

การประเมินลักษณะความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งของสายพันธุ์ข้าวในจังหวัดสุพรรณบุรี Evaluation of Resistance to Leaf Blight Disease of Rice Varieties in Suphanburi Province

ไอลดา รุ่งพลอย^{1*}, สุภาภรณ์ เอี่ยมแข่ง¹ และบังอร ธรรมสามิสรณ์²

Ilada Rungploy^{1*}, Supaporn Ieamkheng¹, and Bang-on Thammasamisorn²

¹ สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก จ.ชลบุรี 20110

² สถาบันวิทยาศาสตร์ข้าวแห่งชาติ ต.รั้วใหญ่ อ.เมือง จ. สุพรรณบุรี 72000

¹ Division of Plant Production Technology, Faculty of Agriculture and National Resources, Rajamangala University of Technology Tawan-ok, Chonburi, 20110

² Thailand Rice Science Institute, Rua Yai, Suphanburi. 72000

Received : Mar 07, 2024

Revised : Apr 05, 2024

Accepted : Apr 15, 2024

บทคัดย่อ

โรคขอบใบแห้ง (bacterial blight disease) เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) จัดเป็นโรคข้าวที่สำคัญ เนื่องจากมีการระบาดรุนแรง ทำความเสียหายในแหล่งปลูกข้าว โดยเฉพาะในเขตชลประทานข้าวที่เป็นโรคนี้นั้นรุนแรงผลผลิตจะลดลง 20-30 เปอร์เซ็นต์ และอาจสูงถึง 60 เปอร์เซ็นต์ ในข้าวพันธุ์อ่อนแอต่อโรค งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินลักษณะความต้านทานของข้าว จำนวน 13 สายพันธุ์ ต่อโรคขอบใบแห้งในจังหวัดสุพรรณบุรี ดำเนินการทดสอบที่โรงเรือนทดลองจังหวัดสุพรรณบุรีด้วยวิธีการปักดำ กระจายละ 1 ต้น จำนวน 3 ซ้ำ และสุ่มเก็บตัวอย่างใบข้าวที่เป็นโรคขอบใบแห้งของจังหวัดสุพรรณบุรี มาแยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค tissue transplanting และตรวจสอบด้วยสัณฐานวิทยา พบว่าโคโลนี มีลักษณะกลมมน ผิวเรียบ มันเยิ้ม มีเมือก และสร้างรงควัตถุสีเหลือง เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างแบบท่อน (gram negative rod) มีขนาดประมาณ $0.5-0.8 \times 1.0-2.0 \mu\text{m}$ ทดสอบปฏิกิริยาการเกิดโรคตามวิธีการพิสูจน์โรคของ Koch (Koch's postulation) พบลักษณะอาการเป็นแผลรอยฉ่ำน้ำ ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเทาเป็นทางยาวตามแนวขอบใบ และเตรียมสารแขวนลอยแบคทีเรียจากเชื้อบริสุทธิ์เพื่อประเมินลักษณะความต้านทานของข้าวสายพันธุ์ดีจำนวน 13 สายพันธุ์ ปลูกด้วยวิธีการปักดำ ทำการทดสอบโรคขอบใบแห้งโดยใช้วิธี clipping method หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 21 วัน ประเมินลักษณะอาการที่เป็นโรคโดยการให้คะแนนเป็นพื้นที่ใบที่ถูกทำลาย ผลการศึกษาพบว่า สายพันธุ์ที่แสดงปฏิกิริยาความต้านทานมาก (HR) 4 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ R2006 มีพื้นที่ใบข้าวที่ถูกเชื้อเข้าทำลาย 1 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สายพันธุ์ R3001, R3018 และ R3021 มีพื้นที่ใบข้าวที่เชื้อเข้าทำลาย 2 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลองนี้สามารถนำมาเป็นข้อมูลสนับสนุนงานด้านปรับปรุงพันธุ์ข้าวในประเทศไทยให้มีการพัฒนาข้าวพันธุ์ดี ที่มีความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง และเพิ่มทางเลือกในการผลิตข้าวของเกษตรกร

คำสำคัญ : ข้าว, ปฏิกิริยา, โรคขอบใบแห้ง, ความต้านทาน

Abstract

Bacterial blight disease is caused by the bacteria *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo), the gram-negative bacteria. It has been considered an important rice disease since there was a severe outbreak causing damage in rice growing areas, especially in irrigation areas. Rice with severe damage rice yield with sever damage is reduced by 20-30 percent and may be as high as 60 percent in susceptible areas. The objective of this research was to evaluate the resistance to bacterial leaf blight disease characteristics of 13 varieties of rice in Suphanburi province. 13 varieties of rice were transplanted 1 pot per plant 3 replications in Suphanburi province experimental greenhouse. Random samples of rice leaves with bacterial blight were collected to isolate pure bacteria using the tissue transplanting technique. Morphological examination revealed that the colonies were round and convex, smooth, greasy, mucilaginous, and produced yellow pigment. It was a Gram-negative bacteria. It had a rod shape and was approximately 0.5-0.8 x 1.0-2.0 μ m. in size. Testing for disease reactions according to Koch's postulation method found that the symptoms were watery wounds, subsequently. Later, It turned gray in long lines along the edge of the leaf. Preparing bacterial suspensions were prepared from pure cultures to assess resistance characteristics. 13 varieties of rice were transplanted test bacterial blight disease using the clipping method. Disease symptoms were assessed by scoring the area of damaged leaves at 21 days after inoculation. The results of the study found that four varieties that showed highly resistance (HR) were strain R2006 had 1 percent of infected rice leaf area, while strains R3001, R3018, and R3021 had 2 percent of infected rice leaf area. The results of this experiment can be used as information to support rice breeding work in Thailand to develop good rice varieties with resistance to leaf blight disease. It could be an alternative for farmers to increase rice production.

Keywords : Rice, Reaction, Bacterial Leaf Blight Disease, Resistance

***Corresponding author. E-mail :** ilada.run@rmutto.ac.th

บทนำ

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญต่อประเทศไทยมาเป็นระยะเวลายาวนาน (พะยอม โคเบลลี, 2566) สำหรับประเทศไทยนั้น ข้าวเป็นพืชอาหารหลักที่สำคัญต่อการดำเนินชีวิตของคนไทย และเป็นแหล่งรายได้หลักของประเทศ ในปี พ.ศ. 2564 พบว่า ประเทศไทยผลิตข้าวเป็นอันดับ 4 ของโลก ซึ่งนำโดย อินเดีย เวียดนาม และปากีสถาน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2564) ประเทศไทยมีเกษตรกรปลูกข้าวกว่า 4 ล้านคน และมีพื้นที่ปลูกข้าวประมาณ 62 ล้านไร่ แต่ประเทศไทยสามารถผลิตข้าวได้ราว 26 ล้านตัน (สำนักเศรษฐกิจการเกษตร, 2565) สำหรับการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ ส่งผลกระทบโดยตรงต่อระบบการทำเกษตร ส่งผลให้พืชเกิดโรคอย่างรวดเร็ว และมีความรุนแรงมากขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้าวซึ่งเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญของประเทศ เมื่อข้าวเป็นโรคจะส่งผลให้ผลผลิตลดลง ซึ่งสภาพอากาศมีความเปลี่ยนแปลงจะส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อโรคที่ชอบสภาวะแวดล้อมความชื้นสูงอุณหภูมิต่ำ ส่งผลให้การเข้าทำลายพืชรุนแรงและอาจเพิ่มชนิดของโรคมมากขึ้น อีกทั้งการหมุนเวียนของเชื้อโรคสามารถเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็ว อาทิ เช่น โรคขอบใบแห้ง (bacterial blight disease) จัดเป็นโรคข้าวที่สำคัญ เนื่องจากมีการระบาดรุนแรง ทำความเสียหายในแหล่งปลูกข้าว โดยเฉพาะในเขตชลประทาน ส่วนในน่าน้ำฝนจะเกิดการระบาดหากสภาพแวดล้อมเหมาะสม เช่น มีระดับน้ำในนาสูง การระบายน้ำไม่ดี ฝนตกพรา

มีพายุ น้ำท่วม เป็นต้น (พยอม โคเบลลี, 2566) การทำนาโดยใช้พันธุ์ข้าวพันธุ์เดียว มีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนสูง และใช้ระยะปักดำชิดกัน จะทำให้เกิดโรคขอบใบแห้งระบาดรุนแรงและรวดเร็ว แนวทางหนึ่งที่มีความสำคัญและมีประสิทธิภาพสูงในการป้องกันโรคขอบใบแห้ง คือ การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง (อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ, 2557) ดังนั้น การปรับปรุงพันธุ์ข้าวเพื่อให้ได้พันธุ์ข้าวที่ตรงความต้องการนั้น ต้องผ่านการคัดเลือกพันธุ์ ทดสอบพันธุ์และนำมาเปรียบเทียบผลผลิตในขั้นตอนสุดท้ายของสายพันธุ์ข้าวที่ผ่านการคัดเลือกมา โดยการเปรียบเทียบผลผลิตภายในสถานี (Intra-Station Yield Trial) เปรียบเทียบผลผลิตระหว่างสถานี (Inter-Station Yield Trial) และเปรียบเทียบผลผลิตภายในนาของเกษตรกร (Regional Yield Trial) (กองวิจัยและพัฒนาข้าว, 2565) ตามขั้นตอนดังกล่าวมา หลังจากคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่ให้ผลผลิตสูง จึงคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวมาทดสอบการเกิดโรคขอบใบแห้ง

โรคขอบใบแห้ง ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) (Ishiyama, 1922) ทำให้ผลผลิตและคุณภาพข้าวลดลง อาการของโรคจะเกิดรอยแผลแห้งตามความยาวของใบ พบอาการระยะแรกในระยะแตกกอเต็มที่ และปรากฏอาการรุนแรงในระยะออกดอก (Ou, 1985) เกิดรอยขีดที่ขอบใบของใบล่าง ต่อมาจุดขีดจะกลายเป็นสีเหลืองยาวตามใบข้าว ที่แผลมีหยดสีครีมคล้ายยางสนกลม ๆ ขนาดเล็กเท่าหัวเข็มหมุด ต่อมาจะกลายเป็นสีน้ำตาลและหลุดไปตามน้ำหรือฝน แผลนี้เมื่อนานไปจะเปลี่ยนเป็นสีเทา ใบที่เป็นโรคขอบใบแห้งและม้วนตามความยาว (ปริศนา วงศ์ล้อม และคณะ, 2558) ข้าวที่เป็นโรคนี้นั้นผลผลิตจะลดลง 20-30 เปอร์เซ็นต์ และอาจสูงถึง 60 เปอร์เซ็นต์ ในข้าวพันธุ์อ่อนแอต่อโรค (ดวงกมล บุญช่วย และคณะ, 2555) การแพร่ระบาดในแปลง เชื้อแบคทีเรียสามารถแพร่กระจายโดยไปกับน้ำ ลม ฝน ในสภาพที่มีความชื้นสูง มักทำให้เกิดโรคได้อย่างรวดเร็วและกว้างขวาง (ทัศนีย์ สงวนสัจ, 2540) อย่างไรก็ตามเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* มีความหลากหลายในประชากร ส่งผลให้เกิดโรคซ้ำหลังจากใช้พันธุ์ต้านทานไม่นาน ความไม่คงทนของพันธุ์กรรมข้าวต้านทานมีหลายสาเหตุ คือ การปลูกพันธุ์ข้าวอ่อนแอต่อเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* ที่ระบาดอยู่ในปัจจุบัน และการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมของประชากรเชื้อ (ปริศนา วงศ์ล้อม และคณะ, 2558) Eamchit และ Mew (1982) ศึกษาเชื้อจากพื้นที่ปลูกข้าวในประเทศไทยระหว่างปี ค.ศ. 1974-1978 จำนวน 37 ไอโซเลท จัดแบ่งเชื้อได้เป็น 3 กลุ่ม จากการตอบสนองของข้าว 4 สายพันธุ์ คือ ข้าวพันธุ์ IR8 ไม่มียีนต้านทาน IR20 มียีนต้านทาน *Xa4*, IR1545 ที่มียีนต้านทาน *xa5* และ DV85 มียีนต้านทาน *xa5* และ *Xa7* พบว่า ข้าวที่มียีน *xa5* และ *Xa7* จะต้านทานการเข้าทำลายของเชื้อทุกไอโซเลท ซึ่งโรคขอบใบแห้งจึงเป็นปัญหาแก่เกษตรกรอย่างมาก ปัจจุบันกรมการข้าวพันธุ์ข้าวที่มีความต้านทานโรคขอบใบแห้งหลากหลายพันธุ์ เช่น พันธุ์ปทุมธานี 1 ซึ่งลักษณะประจำพันธุ์เป็นข้าวเจ้าไม่ไวต่อช่วงแสง อายุเก็บเกี่ยว 104-106 วัน ความสูง 104-133 เซนติเมตร มีปริมาณอมิโลส 15-19 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลผลิตเฉลี่ย 650-774 กิโลกรัมต่อไร่ ลักษณะเด่น ผลผลิตสูง คุณภาพเมล็ดคล้ายพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลและเพลี้ยกระโดดหลังขาว ต้านทานโรคไหม้ และโรคขอบใบแห้ง ข้อควรระวัง คือ ค่อนข้างอ่อนแอ เพลี้ยจักจั่นสีเขียว โรคใบหงิก และโรคใบสีส้ม และพันธุ์ข้าวที่อ่อนแอต่อโรคขอบใบแห้ง เช่น พันธุ์ กข97 ลักษณะประจำพันธุ์เป็นข้าวเจ้าหอมไม่ไวต่อช่วงแสง อายุการเก็บเกี่ยว 111-114 วัน ความสูง 107 เซนติเมตร มีปริมาณอมิโลส 15.25 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลผลิตเฉลี่ย 737 กิโลกรัมต่อไร่ มีศักยภาพการให้ผลผลิต 976 กิโลกรัมต่อไร่ ลักษณะเด่นค่อนข้างต้านทานต่อโรคไหม้ เหมาะสำหรับปลูกในพื้นที่นาชลประทาน ข้อควรระวัง คือ อ่อนแอต่อโรคขอบใบแห้ง และเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล

การปรับปรุงพันธุ์พืช มีวัตถุประสงค์เพื่อให้มีความต้านทานต่อโรคเป็นวิธีการหนึ่งในการแก้ไขปัญหาที่มีความยั่งยืนในการป้องกันโรค และเป็นวิธีที่ประหยัด เนื่องจากช่วยลดการใช้สารเคมีที่มีผลกระทบต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อมทั้งทางตรงและทางอ้อม แต่การที่จะได้มาซึ่งพันธุ์ต้านทานนั้นก็ต้องมีแหล่งของความต้านทานต่อโรคที่จะนำมาใช้ในการพัฒนาพันธุ์ให้มีลักษณะต้านทานต่อโรคนั้น ๆ (ไพศาล เหล่าสุวรรณ และคณะ, 2547) การศึกษารุ่นนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อประเมินลักษณะความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งของสายพันธุ์ข้าว สำหรับการศึกษาหาแหล่งของลักษณะความต้านทานต่อโรคจึงเป็นแนวทาง

ขั้นต้นที่สำคัญต่อการพัฒนาพันธุ์ข้าวให้มีศักยภาพทางด้านผลผลิตและคุณภาพ เพื่อสนับสนุนงานด้านการปรับปรุงพันธุ์ข้าว และเพิ่มทางเลือกการผลิตข้าวให้แก่เกษตรกร

อุปกรณ์และวิธีการ

1. อุปกรณ์

1.1 สายพันธุ์ข้าว

สายพันธุ์ข้าวพันธุ์ผสมชั่วที่ 6-8 ซึ่งเป็นการปลูกสายพันธุ์ข้าวที่มีความคงตัวทางพันธุกรรม มีลักษณะทางการเกษตรที่สม่ำเสมอ ได้แก่ อายุออกดอก ความสูง ทรงต้น การแตกกอ อายุการเก็บเกี่ยว และผลผลิตสูง จำนวน 13 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ R1005, R1013, R1016, R2006, R2017, R2020, R2022, R2024, R3001, R3007, R3017, R3018 และ R3021 พันธุ์มาตรฐานเปรียบเทียบ คือ พันธุ์ข97 ซึ่งมีความอ่อนแอต่อโรคขอบใบแห้ง และพันธุ์พุมธานี1 ที่มีความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง (กองวิจัยและพัฒนาข้าว, 2565)

1.2 อุปกรณ์ทางการเกษตร เช่น ปุ๋ย จอบ กระถาง และป้าย

1.3 อุปกรณ์ในการเลี้ยงเชื้อและปลูกเชื้อ

1.4 เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*

2. วิธีปฏิบัติการทดลอง

2.1 การเก็บตัวอย่างเชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

สุ่มเก็บตัวอย่างใบข้าวที่แสดงอาการโรคขอบใบแห้ง นำตัวอย่างใบข้าวที่แสดงอาการโรคขอบใบแห้งมาแยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค tissue transplanting ตัดชิ้นส่วนที่เป็นโรคเป็นชิ้นสี่เหลี่ยม ขนาด 3 x 3 มิลลิเมตร ตรงบริเวณรอยต่อระหว่างส่วนที่เป็นโรคกับส่วนที่ไม่เป็นโรค (1 : 3 ส่วน) ทำการฆ่าเชื้อด้วย 0.6 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไฮโปคลอไรต์ เป็นเวลา 2 นาที และ 70 เปอร์เซ็นต์ แอลกอฮอล์ เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ซับตัวอย่างใบข้าวให้แห้งด้วยกระดาษกรอง 2 ชั้น ที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว และนำชิ้นส่วนใบข้าวไปวางไว้บนอาหาร Nutrient Agar (NA) จำนวน 3-4 ชิ้นต่อจานเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2-3 วัน (พะยอม โคเบลลี, 2566) นำกลุ่มโคโลนีแบคทีเรียที่เจริญออกมาจากขอบแผลซึ่งมีลักษณะโคโลนีสีเหลือง ย้ายเชื้อไปทำ cross streak plate บนอาหาร NA บ่มที่ อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ประมาณ 4 วัน แล้วเลือกโคโลนีเดี่ยว มาศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา และนำไปเลี้ยงบนอาหาร NA อีกครั้งเพื่อให้ได้เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์และเพิ่มปริมาณเชื้อแล้วเก็บรักษาในกลีเซอรอล 20 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้เป็นแหล่งเชื้อในการศึกษาต่อไป (พะยอม ศรีจำปา และคณะ, 2542 ; พะยอม โคเบลลี และคณะ, 2558)

2.2 ทดสอบปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าว ต่อโรคขอบใบแห้งในจังหวัดสุพรรณบุรี

2.2.1 การเตรียมสารแขวนลอยแบคทีเรียจากเชื้อบริสุทธิ์

นำเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกไว้ จากข้อ 2.1 มาเลี้ยงบนอาหาร NA บ่มที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน เมื่อพบกลุ่มแบคทีเรียขึ้นก็ทำการเลือกโคโลนีเดี่ยว ๆ ที่ขึ้นอยู่ส่วนใหญ่ซึ่งมีลักษณะโคโลนีสีเหลืองอ่อน รูปร่างกลม นูน และผิวเรียบ (พะยอม โคเบลลี, 2566) ไปเลี้ยงเพิ่มปริมาณเชื้อแบคทีเรียในอาหาร Nutrient Broth (NB) เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และตรวจนับปริมาณเชื้อแบคทีเรียเจือจางสารละลาย (dilution) และเกลี่ยเชื้อ (spread plate) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อ และคำนวณเชื้อได้ปริมาณเชื้อ 1×10^8 โคโลนีต่อมิลลิลิตร เนื่องจากสามารถทำให้ข้าวพันธุ์อ่อนแอสูงต่อขอบใบแห้งให้ค่าคะแนนที่ระดับ 9 ซึ่งเป็นค่าคะแนนระดับความรุนแรงที่สูงสุด 21 วัน หลังจากปลูกเชื้อ

2.2.2 การปลูกข้าวทดสอบและการปลูกเชื้อด้วยวิธี clipping method

เตรียมการเพาะข้าวระหว่างเดือนตุลาคม 2566 ถึง เดือนธันวาคม 2566 จำนวนสายพันธุ์ข้าว 13 สายพันธุ์ พันธุ์มาตรฐาน 2 สายพันธุ์ คือ กข97 เป็นพันธุ์อ่อนแอต่อโรคขอบใบแห้ง และ ปทุมธานี1 เป็นพันธุ์ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง จำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 10 กระถางต่อสายพันธุ์ แช่น้ำข้ามคืน แล้วนำไปเพาะในกล่องขึ้นเป็นเวลา 7 วัน ย้ายต้นกล้าปลูกในกระถางพลาสติกเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 12 เซนติเมตร ปลูกกระถางละ 1 ต้น เมื่อข้าวอายุได้ 7 และ 14 วัน ใส่ปุ๋ยสูตร 16-20-0 อัตรา 0.2 กรัมต่อกระถาง ปลูกเชื้อทดสอบเมื่อข้าวแตกกอสูงสุด ประมาณ อายุ 60 วัน เตรียมสารแขวนลอยของเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* บริสุทธิ์ ความเข้มข้น 1×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ใช้กรรไกรจุ่มสารแขวนลอยของเชื้อ แล้วตัดปลายใบข้าว (clipping method) ลงไปประมาณ 0.5-1 นิ้ว วัดจากปลายใบของใบที่อยู่ส่วนบนสุดของต้น ต้นละ 3 ใบ การบันทึกข้อมูล บันทึกปฏิกิริยาของสายพันธุ์/พันธุ์ข้าว หลังปลูกเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้ง ประมาณ 14-21 วัน หรือ เมื่อข้าวพันธุ์อ่อนแอมาตรฐานแสดงอาการของโรคขอบใบแห้งรุนแรงที่ระดับคะแนน 5-7 โดยพิจารณาจากพื้นที่ใบที่ถูกทำลายเป็นหลัก ซึ่งแบ่งระดับคะแนนและลักษณะอาการของโรคขอบใบแห้ง ตาม Standard Evaluation System for Rice (IRRI, 1996) โดยข้อมูลที่ใช้การศึกษา คือ เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค (disease incidence) และความรุนแรงของโรค (disease severity) หลังจากปลูกเชื้อ 14 วัน

$$\text{เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค} = \frac{\text{จำนวนต้นที่แสดงอาการของโรค} \times 100}{\text{จำนวนต้นทั้งหมด}} \quad (1)$$

$$\text{ความรุนแรงของโรค} = \frac{\text{ส่วนของพืชที่เป็นโรค} \times \text{ค่าดัชนีของการเกิดโรค (\%)}}{\text{ส่วนของพืชทั้งหมด}} \quad (2)$$

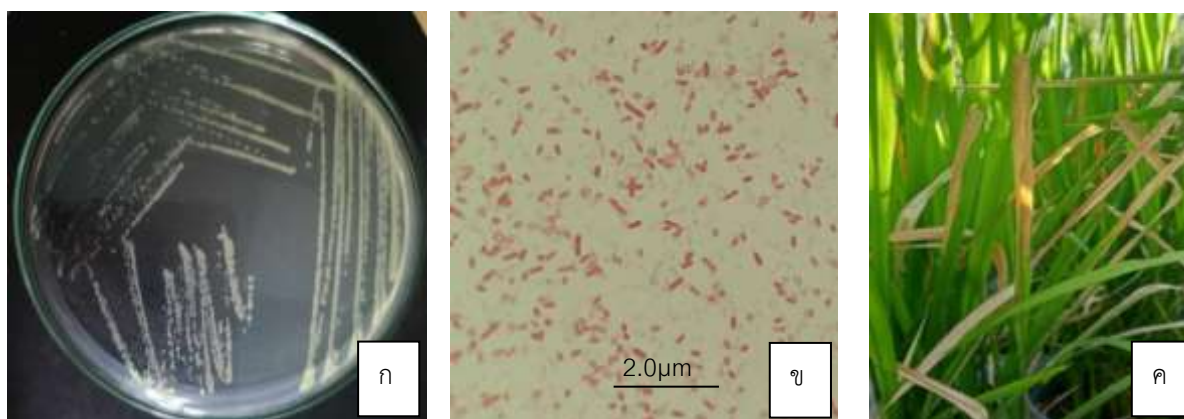
ตารางที่ 1 ระดับคะแนนและลักษณะอาการของโรคขอบใบแห้ง ในสภาพเรือนทดลอง

ระดับคะแนน	ลักษณะอาการ
1	เกิดแผล 0-3% ของพื้นที่ใบข้าว
2	เกิดแผล 4-6% ของพื้นที่ใบข้าว
3	เกิดแผล 7-12% ของพื้นที่ใบข้าว
4	เกิดแผล 13-25% ของพื้นที่ใบข้าว
5	เกิดแผล 26-50% ของพื้นที่ใบข้าว
6	เกิดแผล 51-75% ของพื้นที่ใบข้าว
7	เกิดแผล 76-87% ของพื้นที่ใบข้าว
8	เกิดแผล 88-94% ของพื้นที่ใบข้าว
9	เกิดแผล 95-100% ของพื้นที่ใบข้าว และมีใบแห้งตายทั้งใบ

หมายเหตุ Standard Evaluation System for Rice (IRRI, 1996; 2014) 0-1 = ด้านทานสูง (HR), 2 = ด้านทาน (R), 3 = ด้านทานปานกลาง (MR), 4-6 = อ่อนแอปานกลาง (MS), 7 = อ่อนแอ (S), 8-9 = อ่อนแอสูง (HS)

ผลและวิจารณ์ผล

จากการทดลองคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวจำนวน 13 สายพันธุ์ เพื่อศึกษาปฏิกิริยาต่อโรคขอบใบแห้ง และสุมเก็บตัวอย่างใบข้าวที่แสดงอาการโรคขอบใบแห้ง นำตัวอย่างใบข้าวที่แสดงอาการโรคขอบใบแห้งมาแยกเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค tissue transplanting การตรวจสอบด้วยสัณฐานวิทยา พบว่าโคโลนีของเชื้อบนอาหาร NA มีลักษณะกลมมน ผิวเรียบ มันเยิ้ม มีเมือก และสร้างรงควัตถุสีเหลือง (ภาพที่ 1 ก) เมื่อทำการย้อมเซลล์แบคทีเรีย พบว่า เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างแบบท่อน (gram negative rod) มีขนาดประมาณ 0.5-0.8X1.0-2.0 μm (ภาพที่ 1 ข) ทดสอบปฏิกิริยาการเกิดโรคตามวิธีการพิสูจน์โรคของ Koch (Koch's postulation) ข้าวพันธุ์ กข97 โดยใช้วิธีการ clipping method หลังปลูกเชื้อ 14-21 วัน พบลักษณะอาการเป็นแผลรอยฉ่ำน้ำ ต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเทาเป็นทางยาวตามแนวขอบใบ (ภาพที่ 1 ค)



ภาพที่ 1 ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* บนอาหาร NA (ก), การย้อมเซลล์แบคทีเรีย *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (ข), อาการของโรคขอบใบแห้งบนข้าว กข97 ตามวิธีการพิสูจน์โรคของ Koch (Koch's postulation) (ค)

หลังจากเตรียมปลูกข้าวจำนวน 13 สายพันธุ์ และ 2 พันธุ์มาตรฐานเปรียบเทียบ ปลูกเชื้อด้วยวิธี clipping method พบสายพันธุ์ข้าวที่แสดงปฏิกิริยาความต้านทานสูง (HR) 4 สายพันธุ์ R2006 มีพื้นที่ใบข้าวที่เชื้อเข้าทำลาย 1 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สายพันธุ์ R3001, R3018 และ R3021 มีพื้นที่ใบข้าวที่เชื้อเข้าทำลาย 2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สายพันธุ์ที่แสดงปฏิกิริยาความต้านทาน (R) 1 สายพันธุ์ คือ R1005 มีพื้นที่ใบที่ถูกทำลาย 4 เปอร์เซ็นต์ สายพันธุ์ที่แสดงปฏิกิริยาอ่อนแอสูง (HS) 2 สายพันธุ์ คือ R2022 และ R1013 มีพื้นที่ใบที่ถูกทำลาย 88 และ 89 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ สายพันธุ์ที่แสดงปฏิกิริยาอ่อนแอ (S) 2 สายพันธุ์ คือ R1016 และ R2020 มีพื้นที่ใบที่ถูกทำลาย 78 และ 77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสายพันธุ์ที่แสดงปฏิกิริยาอ่อนแอปานกลาง (MS) 4 สายพันธุ์คือ R2017, R2024, R3007 และ R3017 มีพื้นที่ใบที่ถูกทำลาย 16, 15, 15 และ 14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่พันธุ์มาตรฐานเปรียบเทียบต้านทาน พันธุ์ปทุมธานี 1 นั้น อ่อนแอปานกลาง (MS) และพันธุ์มาตรฐานเปรียบเทียบอ่อนแอ พันธุ์กข97 แสดงปฏิกิริยาอ่อนแอสูง (HS) (ตารางที่ 2) จากการทดลองศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวจำนวน 13 สายพันธุ์ และ 2 พันธุ์มาตรฐานเปรียบเทียบ ต่อโรคขอบใบแห้ง พบว่าสายพันธุ์ข้าวแต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการต้านทานเชื้อโรคขอบใบแห้งที่แตกต่างกัน เนื่องมาจากการทดลองศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวจำนวน 13 สายพันธุ์ และ 2 พันธุ์มาตรฐานเปรียบเทียบ ต่อโรคขอบใบแห้ง พันธุ์มาตรฐานเปรียบเทียบต้านทาน พันธุ์ปทุมธานี 1 นั้นค่อนข้างอ่อนแอปานกลาง (MS) ซึ่งแสงชัย (2552) ประเมินความหลากหลายของเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* จำนวน 90 ไอโซเลต จากพื้นที่ปลูกข้าวในภาคกลาง เหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ทดสอบปฏิกิริยาตอบสนองต่อชุดข้าวสายพันธุ์คู่แฝด (NILs) 9 สายพันธุ์ที่มียืนต้านทาน xa3, xa4, xa5, xa7, xa8, xa10, xa13, xa14 และ xa21

จัดแบ่งกลุ่มเชื้อได้ 25 กลุ่ม พบว่าอินตันทาน xa5 สามารถต้านทานต่อเชื้อทุกกลุ่มที่นำมาทดสอบ จารูวิ อันเซตา และคณะ (2565) พบว่าสำหรับภาคกลาง จังหวัดสุพรรณบุรีมีความหลากหลายของเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* สูงสุด โดยในพื้นที่มีการปลูกข้าวหลากหลายสายพันธุ์ ได้แก่ กข41, กข47, กข57, กข61, กข71, ขาวดอกมะลิ 105 และปทุมธานี1 และมีการปลูกพันธุ์เดิมอย่างต่อเนื่อง สอดคล้องกับ Mew *et al.* (1992) ที่พบว่าการปลูกพันธุ์เดิมต่อเนื่องมีผลต่อการปรับตัวและความหลากหลายของประชากรเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* ส่วนใหญ่ในภาคกลาง เช่นเดียวกับรายงานของนงรัตน์ นิลพานิชย์ (2551), แสงชัย ศรีประโคน (2552) และปริศนา วงศ์ล้อม และคณะ (2558) ที่พบว่า ประชากรเชื้อ *X. oryzae* pv. *oryzae* ในเขตภาคกลางมีการพัฒนาปรับตัวให้สามารถเข้าทำลายอินตันทาน xa5 ได้แล้ว และมีการกระจายตัวอยู่ในหลายจังหวัดภาคกลาง โดยเชื้อสามารถเข้าทำลายข้าวพันธุ์ปทุมธานี1 ที่เคยรายงานว่าเป็นพันธุ์ต้านทานโรคขอบใบแห้งได้ (กองวิจัยและพัฒนาพันธุ์ข้าว, 2566) ซึ่งการใช้พันธุ์ข้าวที่มีอินตันทานเพียงอย่างเดียว หรือปลูกข้าวเพียงพันธุ์เดียวเป็นระยะเวลานาน จะทำให้เกิดการกลายพันธุ์และปรับตัวให้ข้าวสูญเสียความต้านทานและเกิดโรคได้ (Kosawang *et al.*, 2006)

ตารางที่ 2 การประเมินลักษณะความต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งของสายพันธุ์ข้าวในจังหวัดสุพรรณบุรี

ลำดับ	สายพันธุ์/พันธุ์	เปอร์เซ็นต์การเกิดโรค	ระดับความรุนแรง	ความต้านทานต่อโรค ขอบใบแห้ง
1	R1005	4	2	R
2	R1013	89	8	HS
3	R1016	78	7	S
4	R2006	1	1	HR
5	R2017	16	4	MS
6	R2020	77	7	S
7	R2022	88	8	HS
8	R2024	15	4	MS
9	R3001	2	1	HR
10	R3007	15	4	MS
11	R3017	14	4	MS
12	R3018	2	1	HR
13	R3021	2	1	HR
14	RD97 (susceptible check)	88	8	HS
15	PTT1 (resistant check)	14	4	MS

หมายเหตุ Standard Evaluation System for Rice (IRRI, 1996 ; 2014) 0-1 = ต้านทานสูง (HR), 2 = ต้านทาน (R), 3 = ต้านทานปานกลาง (MR), 4-6 = อ่อนแอปานกลาง (MS), 7 = อ่อนแอ (S), 8-9 = อ่อนแอสูง (HS)

สรุป

จากการศึกษาปฏิกิริยาสายพันธุ์ข้าวจำนวน 13 สายพันธุ์ และ 2 พันธุ์มาตรฐานเปรียบเทียบกับโรคขอบใบแห้ง พบสายพันธุ์ที่แสดงปฏิกิริยาความต้านทานมาก (HR) 4 สายพันธุ์คือ R2006, R3001, R3018 และ R3021 ในขณะที่พันธุ์มาตรฐานเปรียบเทียบกับต้านทาน พันธุ์ ปทุมธานี1 นั้นอ่อนแอปานกลาง (MS) และพันธุ์มาตรฐานเปรียบเทียบกับอ่อนแอ พันธุ์ กข97 แสดงปฏิกิริยาอ่อนแอมาก (HS) สายพันธุ์ข้าวเจ้าไม่วิถีต่อช่วงแสงที่แสดงปฏิกิริยาความต้านทานมาก (HR) สามารถนำมาเป็น

ข้อมูลสนับสนุนงานด้านปรับปรุงพันธุ์ข้าวในประเทศไทยให้มีการพัฒนาข้าวพันธุ์ที่ดี ด้านทานโรคขอบใบแห้ง และเพิ่มทางเลือกให้แก่เกษตรกรคัดเลือกพันธุ์ข้าวที่ดี ด้านทานโรคขอบใบแห้งเพื่อลดต้นทุนการผลิตข้าวและวิธีการกำจัดเชื้อก่อโรคของเกษตรกร

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรระยอง ที่ให้ความอนุเคราะห์ให้ห้องปฏิบัติการสำหรับดำเนินการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- กองวิจัยและพัฒนาพันธุ์ข้าว. (2565). *องค์ความรู้เรื่องข้าว*. 21 ธันวาคม 2565, เข้าถึงได้จาก : <https://newwebs2.ricethailand.go.th/webmain/rkb3/title-index.php-file=content.php&id=67.htm>.
- จารุวิ อันเซตา, อธิรุท ตูจินดา, คณินนิตย เจริญวรการ และสุจินต์ ภัทรภูวดล. (2565). การกระจายตัวของสายพันธุ์เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* ในภาคกลางของประเทศไทย. *วารสารแก่นเกษตร*, 50(1) : 204-215.
- ดวงกมล บุญช่วย, อนรรฆพล บุญช่วย, ดวงพร วิรุทธิต และเสน่ห์ ศุขรัตน์. (2555). การลดระดับความรุนแรงของโรค โดยวิธีผสมผสาน. ใน *เอกสารประกอบสัมมนาวิชาการกลุ่มศูนย์ภาคเหนือตอนบนและตอนล่าง ประจำปี 2555*. (หน้า 127-143). กรุงเทพฯ : สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว.
- ทัศนีย์ สงวนสัจ. (2540). บทบาทของพันธุ์กรรมต้านทานโรคและแมลงกับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวของไทย. ใน *การสัมมนาทางวิชาการเรื่องพัฒนาข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ครั้งที่ 9* (หน้า 125-134). พิษณุโลก : ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร.
- นงรัตน์ นิลพานิชย์. (2551). *โรคที่เกิดจากแบคทีเรีย*. กรุงเทพฯ : สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว.
- ปริศนา วงศ์ล้อม, จุฑาทพ วัชรไชยคุปต์, สุจินต์ ภัทรภูวดล และวิชัย โสสิตรัตน. (2558). การประเมินความหลากหลายในการก่อโรคของสายพันธุ์เชื้อ *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร*, 46(2) : 165-175.
- พยอม โคเบลลี. (2566). *โรคขอบใบแห้ง Bacterial Leaf Blight Disease*. กรุงเทพฯ : สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว.
- พยอม โคเบลลี, สมใจ สาลีโท, อิศรา หวังสมบูรณ์ดี, อนุชาติ คชสถิต, จิตติมา วงศ์หนองหว้า, วราพงษ์ ชมาพฤกษ์, รัศมี รุติเกียรติพงศ์, วิชชุดา รัตนกาญจน์, นุชกานต์ ศิลป์ประสิทธิ์, พรพรรณ ถิรธิดา และ สิริดา อ่อนเจริญ. (2558). การใช้เครื่องหมายโมเลกุลชนิด STS สำหรับงานปรับปรุงพันธุ์ข้าวไทยให้ต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งแบบคงทนถาวร. *วารสารวิชาการข้าว*, 6(1) : 56-69.
- พยอม ศรีจำปา, พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์, สมาน คำมา และธวัชชัย พรหมรักษา. (2542). โรคขอบใบแห้งและเทคนิคการคัดพันธุ์ข้าวต้านทานต่อโรคขอบใบแห้ง (Bacterial Blight and Screening Technique for Bacterial blight Resistance in Rice). ใน *เอกสารประกอบการประชุมวิชาการข้าวธัญพืชเมืองหนาว 2542* (หน้า 30-31). กรุงเทพฯ : สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว
- พยอม ศรีจำปา, สมาน คำมา, ธวัชชัย พรหมรักษา, จิรพงศ์ ไกรรินทร์, และกิตติพงษ์ เพ็งรัตน์. (2541). ผลการสำรวจและประเมินผลโรคแมลงและศัตรูข้าวในสภาพแปลงนาข้าวน้ำฝนเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง. ใน *รายงานผลการสำรวจโรค แมลงและศัตรูข้าวในนา ศัตรูข้าวในน่าน้ำฝน กันยายน 2540* (หน้า 1-9). กรุงเทพฯ : สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว.
- ไพศาล เหล่าสุวรรณ, อารีย์ วรณัฐวัฒน์ และปิยะดา ทิพย์ผ่อง. (2547). *หลักการปรับปรุงพันธุ์พืช*. นครราชสีมา : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2564). สถานการณ์การผลิตและการตลาดรายสัปดาห์ 1-7 มีนาคม 2564. 6 สิงหาคม 2564, เข้าถึงได้จาก : <https://www.oae.go.th/view>.
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2565). ข้าวนาปรัง เนื้อที่เพาะปลูก เนื้อที่เก็บเกี่ยว ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ระดับประเทศ ภาค และจังหวัด ปี2565 ที่ความชื้น 15%. 21 ธันวาคม 2566. เข้าถึงได้จาก : <https://www.oae.go.th/assets/portals/1/files/seed%2065>.
- แสงชัย ศรีประโคน. (2552). การจำแนกและจัดกลุ่มเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้ง (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) และการบ่งชี้ตำแหน่งยีนต้านทานในข้าวพื้นเมืองเชียงราย (*Oryza sativa* L.). วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์ มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ, รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์, วิชชุดา รัตนากาญจน์, วันพร เข้มมุกด์, สิทธิ ใจสงฆ์, พันนิภา ยาใจ, ปิยะวรรณ ไยดี, นจรีนทร์ จังชันธ, กรสิริ ศรีนิล, ธราพร ยืนยงค์, ดวงกมล บุญช่วย, อนรรฆพล บุญช่วย, ดวงพร วิรุจิตรต์, นิตยา รื่นสุข, เฉลิมขวัญ ฉิมวัย, เฉลิมชาติ ฤไชยคาม, กนกอร ดอกไม้เทศ, วรณพรรณ จันลาภา, ทศดาว เกตุเนตร, เฉลิมพล เฉลิมพลโยธิน, สมหมาย ศรีวิสุทธิ, นพดล ประยูรสุข, ชนสิริน กลิ่นมณี และเสาวนีย์ ศรีบัว. (2557). ผลของการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศที่มีต่อชนิดของเชื้อสาเหตุ และการระบาดของโรคข้าวในนาชลประทานที่ปลูกต่อเนื่อง. ใน รายงานการประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาว ครั้งที่ 31 (หน้า 241-263). กรุงเทพฯ : สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว.
- Eamchit, S. and Mew, T.W. (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. Philippines : Los Baños, Laguna.
- IRRI. (2014). *Standard Evaluation System for Rice* (5th ed.). International Rice Research Institute. Philippines : P.O. Box 933, Manila.
- Ishiyama, S. (1922). Studies of bacterial leaf blight of rice. *Report of the Imperial Agricultural Station, Nishigahara (Konosu)*, 45 : 233-261.
- Kosawang, C., Smitamana, P., Toojinda, T., Nilpanit, N., and Sirithunya, P. (2006). Amplified fragment length polymorphism fingerprinting differentiates genetic diversity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* from Northern Thailand. *Journal of phytopathology*, 154(9) : 550-555.
- Mew, T.W., Cruz, C.M.V, and Medalla, E.S. (1992). Changes in race frequency of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in response to rice cultivars planted in the Philippines. *Plant Disease*, 76 : 1029-1032.
- Ou, S.H. (1985). *Rice Disease* (2nd ed.). United Kingdom : Common wealth Agricultural Bureaux.
- Swing J.M, Mooter, V.B., Vauterrin, M., Hoste, L., Gillis, B., Mew, T.W., Wang, T., and Keresters, K. (1990). Reclassification of the causal agents of bacterial blight (*Xanthomonas campestris* pv. *oryzae*) of rice as pathovar of *Xanthomonas oryzae* (ex Ishiyama 1922) sp. Nov., nom. Rev. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 40 : 309-311.