010 13512 เชื้อที่เก็บจากจังหวัดฉะเชิงเทราคือ CCO56003 และ CCO56004 เชื้อที่เก็บจากจังหวัดสุรินทร์คือ SRN54002 และ SRN54005 และเชื้อที่เก็บจากกรุงเทพมหานครคือ BKK55001 และ BKK55002 เป็นต้น

ตารางที่ 4.3 แสดงค่า polymorphic information content (PIC) ของเครื่องหมายโมเลกุล MGM จำนวน 14 เครื่องหมาย

เครื่องหมาย	โครโมโซม	PIC	จำนวนอัลลีล	ขนาด (bp)
MGM447	1	1.00	151	125-150
MGM35	1	0.78	53	200-300
MGM192	2	0.91	50	200-240
MGM185	2	0.30	50	210-230
MGM436	3	0.72	199	100-160
MGM209	3	0.33	53	140-170
MGM237	4	0.65	78	160-210
MGM249	4	0.31	120	180-300
MGM453	5	0.52	95	120-250
MGM110	5	0.61	53	210-230
MGM266	6	0.71	130	100-200
MGM400	6	0.71	105	120-150
MGM282	7	0.68	53	140-170
MGM414	7	0.63	53	170-200

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

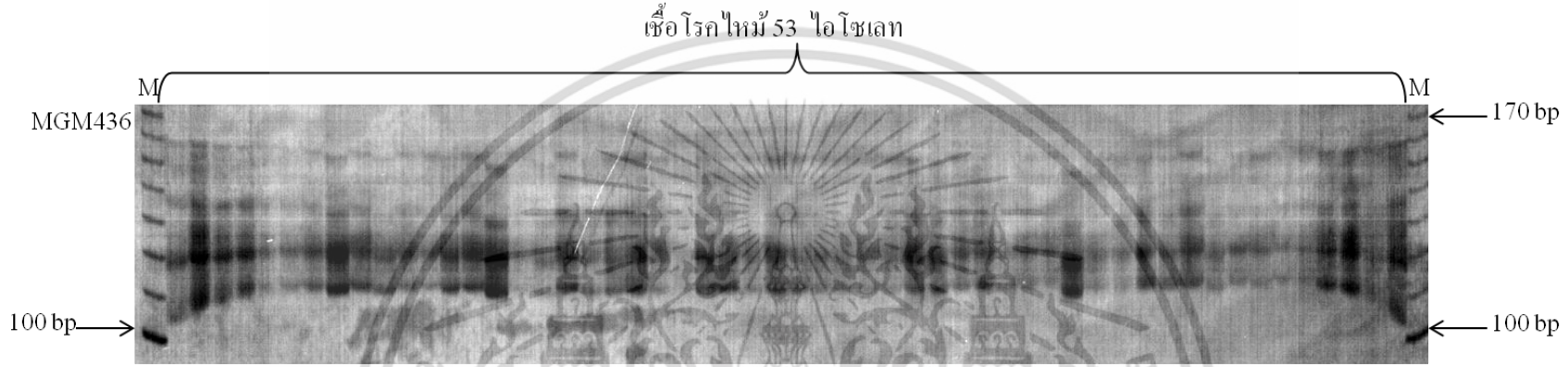
ภาพที่ 4.3 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM447 (M คือ 10 bp DNA ladder)



ภาพที่ 4.4 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM35 (M คือ 10 bp DNA ladder)

ภาพที่ 4.5 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM192 (M คือ 10 bp DNA ladder)

ภาพที่ 4.6 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM185 (M คือ 10 bp DNA ladder)



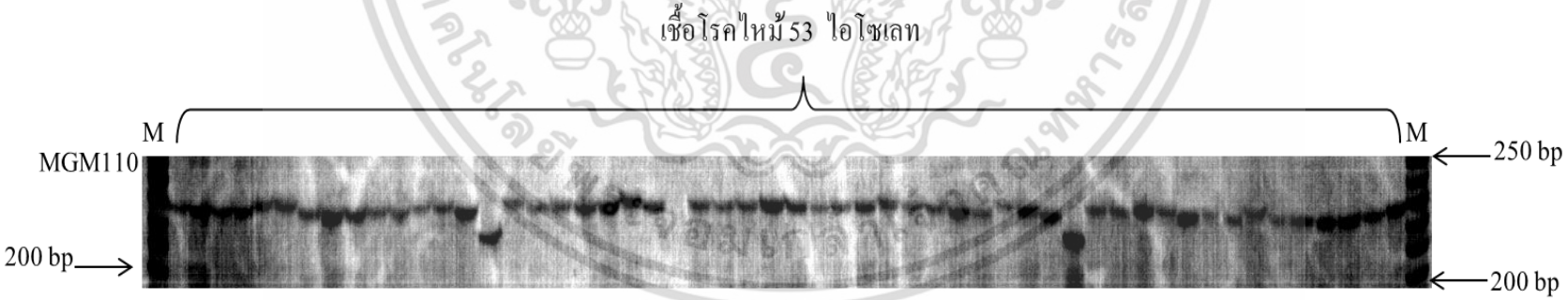
ภาพที่ 4.7 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM436 (M คือ 10 bp DNA ladder)

ภาพที่ 4.8 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM209 (M คือ 10 bp DNA ladder)

ภาพที่ 4.9 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM237 (M คือ 10 bp DNA ladder)

ภาพที่ 4.10 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM249 (M คือ 10 bp DNA ladder)

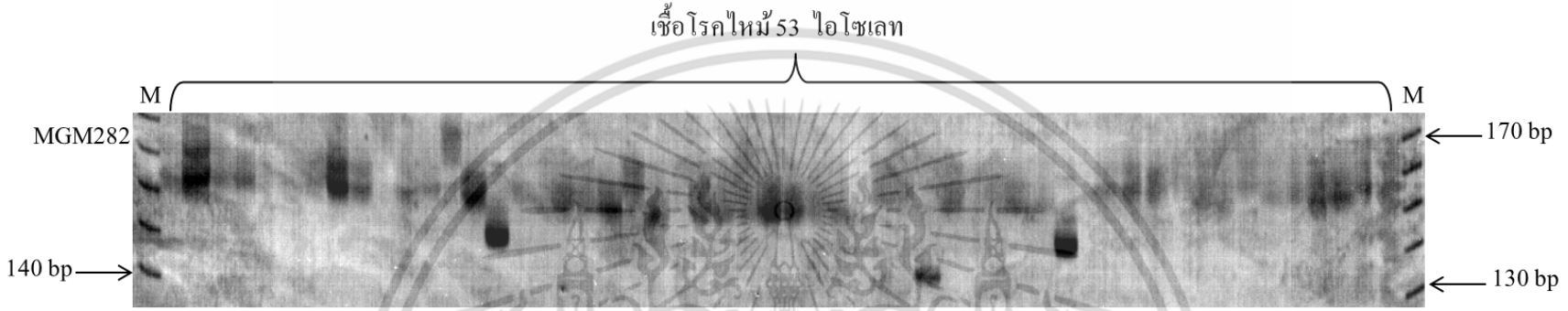
ภาพที่ 4.11 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM453 (M คือ 10 bp DNA ladder)



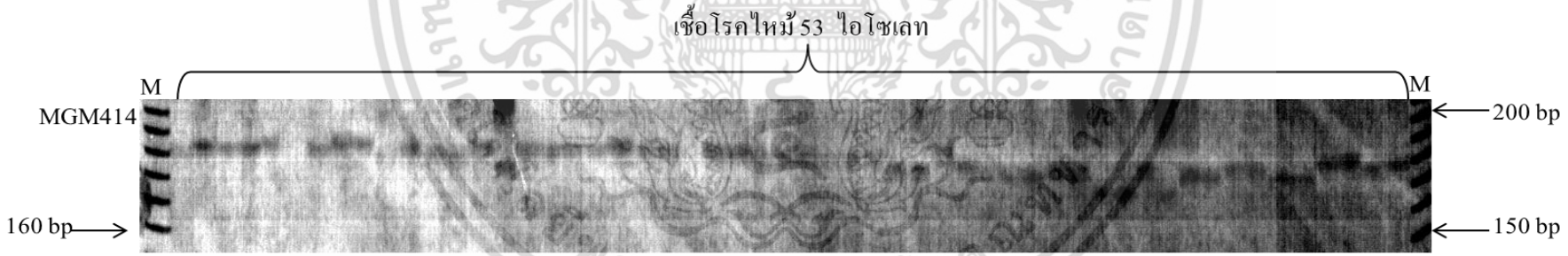
ภาพที่ 4.12 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM110 (M คือ 10 bp DNA ladder)

ภาพที่ 4.13 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM266 (M คือ 10 bp DNA ladder)

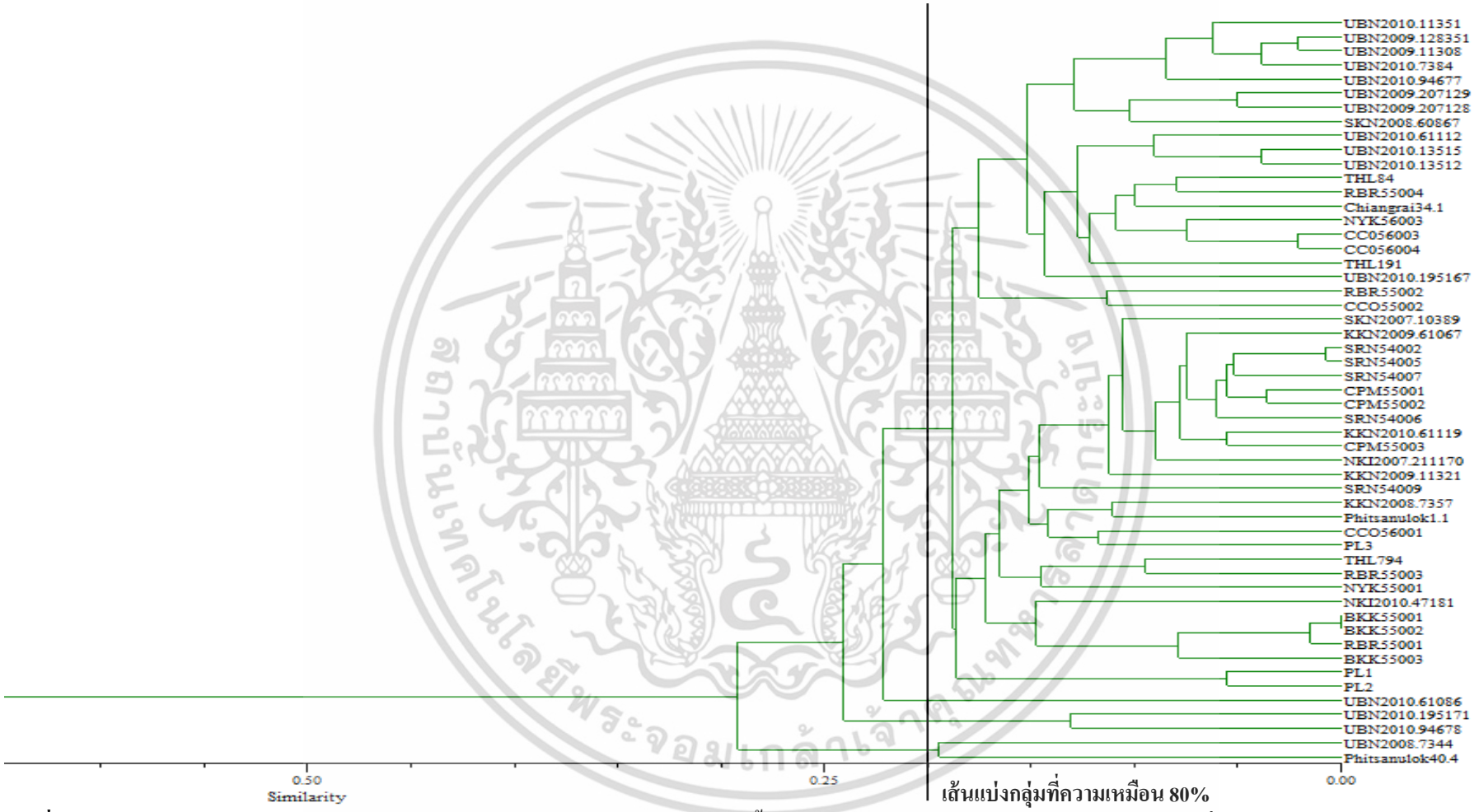
ภาพที่ 4.14 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM400 (M คือ 10 bp DNA ladder)



ภาพที่ 4.15 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM282 (M คือ 10 bp DNA ladder)



ภาพที่ 4.16 รูปแบบดีเอ็นเอของเชื้อโรคไหม้ 53 ไอโซเลท จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ของเครื่องหมาย MGM414 (M คือ 10 bp DNA ladder)



ภาพที่ 4.17 เดนโดรแกรมแสดงการจัดกลุ่มความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 53 ไอโซเลท โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR จำนวน 14 เครื่องหมาย

4.4 การประเมินความหลากหลายและความรุนแรงของเชื้อรา *P. grisea*

4.4.1 การจัดกลุ่มความรุนแรงในการก่อโรคของเชื้อรา *P. grisea* ที่เข้าทำลายข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

จากการทดลองสามารถจัดกลุ่มความรุนแรงในการเข้าทำลายพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ตามระดับคะแนนการก่อโรคของเชื้อที่ได้ทดสอบทั้งหมด 57 ไอโซเลท ดังนี้

รุนแรง มีการก่อโรคในระดับที่ 5-6 คือ CPM55003, RBR55003, KKN2009 11321, NYK55002, SRN54005, KKN2010 61119, UBN2010 7384, UBN2010 11351, SRN54001, KKN2008 7357, UBN2010 94677, UBN2010 195167, UBN2010 13515, UBN2010 61086, UBN2009 128351, Chiangrai34.1 และ Phitsanulok1.1

รุนแรงปานกลาง มีการก่อโรคในระดับที่ 3-4 คือ CPM55001, CPM55002, THL794, THL191, SRN54003, SRN54004, SRN54002, RBR55004, BKK55002, RBR55001, SRN54007, SRN54006, UBN2009 207129, UBN2010 7344, KKN2009 61067, UBN2010 195171, SKN2007 10389, NKI2007 211170, UBN2009 207128, NYK56003, UBN2010 13512, NYK55001, UBN2010 94678, BKK55001, RBR55002, UBN2010 61112, NKI2010 47181, CCO56004, Phitsanulok40.4 และ SRN54009

ไม่รุนแรง มีการก่อโรคในระดับที่ 0-2 คือ THL84, UBN2009 11308, CCO56003, PL1, PL2, PL3, SKN2008 60867, CCO56001, CCO55002 และ BKK55003

4.4.2 การประเมินความหลากหลายและความรุนแรงของเชื้อรา *P. grisea* ที่ทดสอบบนข้าวพันธุ์แนะนำของไทย

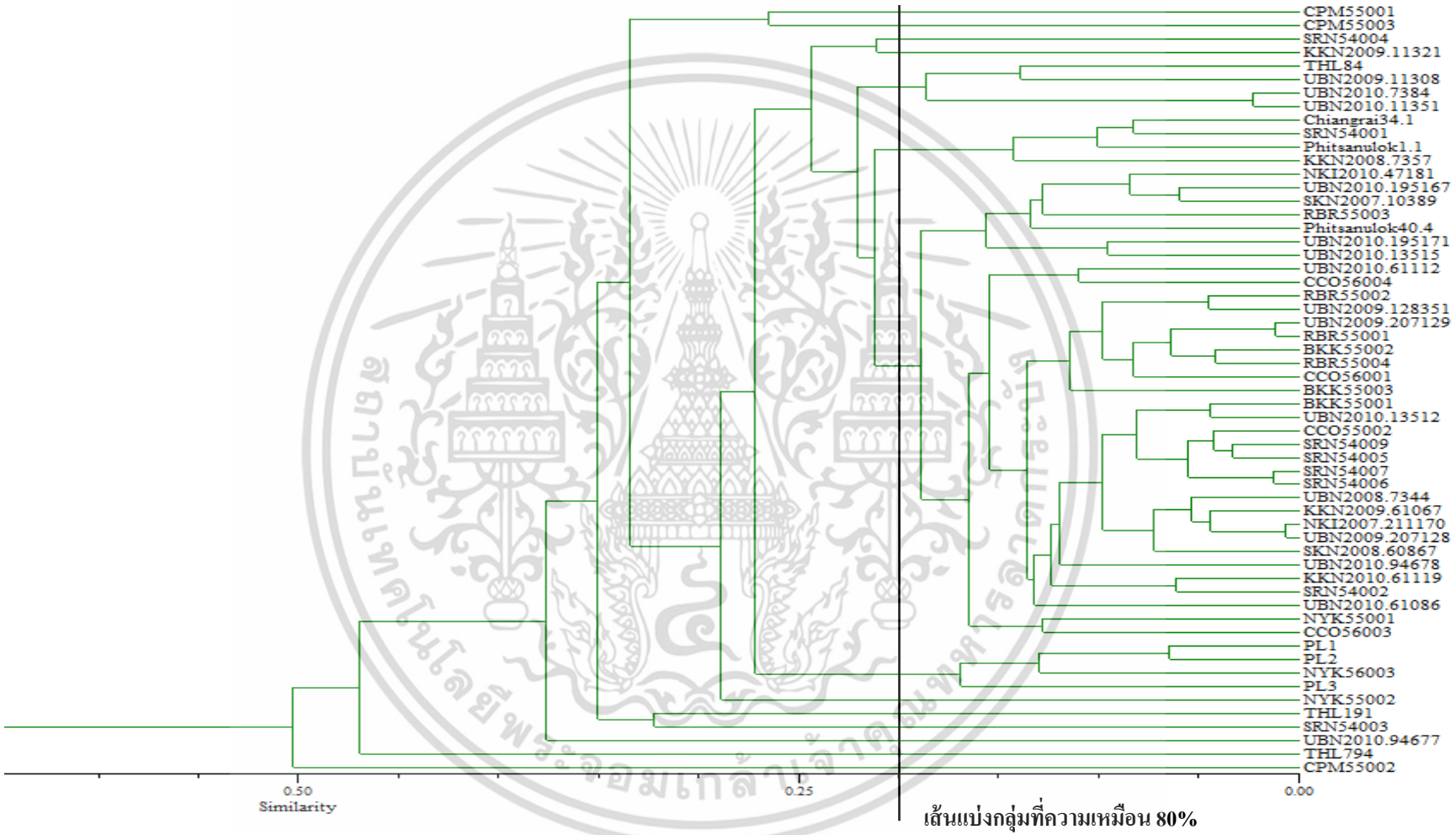
จากการประเมินความหลากหลายของเชื้อ *P. grisea* สาเหตุโรคไหม้ข้าวทั้งหมด 57 ไอโซเลท ที่รวบรวมได้จากพื้นที่ปลูกข้าวที่สำคัญของประเทศไทย (ตารางที่ 4.1) กับพันธุ์ข้าวแนะนำทั้งหมด 25 พันธุ์ นำมาจัดกลุ่มความหลากหลายของเชื้อโดยใช้โปรแกรม NTSYSpc2.10p (ภาพที่ 4.17) สามารถแยกได้เป็น 14 pathotype ที่ความเหมือน 80% ดังนี้ 1) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ CPM55001 2) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ CPM55003 3) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ SRN54004 4) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ KKN2009 11321 5) ประกอบด้วยเชื้อ 35 ไอโซเลท คือ RBR55003, UBN2010 195167, SKN2007 10389, NKI2010 47181, Phitsanulok40.4, UBN2010 195171, UBN2010 13515, SRN54005, SRN54009, SRN54007, CCO55002, SRN54006, NKI2007 211170, KKN2009 61067, UBN2010 13512, BKK55001, SKN2008 60867, UBN2010 7344, UBN2009 207128, UBN2010 94678, SRN54002, KKN2010 61119, NYK55001, RBR55004, BKK55002, RBR55001, UBN2009 207129, CCO56001, UBN2009 128351, RBR55002, BKK55003, CCO56004, UBN2010 61112, CCO56003 และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

UBN2010 61086 6) ประกอบด้วยเชื้อ 4 ไอโซเลท คือ SRN54001, Chiangrai34.1, Phitsanulok1.1 และKKN2008 7357 7) ประกอบด้วยเชื้อ 4 ไอโซเลท คือ THL84, UBN2009 11308, UBN2010 7384 และ UBN2010 11351 8) ประกอบด้วยเชื้อ 4 ไอโซเลท คือ NYK56003, PL1, PL2 และ PL3 9) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ NYK55002 10) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ THL191 11) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ SRN54003 12) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ UBN2010 94677 13) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ THL794 14) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ CPM55002 ซึ่งเชื้อที่จัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันนั้นอาจมีการเข้าทำลายพันธุ์ข้าวทดสอบพันธุ์เดียวกันในระดับการก่อโรคที่ใกล้เคียงกันหรือเข้าทำลายข้าวพันธุ์ทดสอบที่จำนวนเท่ากันหรือใกล้เคียงกัน

และจากการทดลองนี้พบว่าพันธุ์ข้าวที่มีลักษณะเด่นประจำพันธุ์ต้านทานต่อโรคไหม้จำนวน 6 พันธุ์ คือ กข41, สุพรรณบุรี 1, สุพรรณบุรี 2, สุพรรณบุรี 3, พลายงามปราจีนบุรี และปทุมธานี 1 มีเชื้อโรคไหม้ที่นำมาทดสอบสามารถเข้าทำลายได้ในระดับรุนแรงปานกลางถึงระดับรุนแรง โดยที่ข้าวพันธุ์ กข41 พบการเข้าทำลายของเชื้อไอโซเลท NYK56003 ในระดับที่รุนแรง ข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 มีการเข้าทำลายของเชื้อไอโซเลท NKI2010 47181 ในระดับรุนแรงปานกลางและเชื้อไอโซเลท UBN2010 94677 ในระดับที่รุนแรง ข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 2 พบการเข้าทำลายของเชื้อไอโซเลท PL1, PL2 และ CCO56003 ในระดับปานกลางและเชื้อไอโซเลท PL3, NYK56003 และ UBN2010 94677 สามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์นี้ได้ในระดับที่รุนแรง ข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 3 เชื้อไอโซเลท PL1 และ RBR55003 สามารถเข้าทำลายได้ในระดับปานกลางและเชื้อไอโซเลท UBN2009 128351 และ UBN2010 94677 สามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์นี้ได้ในระดับรุนแรง ในข้าวพันธุ์พลายงามปราจีนบุรีพบเชื้อโรคไหม้ที่นำมาทดสอบเข้าทำลายมากที่สุดประกอบด้วยเชื้อไอโซเลท CPM55001, CPM55002, RBR55003, THL191, SRN54002, SRN54004, SRN54009, RBR55002, BKK55001, KKN2008 7357, KKN2009 61067, KKN2010 61119 และ PL2 สามารถเข้าทำลายได้ในระดับรุนแรงปานกลางและเชื้อไอโซเลท Phitsanulok1.1, UBN2010 94678, UBN2010 195171 และ UBN2010 13515 สามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์นี้ได้ในระดับที่รุนแรง และในข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 พบเชื้อไอโซเลท BKK55001, KKN2008 7357 และ UBN2010 195171 เข้าทำลายได้ในระดับรุนแรงปานกลางและเชื้อไอโซเลท RBR55001 และ UBN2010 13512 สามารถเข้าทำลายได้ในระดับที่รุนแรง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าพันธุ์ข้าวที่ต้านทานโรคไหม้ดังกล่าวอาจมีความต้านทานโรคในเฉพาะพื้นที่ที่มีการปรับปรุงสายพันธุ์นี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.18 เดนโดรแกรมแสดงการจัดกลุ่มความหลากหลายของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 57 ไอโซเลท ที่ทดสอบบนข้าวพันธุ์แนะนำจำนวน 25 พันธุ์

จากการคำนวณค่าดัชนีความรุนแรงของเชื้อรา *P. grisea* จำนวน 57 ไอโซเลท ที่มีแหล่งที่มาจากพื้นที่แต่ละภูมิภาคของประเทศไทยนั้น พบว่าเชื้อราแต่ละไอโซเลทมีความสามารถในการเข้าทำลายพันธุ์ข้าวได้แตกต่างกัน ดังตารางที่ 4.4 และจากภาพเดนโดรแกรมแสดงความหลากหลายของเชื้อโรคไหม้จำนวน 57 ไอโซเลท (ภาพที่ 4.18) จะเห็นได้ว่าเชื้อไอโซเลท CPM55002, THL794 และ UBN2010 94677 มีค่าดัชนีความรุนแรงสูงสุดเท่ากับ 0.44, 0.40 และ 0.36 เป็นเชื้อที่มีความรุนแรงสามารถเข้าทำลายข้าวทดสอบได้จำนวน 11, 10 และ 10 พันธุ์ ตามลำดับ มีการแยกกลุ่มออกมาอย่างชัดเจน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเป็นเชื้อที่มีความรุนแรงสามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์ทดสอบได้หลายพันธุ์ และจากภาพจะเห็นได้ว่าเชื้อที่มีแหล่งที่มาจากแหล่งเดียวกันจะมีลักษณะในการก่อโรคที่เหมือนกัน เช่น เชื้อไอโซเลท CPM55001 กับ CPM55003 มีแหล่งที่มาจากจังหวัดชัยภูมิ เชื้อไอโซเลท SRN54005 กับ SRN54009 และ SRN54006 กับ SRN54007 มีแหล่งที่มาจากจังหวัดสุรินทร์ เชื้อไอโซเลท UBN2010 195171 กับ UBN2010 13515 และ UBN2010 7384 กับ UBN2010 11351 มีแหล่งที่มาจากจังหวัดอุบลราชธานี เชื้อไอโซเลท PL1 กับ PL2 มีแหล่งที่มาจากจังหวัดพัทลุง เชื้อที่มีการจัดให้อยู่ในกลุ่มเดียวกัน คือมีความเหมือนในการเข้าทำลายพันธุ์ข้าวทดสอบได้เหมือนกันหรือมีความคล้ายกันจึงถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มเดียวกัน และมีค่าดัชนีความรุนแรงของเชื้อที่เหมือนกันหรือใกล้เคียงกัน และเชื้อไอโซเลทที่มีความรุนแรงในการเข้าทำลายพันธุ์ข้าวได้น้อยที่สุด คือ RBR55004 ซึ่งมีแหล่งที่มาจากจังหวัดราชบุรี มีค่า VI เท่ากับ 0.04 สามารถเข้าทำลายข้าวทดสอบได้จำนวน 1 พันธุ์ คือ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (ตารางที่ 4.4) และจากการคำนวณค่าดัชนีความต้านทานของข้าว (RI) พบว่าพันธุ์ข้าวที่สามารถต้านทานเชื้อที่ทดสอบได้มากที่สุดคือ พันธุ์เจ้าหอมนิลและเล็บนกปัตตานี มีค่าดัชนีความต้านทานสูงสุดเท่ากับ 1 พันธุ์ข้าวที่มีค่าดัชนีความต้านทานต่ำสุดคือ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีค่าดัชนีความต้านทานเท่ากับ 0.01 (ตารางที่ 4.5)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ค่าดัชนีความรุนแรง (VI) ของเชื้อรา *P. grisea* จำนวน 57 ไอโซเลท ที่ทดสอบบนข้าวพันธุ์แนะนำ

ไอโซเลท	VI	ไอโซเลท	VI	ไอโซเลท	VI
Chiangrai34.1	0.24	UBN2009 128351	0.08	NYK56003	0.16
Phitsanulok1.1	0.28	NKI2007 211170	0.16	CCO55002	0.12
Phitsanulok 40.4	0.24	NKI2010 47181	0.20	CCO56001	0.08
THL84	0.24	SKN2008 60867	0.20	CCO56003	0.20
THL191	0.32	SKN2007 10389	0.12	CCO56004	0.20
UBN2010 7384	0.20	KKN2009 11321	0.24	SRN54001	0.20
UBN2010 11351	0.20	KKN2010 61119	0.20	SRN54002	0.16
UBN2009 11308	0.08	KKN2008 7357	0.24	SRN54003	0.32
UBN2010 13515	0.24	KKN2009 61067	0.16	SRN54004	0.16
UBN2010 61112	0.20	THL794	0.40	SRN54005	0.12
UBN2010 195167	0.16	RBR55001	0.08	SRN54006	0.08
UBN2010 61086	0.12	RBR55002	0.12	SRN54007	0.08
UBN2010 195171	0.28	RBR55003	0.24	SRN54009	0.12
UBN2010 94678	0.20	RBR55004	0.04	CPM55001	0.32
UBN2008 7344	0.12	BKK55001	0.16	CPM55002	0.44
UBN2010 94677	0.36	BKK55002	0.08	CPM55003	0.28
UBN2009 207129	0.08	BKK55003	0.12	PL1	0.28
UBN2009 207128	0.16	NYK55001	0.20	PL2	0.24
UBN2010 13512	0.16	NYK55002	0.24	PL3	0.28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ค่าดัชนีความต้านทาน (RI) ของพันธุ์ข้าวแนะนำจำนวน 25 พันธุ์ ที่ทดสอบกับเชื้อราโรคไหม้ 57 ไอโซเลท

พันธุ์ข้าว	RI	พันธุ์ข้าว	RI
เจ้าหอมนิล	1	ปทุมธานี 1	0.82
เล็บนกปัตตานี	1	หอมชลสิทธิ์	0.82
กข29	0.98	สังข์หยดพัทลุง	0.8
กวก. 2	0.98	สุพรรณบุรี 2	0.78
กวก. 1	0.94	พิษณุโลก 2	0.73
สุพรรณบุรี 60	0.94	กข43	0.71
กข31	0.92	กข6	0.7
สุพรรณบุรี 90	0.89	กข8	0.59
กข41	0.89	สกลนคร	0.47
ชัยนาท 1	0.89	เหนียวอุบล1	0.36
สุพรรณบุรี 1	0.89	พลายงามปราจีนบุรี	0.26
กข7	0.85	ขาวดอกมะลิ 105	0.01
สุพรรณบุรี 3	0.84		

4.4.3 การประเมินความหลากหลายและความรุนแรงของเชื้อรา *P. grisea* ที่ทดสอบบนข้าวชุด NILs

จากการประเมินความหลากหลายของเชื้อ *P. grisea* ทั้งหมด 48 ไอโซเลท กับพันธุ์ข้าวชุด NILs จำนวน 32 พันธุ์ นำมาจัดกลุ่มความหลากหลายของเชื้อโดยใช้โปรแกรม NTSYSpc2.10p (ภาพที่ 4.19) สามารถแยกได้เป็น 25 pathotype ที่ความเหมือน 80% ดังนี้ 1) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ CCO55002 2) ประกอบด้วยเชื้อ 4 ไอโซเลท คือ UBN2010 94677, SKN2007 10389, CPM55003 และ PL1 3) ประกอบด้วยเชื้อ 7 ไอโซเลท คือ SRN54002, NYK56003, BKK55001, BKK55003, BKK55002, CCO56003 และ THL191 4) ประกอบด้วยเชื้อ 11 ไอโซเลท คือ UBN2009 207129, UBN2010 195167, NKI2010 47181, Phitsanulok40.4, RBR55003, NYK55001, PL3, RBR55001, UBN2010 94678, UBN2009 207128 และ CPM55001 5) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ UBN2009 11308 6) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ SRN54007 7) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ CCO56004 8) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ CCO56001 9) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ NKI2007 211170 10) ประกอบด้วยเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1 ไอโซเลท คือ KKN2008 7357 11) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ THL84 12) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ UBN2009 128351 13) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ KKN2009 11321 14) ประกอบด้วยเชื้อ 3 ไอโซเลท คือ RBR55004, KKN2009 61067 และ CPM55002 15) ประกอบด้วยเชื้อ 3 ไอโซเลท คือ RBR55002, UBN2010 61086 และ SRN54006 16) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ UBN2010 61119 17) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ THL794 18) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ SRN54009 19) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ SRN54009 20) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ NKI2010 13515 21) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ PL2 22) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ UBN2010 61112 23) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ UBN2010 13512 24) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ UBN2008 7344 และ 25) ประกอบด้วยเชื้อ 1 ไอโซเลท คือ Chiangrai34.1 จากการจัดกลุ่มเชื้อรานี้จะเห็นได้ว่าเชื้อราที่มีแหล่งที่มาจากพื้นที่เดียวกันนั้นมีบางไอโซเลทถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มเดียวกันและมีบางไอโซเลทถูกจัดกลุ่มแยกออกไป ทั้งนี้อาจเนื่องมา จากเชื้อไอโซเลทที่มาจากแหล่งเดียวกันนั้นมีระดับความรุนแรงในการก่อโรคที่แตกต่างกันจึงถูกจัด แยกกลุ่มกัน

ในการทดลองนี้เป็นการทดสอบปฏิกิริยาการก่อโรคของเชื้อโรคไหม้บนข้าวชุด NILs ซึ่งมียีนต้านทานเดี่ยวในแต่ละพันธุ์ พบว่า พันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทานแต่ละพันธุ์นั้นสามารถต้านทานเชื้อที่ทดสอบได้แตกต่างกัน พันธุ์ข้าวที่ต้านทานเชื้อโรคไหม้ที่ทดสอบได้ดีที่สุดคือ พันธุ์ IRBLZ-FU ที่มียีนต้านทาน *Pi z* สามารถต้านทานเชื้อได้จำนวน 28 ไอโซเลท รองลงมาคือ IRBL5-M ที่มียีนต้านทาน *Pi 5(t)* และ IRBLKP-K60 ที่มียีนต้านทาน *Pi k-p* สามารถต้านทานเชื้อได้จำนวน 21 ไอโซเลท แสดงให้เห็นว่ายีนต้านทาน *Pi z*, *Pi 5(t)* และ *Pi k-p* สามารถต้านทานต่อการก่อโรคของเชื้อโรคไหม้ที่มีแหล่งที่มาจากทุกภูมิภาคของไทยได้ ส่วนพันธุ์ข้าวที่ไม่สามารถต้านทานเชื้อโรคไหม้ที่ใช้ในการทดลองได้เลยคือ พันธุ์ IRBLT-K59 ที่มียีนต้านทาน *Pi t* พันธุ์ IRBLA-C ที่มียีนต้านทาน *Pi a* พันธุ์ IRBLZ5-CA มียีนต้านทาน *Pi z-5* และพันธุ์ IRBLZ5-C (R) ที่มียีนต้านทาน *Pi z-5* เชื้อสาเหตุโรคไหม้แต่ละไอโซเลทนั้นมีความ สามารถในการเข้าทำลายพันธุ์ข้าว NILs ที่มียีนต้านทานเดี่ยวได้ในระดับที่ไม่รุนแรงไปจนถึงระดับรุนแรง เชื้อไอโซเลท UBN2009 11308, RBR55001, BKK55002 สามารถเข้าทำลายพันธุ์ข้าวได้ทุกสายพันธุ์และมีระดับการก่อโรคตั้งแต่ไม่รุนแรงถึงรุนแรง และเมื่อวิเคราะห์ในด้านของยีนก่อโรค (Avr gene) จากการทดลองนี้พบว่า เชื้อราที่ใช้ทดสอบนี้แต่ละไอโซเลทนั้นอาจมียีนก่อโรคต่อข้าวชุด NILs เกือบทุกไอโซเลท โดยสังเกตจากระดับคะแนนการก่อโรคในระดับ 0 และระดับ 1 ยกเว้นไอโซเลท UBN2009 11308, RBR55001, BKK55002 ที่ไม่พบยีนก่อโรคนั่นคือเชื้อเหล่านี้สามารถก่อโรคได้บนข้าวชุด NILs ทุกสายพันธุ์ เชื้อราไอโซเลทที่คาดว่ามียีนก่อโรคมากที่สุดนั้นคือไอโซเลท UBN2008 7344 พบว่ามีถึง 16 ยีน รองลงมาคือไอโซเลท KKN2010 61119 พบว่ามี 15 ยีน และไอโซเลทที่คาดว่ามียีนก่อโรคน้อยที่สุดคือ 1 ยีน ประกอบด้วยเชื้อไอโซเลท CCO56003,

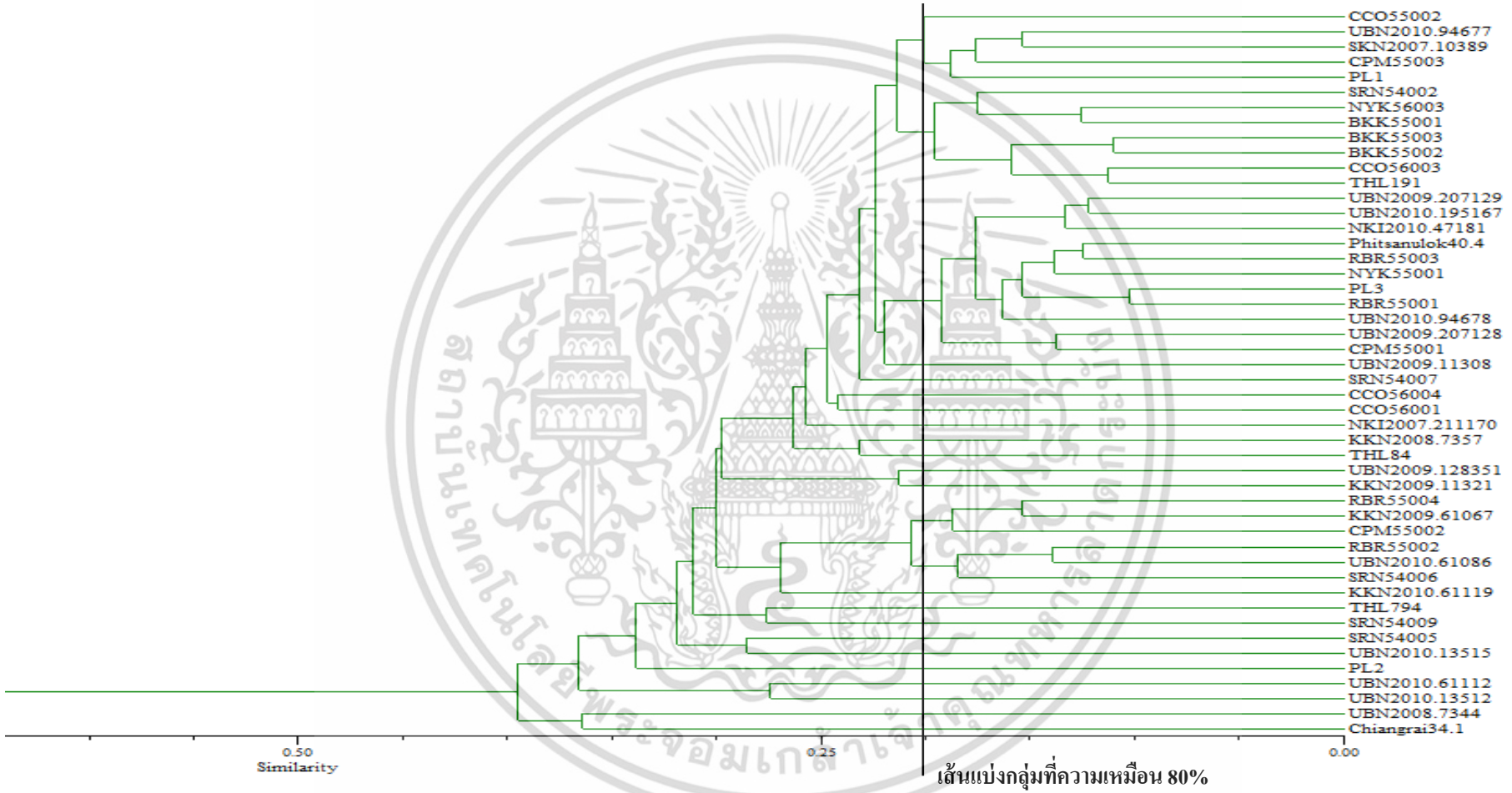
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Phitsanulok40.4, THL191, RBR55001 และ SKN2007 10389 ซึ่งมียีนก่อโรค *Avr Pi ta*, *Avr Pi z*, *Avr Pi 19(t)*, *Avr Pi sh* และ *Avr Pi k-s* ตามลำดับ

จากการคำนวณค่าดัชนีความรุนแรงของเชื้อรา *P. grisea* จำนวน 48 ไอโซเลท ที่ได้ทดสอบบนข้าวชุด NILs (ตารางที่ 4.6) จะเห็นได้ว่าเชื้อไอโซเลท UBN2009 11308, RBR55001, BKK55002 มีค่าดัชนีความรุนแรงสูงสุดเท่ากับ 1 แสดงให้เห็นว่าเป็นเชื้อที่มีความรุนแรงสามารถเข้าทำลายข้าวทดสอบได้ทุกสายพันธุ์ และเชื้อไอโซเลทที่มีค่าดัชนีความรุนแรงต่ำที่สุดคือ Chiangrai34.1 มีค่าดัชนีความรุนแรงเท่ากับ 0.59 ซึ่งไอโซเลทนี้สามารถเข้าทำลายพันธุ์ข้าวได้จำนวนน้อยและก่อโรคบนข้าวแต่ละพันธุ์ได้ในระดับที่ไม่รุนแรง

จากการคำนวณค่าดัชนีความต้านทานของข้าว (RI) พบว่าพันธุ์ข้าวที่สามารถต้านทานเชื้อที่ทดสอบได้มากที่สุดคือ พันธุ์ IRBLZ-FU มีค่าดัชนีความต้านทานสูงสุดเท่ากับ 0.08 พันธุ์ข้าวที่มีค่าดัชนีความต้านทานต่ำสุดมีจำนวน 16 สายพันธุ์ ซึ่งมีค่าดัชนีความต้านทานเท่ากับ 0 (ตารางที่ 4.7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.19 เดนโดรแกรมแสดงการจัดกลุ่มความหลากหลายของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 48 ไอโซเลท ที่ทดสอบบนข้าวชุด NILs จำนวน 32 พันธุ์ ข้าวพันธุ์ IR64 และข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

ตารางที่ 4.6 ค่าดัชนีความรุนแรง (VI) ของเชื้อรา *P. grisea* จำนวน 48 ไอโซเลท ที่ทดสอบบนข้าวชุด NILs

ไอโซเลท	VI	ไอโซเลท	VI	ไอโซเลท	VI
Chiangrai34.1	0.59	NKI2007 211170	0.79	NYK56003	0.70
Phitsanulok 40.4	0.79	NKI2010 47181	0.85	CCO55002	0.97
THL84	0.97	SKN2007 10389	0.94	CCO56001	0.97
THL191	0.70	KKN2009 11321	0.94	CCO56003	0.85
UBN2009 11308	1	KKN2010 61119	0.88	CCO56004	0.94
UBN2010 13515	0.70	KKN2008 7357	0.74	SRN54002	0.85
UBN2010 61112	0.85	KKN2009 61067	0.76	SRN54005	0.85
UBN2010 195167	0.70	THL794	0.91	SRN54006	0.97
UBN2010 61086	0.79	RBR55001	1	SRN54007	0.97
UBN2010 94678	0.97	RBR55002	0.94	SRN54009	0.97
UBN2008 7344	0.82	RBR55003	0.97	CPM55001	0.94
UBN2010 94677	0.91	RBR55004	0.82	CPM55002	0.85
UBN2009 207129	0.94	BKK55001	0.68	CPM55003	0.97
UBN2009 207128	0.97	BKK55002	1	PL1	0.74
UBN2010 13512	0.82	BKK55003	0.82	PL2	0.88
UBN2009 128351	0.91	NYK55001	0.97	PL3	0.70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ค่าดัชนีความต้านทาน (RI) ของพันธุ์ข้าวชุด NILs จำนวน 32 สายพันธุ์ ที่ทดสอบกับเชื้อราโรคไหม้ 48 ไอโซเลท

สายพันธุ์	RI	สายพันธุ์	RI
IRBLSH-B	0	IRBL7-M	0.04
IRBLSH-S	0	IRBL9-W	0
IRBLB-B	0.02	IRBLZ-FU	0.08
IRBLT-K59	0	IRBLZ5-CA	0
LTH	0	IRBLZT-T	0
IRBLA-A	0.02	IRBLTA2-PI	0
IRBLA-C	0	IRBLTA2-RE	0.1
IRBLI-F5	0.04	IRBL12-M	0.02
IRBL3-CP4	0	IRBLTA-K1	0
IRBL5-M	0.04	IRBLTA-CT2	0.02
IRBLKS-F5	0.04	IRBLTA-CP1	0
IRBLKS-S	0	IRBL19-A	0.04
IRBLKM-TS	0.02	IRBL20-IR24	0.06
IRBL1-CL	0.02	IRBL11-ZH	0
IRBLKH-K3	0.04	IRBLZ5-C (R)	0
IRBLK-KA	0.02	KDML105	0
IRBLKP-K60	0.04	IR64	0.72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การสำรวจและเก็บรวบรวมเชื้อรา *P. grisea* ในประเทศไทย

จากการสำรวจการระบาดของโรคไหม้นั้นในภาคตะวันออกเฉียงเหนือจะมีการระบาดของโรคไหม้ที่รุนแรงมากกว่าภาคกลางและภาคตะวันออก เนื่องจากในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือนั้นมีปัจจัยการเกิดโรคที่เหมาะสมต่อการพัฒนาของเชื้อราที่สมบูรณ์มากกว่าพื้นที่ที่มีการปลูกข้าวในภาคอื่นๆ ของประเทศ เช่น อุณหภูมิ ความชื้น และพันธุ์ข้าวที่เกษตรกรนิยมปลูก เช่น ขาวดอกมะลิ 105 กข6 หรือ กข15 ที่เป็นพันธุ์อ่อนแอต่อโรคไหม้ จึงทำให้พบการระบาดของเชื้อมาก (Disthaporn. 1994) ส่วนในภาคกลางและภาคตะวันออกนั้นจะพบการระบาดของโรคน้อยกว่า เนื่องจากพื้นที่ส่วนใหญ่เป็นเขตชลประทานเกษตรกรนิยมทำนาปรังซึ่งพันธุ์ข้าวที่นิยมปลูกนั้นส่วนใหญ่จะมีความต้านทานต่อโรคและสภาพภูมิอากาศนั้นไม่เหมาะสมต่อการเกิดโรค

5.2 การตรวจสอบ Mating type ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้

จากการตรวจสอบ Mating type ของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 53 ไอโซเลท โดยใช้ไพรเมอร์ *Mat* gene เชื้อราที่เป็น *mat1-2* มีจำนวน 49 ไอโซเลท และเชื้อราที่เป็น *mat 1-1* มีเพียง 4 ไอโซเลท จะเห็นได้ว่าเชื้อราโรคไหม้ในที่เก็บรวบรวมได้นี้ส่วนใหญ่จะมียีนที่ควบคุมแบบการผสมพันธุ์เป็น *mat1-2* มากกว่า *mat1-1* ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mekwatanakarn *et al.* (1999) ที่ศึกษาการสืบพันธุ์แบบใช้เพศและแบบของการผสมพันธุ์ของเชื้อราโรคไหม้ในประเทศไทย พบว่า เชื้อโรคไหม้ในประเทศไทยส่วนใหญ่นั้นมีแบบของการผสมพันธุ์เป็น *mat1-2* มากกว่า *mat1-1* และพบว่าเชื้อรานี้สามารถที่จะผสมพันธุ์กันได้อย่างสมบูรณ์

เชื้อราที่มี mating type เป็น *mat1-1* จากการตรวจสอบนี้คือเชื้อไอโซเลท UBN2010 195171, UBN2010 94678, UBN2008 7344 และ Phitsanulok40.4 มีความสอดคล้องกับการประเมินความหลากหลายของเชื้อราโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR นั้น พบว่าถูกจัดกลุ่มอยู่ในกลุ่มเดียวกันที่แยกออกมาอย่างชัดเจน คือ ในกลุ่มที่ 3 ประกอบด้วย UBN2010 195171 และ UBN2010 94678 และในกลุ่มที่ 4 ประกอบด้วย UBN2008 7344 และ Phitsanulok40.4 ส่วนเชื้อราที่เป็น *mat1-2* ถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่ 1 และ 2 ทั้งหมด แสดงให้เห็นว่าเชื้อราทั้งหมดนี้อาจมีที่มาจากฐานพันธุกรรมเดียวกันและในการใช้วิธีการตรวจสอบทางโมเลกุลนี้สามารถช่วยให้การตรวจสอบความหลากหลายของเชื้อรานี้มีความชัดเจนมากยิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.3 การประเมินความหลากหลายของประชากรเชื้อรา *P. grisea* โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR

จากการวิเคราะห์ความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 53 ไอโซเลท โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR จำนวน 14 เครื่องหมาย พบเครื่องหมาย MGM มีค่า PIC อยู่ระหว่าง 0.30 ถึง 1.0 แสดงว่าเครื่องหมายที่นำมาใช้นั้นมีประสิทธิภาพในการแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมของเชื้อโรคไหม้ ซึ่งเครื่องหมายโมเลกุลที่มีประสิทธิภาพนั้นจะต้องมีค่า PIC อยู่ระหว่าง 0 ถึง 1 (Botstein *et al*. 1980) ค่า PIC มากแสดงว่าเครื่องหมายนั้นสามารถแยกความแตกต่างได้ดี และจากการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของเชื้อราพบว่าเชื้อสาเหตุโรคไหม้มีความหลากหลายทางพันธุ-กรรมสูง กลุ่มความสัมพันธ์ของพันธุกรรมเชื้อไม่ได้ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มีการระบาดของโรคไหม้ เชื้อที่มาจากต่างสถานที่กันถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันในกลุ่มที่ 1 ซึ่งเป็นเชื้อจากภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออก และภาคใต้ แสดงให้เห็นว่าเชื้อมีการแพร่กระจายอย่างกว้างขวางในทุกภาคของประเทศไทย อาจเป็นเพราะว่าประชากรเชื้อราสาเหตุโรคไหม้นี้สามารถกระจายหรือเคลื่อนย้ายข้ามพื้นที่ที่มีลักษณะทางภูมิศาสตร์ที่แตกต่างกัน (พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์. 2548)

เชื้อราที่มีแหล่งที่มาจากจังหวัดเดียวกัน ปีที่เก็บเดียวกัน ถูกจัดแยกกลุ่มกัน เช่น เชื้อราที่มีแหล่งที่มาจากจังหวัดอุบลราชธานี ในปี ค.ศ.2010 (พ.ศ.2553) แสดงให้เห็นว่าเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ที่เก็บจากจังหวัดเดียวกัน ปีเดียวกันมีพันธุกรรมที่ต่างกัน ในจังหวัดเดียวกันมีเชื้อสาเหตุเข้าทำลายข้าวได้มากกว่า 1 ไอโซเลท สอดคล้องกับงานวิจัยของ เสาวลักษณ์ อัครราช และคณะ (2554) ที่รายงานว่าเชื้อสาเหตุโรคไหม้ที่เก็บจากจังหวัดเดียวกันมีความหลากหลายของระดับความรุนแรงในการก่อโรคที่ต่างกันไม่สามารถจัดกลุ่มร่วมกันได้ เชื้อราที่เก็บจากจังหวัดเดียวกันและปีที่เก็บเดียวกันถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน เช่น เชื้อราที่มีแหล่งที่มาจากจังหวัดสุรินทร์ กรุงเทพฯ และพัทลุง เป็นต้น แสดงให้เห็นว่าเชื้อราสาเหตุโรคไหม้นี้อาจมีพันธุกรรมที่เหมือนกัน เชื้อราที่เก็บจากจังหวัดเดียวกันแต่ปีที่เก็บต่างกันถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน คือ เชื้อราที่เก็บจากจังหวัดฉะเชิงเทรา ในปี พ.ศ. 2555-2556 จังหวัดหนองคายในปี ค.ศ. 2007-2010 (พ.ศ. 2550-2553) และจังหวัดขอนแก่นในปี ค.ศ. 2008-2009 (พ.ศ. 2551-2552) แสดงให้เห็นว่าเชื้อราไอโซเลทเดิมมีการระบาดซ้ำเป็นประจำทุกปีในจังหวัดเดียวกัน เนื่องจากเชื้อรานี้มีการอยู่ข้ามฤดูและมีพืชอาศัยหลายชนิด สามารถดำรงชีพอยู่ในซากพืชได้และโคนิเดียจะมีชีวิตอยู่ในเมล็ดข้าวได้นานที่สุดถึง 2 ปี (Ou. 1985) มีผลทำให้เชื้อรามีการระบาดอยู่ในพื้นที่เดิม เนื่องจากเกษตรกรมักจะปลูกข้าวพันธุ์เดียวซ้ำกันในแต่ละปี (Disthaporm. 1994) และเชื้อรามีการแพร่กระจายไปยังพื้นที่อื่นโดยอาศัยลม ฝน และการขนส่งสินค้าเกษตรต่างๆ (Ou. 1985; McCartney *et al*. 2006) สำหรับเชื้อราที่เก็บจากจังหวัดเดียวกัน ปีที่เก็บต่างกันถูกจัดแยกกลุ่มกัน คือ เชื้อราที่เก็บจากจังหวัดนครนายก ในปี พ.ศ. 2555-2556 จังหวัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุบลราชธานีในปี ค.ศ. 2008-2010 (พ.ศ. 2551-2553) จังหวัดสกลนครในปี ค.ศ. 2007-2008 (พ.ศ. 2550-2551) แสดงว่าเชื้อราโรคไหม้นี้มีความแปรปรวนทางพันธุกรรมหรือปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมของพื้นที่นั้นๆ ในแต่ละปี

Sirithunya *et al.* (2008) ได้ศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *P. grisea* จำนวน 174 ไอโซเลท จากข้าวบาร์เลย์ ข้าว ข้าววัชพืช และข้าวป่า ที่ปลูกในประเทศไทย โดยใช้เทคนิค RAPD พบว่าเชื้อ *P. grisea* ที่เก็บรวบรวมจากภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคกลางของประเทศไทยเป็นแหล่งที่มีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากที่สุด สอดคล้องกับการทดลองนี้คือ เชื้อที่มีแหล่งที่มาจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากที่สุด ในด้านของอายุของเชื้อหรือปีที่เก็บเชื้อนั้นไม่มีผลต่อการประเมินความหลากหลาย จากผลการจัดกลุ่มของเชื้อแสดงให้เห็นว่าเชื้อที่มีอายุการเก็บต่างกันมีการจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน

5.4 การประเมินความหลากหลายและความรุนแรงของเชื้อรา *P. grisea* ที่ทดสอบบนข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ข้าวพันธุ์แนะนำและชุดข้าว NILs

ในการศึกษาปฏิกิริยาก่อโรคของเชื้อราสาเหตุโรคบนข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พบเชื้อไอโซเลทที่ไม่สามารถเข้าทำลายหรือไม่มีความรุนแรงบนข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 แต่มีความรุนแรงบนข้าวพันธุ์ทดสอบอื่นๆ อาจเป็นเพราะแหล่งเพาะปลูกข้าวในภูมิภาคนั้นไม่มีการเพาะปลูกข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เชื้อจึงมีการก่อโรคที่ไม่รุนแรง เชื้อสาเหตุโรคที่มาจากแหล่งภูมิภาคเดียวกันหรือต่างภูมิภาคมีความสามารถในการก่อโรคได้ต่างกัน โดยเฉพาะข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรค พบว่ามีระดับการเกิดโรคที่หลากหลายในทุกระดับ พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ และคณะ (2550) ได้ทำการทดสอบโรคไหม้กับข้าวสายพันธุ์มาตรฐาน ในปี พ.ศ. 2545-2548 ที่แปลงทดลองในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ ภาคเหนือตอนล่าง และภาคใต้ พบว่าเชื้อที่เข้าทำลายข้าวมีความแตกต่างกันในแต่ละฤดูปลูกและชุดข้าวที่ทดสอบ ซึ่งภาคตะวันออกเฉียงเหนือพบเชื้อเข้าทำลายมากที่สุดในศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี และข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 แสดงปฏิกิริยาอ่อนแอสูงสุดเกือบทุกปี สอดคล้องกับผลการทดลองคือ เชื้อโรคไหม้ที่มีแหล่งที่มาจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือโดยเฉพาะเชื้อที่มาจากอุบลราชธานีและภาคเหนือมีการก่อโรคที่หลากหลายและมีความรุนแรงปานกลางถึงรุนแรงมาก ในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีความอ่อนแอต่อเชื้อไอโซเลทที่มีแหล่งที่มาจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคเหนือมากที่สุดซึ่งเป็นพื้นที่ที่เกษตรกรนิยมปลูกข้าวพันธุ์นี้ Mekwatanakarn *et al.* (2000) ได้ทำการศึกษาประชากรเชื้อโรคไหม้ในประเทศไทย พบว่า เชื้อโรคไหม้ในประเทศไทยมีความแปรปรวนมากกว่าแหล่งปลูกข้าวอื่นๆ ของโลก และมีความหลากหลายเปลี่ยนแปลงไปตามฤดูกาลและสถานที่ที่พบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การจัดกลุ่มความหลากหลายของเชื้อรา *P. grisea* ที่ทดสอบบนข้าวพันธุ์แนะนำของไทย จำนวน 57 ไอโซเลท (ภาพที่ 4.18) และการคำนวณค่าดัชนีความรุนแรง (VI) (ตารางที่ 4.4) นั้นมีความสอดคล้องกัน จะเห็นได้ว่าเชื้อไอโซเลท CPM55002, THL794 และ UBN2010 94677 มีค่า VI สูงสุด มีการแยกกลุ่มออกมาอย่างชัดเจน เชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลท มีความรุนแรงสามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์ทดสอบได้หลายพันธุ์ และจากภาพจะเห็นได้ว่าเชื้อที่มีแหล่งที่มาจากแหล่งเดียวกันจะมีลักษณะในการก่อโรคที่เหมือนกัน นั่นคือกรณีของเชื้อไอโซเลท CPM55001 และ CPM55003 มีแหล่งที่มาจากจังหวัดชัยภูมิ เชื้อไอโซเลท SRN54005 และ SRN54009 หรือเชื้อไอโซเลท SRN54006 และ SRN54007 มีแหล่งที่มาจากจังหวัดสุรินทร์ เชื้อไอโซเลท UBN2010 195171 และ UBN2010 13515 หรือเชื้อไอโซเลท UBN2010 7384 และ UBN2010 11351 มีแหล่งที่มาจากจังหวัดอุบลราชธานี เชื้อไอโซเลท PL1 และ PL2 มีแหล่งที่มาจากจังหวัดพัทลุง ซึ่งเชื้อราที่มาจากจังหวัดเดียวกันจะมีค่าดัชนีความรุนแรงของเชื้อที่เท่ากันหรือใกล้เคียงกันและถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มเดียวกันในแผนภาพ เชื้อไอโซเลทที่มีความรุนแรงน้อยที่สุดในการเข้าทำลายพันธุ์ข้าว คือ RBR55004 มีแหล่งที่มาจากจังหวัดราชบุรี มีค่า VI ต่ำที่สุด เชื้อบางไอโซเลทที่มาจากแหล่งเดียวกันแต่ถูกจัดกลุ่มต่างกัน หรือเชื้อที่มาจากต่างภูมิภาคกันแต่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน อาจเป็นเพราะเชื้อแต่ละไอโซเลทมีความสามารถในการเข้าทำลายพันธุ์ข้าวได้ต่างกัน นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อบางไอโซเลทไม่สามารถเข้าทำลายข้าวหรือก่อโรคไม่รุนแรงบนข้าวพันธุ์ทดสอบที่อ่อนแอต่อโรคนี้บางสายพันธุ์ เช่น สังข์หยดพัทลุง ขาวดอกมะลิ 105 กข6 แต่กลับมีความรุนแรงบนข้าวพันธุ์ทดสอบอื่นๆ อาจเป็นเพราะเชื้อที่มาจากแต่ละพื้นที่มีปฏิกิริยาการก่อโรคที่เฉพาะเจาะจงต่อพันธุ์ข้าวที่มีการเพาะปลูกประจำในพื้นที่นั้นๆ และยีนต้านทานโรคไหม้ในข้าวบางพันธุ์แสดงออกได้เฉพาะพื้นที่และฤดูปลูกข้าว (พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ และคณะ. 2550) ในการคำนวณค่าดัชนีความต้านทานของข้าว (RI) พบว่าพันธุ์ข้าวที่สามารถต้านทานเชื้อที่ทดสอบได้มากที่สุดคือพันธุ์เจ้าหอมนิลและเล็บนกปัตตานี มีค่าดัชนีความต้านทานสูงสุด พันธุ์ข้าวที่มีค่าดัชนีความต้านทานต่ำสุดคือ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 จากการทดลองนี้เลือกใช้พันธุ์ข้าวที่มีลักษณะเด่นประจำพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคไหม้ คือ กข41, สุพรรณบุรี 1, สุพรรณบุรี 2, สุพรรณบุรี 3, พลายงามปราจีนบุรี และปทุมธานี 1 พันธุ์ข้าวที่ต้านทานโรคไหม้เหล่านี้อาจมีความต้านทานโรคเฉพาะในพื้นที่ที่มีการปรับปรุงสายพันธุ์นั้นๆ เช่น พันธุ์ กข41 ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ในจังหวัดพิษณุโลกมีความอ่อนแอต่อเชื้อโรคไหม้ไอโซเลท NYK56003 ที่มีแหล่งที่มาจากจังหวัดนครนายก ในขณะที่เชื้อโรคไหม้ที่มีแหล่งที่มาจากพิษณุโลกไม่สามารถเข้าทำลายได้ คือไอโซเลท Phitsanulok1.1, Phitsanulok40.4, THL84 และ THL191 หรือในข้าวพันธุ์พลายงามปราจีนบุรี เป็นข้าวที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ในจังหวัดปราจีนบุรีมีความอ่อนแอต่อเชื้อจากภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียง - เหนือจำนวนมาก และในกรณีของพันธุ์ข้าวที่มีลักษณะประจำพันธุ์อ่อนแอต่อโรคไหม้ เช่น พันธุ์เล็บนกปัตตานี ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ในจังหวัดปัตตานีมีความต้านทานต่อเชื้อโรคไหม้ที่นำมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดสอบได้ทุกไอโซเลท ซึ่งแสดงให้เห็นได้ว่าพันธุ์ข้าวแต่ละพันธุ์อาจจะมีความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคในเฉพาะพื้นที่ใดพื้นที่หนึ่ง

จากการประเมินความหลากหลายและความรุนแรงของเชื้อรา *P. grisea* ที่ทดสอบบนข้าว NILs จะเห็นได้ว่าเชื้อจำนวน 48 ไอโซเลท ที่นำมาทดสอบนี้ (ภาพที่ 4.19) พบว่าเชื้อที่มีแหล่งที่มาจากจังหวัดหรือภูมิภาคเดียวกันบางไอโซเลทนั้นไม่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกัน เช่น เชื้อที่มีแหล่งที่มาจากจังหวัดพัทลุงคือ PL1, PL2 และ PL3 เชื้อที่มีแหล่งที่มาจากจังหวัดราชบุรีคือ RBR55001, RBR55001, RBR55003 และ RBR55004 แสดงให้เห็นว่าในการทดลองนี้ความรุนแรงหรือความสามารถในการเข้าทำลายไม่ได้ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของเชื้อ พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ และคณะ (2550) ได้ตรวจสอบความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวในประเทศไทยโดยใช้พันธุ์ข้าวที่มียีนต้านทานเดี่ยว 18 สายพันธุ์ มาจำแนกสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ พบว่า ยีนต้านทานโรคไหม้ที่มีศักยภาพแสดงความต้านทานต่อเชื้อโรคไหม้ทั่วประเทศ ได้แก่ กลุ่ม *Pi 1* (*Pi 1, Pi 1(t)*^{LAC}, *Pi 1(t)*^{TTP}, *Pi 1*^{CL}) และกลุ่ม *Pi k* (*Pi k, Pi k-p, Pi k-h*) ยีนต้านทานที่ดีคือ *Pi ta*^{2}, *Pi 5* และ *Pi 9* ซึ่งมีความสอดคล้องกับการทดลองนี้คือยีนต้านทานโรคไหม้ *Pi 5*, *Pi ta*^{2} และกลุ่มยีน *Pi k* คือ *Pi k, Pi k-p, Pi k-h* สามารถต้านทานเชื้อโรคไหม้ที่นำมาทดสอบได้ดีจึงควรที่จะใช้ยีนเหล่านี้ในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานโรคไหม้ในประเทศไทยได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6
สรุปผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์ความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ จำนวน 53 ไอโซเลท โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR (MGM) จำนวน 14 เครื่องหมาย พบว่าเป็นเครื่องหมายที่มีศักยภาพดีและเหมาะสมในการใช้เพื่อศึกษาความหลากหลายของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ที่เก็บรวบรวมจากพื้นที่ปลูกข้าวในประเทศไทย และการจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ด้วยโปรแกรม NTSYSpc 2.10p จากค่าสัมประสิทธิ์ความต่างที่ 80 เปอร์เซ็นต์ สามารถจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ได้ 4 กลุ่ม พบเชื้อสาเหตุโรคไหม้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูง กลุ่มความสัมพันธ์ของพันธุกรรมเชื้อราไม่ได้ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มีการระบาดของโรคไหม้ และจากการตรวจสอบ Mating type ของเชื้อสาเหตุโรคไหม้โดยใช้ไพรเมอร์ *Mat* gene ที่เฉพาะเจาะจงต่อ mating type ของเชื้อรา *P. grisea* คือ *mat1-1* และ *mat1-2* พบว่าเชื้อราที่เป็น *mat 1-1* มีจำนวน 4 ไอโซเลท และเชื้อราที่เป็น *mat1-2* มีจำนวน 49 ไอโซเลท จะเห็นได้ว่าเชื้อราโรคไหม้ในที่เก็บรวบรวมได้นี้ส่วนใหญ่จะมียีนที่ควบคุมแบบการผสมพันธุ์เป็น *mat1-2* มากกว่า *mat1-1*

การทดสอบความรุนแรงของเชื้อโรคไหม้จำนวน 57 ไอโซเลท กับพันธุ์ข้าวทดสอบทั้งหมด 25 พันธุ์ สามารถจัดกลุ่มได้เป็น 14 pathotype ที่ความเหมือน 80 เปอร์เซ็นต์ เชื้อไอโซเลท CPM55002, THL794 และ UBN2010 94677 มีค่าดัชนีความรุนแรงสูงสุดเท่ากับ 0.44, 0.40 และ 0.36 ตามลำดับ เป็นเชื้อที่มีความรุนแรงสามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์ทดสอบได้หลายพันธุ์ และเชื้อไอโซเลทที่มีความรุนแรงในการเข้าทำลายพันธุ์ข้าวได้น้อยที่สุด คือ RBR55004 มีค่าดัชนีความรุนแรง (VI) เท่ากับ 0.04 ค่าดัชนีความต้านทานของข้าว (RI) พบว่าพันธุ์ข้าวที่สามารถต้านทานเชื้อที่ทดสอบได้มากที่สุดคือ พันธุ์เจ้าหอมนิลและเล็บนกปัตตานี มีค่าดัชนีความต้านทานสูงสุดเท่ากับ 1 พันธุ์ข้าวที่มีค่าดัชนีความต้านทานต่ำสุดคือ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีค่าดัชนีความต้านทานเท่ากับ 0.01 ผลการวิเคราะห์การจัดกลุ่มและสร้างแผนภาพความหลากหลายของเชื้อโรคไหม้ พบว่าเชื้อที่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกันมีความสามารถในการก่อโรคที่รุนแรงคล้ายกันและเป็นเชื้อที่มาจากแหล่งเดียวกัน และในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรคพบว่ามีระดับการเกิดโรคในทุกระดับ

จากการประเมินความหลากหลายของเชื้อ *P. grisea* ทั้งหมด 48 ไอโซเลท กับพันธุ์ข้าวชุด NILs จำนวน 32 พันธุ์ นำมาจัดกลุ่มความหลากหลายของเชื้อสามารถแยกได้เป็น 25 pathotype ที่ความเหมือน 80% เชื้อไอโซเลท UBN2009 11308, RBR55001, BKK55002 มีค่าดัชนีความรุนแรงสูงสุดเท่ากับ 1 แสดงให้เห็นว่าเป็นเชื้อที่มีความรุนแรงสามารถเข้าทำลายข้าวทดสอบได้ทุก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สายพันธุ์ และเชื้อไอโซเลทที่มีค่าดัชนีความรุนแรงต่ำสุดคือ Chiangrai34.1 มีค่าดัชนีความรุนแรงเท่ากับ 0.59 ค่าดัชนีความต้านทานของข้าว (RI) พบว่าพันธุ์ข้าวที่สามารถต้านทานเชื้อที่ทดสอบได้มากที่สุดคือ พันธุ์ IRBLZ-FU มีค่าดัชนีความต้านทานสูงสุดเท่ากับ 0.08 ในการทดสอบปฏิกิริยาการก่อโรคของเชื้อโรคไหม้ พบว่า ยีนต้านทานโรคไหม้ที่สามารถต้านทานต่อเชื้อโรคไหม้ที่นำมาทดสอบได้ทุกภูมิภาค คือ ยีนต้านทาน *Pi z* ซึ่งสามารถต้านทานเชื้อโรคไหม้ที่ทดสอบได้ดีที่สุด รองลงมาคือยีนต้านทาน *Pi 5(t)* และยีนต้านทาน *Pi k-p* แสดงให้เห็นว่ายีนต้านทานเหล่านี้สามารถต้านทานต่อการก่อโรคของเชื้อโรคไหม้ที่มีแหล่งที่มาจากทุกภูมิภาคของไทยได้ และยีนต้านทานที่ไม่สามารถต้านทานเชื้อโรคไหม้ที่ได้ทดสอบได้เลยคือ *Pi t*, *Pi a* และ *Pi z-5* ไอโซเลทที่คาดว่ามียีนก่อโรคมากที่สุดนั้นคือไอโซเลท UBN2008 7344 พบว่าอาจมีถึง 16 ยีน และไอโซเลทที่คาดว่ามียีนก่อโรคน้อยที่สุดคือ 1 ยีน ประกอบด้วยเชื้อไอโซเลท CCO56003, Phitsanulok40.4, THL191, RBR55001 และ SKN2007 10389 ซึ่งคาดว่ามียีนก่อโรค *Avr Pi ta*, *Avr Pi z*, *Avr Pi 19(t)*, *Avr Pi sh* และ *Avr Pi k-s*

ในการศึกษาเกี่ยวกับความหลากหลายและความรุนแรงของเชื้อโรคไหม้นี้จะเป็นประโยชน์ต่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าวและคัดเลือกพันธุ์ข้าวมาปรับปรุงพันธุ์ให้มีความต้านทานเชื้อโรคไหม้ได้ครอบคลุมทั่วทุกภาคของประเทศไทยได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กรมการข้าว. 2555. **สถานการณ์การผลิตและการตลาดข้าวของโลก ปีการผลิต 2555/2556 (ณ เดือนธันวาคม 2555)**. [Online]. Available : http://www.ricethailand.go.th/home/images/rice_situation/Dec12.pdf. สืบค้นเมื่อ กุมภาพันธ์ 2558

กรมการค้าต่างประเทศ. 2557. **สถานการณ์ข้าวโลกและไทยปี 2556 และแนวโน้ม ปี 2557**. [Online]. Available : http://www.dft.go.th/Default.aspx?tabid=159&ctl=DetailUserContent&mid=660&contentID=4646&modID=660. สืบค้นเมื่อ กุมภาพันธ์ 2558

กฤษฎา สัมพันธารักษ์. 2551. **ปรับปรุงพันธุ์พืช :พื้นฐานวิธีการและแนวคิด**. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 465 หน้า.

ชวาลา บุรณศิริ. 2531. **โรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา**. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพมหานคร. 199 หน้า.

ดำเนิน กะละดี. 2541. **เทคโนโลยีการปรับปรุงพันธุ์พืช**. เชียงใหม่ : โรงพิมพ์มิ่งเมือง. 255 หน้า

ธนาคารแห่งประเทศไทย. 2556. **สถานการณ์สินค้าเกษตรสำคัญของไทยปี 2556 และแนวโน้มปี 2557**. [Online]. Available :https://www.bot.or.th/Thai/MonetaryPolicy/NorthEastern/Doclib_DommodityYearly/Agricul%20Yearly%202556.pdf. สืบค้นเมื่อ กุมภาพันธ์ 2558

นงลักษณ์ เภรินทวงค์. 2556. กลไกการต้านทานโรคของพืช. **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า** 31(3):78-84.

นวรัตน์ ใจหอม สุภาภรณ์ เอี่ยมเข่ง และนงลักษณ์ เภรินทวงค์. 2557. การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราโรคไหม้ข้าว (*Pyricularia grisea*) ที่เก็บรวบรวมในประเทศไทยโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR. **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า** 32(3):52-60.

ปิยะดา ตันตสวัสดิ์. 2554. **การปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ต้านทานศัตรูพืช**. นครราชสีมา : โคราชมาร์เก็ตติ้งแอนด์โปรดักส์ชั่น.

พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์. 2548. **โรคไหม้ข้าว : ความหลากหลายและแนวทางการพัฒนาข้าวต้านทานโรคไหม้**. กลุ่มวิจัยศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4.

พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ พะยอม โคเบลลี่ อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ ถนอมจิตร์ ฤทธิ์มนตรี กุลชนา เกศสุวรรณ ชนสิริน กลิ่นมณี และสงวน เที่ยงดีฤทธิ์. 2550. การตรวจสอบความหลากหลายของสายพันธุ์เชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวในประเทศไทย. **วารสารวิชาการข้าว** 1(1):52-64.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ วราพงษ์ ชมาฤกษ์ จิรพงศ์ ใจรินทร์ อุไรวรรณ คชสถิต อนุชาติ คชสถิตย์ บุญรัตน์ จงดี สมใจ สาลีโท วีระศักดิ์ หอมสมบัติ อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ และพันนิภา ยาใจ. 2554. ความหลากหลายของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้กับการพัฒนาข้าวต้านทานโรคไหม้ *ใน* **การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ครั้งที่ 2**. สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ : 249-266.

เพ็ญนภา ตันเซียน ธานี ศรีวงศ์ชัย และนงลักษณ์ เภรินทวงค์. 2557. วิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ในประเทศไทยโดยใช้เครื่องหมายไมโครแซทเทลไลท์ *ใน* **เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 52: สาขาพืช**. กรุงเทพฯ : 400-406.

สุรินทร์ ปิยะโชคณากุล. 2552. **เครื่องหมายดีเอ็นเอ :จากพื้นฐานสู่การประยุกต์**. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 269 หน้า

สุรีพร เกตุงาม. 2546. เครื่องหมายดีเอ็นเอในงานปรับปรุงพันธุ์พืช. **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี** 5(2): 37- 39.

เสาวลักษณ์ อัคราช ประภา ศรีพิจิตต์ และธานี ศรีวงศ์ชัย. 2554. การวิเคราะห์จัดกลุ่มความต้านทานเชื้อโรคไหม้ของข้าวพันธุ์ปรับปรุงด้วยเชื้อที่เก็บรวบรวมใหม่ *ใน* **เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ครั้งที่ 49: สาขาพืช**. กรุงเทพฯ : 581-588.

ศรีสวัสดิ์ ขันทอง ชัชวาล จันทราสุริยารัตน์ และสุรีพร เกตุงาม. 2553. โรคไหม้และการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้โดยใช้เครื่องหมายโมเลกุลช่วยในการคัดเลือก. **Thai Journal of Genetics** 3(2):106-119.

อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ และพูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์. 2552. ความหลากหลายของ pathotype ของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ข้าวในปี 2550/51 และยีนต้านทานกว้างขวางที่เป็นประโยชน์ในภาคเหนือตอนล่าง. **การประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ประจำปี 2552**. ชลบุรี: ณ โรงแรม ซีบรีซจอมเทียนรีสอร์ทพัทยา. 208-219.

Agrios, G.N. 1997. **Plant Pathology**. Sam Diego : Academic Press. 635 p.

Benbouza, H., J.M. Jacquemin, J.P. Baudoin, and G. Mergeai. 2006. Optimization of a reliable, fast, cheap and sensitive silver staining method to detect SSR markers in polyacrylamide gels. **Biotechnology, Agronomy, Society and Environment** 10(2):77-81.

Botstein, D., R.L. White, M. Skolnick, and R.W. Davis. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. **The American Journal Human Genetics** 32: 314–331.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chen, H.L., B.T. Chen, D.P. Zhang, Y.F. Xie and Q. Zhang. 2001. Pathotypes of *Pyricularia grisea* in rice fields of central and southern China. **Plant Disease** 85:843-850.

Chen, Q.H., Y.C. Wang, A.N. Li, Z.G. Zhang and X.B. Zheng. 2007. Molecular mapping of two cultivar-specific avirulence gen es in the rice blast fungus *Magnaporthe grisea*. **Molecular Genetics and Genomics** 277:139–148.

Consolo, V.F., C.A. Cordo and G.L. Salerno. 2005. Mating-type distribution and fertility status in *Magnaporthe grisea* populations from Argentina. **Mycopathologia** 160:285–290.

Consolo, V.F., C.A. Cordo and G.L. Salerno. 2008. DNA fingerprint and pathotype diversity of *Pyricularia oryzae* populations from Argentina. **Australasian Plant Pathology** 37:357-364.

Dean, R.A., N.J. Talbot, D.J. Ebbole, M.L. Farman, T.K. Mitchell, M.J. Orbach, M. Thon, R. Kulkarni, J.R. Xu, H. Pan, N.D. Read, Y.H. Lee, I. Carbone, D. Brown, Y.Y. Oh, N. Donofrio, J.S. Jeong, D.M. Soanes, S. Djonovic, E. Kolomiets, C. Rehmeyer, W. Li, M. Harding, S. Kim, M.H. Lebrun, H. Bohnert, S. Coughlan, J. Butler, S. Calvo, L.J. Ma, R. Nicol, S. Purcell, C. Nusbaum, J.E. Galagan and B.W. Birren. 2005. The genome sequence of the rice blast fungus *Magnaporthe grisea.* **Nature** 434:980-986.

Disthaporn, S. 1994. Current rice blast epidemics and their management in Thailand. pp. 333-442. *In*: Zeigler R.S., S.A. Leong and P.S. Teng (eds) **Rice Blast Disease**. U.K.: CAB Internationnal.

Flor, H.H. 1971. Current Status of the Gene-for-Gene Concept. **Annual Review of Phytopathology**. 9:275-296.

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

Hammond-Kosack, K.E. and J.D.G. Jonas. 1997. Plant disease resistance genes. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology** 48:575-607.

Kankanala, P., G. Mosquera, C.H. Khang, G.V. Ponce and B. Valent. 2009. Cellular and molecular analyses of biotrophic invasion in rice blast disease. pp. 83-91. *In*: Wang G.L. and B. Valent (eds) **Advances in Genetics, Genomics and Control of Rice Blast**. Springer Science & Business Media.

Luo, C.X., L.F. Yin, S. Koyanagi, M.L. Farman, M. Kusaba, and H. Yaegashi. 2005. Genetic Mapping and Chromosomal Assignment of *Magnaporthe oryzae* Avirulence Genes

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

AvrPik, AvrPiz, and *AvrPiz-t* Controlling Cultivar Specificity on Rice. **Phytopathology** 95:640-647.

Ma, J. H., L. Wang, S.J. Feng, F.Lin, Y. Xiao and Q.H. Pan. 2006. Identification and fine mapping of *AvrPi15*, a novel avirulence gene of *Magnaporthe grisea*. **Theoretical and Applied Genetics** 113:875-883.

Mackill, D.J. and J.M. Bonman. 1992. Inheritance of blast resistance in near-isogenic lines of rice. **Phytopathology** 82:746-749.

Madhavan, S., S. Malathi, R. Rabindran, V. Paranidharan and R. Velazhahan. 2014. Genetic diversity of *Magnaporthe grisea* isolates from Rice, Finger millet, Buffel grass and Para grass in Tamil Nadu, India. **Annals of Plant Protection Sciences** 22(1):142-147.

Mc Cartney, H.A., B.D.L. Fitt and J.S. West. 2006. Dispersal of foliar plant pathogens: mechanisms, gradients and spatial patterns. In: B.M. Cooke, D. Gareth Jones and B. Kaye (eds) **The epidemiology of plant diseases**. Springer, Netherlands. pp. 159-186.

Matsumoto, C., K. Kageyama, H. Suga and M. Hyakumachi. 1999. Phylogenetic relationships of *Pythium* species based on ITS and 5.85 sequences of the ribosomal DNA. **Mycoscience** 40(4):321-331.

Mekwatanakarn, P., W. Kositratana, T. Phromraksa and R.S. Zeigler. 1999. Sexually fertile *Magnaporthe grisea* rice pathogens in Thailand. **Plant Disease** 83:939-943.

Mekwatanakarn, P., W. Kositratana, M. Levy and R.S. Zeigler. 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.

Motlagh, M.R.S., Hbibi, F. and A.A. Ebadi. 2015. Genetic diversity of *Pyricularia grisea*, the causal agent of rice blast by SRR. **Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus** 14(1):15–28.

Orbach, M. J., L. Farrall, J. A. Sweigard, F. G. Chumley, and B. Valent. 2000. A Telomeric Avirulence Gene Determines Efficacy for the Rice Blast Resistance Gene *Pi-ta*. **The Plant Cell** 12:2019–2032.

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rouxel, T., and M.H. Balesdent. 2010. Avirulence Genes. *In* : **Encyclopedia of Life Sciences (ELS)**. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester.

Samanta S., U. Dhua, S. Nayak, L. Behera and A.K. Mukherjee. 2014. Mating Types Analysis of *Magnaporthe oryzae* Populations by Molecular Methods. **The Open Biotechnology Journal** 8:6-12.

Sirithunya, P., T. Sreewongchai, S. Sriprakhon, T. Toojinda, S. Pimpisithavorn, C. Kosawang and P. Smitamana. 2008. Assessment of genetic diversity in Thai isolates of *Pyricularia grisea* by random amplification of polymorphic DNA. **Journal of Phytopathology** 156:196-204.

Sreewongchai, T., S. Sriprakhon, C. Wongsaprom, A. Vanavichit, T. Toojinda, D. Tharreau and P. Sirithunya. 2009. Genetic Mapping of *Magnaporthe grisea* Avirulence Gene Corresponding to Leaf and Panicle Blast Resistant QTLs in Jao Hom Nin Rice Cultivar. **Journal of Phytopathology** 157:338–343.

Takan, J.P., J. Chipili, S. Muthumeenakshi, N.J. Talbot, E.O. Manyasa, R. Bandyopadhyay, Y. Sere, S.K. Nutsugah, P. Talhinhas, M. Hossain, A.E. Brown and S. Sreenivasaprasad. 2011. *Magnaporthe oryzae* populations adapted to finger millet and rice exhibit distinctive patterns of genetic diversity, sexuality and host interaction. **Molecular Biotechnology** 50(2):145-158.

Uddin, W., G. Viji and P. Vincelli. 2003. Gray leaf spot of perennial ryegrass turf : An emerging problem for the turfgrass industry. **USGA Turfgrass and Environmental Research Online** 2(11):1-18.

Yan, J., L. Zhang, W. Zhao, G. Zhang and Y. Peng. 2012. Genetic and physical mapping of the avirulence gene *Avr-Pik*^{m} in *Magnaporthe oryzae*. **Annals of Microbiology** 63(3):997-1004.

Yan, Z., G. Zhang, F. Lin, Z. Wang, G. Jin, L. Yang, Y. Wang, X. Chen, Z. Xu, X. Zhao, H. Wanga, J. Lu, G. Lu and W. Wua. 2008. Development of microsatellite markers and construction of genetic map in rice blast pathogen *Magnaporthe grisea.* **Fungal Genetics and Biology** 45:1340–1347.

Yasuda, N., M. T. Noguchib and Y. Fujitac.2006. Partial mapping of avirulence genes *AVR-Pii* and *AVR-Pia* in the rice blast fungus *Magnaporthe oryzae*. **Canadian Journal of Plant Pathology** 28(3):494-498.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Zeigler, R.S. 1998. Recombination in *Magnaporthe grisea*. **Annual Review of Phytopathology** 36:249–75.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อและการเตรียมสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 Rice Flour Agar (RFA)

Rice flour	20	กรัม
Yeast extract	2	กรัม
Agar powder	20	กรัม
Water	1,000	มิลลิลิตร

นำส่วนประกอบผสมรวมกัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.2 Oat Meal Agar (OMA)

Oat meal	15	กรัม
Agar powder	20	กรัม
Water	1,000	มิลลิลิตร

นำส่วนประกอบผสมรวมกัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.3 Water Agar (WA)

Agar powder	20	กรัม
Water	1,000	มิลลิลิตร

นำส่วนประกอบผสมรวมกัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 Potato Dextrose Broth (PDB)

Potato	200	กรัม
Dextrose	20	กรัม
Water	1,000	มิลลิลิตร

นำส่วนประกอบผสมรวมกัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. การเตรียมสารละลาย

2.1 Lysis buffer

50 mM	Tris-HCI (pH 7.5)
50 mM	EDTA
3 %	SDS
1%	β-merceptoethanol

เตรียมสารละลายแยกกัน Tris-HCI (pH 7.5) และ EDTA นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นผสมสารละลายให้เข้ากัน ปรับปริมาตรให้ได้ 20 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เติม β-merceptoethanol ก่อนใช้งาน

2.2 phenol:chloroform:isoamyl alcohol (25: 24: 1)

Phenol	25	มิลลิลิตร
Chloroform	24	มิลลิลิตร
Isoamyl alcohol	1	มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผสมสารละลายให้เข้ากัน เทใส่ขวดที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เก็บที่ 4 องศาเซลเซียส

2.3 1X TE buffer

10 mM Tris-HCI (pH 8)	1,000	ไมโครลิตร
1 mM EDTA	100	ไมโครลิตร

ผสมสารละลายให้เข้ากัน ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2.4 6% acrylamide gel

Acrylamide solution 40%	120	มิลลิลิตร
Urea	336.56	กรัม
10X TBE	80	มิลลิลิตร

ผสมสารละลาย 10X TBE กับ Urea เมื่อละลายเข้าด้วยกันแล้วเติม Acrylamide solution 40% ปรับปริมาตรให้ได้ 800 มิลลิลิตร กรองด้วยกระดาษกรองใส่ขวดที่ห่อด้วย foil

2.5 Glass Bond

Glass Bond	2	มิลลิลิตร
Water (pH 3.5)	500	มิลลิลิตร

เตรียมน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 500 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 3.5 ด้วย glacial acetic acid ประมาณ 50 ไมโครลิตร เติม Glass Bond ผสมให้เข้ากัน

2.6 10X TBE buffer

Tris-HCI	109.026	กรัม
Boric acid	55.647	กรัม
EDTA	2.923	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผสมสารละลายให้เข้ากัน ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2.7 sequencing dye

Formamide	49	มิลลิลิตร
0.1% bromphenol blue	12.5	มิลลิลิตร
Xylene cyanol	0.0125	กรัม
EDTA	1	มิลลิลิตร

ผสมสารละลายให้เข้ากัน ปรับปริมาตรให้ได้ 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ข้อมูลตัวเลขที่ได้จากการแปลงรูปแบบดีเอ็นเอเพื่อนำมาวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมและจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของเชื้อโดยใช้โปรแกรม NTSYSpc 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 1 ข้อมูลรูปแบบดีเอ็นเอในการวิเคราะห์ความหลากหลายทางพันธุกรรมและจัดกลุ่มความสัมพันธ์ของเชื้อโดยใช้โปรแกรม NTSYSpc 2.10

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	UBN2010 11351	UBN2010 94677	UBN2009 128351	UBN2009 11308	UBN2009 207129	UBN2009 207128	UBN2010 7384	UBN2010 61086	UBN2010 61112	UBN2010 195171	UBN2010 13515	UBN2010 195167	UBN2010 94678	UBN2010 13512	UBN2008 7344	SKN2008 60867	SKN2007 10389	KKN2009 11321	KKN2009 61067	KKN2010 61119	NKI2010 47181	NKI2007 211170	BKK55001	CCO56001	SRN54002	SRN54005	SRN54006	SRN54007	SRN54009	CPM55001
MGM447	0	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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	4	4	4	0	4	4	0	4	0	4	0	4	4	0	0	0	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	6	6	6	0	0	6	0	6	0	6	0	6	6	6	0	0	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	10	10	10	10	10	10	0	10	0	10	0	10	10	0	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	0	0	0	0	0	0	0	11	0	11	0	11	0	0	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	12	0	0	0	0	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 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย /เชื้อโรคไหม้	CPM55002	CPM55003	PL3	PL1	PL2	THL794	THL84	THL191	NYK55001	NYK56003	Chiangrai34.1	Phitsanulok40.4	KKN2008 7357	Phitsanulok1.1	BKK55002	BKK55003	RBR55001	RBR55002	RBR55003	RBR55004	CCO55002	CC056003	CC056004
MGM447	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	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	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	4	0	0	0	4	4	4	4	4	4	0	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	6	0	0	0	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	8	8	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	9	9	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	10	0	0	0	10	10	10	10	10	10	0	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	12	12	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	UBN2010 11351	CPM55002	UBN2010 94677	UBN2009 128351	UBN2009 11308	UBN2009 207129	UBN2009 207128	UBN2010 7384	UBN2010 61086	UBN2010 61112	UBN2010 195171	UBN2010 13515	UBN2010 195167	UBN2010 94678	UBN2010 13512	UBN2008 7344	SKN2008 60867	SKN2007 10389	KKN2009 11321	KKN2009 61067	KKN2010 61119	NKI2010 47181	NKI2007 211170	SRN54002	SRN54005	SRN54006	SRN54007	SRN54009	CPM55001
MGM192	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	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	5	0	5	5	5	0	0	0	0	0	5	0	5	0
	0	0	0	0	0	6	0	0	6	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	6	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	8	0	8	8	8	0	0	8	0	0	0	0	0	8	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	RBR55002	RBR55003	RBR55004	CCO55002	CC056003	CC056004	KKN2008 7357	Phitsanulok1.1	CCO56001	CPM55003	PL1	PL2	THL794	THL84	THL191	NYK55001	NYK56003	Chiangrai34.1	Phitsanulok40.4	BKK55001	BKK55002	BKK55003	RBR55001
MGM192	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	0	-999	-999	0	0
	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	-999	0	-999	-999	0	0
	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	0	-999	-999	0	0
	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	4	0	-999	0	-999	-999	0	0
	0	0	5	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	-999	0	-999	-999	5	0
	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	6	6	0	0	0	0	0	-999	6	-999	-999	0	0
	7	0	0	0	7	7	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	7	-999	0	-999	-999	0	7
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	-999	0	-999	-999	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	0	-999	-999	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	0	-999	-999	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	0	-999	-999	0	0

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	UBN2010 11351	UBN2010 94677	UBN2009 128351	UBN2009 11308	UBN2009 207129	UBN2009 207128	UBN2010 7384	UBN2010 61086	UBN2010 61112	UBN2010 195171	UBN2010 13515	UBN2010 195167	UBN2010 94678	UBN2010 13512	UBN2008 7344	SKN2008 60867	SKN2007 10389	KKN2009 11321	KKN2009 61067	KKN2010 61119	NKI2010 47181	NKI2007 211170	SRN54005	SRN54006	SRN54007	SRN54009	CPM55001	CPM55002	CPM55003	PL1
MGM237	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	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	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	6	6	6	0	0	6	0	0	0	0	0	6	0	6	0	6	6	0	6	6	6	6	6	6	0	6	6	6	6
	0	0	0	0	0	0	0	7	7	0	7	0	0	7	7	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	8	0	8	0	8	8	0	8	8	8	0	8	8	8	8
	0	0	0	0	9	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	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 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	CCO55002	CC056003	CC056004	KKN2008 7357	Phitsamulok1.1	CCO56001	PI3	SRN54002	PL2	THL794	THL84	THL191	NYK55001	NYK56003	Chiangrai34.1	Phitsamulok40.4	BKK55001	BKK55002	BKK55003	RBR55001	RBR55002	RBR55003	RBR55004
MGM237	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	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	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	3	3	0	0
	0	4	4	4	0	4	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	4	0
	5	0	0	0	5	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	5	5	0	0
	0	0	0	6	0	0	0	6	6	6	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6
	0	0	0	0	7	0	7	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	8	8	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	UBN2010 11351	UBN2010 94677	UBN2009 128351	UBN2009 11308	UBN2009 207129	UBN2009 207128	UBN2010 7384	UBN2010 61086	UBN2010 61112	UBN2010 195171	UBN2010 13515	UBN2010 195167	UBN2010 94678	UBN2010 13512	UBN2008 7344	SKN20008 60867	SKN20007 10389	KKN2009 11321	KKN2009 61067	KKN2010 61119	NKI2010 47181	NKI2007 211170	SRN54002	SRN54005	SRN54006	SRN54007
MGM453	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	-999	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	-999	-999	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	-999	3	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	-999	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	-999	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	-999	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	0
	0	0	0	0	0	0	0	7	7	0	-999	-999	0	7	0	0	0	7	7	7	0	0	7	7	-999	7
	0	8	8	8	8	8	8	0	0	0	-999	-999	0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	0	0	-999	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	-999	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	-999	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	0
	0	0	0	0	0	0	0	11	11	0	-999	-999	0	11	0	0	0	11	11	11	0	0	11	11	-999	11
	12	12	12	12	12	12	12	0	0	0	-999	-999	0	0	0	12	12	0	0	0	12	0	0	0	-999	0
	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	-999	-999	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	0
	0	14	0	14	0	0	14	14	0	0	-999	-999	0	14	0	0	0	0	0	14	0	0	14	14	-999	14

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	SRN54009	CPM55001	CPM55002	CPM55003	PL1	PL2	THL794	THL84	THL191	NYK55001	NYK56003	Chiangrai34.1	Phitsanulok40.4	BKK55001	BKK55002	BKK55003	RBR55001	RBR55002	RBR55003	RBR55004	CCO55002	CC056003	CC056004	KKN2008 7357	Phitsanulok1.1	CCO56001	PL3
MGM453	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	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	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	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	8	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	8	0	0	0	8	8	8
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	10	0	0	10	0	0	0	0
	0	11	11	11	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	12	12	12	12	12	12	12	0	0	12	12	12	12	0	12	0	12	12	0	12	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	14	0	0	0	0	0	0	0	0	14	14	14

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	UBN2010 11351	UBN2010 94677	UBN2009 128351	UBN2009 11308	UBN2009 207129	UBN2009 207128	UBN2010 7384	UBN2010 61086	UBN2010 61112	UBN2010 195171	UBN2010 13515	UBN2010 195167	UBN2010 94678	UBN2010 13512	UBN2008 7344	SKN2008 60867	SKN2007 10389	KKN2009 11321	KKN2009 61067	KKN2010 61119	NKI2010 47181	NKI2007 211170	SRN54002	SRN54005	SRN54006	SRN54007
MGM209	0	0	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	2	2	2	0	0	2	2	2	0	2	2	0	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	0	0	0	0	3	3	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	0	0	4	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	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	SRN54009	CPM55001	CPM55002	CPM55003	PL1	PL2	THL794	THL84	THL191	NYK55001	NYK56003	Chiangrai34.1	Phitsanulok40.4	BKK55001	BKK55002	BKK55003	RBR55001	RBR55002	RBR55003	RBR55004	CCO55002	CC056003	CC056004	KKN2008.7357	Phitsanulok1.1	CCO56001	PL3
MGM209	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
	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	0	2	2	2	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	UBN2010 11351	UBN2010 94677	UBN2009 128351	UBN2009 11308	UBN2009 207129	UBN2009 207128	UBN2010 7384	UBN2010 61086	UBN2010 61112	UBN2010 195171	UBN2010 13515	UBN2010 195167	UBN2010 94678	UBN2010 13512	UBN2008 7344	SKN2008 60867	SKN2007 10389	KKN2009 11321	KKN2009 61067	KKN2010 61119	NKI2010 47181	NKI2007 211170	SRN54002	SRN54005	SRN54006	SRN54007	SRN54009
MGM110	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	2	2	2	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2
	0	0	0	0	0	0	3	0	3	0	3	0	0	3	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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	CPM55001	CPM55002	CPM55003	PL1	PL2	THL794	THL84	THL191	NYK55001	NYK56003	Chiangrai34.1	Phitsanulok40.4	BKK55001	BKK55002	BKK55003	RBR55001	RBR55002	RBR55003	RBR55004	CCO55002	CC056003	CC056004	KKN2008 7357	Phitsanulok1.1	CCO56001	PL3
MGM110	0	0	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
	2	2	2	0	2	2	0	0	0	2	0	0	2	2	2	2	0	2	0	0	2	2	0	0	2	2
	0	0	0	0	0	0	3	3	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	3	3	0	0
	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	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	UBN2010 11351	UBN2010 94677	UBN2009 128351	UBN2009 11308	UBN2009 207129	UBN2009 207128	UBN2010 7384	UBN2010 61086	UBN2010 61112	UBN2010 195171	UBN2010 13515	UBN2010 195167	UBN2010 94678	UBN2010 13512	UBN2008 7344	SKN2008 60867	SKN2007 10389	KKN2009 11321	KKN2009 61067	KKN2010 61119	NKI2010 47181	NKI2007 211170	SRN54002	SRN54005	SRN54006	SRN54007
MGM35	0	0	0	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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	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	3	0
	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	4	4	0	4	0	0	4	4	4	4	0	4	4	4	0	4
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	6	6	6	6	6	6	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	SRN54009	CPM55001	CPM55002	CPM55003	PL1	PL2	THL794	THL84	THL191	NYK55001	NYK56003	Chiangrai34.1	Phitsanulok40.4	BKK55001	BKK55002	BKK55003	RBR55001	RBR55002	RBR55003	RBR55004	CCO55002	CC056003	CC056004	KKN2008.7357	Phitsanulok1.1	CCO56001	PL3
MGM35	0	0	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	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	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	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	4	4	4	0	0	4	0	0	0	4	4	0	0	0	0	0	4	4	0	0	0	0	0	4	0	0
	0	0	0	0	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	5	0	5	5
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	7	7	7	7	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	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 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	UBN2010 11351	UBN2010 94677	UBN2009 128351	UBN2009 11308	UBN2009 207129	UBN2009 207128	UBN2010 7384	UBN2010 61086	UBN2010 61112	UBN2010 195171	UBN2010 13515	UBN2010 195167	UBN2010 94678	UBN2010 13512	UBN2008 7344	SKN2008 60867	SKN2007 10389	KKN2009 11321	KKN2009 61067	KKN2010 61119	NKI2010 47181	NKI2007 211170	SRN54002	SRN54005	SRN54006	SRN54007
MGM414	0	0	0	0	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	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0
	4	4	4	4	0	4	4	0	0	0	0	4	0	0	0	4	4	4	4	0	4	4	4	4	4	4
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	SRN54009	CPM55001	CPM55002	CPM55003	PL1	PL2	THL794	THL84	THL191	NYK55001	NYK56003	Chiangrai34.1	Phitsanulok40.4	BKK55001	BKK55002	BKK55003	RBR55001	RBR55002	RBR55003	RBR55004	CCO55002	CC056003	CC056004	KKN2008.7357	Phitsanulok1.1	CCO56001	PL3
MGM414	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	0	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	2	0	0
	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	0
	4	4	0	0	0	0	0	4	0	0	0	4	4	0	0	4	0	4	0	4	4	4	4	0	0	4	4
	0	0	0	0	5	5	0	0	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	6	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	UBN2010 11351	UBN2010 94677	UBN2009 128351	UBN2009 11308	UBN2009 207129	UBN2009 207128	UBN2010 7384	UBN2010 61086	UBN2010 61112	UBN2010 195171	UBN2010 13515	UBN2010 195167	UBN2010 94678	UBN2010 13512	UBN2008 7344	SKN2008 60867	SKN2007 10389	KKN2009 11321	KKN2009 61067	KKN2010 61119	NKI2010 47181	NKI2007 211170	SRN54002	SRN54005	SRN54006	SRN54007
MGM400	0	0	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	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	SRN54009	CPM55001	CPM55002	CPM55003	PL1	PL2	THL794	THL84	THL191	NYK55001	NYK56003	Chiangrai34.1	Phitsanulok40.4	BKK55001	BKK55002	BKK55003	RBR55001	RBR55002	RBR55003	RBR55004	CCO55002	CC056003	CC056004	KKN2008 7357	Phitsanulok1.1	CCO56001	PL3
MGM400	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	2	2	2	2	2	0	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2	0	2	2	2	2	2	2	2	2
	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	0
	4	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	5	5	5	5	5	0	5	0	5	5	5	5	5	5	5	5	5	0	5	5	5	5	5	5	5	5

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	UBN2010 11351	UBN2010 94677	UBN2009 128351	UBN2009 11308	UBN2009 207129	UBN2009 207128	UBN2010 7384	UBN2010 61086	UBN2010 61112	UBN2010 195171	UBN2010 13515	UBN2010 195167	UBN2010 94678	UBN2010 13512	UBN2008 7344	SKN2008 60867	SKN2007 10389	KKN2009 11321	KKN2009 61067	KKN2010 61119	NKI2010 47181	NKI2007 211170	SRN54002	SRN54005	SRN54006	SRN54007	SRN54009
MGM282	0	0	0	0	-999	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	2	0	0	-999	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	-999	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0
	4	4	4	4	-999	4	4	4	4	0	4	4	0	4	0	4	4	4	4	4	0	4	4	4	4	4	4
	0	0	0	0	-999	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	-999	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	CPM55001	CPM55002	CPM55003	PL1	PL2	THL794	THL84	THL191	NYK55001	NYK56003	Chiangrai34.1	Phitsanulok40.4	BKK55001	BKK55002	BKK55003	RBR55001	RBR55002	RBR55003	RBR55004	CCO55002	CC056003	CC056004	KKN2008 7357	Phitsanulok1.1	CCO56001	PL3
MGM282	0	-999	0	0	0	0	-999	0	0	0	0	-999	-999	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	-999	0	0	0	0	-999	0	0	0	2	-999	-999	2	2	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0
	0	-999	3	3	3	3	-999	3	3	3	0	-999	-999	0	0	0	3	3	0	3	3	3	3	3	3	3
	4	-999	0	0	0	0	-999	0	0	0	0	-999	-999	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	-999	0	0	0	0	-999	0	0	0	5	-999	-999	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	-999	0	0	0	6	-999	0	0	0	0	-999	-999	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	UBN2010 11351	UBN2010 94677	UBN2009 128351	UBN2009 11308	UBN2009 207129	UBN2009 207128	UBN2010 7384	UBN2010 61086	UBN2010 61112	UBN2010 195171	UBN2010 13515	UBN2010 195167	UBN2010 94678	UBN2010 13512	UBN2008 7344	SKN2008 60867	SKN2007 10389	KKN2009 11321	KKN2009 61067	KKN2010 61119	NKI2010 47181	NKI2007 211170	SRN54002	SRN54005	SRN54006	SRN54007	SRN54009
MGM185	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	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	2	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	4	4	4	4	4	4	4	4	0	4	4	0	4	0	4	0	4	4	4	0	4	4	4	4	4

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	CPM55001	CPM55002	CPM55003	PL1	PL2	THL794	THL84	THL191	NYK55001	NYK56003	Chiangrai34.1	Phitsanulok40.4	BKK55001	BKK55002	BKK55003	RBR55001	RBR55002	RBR55003	RBR55004	CCO55002	CCO56003	CCO56004	KKN2008 7357	Phitsanulok1.1	CCO56001	PL3
MGM185	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	-999	1	0	0	0	0	0	-999	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	-999	0	0	0	0	0	0	-999	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	-999	-999	0	0	0	0	0	0	-999	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	4	4	4	4	4	4	4	4	-999	-999	0	4	4	4	4	4	-999	4	4	4	4	4	4	4	4	4

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	UBN2010 11351	UBN2010 94677	UBN2009 128351	UBN2009 11308	UBN2009 207129	UBN2009 207128	UBN2010 7384	UBN2010 61086	UBN2010 61112	UBN2010 195171	UBN2010 13515	UBN2010 195167	UBN2010 94678	UBN2010 13512	UBN2008 7344	SKN2008 60867	SKN2007 10389	KKN2009 11321	KKN2009 61067	KKN2010 61119	NKI2010 47181	NKI2007 211170	SRN54002	SRN54005	SRN54006	SRN54007	SRN54009
MGM249	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	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	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	3	0	0	0	0	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	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	0	0	0	0	0	0
	10	10	10	10	10	10	10	10	10	0	10	10	0	10	0	10	10	10	10	10	0	10	10	10	10	10	10
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0
	14	14	14	14	14	14	14	14	14	0	14	14	0	14	0	14	14	14	14	14	0	14	14	14	14	14	14

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	CPM55001	CPM55002	CPM55003	PL1	PL2	THL794	THL84	THL191	NYK55001	NYK56003	Chiangrai34.1	Phitsanulok40.4	BKK55001	BKK55002	BKK55003	RBR55001	RBR55002	RBR55003	RBR55004	CCO55002	CC056003	CC056004	KKN2008 7357	Phitsanulok1.1	CCO56001	PL3
MGM249	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	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	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	7	7	7	7	0	0	7	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	8	8	8	8	8	0	0	8	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	0	0	0	0	0	0	10	10	0	10	10	10	10	10	10
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	12	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	13	13	13	13	0	0	13	0	0	0	0	0	0
	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	14	0	0	0	0	0	0	14	14	0	14	14	14	14	14	14

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	UBN2010 11351	UBN2010 94677	UBN2009 128351	UBN2009 11308	UBN2009 207129	UBN2009 207128	UBN2010 7384	UBN2010 61086	UBN2010 61112	UBN2010 195171	UBN2010 13515	UBN2010 195167	UBN2010 94678	UBN2010 13512	UBN2008 7344	SKN2008 60867	SKN2007 10389	KKN2009 11321	KKN2009 61067	KKN2010 61119	NKI2010 47181	NKI2007 211170	SRN54002	SRN54005	SRN54006	SRN54007	SRN54009
MGM436																											
	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	2	2	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	2	2	2	2	2	2	2	2	2
	0	0	0	0	0	0	0	3	0	3	0	0	0	0	0	0	0	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	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	5	5	5	5	5	5	5	0	5	0	5	5	0	5	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	6	0	6	0	0	6	0	0	0	0	0	6	6	6	6	6	6	6	6	6
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	8	8	8	8	8	8	8	0	8	0	8	8	0	8	0	0	0	8	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	9	0	9	0	0	9	0	0	0	9	0	9	9	9	9	9	9	9	9	9
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	11	11	11	11	11	11	11	0	11	0	11	11	0	11	0	11	0	11	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	0	0	0	12	0	12	0	0	12	0	0	0	12	0	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

เครื่องหมาย / เชื้อโรคไหม้	CPM55001	CPM55002	CPM55003	PL1	PL2	THL794	THL84	THL191	NYK55001	NYK56003	Chiangrai34.1	Phitsanulok40.4	BKK55001	BKK55002	BKK55003	RBR55001	RBR55002	RBR55003	RBR55004	CCO55002	CC056003	CC056004	KKN2008 7357	Phitsanulok1.1	CCO56001	PL3
MGM436	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0
	2	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2	0	0	0	0	0	0	2	2	2	2
	0	0	0	0	0	3	0	0	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	0	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	5	0	5	5	5	5	5	0	0	0	0	0	5	0	5	5	5	5	0	0	0	0
	6	6	6	6	0	6	0	0	0	0	0	0	6	6	6	6	0	0	0	0	0	0	6	6	6	6
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	8	0	8	8	0	8	8	0	0	0	0	0	8	0	8	8	8	8	0	0	0	0
	9	9	9	9	0	9	0	0	9	0	0	0	9	9	9	9	0	9	0	0	0	0	9	9	9	9
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	0	0	0	0	11	0	11	11	0	11	11	0	0	0	0	0	11	0	11	11	11	11	0	0	0	0
	12	12	12	12	0	12	0	0	12	0	0	0	12	12	12	12	0	12	0	0	0	0	12	12	12	12
	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ข้อมูลปฏิกิริยาการก่อโรคของเชื้อโรคไม้บนข้าวพันธุ์แนะนำและข้าว NILs ในการวิเคราะห์การจัดกลุ่มเชื้อโรคไหม้โดยใช้โปรแกรม NTSYSpc 2.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2 ข้อมูลปฏิกิริยาการก่อโรคของเชื้อโรคไหม้บนข้าวพันธุ์แนะนำในการวิเคราะห์การจัดกลุ่มเชื้อโรคไหม้โดยใช้โปรแกรม NTSYSpc 2.10

พันธุ์ข้าว / เชื้อโรคไหม้	CPM55001	CPM55002	CPM55003	THL794	THL191	SRN54003	SRN54004	RBR55003	KKN2009 11321	NYK55002	SRN54005
หอมนิล	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
กข43	-999	-999	-999	-999	-999	-999	-999	0	0	0	0
สุพรรณบุรี 90	1	1	1	0	-999	-999	-999	0	0	0	0
กข41	0	0.5	0	0	0	0	0	0	0	0.5	0
กข31	0	0	0	0.5	0.5	0	-999	0	1.5	0	0
สกลนคร	3	-999	-999	3	4	3	0	-999	-999	-999	-999
หอมชลสิทธิ์	0	4	1	0	1	1	3	0	0	0	0
พลายงามปราจีนบุรี	3	4.5	1.5	0	4.5	2	0	3.5	1	0	0.5
เล็บนกปัตตานี	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
กวก. 2	0	0	-999	0	0	0	0	0	0	0	0
สุพรรณบุรี 60	0	1	0	0	0	0.5	0	0	0	0	0
สุพรรณบุรี 3	0	0.5	0	0	0	0	0.5	0	0	0	0
ชัยนาท 1	0	0	0	0.5	1	0	1	0	0.5	0.5	0
กข7	0	0.5	0.5	0.5	4	1.5	0	0	0	0.5	0
กวก. 1	0.5	1	0	1.5	0	0	0	0	0	0	0
ปทุมธานี 1	1	0	1	1	3	0	0	0	0	0	0
พิษณุโลก 2	2	0	0	0	0	0	-999	0	0.5	0	0
กข6	-999	0	-999	1	-999	0	0	5	0	0	0
กข29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
สุพรรณบุรี 2	0.5	0.5	1	0.5	0	0	0	0	0	1	0
สุพรรณบุรี 1	0	2	0	1.5	0	0.5	-999	0	0	0	0
ขาวดอกมะลิ 105	4	3	5	3	4	3	3	5	5	5	5
เหนียวอุบล 1	-999	-999	-999	-999	-999	-999	-999	3.5	2	1.5	3
กข8	-999	-999	-999	-999	-999	-999	-999	4	0	0	0
สังข์หยดพัทลุง	-999	-999	-999	-999	-999	1	0	0.5	0	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

พันธุ์ข้าว / เชื้อโรคไหม้	THL84	RBR55004	UBN2009 11308	KKN2010 61119	UBN2010 7384	UBN2010 11351	BKK55002	CCO56003	PL1	PL2	PL3
หอมนิล	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
กข43	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
สุพรรณบุรี 90	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
กข41	0	0	0	0	0	0	0	0	3.25	4	0
กข31	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
สกลนคร	1	-999	-999	-999	-999	-999	0	0	0	0	0
หอมชลสิทธิ์	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
พลายงามปราจีนบุรี	1	0	0.5	3.5	2.5	2.5	2.5	1.75	1.75	2.75	2.75
เล็บนกปัตตานี	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
กวก. 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
สุพรรณบุรี 60	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
สุพรรณบุรี 3	0	0	0	0	2	2.5	0	0	4.25	0	5.25
ชัยนาท 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
กข7	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
กวก. 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ปทุมธานี 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
พิษณุโลก 2	0	0	0	0	2.5	2.5	0	3	4.75	4	4
กข6	1	0	1	1	1	2.5	0	0	0	0	0
กข29	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
สุพรรณบุรี 2	0	0	0	0	0	0	0	3.5	4.5	4.5	5.75
สุพรรณบุรี 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ขาวดอกมะลิ 105	2	3	0	5	5	5	3	1.7	1.4	1.2	0.5
เหนียวอุบล 1	0	0	0	4	0	0	0	1.25	0	0	1
กข8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
สังข์หยดพัทลุง	0	0	0	0	0	0	0	0	4.5	5.75	5.75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

พันธุ์ข้าว / เชื้อโรคไหม้	RBR55001	SRN54007	SRN54009	BKK55003	SRN54006	SKN2008 60867	CCO56001	KKN2008 7357	UBN2010 94677	UBN2009 207129	UBN2008 7344
หอมนิล	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
กข43	0	0	0	3.75	0	0	0	3.75	3.75	0	0
สุพรรณบุรี 90	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
กข41	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
กข31	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
สกลนคร	0	0	0	0	0	1.75	0	5	0	0	0
หอมชลสิทธิ์	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0
พลายงามปราจีนบุรี	0	0	2.75	1.75	0	2	0	3.75	0	0	2.25
เล็บนกปัตตานี	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
กวก. 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
สุพรรณบุรี 60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
สุพรรณบุรี 3	0	0	0	0	0	0	0	0	5	0	0
ชัยนาท 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
กข7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
กวก. 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ปทุมธานี 1	4.75	0	0	0	0	0	0	3	0	3	0
พิษณุโลก 2	0	0	0	0	0	0	2.75	0	5.25	0	0
กข6	0	0	0	0	0	0	0	0	4	0	0
กข29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
สุพรรณบุรี 2	0	0	0	0	0	0	0	0	5.25	0	0
สุพรรณบุรี 1	0	0	0	0	0	0	0	0	4.75	0	0
ขาวดอกมะลิ 105	3.3	3.6	4.1	1.7	2.7	5.4	1.7	5.6	5	3.7	3.6
เหนียวอุบล 1	0	4.25	3	0	3	4.75	0	0	4	0	0
กข8	0	0	0	0	0	5.25	0	0	3.75	0	3.75
สังข์หยดพัทลุง	0	0	0	0	0	0	0	0	5.5	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

พันธุ์ข้าว / เชื้อโรคไหม้	UBN2010 195171	UBN2010 195167	CCO55002	UBN2010 13515	SKN2007 10389	UBN2010 61086	NKI2007 211170	UBN2009 207128	NYK56003	UBN2010 13512	UBN2009 128351	NYK55001
หอมนิล	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
กข43	5.25	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	0
สุพรรณบุรี 90	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
กข41	0	0	0	0	0	0	0	0	6	0	0	0
กข31	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
สกลนคร	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	-999
หอมชลสิทธิ์	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
พลายงามปราจีนบุรี	5.25	0	1.75	5	0	0	2	2	1.75	2	0	2
เล็บนกปัตตานี	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
กวก. 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
สุพรรณบุรี 60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
สุพรรณบุรี 3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4.75	0
ชัยนาท 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.75
กข7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
กวก. 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ปทุมธานี 1	4.5	0	0	0	0	0	0	0	0	4.5	0	0
พิษณุโลก 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
กข6	5.75	3	0	2	6	0	0	0	0	0	0	0
กข29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
สุพรรณบุรี 2	0	0	0	0	0	0	0	0	4.75	0	0	1.75
สุพรรณบุรี 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ขาวดอกมะลิ 105	4.7	5.3	2	6	4.8	6	4.7	4.5	2.8	3.1	5	3.9
เหนียวอุบล 1	2.75	3	1.75	6	0	5	4	4.25	0	3	0	2.25
กข8	4.25	5	0	2	4	0	4.75	3.75	0	0	0	0
สังข์หยดพัทลุง	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 2 (ต่อ)

พันธุ์ข้าว / เชื้อโรคไหม้	Chiangrai34.1	BKK55001	CCO56004	Phitsanulok40.4	RBR55002	UBN2010 61112	Phitsanulok1.1	NKI2010 47181	SRN54002	SRN54001	KKN2009 61067
หอมนิล	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
กข43	2.75	0	0	0	0	4.75	4	0	0	4.25	0
สุพรรณบุรี 90	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
กข41	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0
กข31	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
สกลนคร	-999	-999	-999	-999	-999	-999	-999	-999	-999	5.5	0
หอมชลสิทธิ์	2	0	0	0	0	0	2.75	0	0	1.75	0
พลายงามปราจีนบุรี	2	4	1.75	2	4.25	2	5	0	4.5	4.25	3
เล็บนกปัตตานี	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
กวก. 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
สุพรรณบุรี 60	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
สุพรรณบุรี 3	0	0	0	0	4.25	0	0	0	0	0	0
ชัยนาท 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
กข7	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0
กวก. 1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
ปทุมธานี 1	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0
พิษณุโลก 2	0	0	3.25	0	0	1	1	0	0	0	0
กข6	0	0	0	5.25	0	0	0	3	0	0	0
กข29	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
สุพรรณบุรี 2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
สุพรรณบุรี 1	0	0	0	1	0	0	0	4	0	0	0
ขาวดอกมะลิ 105	5.5	4.55	4.4	4.7	4.8	4.9	5.7	3.35	4	5	3.8
เหนียวอุบล 1	6	1.5	3.75	2	0	3.75	5.25	3	2.5	3.25	1.75
กข8	2	0	0	1	0	0	1	3.25	0	0	1.75
สังข์หยดพัทลุง	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 3 ข้อมูลปฏิกิริยาการก่อโรคของเชื้อโรคไม้บนข้าว NILs ในการวิเคราะห์การจัดกลุ่มเชื้อโรคไหม้โดยใช้โปรแกรม NTSYSpc 2.10

พันธุ์ข้าว / เชื้อโรคไหม้	CCO55002	UBN2010 94677	UBN2009 207129	NKI2010 47181	RBR55004	UBN2008 7344	KKN2009 61067	THL794	Chiangrai34.1	SRN54002	NKI2007 211170
IRBLSH-B	2.75	2.25	-999	1.5	1.5	1.75	1.25	2	2.5	-999	3.5
IRBLSH-S	2	1.5	3	-999	-999	3	3.5	4.75	2.25	2.75	1.75
IRBLB-B	4.5	4.5	4.25	3.5	-999	0	4.75	4	4	-999	4.5
IRBLT-K59	4.5	4	5	5	4	5	5	4	-999	5	3.75
LTH	5	5	5	5	4	5	5	5	-999	5	4.5
IRBLA-A	4	3.75	4.25	5	3.5	5	5	5	-999	5	-999
IRBLA-C	4.5	-999	5	5	3.5	4.5	4	2	2.75	4.5	5
IRBLI-F5	3.5	-999	5	4.5	1.5	0	0.5	4.75	-999	1	-999
IRBL3-CP4	4.25	3	5	5	-999	4	1	5	-999	-999	-999
IRBL5-M	0.5	2.5	4.5	4.5	1.5	1	0.75	3	0.5	1	3
IRBLKS-F5	4.5	4	5	5	1	0	-999	4	-999	3.5	5
IRBLKS-S	1	3.5	2	3	0.5	2.5	5	4.75	3	3	0.5
IRBLKM-TS	1.75	2.5	1.25	-999	5	4	5	5	3	4.5	4.5
IRBL1-CL	3	1	3	-999	-999	0.75	1.75	4	2.5	1.25	4.5
IRBLKH-K3	0.75	2.5	3	2.5	3	1	-999	1	0.5	3	1
IRBLK-KA	3.5	1.75	1.75	2	0.5	2	0.5	2	0.75	1.5	4.5
IRBLKP-K60	2.5	1	2	1.75	0.5	3.5	0.75	0.75	3	1.5	-999
IRBL7-M	1.75	2.5	1.75	1.5	1	0	0.5	2	0	2	3.5
IRBL9-W	1	2	4.75	1.75	1	1	-999	3	2.25	2	3
IRBLZ-FU	2.5	2.25	5	1.5	0.5	1	0.25	0	0	1.5	0.5
IRBLZ5-CA	5	3.5	5	5	5	4.75	4.75	5	-999	5	5
IRBLZT-T	5	3.5	5	5	4.5	3.5	4.75	1	-999	5	4.5
IRBLTA2-RE	2.75	2	3.75	1	1	0.75	0.5	0	1.25	1	-999
IRBLTA2-PI	3.75	2.5	2.25	1	0.25	0.75	0.25	1	-999	0.75	-999
IRBL12-M	3.75	3.5	4.75	5	3.75	0	-999	5	1.25	4.5	0.5
IRBLTA-K1	3.75	1.5	5	5	-999	0.75	-999	1.75	1.5	-999	3
IRBLTA-CT2	1	2	3	3.25	1	1	-999	2	0.5	3.5	-999
IRBLTA-CP1	2	3	3	5	4	2	-999	0.75	0.5	0.75	4.75
IRBL19-A	3.75	2	3	0.5	0.5	0.75	0.5	1	0.5	1.5	4
IRBL20-IR24	2.75	2.5	2.25	5	0.5	0.75	0.5	0.5	0	4.5	2.5
IRBL11-ZH	4.5	3.5	3	-999	4.5	3	5	1	-999	4.5	5
IRBLZ5-C (R)	4.75	4	4.75	5	5	4	4.75	4	4.5	5	5
KDML105	4.5	5	4.75	5	5	4	5	4.25	4.5	5	5
IR64	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

พันธุ์ข้าว / เชื้อโรคไหม้	PL1	NYK56003	BKK55003	CCO56003	SRN54005	PL2	CCO56004	UBN2010 13515	Phitsanulok40.4	CPM55003	KKN2008 7357	UBN2010 61086
IRBLSH-B	-999	2.25	2	2.5	1	2	1.75	-999	2.5	2.5	1	1.5
IRBLSH-S	-999	2.25	1	3	1.5	3	3.75	-999	3.5	2	2	3.25
IRBLB-B	3.5	3.5	5	4.5	4.25	2	5	-999	3.5	3	4	2.25
IRBLT-K59	4.5	5	-999	4.5	-999	2.75	4.75	-999	5	3.75	3	4
LTH	4.25	4.5	5	4	-999	4	5	-999	5	4	5	5
IRBLA-A	1.5	4.5	4.75	4	1.5	4	1	3.5	4	2.5	-999	3.25
IRBLA-C	4.5	4	3.5	3.25	3.5	2	2	-999	-999	4.5	-999	3.5
IRBLI-F5	4.5	1	-999	1.25	1.5	2	2	1	4	3	2.5	1.5
IRBL3-CP4	-999	2.5	2.5	4	1	3.5	3	-999	5	3.5	-999	2
IRBL5-M	3.5	1	0.75	3	1.5	0	1	3.75	4	1	1.5	2
IRBLKS-F5	4.25	-999	-999	3.5	1.25	3	5	1.5	-999	3	4.5	3.75
IRBLKS-S	0.5	-999	-999	-999	1.5	3	5	1.5	5	3	2.5	1
IRBLKM-TS	-999	2	1.5	2	3	2.75	0	3	4.5	4	0.5	2.75
IRBL1-CL	1	1.5	2	1.5	0.75	0	3	2.75	4.5	0.5	1.5	1
IRBLKH-K3	2	1	2.5	3.5	2.25	0	3	3	5	2	-999	-999
IRBLK-KA	-999	-999	-999	3	1	2.75	3	-999	4.75	3	-999	0.75
IRBLKP-K60	0.75	-999	1.5	2.25	1	3	2	-999	5	2	0.5	0.75
IRBL7-M	-999	4.5	5	-999	2	3	4.75	0.5	5	4	3	-999
IRBL9-W	2	-999	2.5	2.25	1.5	2	1	-999	-999	2	2	-999
IRBLZ-FU	2.75	1.5	1	1.5	1	3	2	3	1	3	0.25	0.25
IRBLZ5-CA	4.5	5	5	5	2.5	3	5	4	-999	2.75	-999	5
IRBLZT-T	4.5	4.5	-999	-999	-999	4	5	4	4.75	3	4.5	5
IRBLTA2-RE	3	-999	1.5	1.5	1	3	1	2.5	-999	2.75	2.5	-999
IRBLTA2-PI	-999	2.5	3	-999	1.25	2.5	2	2	4.75	2.75	3.5	0.5
IRBL12-M	-999	-999	4	4	1.75	1	4	2.5	-999	3	3	5
IRBLTA-K1	3.5	1.5	2.5	-999	1	3	2	1	4.5	2.75	2.5	4.25
IRBLTA-CT2	2	-999	3.25	2.75	1.25	2	2	3.25	3.5	4	3.5	-999
IRBLTA-CP1	3	-999	3.5	1	1	3	5	2.5	5	3	4.5	3
IRBL19-A	1	1.5	2	1.5	1.5	3	3	1.5	5	4	-999	0.75
IRBL20-IR24	1.5	0.5	1	4.25	1.5	3	2	3	3.5	0.75	1.75	1.75
IRBL11-ZH	4.5	4.5	4	4.5	3.5	2.75	4	4	-999	2	-999	4
IRBLZ5-C (R)	4.5	4.5	3	4.25	-999	3	1.75	4	5	4	-999	5
KDML105	3.5	3	5	3.5	3.5	2	4	3.5	5	4.25	4.5	4.5
IR64	0	0	0.5	0.25	0	0	0	0.5	0	0	0.25	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 3 (ต่อ)

พันธุ์ข้าว / เชื้อโรคไหม้	UBN2010 195167	UBN2010 61112	UBN2010 13512	UBN2010 94678	UBN2009 128351	UBN2009 11308	UBN2009 207128	SRN54007	PL3	RBR55003	BKK55001	SRN54009	BKK55002
IRBLSH-B	1.5	1	2	3	4.5	4	4.75	1.75	-999	2	2	2.75	1
IRBLSH-S	3	1	1.75	4	4.5	4	5	4.75	2.5	3	-999	3.5	2.5
IRBLB-B	3	2.5	4.25	5	5	5	5	4	4.5	4	4.5	4	5
IRBLT-K59	4.75	3.25	4.75	4	4.75	5	5	4	5	3.5	3.25	4	5
LTH	5	4.5	5	5	5	5	5	5	5	4.5	4.5	3.5	5
IRBLA-A	4	3.5	0	1	5	5	5	4	5	3.5	-999	3	5
IRBLA-C	4.5	5	4.75	5	4.75	5	4.75	4.25	4.5	3.5	-999	4	4.5
IRBLI-F5	4.5	1.25	0	4.75	5	4.5	5	3	3.75	4	-999	4.5	1.5
IRBL3-CP4	5	1.25	1.75	4.5	4.5	4	5	4.75	4.75	4.5	3.75	3.25	1.5
IRBL5-M	4	1	0	1	1	3.75	5	4	-999	2	1	2.75	0.75
IRBLKS-F5	4.75	3	5	5	4.75	5	4.5	5	4.75	3.25	-999	4.75	1
IRBLKS-S	-999	0.5	2.75	2	4.75	4.25	5	3.25	2.5	4	3.75	4.5	4.75
IRBLKM-TS	0.5	1	3	4.5	5	1	2.75	4	-999	2.5	2	4.5	4
IRBL1-CL	1.5	3	2.25	2.5	2	2.75	1	1	1	2.5	4	0.5	2.5
IRBLKH-K3	-999	0.5	2.5	3	4	4	1	4.5	2	2.5	5	2.25	2.75
IRBLK-KA	-999	-999	0.5	2	3.25	0.25	0.75	2.75	-999	-999	4	0.75	2
IRBLKP-K60	0.5	-999	1	1	4	0	0.5	1	5	-999	3.5	0.5	2
IRBL7-M	3	-999	4.75	4	3	0.5	1	1	5	-999	3.5	1	4.25
IRBL9-W	2	-999	3.5	3	2	5	4	5	2	-999	4	3.75	4.5
IRBLZ-FU	0.25	1	0	1	5	0	2	1	1	3	1	1	1
IRBLZ5-CA	-999	5	5	3.75	5	5	5	5	5	5	5	1.25	5
IRBLZT-T	4.5	5	4	3	5	5	5	5	3.75	4.75	4	3.75	4.75
IRBLTA2-RE	2.5	-999	0	0	3	0	2	4	3	2.5	2	0.25	1
IRBLTA2-PI	3.5	2.5	1	1	2.5	0.75	2	4	4	-999	2	0.75	3
IRBL12-M	3	4.5	4	1	5	4.75	5	5	2.75	5	4.5	4	4.5
IRBLTA-K1	2.5	3.5	4	4	4	3.75	5	5	3	5	4	0.75	3
IRBLTA-CT2	2	2	3	3.75	3	1	3.75	1	-999	3	1.5	0.75	3
IRBLTA-CP1	-999	5	4	4	1	4	4	1	4.75	3.5	-999	0.75	3
IRBL19-A	-999	0	0	3	1	1	1	4	4	3.5	-999	4	2
IRBL20-IR24	1.5	0	0	4	2.75	4.5	0.5	1	-999	1	1.5	2	2
IRBL11-ZH	-999	1.75	3.75	5	5	4.75	4.75	1.5	5	5	4.5	1	4.75
IRBLZ5-C (R)	4.5	1.75	2	4.75	5	5	5	5	5	5	4.5	4.25	5
KDML105	5	5	4.5	4	4.5	4	4.5	5	4.5	5	5	5	5
IR64	0	0	0	0	0.5	0.25	0	0.25	0.25	0	0	0	0.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล นวรัตน์ ใจหอม

วัน เดือน ปีเกิด 12 มีนาคม พ.ศ. 2533

ที่อยู่ปัจจุบัน 55/1 หมู่ 7 ตำบลท่าทราย อำเภอเมือง จังหวัดนครนายก 26000

ประวัติการศึกษา พ.ศ. 2554 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการจัดการศัตรูพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

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

นวรัตน์ ใจหอม, สุภาภรณ์ เอี่ยมเข่ง และนงลักษณ์ เภรินทวงค์. 2557. การประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราโรคไหม้ข้าว (*Pyricularia grisea*) ที่เก็บรวบรวมในประเทศไทยโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล SSR. **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า** 32(3):52-60.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้