

การประเมินลักษณะความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง ของเชื้อพันธุกรรมข้าวนาสวน

Evaluation of resistance to bacterial leaf blight in low land rice germplasm

อภิชาติ จันละคร¹, เพชรรัตน์ ธรรมเบญจพล¹ และ จิรวัดน์ สนิทชน^{1,2*}

Apichat Chanlakhon¹, Petcharath Thammabenjapon¹ and Jirawat Sanitchon^{1,2*}

บทคัดย่อ: โรคขอบใบแห้งซึ่งเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* เป็นโรคที่ทำให้ผลผลิตและคุณภาพข้าวลดลงในพื้นที่ปลูกข้าวทั่วโลก แนวทางหนึ่งที่มีความสำคัญและมีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันโรคขอบใบแห้ง คือ การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง การศึกษาหาแหล่งของความต้านทานต่อโรคขั้นต้นจากเชื้อพันธุกรรมข้าวพื้นเมือง จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานในการสร้างฐานพันธุกรรมแบบกว้างของความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งในอนาคต ในการประเมินความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งของเชื้อพันธุกรรมข้าวนาสวน 186 พันธุ์ โดยใช้เชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง 3 ไอโซเลท ที่มีปฏิริยาการก่อโรครุนแรง ปานกลาง และน้อย (A B และ C) ซึ่งคัดเลือกจากเชื้อสาเหตุโรค 10 ไอโซเลท พบว่า มีข้าว 14 พันธุ์ แสดงปฏิริยาด้านทานต่อเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลท โดยมี 5 พันธุ์ คือ LG6822, เพชรราตรี, หอมมะลิณี, ผาสุกและเจ้าหมอนิล 120 มีค่าความยาวของแผล 0.2-4.3 เซนติเมตร และค่าความต้านทานแบบกว้าง (BSR) เท่ากับ 1 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวที่มีความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งในระดับสูง

คำสำคัญ: โรคขอบใบแห้งในข้าว, โรคข้าวที่สำคัญ, การปรับปรุงพันธุ์ข้าว

ABSTRACT: Bacterial leaf bright disease caused by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* reduces quality and yield of rice worldwide. Breeding for resistance to bacterial leaf blight disease is an important and effective means to control the disease. Preliminary screening of local rice germplasm for resistance to the disease is necessary for obtaining basic information for development of broad-based resistance in the future. In this study, 186 accessions of lowland rice germplasm were evaluated for resistance to bacterial leaf blight disease. The rice plants were inoculated with three isolates of *X. oryzae*, which were selected from 10 isolates. The isolates were different in disease reactions as virulent, moderate and low isolates (A, B and C). Fourteen accessions of rice germplasm were resistant to the three isolates. Among these accessions, five accessions (LG6822, Phet Ra Tee, Home Ma Li Nin, Pha Ra Dum and Jao Home Nin 120) had lesion lengths between 0.2 and 4.3 cm and had broad-spectrum resistance (BSR) value of 1, indicating that these accessions had high level of bacterial leaf blight resistance.

Keywords: bacterial leaf blight, major rice disease, rice improvement

¹ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002
Department of Plant Science and Agricultural Resources, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University,
Thailand 40002

² ศูนย์วิจัยปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อการเกษตรที่ยั่งยืน มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ.ขอนแก่น 40002
Plant Breeding Research Center for Sustainable Agriculture, Khon Kaen University, Thailand 40002

* Corresponding author: jirawat@kku.ac.th

บทนำ

ข้าว (*Oryza sativa*) เป็นธัญพืชอาหารหลักที่สำคัญที่สุดของมนุษย์ โดยประชากรโลกมากกว่าครึ่งบริโภคข้าวเป็นอาหาร ในปี 2553 ประเทศไทยมีผลผลิตข้าวทั้งหมด 23.25 ล้านตัน คิดเป็นมูลค่าการส่งออก 168,193 ล้านบาท ข้าวจึงมีความสำคัญทั้งในด้านอาหาร อาชีพ และพื้นฐานการพัฒนาเศรษฐกิจของชาติในด้านอื่นๆ ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวนานัปทั้งหมด 57.49 ล้านไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2553) โดยพื้นที่มากกว่าครึ่งเป็นพื้นที่ปลูกในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย และเกษตรกรมักจะปลูกข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ กข6 เนื่องจากเป็นพันธุ์ข้าวที่ให้คุณภาพสูง ราคาดี และเป็นที่ยอมรับของตลาด โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้าวเหนียวพันธุ์ กข6 ซึ่งมีคุณภาพการหุงต้มดี เหนียวนุ่ม มีกลิ่นหอม และให้ผลผลิตสูงถึง 666 กิโลกรัมต่อไร่ แต่พบว่าข้าวเหนียวพันธุ์ กข6 มีความอ่อนแอต่อโรคไหม้ และโรคขอบใบแห้ง (กรมการข้าว, 2555) ซึ่งเป็นโรคที่เป็นปัญหาสำคัญหลัก และส่งผลต่อการลดลงของผลผลิตและคุณภาพของข้าวทั่วโลก โดยพบการระบาดของโรคในแหล่งปลูกข้าวทั่วไป ทั้งพื้นที่นาข้าวและในเขตชลประทาน โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรคขอบใบแห้ง พบว่า ในปี พ.ศ. 2497 มีการระบาดของรุนแรงในประเทศญี่ปุ่น ก่อให้เกิดความเสียหายเป็นบริเวณกว้างถึง 300,000 - 400,000 เฮกตาร์ (1 เฮกตาร์ = 6.25 ไร่) และผลผลิตข้าวลดลง 20 - 30 เปอร์เซ็นต์ และบางครั้งอาจทำให้ผลผลิตลดลงมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ (Ou, 1987) ส่วนในประเทศไทยพบการระบาดครั้งแรกที่จังหวัดปทุมธานี ในปี พ.ศ. 2506 (Eamchit and Mew, 1982) และตามแหล่งปลูกข้าวโดยทั่วไป

การปรับปรุงพันธุ์พืชเพื่อให้มีความต้านทานต่อโรค เป็นวิธีการหนึ่งในการแก้ไขปัญหาที่มีความยั่งยืนในการป้องกันโรค และเป็นวิธีที่ประหยัดเนื่องจากช่วยลดการใช้สารเคมีที่มีผลกระทบต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อมทั้งทางตรงและทางอ้อม แต่การที่จะได้มาซึ่งพันธุ์ต้านทานนั้นก็ต้องมีแหล่งของความต้านทานต่อโรคที่จะนำมาใช้ในการพัฒนาพันธุ์ให้มีลักษณะต้านทานต่อโรคนี้ (ไพศาล และคณะ, 2547)

การพัฒนาพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะต้านทานต่อโรค จำเป็นจะต้องอาศัยพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อโรค โดยแหล่งของความต้านทานนั้นอาจได้มาจากข้าวพันธุ์พื้นเมือง หรือสายพันธุ์บริสุทธิ์ที่คัดจากพันธุ์พื้นเมืองดั้งเดิม เนื่องจากข้าวพันธุ์พื้นเมืองมีความหลากหลายทางพันธุกรรมมากกว่าข้าวพันธุ์ปรับปรุง (เบญจวรรณ, 2548) ดังนั้น การศึกษาหาแหล่งของลักษณะความต้านทานต่อโรค จากเชื้อพันธุกรรมข้าวพื้นเมืองจึงเป็นแนวทางขั้นต้นที่สำคัญอย่างยิ่ง ต่อการพัฒนาพันธุ์ข้าวให้มีศักยภาพ ทางด้านผลผลิตและคุณภาพ ต่อไป

วิธีการศึกษา

ทำการทดลองเกี่ยวกับปฏิกิริยาของพันธุ์ข้าวต่อโรคขอบใบแห้งในสภาพโรงเรือน ในฤดูนาปี 2554 ณ หมวดพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นทำการทดลองแบบแฟคทอเรียลในแผนการผสมสมบูรณ์ (factorial in completely randomized design) 3 ซ้ำ โดยใช้ข้าวนาสวน 168 พันธุ์ และใช้ข้าวพันธุ์สุรินทร์ 1, IR64, IRBB5, IR62266 เป็นพันธุ์ตรวจสอบความต้านทาน และพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105, กข6 และอีเหลืองแม่เป็นพันธุ์ตรวจสอบความอ่อนแอต่อโรค และใช้เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* 3 ไอโซเลต จากทั้งหมด 10 ไอโซเลต ที่รวบรวมได้จากแหล่งปลูกข้าวในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย (โดยทดสอบความสามารถในการก่อโรคกับข้าวพันธุ์ตรวจสอบที่ระดับรุนแรง ปานกลาง และต่ำ)

เพาะเมล็ดและปลูกข้าวในกระบะพลาสติก 4 ต้นต่อหลุม เมื่อต้นข้าวอายุได้ 15 วัน ใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ และใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 46-0-0 อัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อข้าวอายุ 21 วันเลี้ยงเชื้อ *X. oryzae* pv. *Oryzae* โดยวิธี Streak plate 3 ระบายบนอาหาร NA (nutrient agar) ปั่นเชื้อที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง แล้วย้ายโคโลนีเดียวเลี้ยงเพิ่มปริมาณเชื้อแบคทีเรีย สำหรับทดสอบโดยวิธี streak plate บนอาหาร NBYA (พวยม, 2549) ปั่นเชื้อที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง โดยเตรียมสารละลายแบคทีเรีย

ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้น 1.2×10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยการวัดค่าการดูดซับแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ช่วงความยาวแสง 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.6 ($OD_{600}=0.6$) เมื่อข้าวอายุ 28-30 วัน ทำการปลูกเชื้อโดยวิธีการตัดใบ (clipping method) โดยใช้กรรไกรปลอดเชื้อ จุ่มสารละลายแบคทีเรียแล้วทำการตัดยอดใบ 2-3 เซนติเมตร จากปลายใบ จำนวนสองใบต่อดันตามวิธีของ Kauffman and Reddy (1975) แล้วใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 46-0-0 อีกครั้ง อัตรา 15 กิโลกรัมต่อไร่ หลังปลูกเชื้อ 7 วันแล้วประเมินปฏิกิริยาของพันธุ์ข้าวต่อโรคขอบใบแห้ง ตามวิธีมาตรฐานการประเมินของสถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI, 1996) (Table 1) วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) แล้วเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT และประเมินความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งแบบกว้าง (broad spectrum resistance: BSR) ตามวิธีของ Ahn (1994) โดยใช้สูตรในการคำนวณดังนี้

$$BSR = S/T$$

โดย S = จำนวนไอโซเลตที่พันธุ์มีปฏิกิริยาด้านทาน

T = จำนวนไอโซเลตทั้งหมด

Table 1 Disease score ratings for bacterial leaf blight in greenhouse test

Lesion length (cm)	Description
0 - 5	resistant (R)
>5 - 10	moderate resistant(MR)
>10 - 15	moderate susceptible (MS)
>15 - 20	susceptible (S)
>20	highly susceptible (HS)

Source: IRRI (1996)

ผลการศึกษา

จากการประเมินปฏิกิริยาของเชื้อพันธุกรรมข้าวนาสวน 186 พันธุ์ กับเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง จำนวน 3 ไอโซเลต หลังทำการปลูกเชื้อ 2-3 สัปดาห์ สามารถจัดกลุ่มพันธุ์ตามปฏิกิริยาต่อการเกิดโรคขอบใบแห้งในเชื้อพันธุกรรมข้าวนาสวนได้เป็น 5 กลุ่ม คือ

มีปฏิกิริยาด้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคทั้ง 3 ไอโซเลต 14 พันธุ์ ปฏิกิริยาอ่อนแอต่อเชื้อไอโซเลตที่ก่อโรครุนแรงแต่ด้านทานต่อเชื้อไอโซเลตที่สามารถก่อโรคปานกลางและน้อย 8 พันธุ์ ปฏิกิริยาอ่อนแอต่อเชื้อไอโซเลตที่สามารถก่อโรครุนแรงและน้อยแต่ด้านทานต่อเชื้อไอโซเลตที่ก่อโรคปานกลาง 19 พันธุ์ ปฏิกิริยาอ่อนแอต่อเชื้อไอโซเลตที่รุนแรงและปานกลางแต่ด้านทานต่อเชื้อไอโซเลตที่รุนแรงน้อย 89 พันธุ์ และอ่อนแอต่อเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งทั้ง 3 ไอโซเลต 56 พันธุ์ (Figure 1) ซึ่งผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของการเกิดโรคในเชื้อพันธุกรรมข้าวทั้ง 186 พันธุ์ พบว่ามีปฏิกิริยาสัมพันธ์ระหว่างปฏิกิริยาการเกิดโรคของพันธุ์ข้าวกับเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งเมื่อทำการประเมินความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งแบบกว้าง (BSR) มีค่าระหว่าง 0-1 และในพันธุ์ข้าวที่แสดงปฏิกิริยาด้านทานต่อเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลต (14 พันธุ์) มีค่า BSR เท่ากับ 1 เช่นเดียวกับพันธุ์เปรียบเทียบด้านทาน (SRN1, IRBB5, IR64 และ IR62266) (Table 2) อย่างไรก็ดีเมื่อพิจารณา พบว่าพันธุ์ LG6822, เพชรราตรี, หอมมะลิณิล, ผาลาดำ, เจ้าหอมนิล 120 มีค่าเฉลี่ยความยาวแผลต่อเชื้อ ทั้ง 3 ไอโซเลต อยู่ระหว่าง 0.2-4.3 เซนติเมตร

สรุปและวิจารณ์

จากผลการประเมินเชื้อพันธุกรรมข้าวนาสวนต่อปฏิกิริยาการเกิดโรคขอบใบแห้งกับเชื้อสาเหตุ 3 ไอโซเลต สรุปได้ว่าข้าวพันธุ์ LG6822, เพชรราตรี, หอมมะลิณิล, ผาลาดำ และ เจ้าหอมนิล 120 มีปฏิกิริยาด้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งในระดับสูง และมีค่าความยาวแผลจากการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุระหว่าง 0.2-4.3 เซนติเมตร ที่ระดับความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งแบบกว้างเท่ากับ 1 ผลการทดลองครั้งนี้จึงเป็นข้อมูลพื้นฐานของแหล่งความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง ซึ่งสามารถนำไปพัฒนาและปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีลักษณะต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งเพื่อลดการสูญเสียจากการเข้าทำลายของโรคในอนาคต

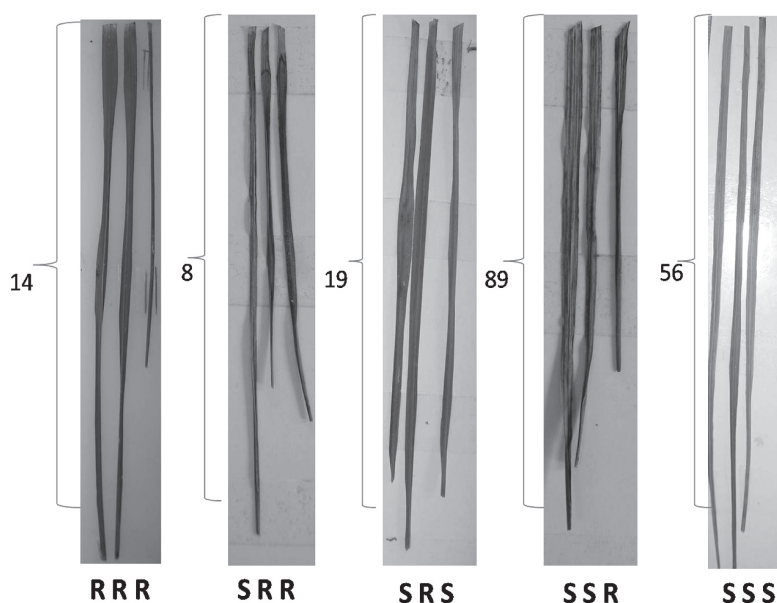


Figure 1 Five reaction groups of low land rice germplasm to 3 isolates of *X. oryzae* (numbers indicate number of varieties within each group; R = resistant, S = susceptible).

Table 2 Means of lesion length and broad spectrum resistance of 14 rice varieties that are resistant to bacterial leaf blight plus 4 resistant checks and 3 susceptible checks.

Variety	Lesion length (cm) ^{1/}			BSR ^{1/}
	virulent	moderate	low	
Ea Tia Lao	3.7 ^{d-g}	3.9 ^{def}	6.8 ^{cde}	1
LG6822	0.5 ^g	0.6 ^f	1.0 ^g	1
ChorJum Pa	6.5 ^{c-f}	6.4 ^{def}	5.5 ^{def}	1
Kao Gum	9.5 ^{bcd}	7.3 ^{c-f}	7.5 ^{cd}	1
Ea Nang Kao	9.7 ^{bc}	8.7 ^{cde}	9.4 ^c	1
JaoHom Dum Su ThaBhut	4.3 ^{c-g}	10.1 ^{bcd}	3.8 ^{d-g}	1
Kee Thom Yai	4.6 ^{c-g}	5.6 ^{def}	6.4 ^{cde}	1
Phet Ra Tree	2.2 ^{efg}	4.3 ^{def}	1.7 ^{fg}	1
Hom Mali Nil	1.8 ^{fg}	0.3 ^f	1.8 ^{fg}	1
Pha La Dum	0.5 ^g	2.0 ^{ef}	0.4 ^g	1
JaoHom Nil 120	0.3 ^g	1.0 ^f	0.2 ^g	1
Dum MaemaoThonlang	7.9 ^{cde}	7.4 ^{c-f}	3.9 ^{d-g}	1
Tang On	6.8 ^{c-f}	10.0 ^{bcd}	7.4 ^{cd}	1
HomToong Kao	9.2 ^{bcd}	9.0 ^{b-e}	5.7 ^{cde}	1
RD6	14.8 ^{ab}	19.1 ^a	21.7 ^a	0
KDML 105	16.8 ^a	14.5 ^{abc}	15.8 ^b	0
EaLaungPhae	10.1 ^{bc}	16.2 ^{ab}	15.0 ^b	0
Surin1	1.0 ^{fg}	1.9 ^{ef}	1.6 ^g	1
IRBB5	2.1 ^{fg}	2.3 ^{ef}	3.2 ^{efg}	1
IR64	0.3 ^g	0.7 ^f	3.4 ^{efg}	1
IR62266	1.1 ^{fg}	1.7 ^{ef}	1.6 ^g	1
F-test	**			
C.V. (%)	38.00			

** = significant at $P \leq 0.01$. Means in the same column followed by the same letter(s) are not significantly different at $P \leq 0.05$ by DMRT

^{1/}BSR = broad spectrum resistance

เอกสารอ้างอิง

- กรมการข้าว. 2555. องค์ความรู้เรื่องข้าว. แหล่งข้อมูล: <http://www.brrd.in.th/rkb/varieties>. ค้นเมื่อ 27 กรกฎาคม 2555.
- เบญจวรรณฤกษ์เกษม. 2548. ความหลากหลายทางพันธุกรรมในข้าวพื้นเมืองไทย. หน้า 33-60. ยอดหทัย เทพรานนท์ และกัญญวิมว์ กิรติกร (บรรณาธิการ). บัณฑิตยสภาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (บวท): กรุงเทพฯ.
- พยอม โคเบลล์. 2549. โรคขอบใบแห้งของข้าว (Bacterial leaf blight of rice). เอกสารประกอบการฝึกอบรมนักศึกษาฝึกงาน คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 20 มีนาคม-10 พฤษภาคม 2549 ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี. จำนวน 6 หน้า.
- ไพศาล เหล่าสุวรรณอารีย์ วรบุญวัฒน์ และปิยะดา ทิพย์ผ่อง. 2547. หลักการปรับปรุงพันธุ์พืช. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. นครราชสีมา.
- สำนักงานเศรษฐกิจเกษตร. 2553. สถิติการนำเข้า-การส่งออกข้าว. แหล่งข้อมูล: <http://www.oae.go.th>. ค้นเมื่อ 26 มิถุนายน 2554.
- Ahn, S.W. 1994. International collaboration on breeding for resistance to rice blast. p. 137-153. In: Zeigler, R.S., S.A. Leong and P.S. Teng (eds.). Rice blast disease. CAB International, Wallingford, Oxon, U.K.
- Eamchit, S., and T.W. Mew. 1982. Comparison of virulence of *Xanthomonas campestris* pv. *oryzae* in Thailand and the Philippines. Plant Disease 66: 556-559.
- IRRI. 1996. Standard Evaluation System for Rice. The International Rice Research Institute, Los Baños, Laguna, Philippines.
- Kauffman, H.E., and A.P.K. Reddy. 1975. Seed transmission studies of *Xanthomonas oryzae* in rice. Phytopathology 65: 663-666.
- Ou, S.H. 1987. Rice Diseases. Centre for Agricultural Bioscience International. UK.