การสำรวจโรคเมล็ดด่างข้าวที่เกิดจากเชื้อราและการพัฒนาวิธีการประเมินโรคในสภาพโรงเรือน

Survey of Dirty Panicle Disease Caused by Fungi and Development of Disease Evaluation Method for Greenhouse Condition

กวินธรรพ์ บุบผา[1], เทิดศักดิ์ สวัสดิ์สุข[1], รัศมี ฐิติเกียรติพงศ์[2]
ศิริพร กออินทร์ศักดิ์[3] และ จินตนา อันอาตม์งาม[1*]
Kawinthun Bubpha[1], Therdsak Sawatsuk[1], Rasamee Dhitikiattipong[2]
Siriporn Korinsak[3] and Jintana Unartngam[1*]

Abstract

Dirty panicle disease caused severe damage for rice production in Thailand. Survey on its occurrence and evaluation method in greenhouse condition was developed. From 20 provinces, the southern part had 99.2 % of disease occurrence, while the central, northern and western parts had 98.7%, 98.0% and 74.3% occurrence, respectively. The collected grains were, then, differentiated based on dirty panicle symptom on seeds. The results showed that seeds from the northern part showed highest severity at 40.2% while those from central, southern and western parts gave 34.2%, 31.9% and 26.3% severity, respectively. The disease evaluation in greenhouse was conducted by inoculation with 10^5 spore/ml. of *Curvularia lunata, Bipolaris oryzae* and *Fusarium incarnatum* on KDML105. The inoculation techniques were used by dropping at the booting stage and spraying at the flowering stage. The results revealed that dropping method with fungal spore suspension showed the symptom faster and more severe than using spraying method. Moreover, the symptom was characterized on 15 rice varieties by inoculation with three fungal species. The results showed that 4 levels of symptom were classified as level 1 (0.1 mm. black spot) to level 4 (black lesions 50 – 75% of seed). This evaluation method of rice dirty panicle could be easily used for plant breeding program in greenhouse condition.

Keywords: Rice, dirty panicle disease, *Curvularia lunata*, *Bipolaris oryzae*, *Fusarium incarnatum*

---

[1] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม ประเทศไทย
Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture at Kamphaengsaen Kasetsart University, Nakhon Pathom Thailand.
[2] สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ ประเทศไทย
Bureau of Rice Research and Development, Rice Department, Ministry of agriculture and Cooperatives, Thailand
[3] หน่วยปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม 73140
Rice Gene Discovery, BIOTEC, NSTDA, Kasetsart University, Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand
รับเรื่อง : มิถุนายน 2559
รับตีพิมพ์ : กรกฎาคม 2559
[*] Corresponding author : agrjne@ku.ac.th

บทคัดย่อ

โรคเมล็ดด่างข้าวเป็นโรคที่มีความสำคัญมากในการผลิตข้าวของประเทศไทย การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อสำรวจสถานการณ์ความรุนแรงของโรคเมล็ดด่างข้าวและเพื่อพัฒนาวิธีการประเมินโรคในสภาพโรงเรือน โดยสำรวจแปลงนาใน 20 จังหวัด พบว่าภาคใต้มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค 99.2 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่การสำรวจ ในขณะที่ภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคตะวันตก พบการเกิดโรค 98.7 98.0 และ 74.3 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เมื่อนำมาแยกลักษณะอาการบนเมล็ดตามระดับความรุนแรงของอาการเมล็ดด่าง ภาคเหนือมีความรุนแรงของอาการโรคบนเมล็ดเฉลี่ยเท่ากับ 40.2 คะแนน ของพื้นที่การสำรวจ ในขณะที่ภาคกลาง ภาคใต้และภาคตะวันตกพบการเกิดโรค 34.2 31.9 และ 26.3 คะแนน ตามลำดับ สำหรับการพัฒนาวิธีการประเมินโรคและศึกษาอาการโรคเมล็ดด่างในสภาพโรงเรือน โดยปลูกเชื้อรา *Curvularia lunata Bipolaris oryzae* และ *Fusarium incarnatum* ที่ความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML 105) ซึ่งมีความอ่อนแอต่อเชื้อราสาเหตุโรคโดยวิธีการหยอดสารแขวนลอยสปอร์ในระยะตั้งท้อง และการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ในระยะออกดอก พบว่าวิธีการหยอดสารแขวนลอยสปอร์ในระยะตั้งท้องแสดงอาการของโรคได้เร็วและรุนแรงกว่าการพ่นสารแขวนลอยสปอร์ในระยะออกดอก จากนั้นนำวิธีการปลูกเชื้อแบบหยอดมาใช้ปลูกเชื้อทั้ง 3 ชนิดบนข้าวจำนวน 15 พันธุ์ เมื่อประเมินอาการบนเมล็ดพบว่าลักษณะอาการของโรคเมล็ดด่างแบ่งได้ 4 ระดับ ตั้งแต่ระดับ 1 (แสดงอาการแผลจัด ขนาดเล็กกว่า 0.1 มม.) ถึงระดับ 4 (อาการแผลดำขนาดใหญ่กว่า 50 – 75% ของเมล็ด) จากการทดลองนี้สามารถนำวิธีการประเมินโรคในสภาพโรงเรือนมาใช้สำหรับการคัดเลือกพันธุ์ข้าวต้านทานโรคเมล็ดด่างข้าวได้

คำสำคัญ : ข้าว โรคเมล็ดด่าง *Curvularia lunata Bipolaris oryzae Fusarium incarnatum*

คำนำ

โรคเมล็ดด่างข้าว (dirty panicle) ที่เกิดจากเชื้อรามีอาการบนเปลือกเมล็ดข้าวโดยแสดงอาการจุดสีดำขนาดเล็กและขยายใหญ่ขึ้น ในบางครั้งพบอาการแผลดำขนาดใหญ่หรือเป็นรอยด่างดำทั่วทั้งเมล็ดและเมล็ดลีบ เชื้อราสาเหตุของโรคเมล็ดด่างเข้าทำลายได้ตั้งแต่ช่วงที่ข้าวเริ่มตั้งท้องเป็นต้นไป ซึ่งสาเหตุของโรคเมล็ดด่างนั้นเกิดจากเชื้อรา 6 ชนิด ได้แก่ *C. lunata* (Wakk) *B. oryzae (Helminthosporium oryzae)* (Breda de Haan) *F. incarnatum (F. semitectum)* (Berk & Rav) *Cercospora oryzae* (I.Miyake) *Trichoconis padwickii* (Ganguly) และ *Sarocladium oryzae* (Sawada) เชื้อราเหล่านี้เพิ่มปริมาณโดยการสร้างโคนิเดียซึ่งสามารถแพร่กระจายไปกับน้ำ ลมหรือติดไปกับเมล็ดพันธุ์ข้าว เมื่อข้าวแสดงอาการเมล็ดด่างทำให้สูญเสียทั้งทางด้านคุณภาพและปริมาณ (พากเพียร และคณะ, 2522) เตชินท์ (2543) รายงานว่าข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 3 มีความอ่อนแอต่อโรคเมล็ดด่างและเมื่อตรวจหาสาเหตุพบว่าเกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อราหลายชนิด ได้แก่ *C. lunata F. semitectum* และ *H. oryzae* โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อรา *C. lunata* พบมากที่สุดและพบทั่วไปบนเมล็ดพันธุ์ข้าวที่เก็บมาจากภาคกลางและภาคใต้ของประเทศไทย เชื้อราสามารถเข้าไปทำลายตั้งแต่ข้าวเริ่มติดเมล็ดและพัฒนาต่อไปจนทำให้เกิดอาการเมล็ดด่างและเมล็ดลีบในระยะใกล้เก็บเกี่ยว ส่งผลทำให้เมล็ดพันธุ์เสื่อมคุณภาพ สูญเสียความงอกจนเสียคุณภาพของการเป็นเมล็ดพันธุ์ หากมีการระบาดอย่างหนักทำให้ผลผลิตลดลงหรือไม่สามารถ

นำผลผลิตจากแปลงนั้นมาใช้ทำเมล็ดพันธุ์ข้าวได้ สมศักดิ์ และคณะ (2539) ได้รายงานการปนเปื้อนของเชื้อรากับเมล็ดพันธุ์ข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ปทุมธานี 1 สุพรรณบุรี 1 พิษณุโลก 2 และข้าวขาวดอกมะลิ 105 พบเชื้อราบนเมล็ดพันธุ์ข้าว ได้แก่ *B. oryzae A. padwickii Curvularia* sp. *F. moniliforme* โดยพบเชื้อรา *B. oryzae* และ *A. pedwickii* ปนเปื้อนมากับเมล็ด 19.2% และ 14.4% ตามลำดับ

การพัฒนาพันธุ์ข้าวหรือการปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้เกิดความต้านทานต่อโรคเมล็ดด่างนั้นเป็นการป้องกันและควบคุมการระบาดของโรควิธีหนึ่ง ดังนั้นการสำรวจและเก็บรวบรวมพันธุกรรมเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างเพื่อนำมาใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ข้าวหรือหาแหล่งพันธุกรรมข้าวที่ต้านทานโรคเมล็ดด่างรวมถึงการพัฒนาวิธีการประเมินโรคเมล็ดด่างในสภาพโรงเรือน จึงมีความสำคัญต่อการพัฒนาพันธุ์ข้าวต้านทานโรคเมล็ดด่างและนักปรับปรุงพันธุ์ข้าวสามารถใช้ประโยชน์จากข้อมูลและวิธีการที่พัฒนานี้ได้

อุปกรณ์และวิธีการ

การสำรวจโรคเมล็ดด่างข้าว

สำรวจและเก็บตัวอย่างในประเทศไทยจากพื้นที่เพาะปลูกข้าวที่สำคัญของประเทศไทยจำนวน 20 จังหวัด ได้แก่ ชัยนาท นครปฐม ปทุมธานี พระนครศรีอยุธยา สิงห์บุรี สุพรรณบุรี อ่างทอง นครศรีธรรมราช พัทลุง สงขลา กาญจนบุรี ราชบุรี กำแพงเพชร เชียงราย เชียงใหม่ นครสวรรค์ พิจิตร พิษณุโลก ลำปาง และ สุโขทัย ในระยะใกล้เก็บเกี่ยว โดยสุ่มตัวอย่างในรูปแบบตัว Z แต่ละจุดห่างกัน 10 เมตร สุ่มเก็บจุดละ 10 รวง และนับจำนวนรวงทั้งหมดและจำนวนรวงที่พบเมล็ดข้าวที่แสดงอาการเมล็ดด่างต่อพื้นที่ 1 ตารางเมตร ประเมินการเกิดโรคเมล็ดด่าง โดยคำนวณเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคจาก (จำนวนต้นที่เป็นโรค / จำนวนต้นทั้งหมด) × 100 จากนั้นเก็บตัวอย่างเมล็ดข้าวมาศึกษาลักษณะอาการของโรคเมล็ดด่างตามความรุนแรงที่พบ โดยสุ่มเมล็ดข้าวแปลงละ 400 เมล็ด ตามกฎของ ISTA (International Seed Testing Association) แบ่งความรุนแรงออกเป็น 7 ระดับดังนี้ ระดับ 1 เมล็ดข้าวปกติไม่แสดงอาการ ระดับ 2 เมล็ดข้าวที่มีแผลจุดขนาดเล็กกว่า 0.1 มิลลิเมตร แสดงอาการ 1 – 5% ต่อพื้นที่เมล็ด ระดับ 3 84 เมล็ดข้าวที่มีแผลจุดขนาดใหญ่กว่า 0.1 มิลลิเมตร แสดงอาการ 6 – 25% ต่อพื้นที่เมล็ด ระดับ 4 เมล็ดข้าวที่มีแผลดำ แสดงอาการ 26 – 50% ต่อพื้นที่เมล็ด ระดับ 5 เมล็ดข้าวที่มีแผลดำ แสดงอาการ 51 – 75% ต่อพื้นที่เมล็ด ระดับ 6 เมล็ดข้าวที่มีแผลดำมากกว่า 75% ต่อพื้นที่เมล็ด และระดับ 7 อาการเมล็ดลีบ (ดัดแปลงจาก พรทิพย์, 2545)

การจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา

นำเมล็ดข้าวที่แสดงอาการด่างมาแยกเชื้อราด้วยวิธีการวางเมล็ดข้าวบนกระดาษชื้น (Blotter method) โดยทำการสุ่มเมล็ดข้าวจากตัวอย่าง นำไปล้างด้วย 10% Clorox เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ 3 นาที แล้วนำมาวางบนกระดาษที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เมื่อเมล็ดแห้ง นำไปวางบนจานเลี้ยงเชื้อที่มีกระดาษเพาะเมล็ดที่ชุ่มน้ำ จานละ 25 เมล็ด แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้แสง UV สลับกับความมืด 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน นำมาตรวจดูภายใต้กล้องสเตริโอ โดยตรวจสอบทุกเมล็ดและจำแนกชนิดของเชื้อราด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยการทำสไลด์กึ่งถาวรตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราโดยการเขี่ยส่วนต่างๆ ของเชื้อราที่เจริญบนเมล็ด ได้แก่ ลักษณะก้านชูโคนิเดีย (conidiophores) และโคนิเดีย (conidia) สี จำนวนเซลล์ของโคนิเดียที่เป็นลักษณะจำเพาะของแต่ละจีนัสและสปีชีส์ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ 2 มิติ (compound microscope) ที่กำลังขยาย 20X และ 40X

การพัฒนาวิธีการปลูกเชื้อราและประเมินโรคเมล็ดด่างข้าวในสภาพโรงเรือน

การเตรียมต้นข้าวสำหรับทดสอบวิธีการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างข้าว โดยใช้ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (KDML105) ปลูกข้าวในกระถางขนาด 12 นิ้ว กระถางละ 1 ต้น สำหรับการเตรียมเชื้อรา โดยเลือกชนิดของเชื้อราสาเหตุที่พบการระบาดมากที่สุด 3 อันดับแรก ได้แก่ *C. lunata B. oryzae* และ *F. incarnatum* และเป็นไอโซเลทที่ผ่านการคัดเลือกจากอัตราการเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อและการสร้างสปอร์ เพิ่มปริมาณเชื้อราโดยเลี้ยงเชื้อราทั้ง 3 ชนิดบนอาหาร PDA บ่มเชื้อราที่อุณหภูมิห้อง ภายใต้แสง UV สลับมืด เป็นเวลา 14 วัน แล้วนำเชื้อรามาเตรียมสปอร์แขวนลอย ที่ความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

การทดสอบระยะของข้าวที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบโรค โดยการพ่นสปอร์แขวนลอย ที่ความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในระยะการเจริญเติบโตต่างๆ ได้แก่ ระยะกล้า (อายุ 30 วัน) ระยะตั้งท้อง ระยะออกดอก ในสภาพโรงเรือน โดยทำการทดสอบจำนวน 3 ซ้ำต่อระยะการทดสอบในระยะตั้งท้องและระยะออกดอกประเมินผลการเกิดโรคในวันที่ 3 7 10 14 และ 21 วันหลังปลูกเชื้อ ในระยะกล้าติดตามผลการเกิดโรคจนกระทั่งถึงระยะออกดอกเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม

การทดสอบวิธีการปลูกเชื้อที่เหมาะสมโดยใช้วิธีการหยอดสปอร์แขวนลอยเชื้อราที่ความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตรเข้าไปในช่อดอกของข้าวขณะที่ข้าวกำลังตั้งท้องและพ่นสปอร์แขวนลอย ที่ความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร เข้าไปที่ดอกของข้าวในระยะออกดอก ประเมินโรคเมล็ดด่างทุก 3 วันหลังจากปลูกเชื้อรา

การศึกษาการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุทั้ง 3 ชนิดบนข้าวพันธุ์ต่าง ๆ

การปลูกเชื้อราทดสอบโรคบนข้าวพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ กข9 กข31 กข49 น้ำสะกุย19 41พวงเตี้ย 41 พวงสูง KDML105 ชัยนาท1 IR72 IR29 สังข์หยดพัทลุง ดอสามเดือน YANDON ARC 10550 IR62266 โดยปลูกเชื้อรา 3 ชนิด ได้แก่ *C. lunata* (SPB0627) *B. oryzae* (NPT0508) และ *F. incarnatum* (CNT0901) ด้วยวิธีการหยอดสปอร์แขวนลอยในระยะตั้งท้องแบบแยกต้นในแต่ละพันธุ์ด้วยสปอร์แขวนลอยที่ความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร ปลูกเชื้อราโดยวิธีการหยอดสปอร์แขวนลอยในระยะตั้งท้อง เก็บข้อมูลโดยสังเกตอาการที่แสดงบนเมล็ดข้าวและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเมล็ดด่างบนรวงข้าว

ผลและวิจารณ์

การสำรวจโรคเมล็ดด่างข้าวในประเทศไทย

จากการสำรวจโรคเมล็ดด่างข้าวในแปลงปลูกข้าวของเกษตรกรใน 20 จังหวัด จำนวน 194 แปลงในช่วงเดือนมิถุนายน ถึง เดือนตุลาคม 2557 โดยภาคใต้ ได้แก่ จ.พัทลุง (10 แปลง) จ.นครศรีธรรมราช (10 แปลง) และ จ.สงขลา (10 แปลง) ภาคกลาง ได้แก่ จ.ชัยนาท (10 แปลง) จ.นครปฐม (10 แปลง) จ.ปทุมธานี (10 แปลง) จ.พระนครศรีอยุธยา (10 แปลง) จ.สิงห์บุรี (10 แปลง) จ.สุพรรณบุรี (10 แปลง) จ.อ่างทอง (10 แปลง) ภาคเหนือและภาคเหนือตอนล่าง ได้แก่ จ.กำแพงเพชร (2 แปลง) จ.เชียงราย (12 แปลง) จ.เชียงใหม่ (10 แปลง) จ.นครสวรรค์ (10 แปลง) จ.พิจิตร (10 แปลง) จ.พิษณุโลก (10 แปลง) จ.ลำปาง (10 แปลง) จ.สุโขทัย (10 แปลง) และภาคตะวันตก ได้แก่ จ.ราชบุรี (10 แปลง) จ.กาญจนบุรี (10 แปลง) พบว่า เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในภาคกลาง ภาคใต้ ภาคเหนือ และภาคเหนือตอนล่าง และภาคตะวันตกมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในแปลงเท่ากับ 77.7 – 100% 91.4 – 100% 47.9 – 100% และ 25.8 – 100% ตามลำดับ จากการแยกระดับความรุนแรงของอาการโรคเมล็ดด่างจากตัวอย่างที่สำรวจมา พบว่า ในภาคกลาง ภาคใต้ ภาค

เหนือและภาคเหนือตอนล่าง และภาคตะวันตก มีความรุนแรงของโรคบนเมล็ดอยู่ในช่วง 18.2 – 52.5% 7.1 – 57.7% 12.5 – 76.2% และ 5.3 – 59.5% ตามลำดับ (Figure 1) นำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในแปลงมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม Statistix 8.0 หาความต่างทางสถิติด้วย LSD Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่า การเกิดโรคในภาคกลาง ภาคใต้ ภาคเหนือและภาคเหนือตอนล่างไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยพบว่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในภาคกลาง ภาคใต้ ภาคเหนือและภาคเหนือตอนล่าง มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเฉลี่ยเท่ากับ 98.7 99.1 และ 98.0 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ แต่ในภาคตะวันตกมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคแตกต่างทางสถิติกับภาคอื่นๆ โดยพบว่ามีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในแปลงเฉลี่ยเท่ากับ 74.3 เปอร์เซ็นต์ จากการแยกระดับความรุนแรงของอาการโรคเมล็ดด่างจากตัวอย่างที่สำรวจมา นำข้อมูลความรุนแรงมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม Statistix 8.0 หาความต่างทางสถิติด้วย LSD Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% พบว่าความรุนแรงของอาการโรคเมล็ดด่างบนเมล็ดแตกต่างกันทางสถิติ โดยพบว่าภาคเหนือความรุนแรงของโรคบนเมล็ด ในภาคกลาง ภาคใต้ และภาคเหนือตอนล่าง และภาคตะวันตกมีคะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 40.2 34.8 31.9 และ 26.3 คะแนน (Table 1) จากข้อมูลของศูนย์ภูมิอากาศ สำนักพัฒนาอุตุนิยมวิทยา รายงานว่าในช่วงเดือนพฤษภาคม ถึงเดือนตุลาคม 2557 ประเทศไทยมีอากาศที่ร้อนถึงร้อนมากและมีฝนฟ้าคะนองกระจายทั่วทุกพื้นที่ทำให้มีสภาพอาการร้อนแห้งสลับร้อนชื้นสภาพอากาศดังกล่าวมีผลต่อการเพิ่มปริมาณของเชื้อราสาเหตุและการระบาดของโรคเมล็ดด่างข้าวซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อชนิดของเชื้อสาเหตุและการระบาดของโรคข้าวในเขตภาคเหนือตอนบน ภาคเหนือตอนล่าง ภาคกลาง ภาคใต้ และภาคตะวันออก พบว่าช่วงเดือนมิถุนายนถึงเดือนธันวาคม ปี 2556 เป็นช่วงที่สภาพภูมิอากาศมีการเปลี่ยนแปลง อุณหภูมิสูงขึ้น ความชื้นลดลง ฝนตกไม่สม่ำเสมอ เป็นสภาวะที่เหมาะต่อการเกิดโรคเมล็ดด่าง ทำให้เชื้อราสาเหตุโรคเพิ่มปริมาณและระบาดได้ดี (เฉลิมขวัญ และคณะ, 2557)

การจำแนกชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างด้วยลักษณะสัณฐานวิทยา

จากการตรวจสอบลักษณะเส้นใยและสปอร์ของเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างบนเมล็ดข้าวที่สุ่มเก็บตัวอย่างจากแปลงปลูก 20 จังหวัด โดยการแยกเชื้อด้วยวิธี blotter พบว่า มีเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนมาของเชื้อราสาเหตุโรคเฉลี่ย 63.80% โดยพบเชื้อรา *C. lunata* 43.4% *B. oryzae* 9.40% *F. incarnatum* 9.30% และ *Trichoconis padwickii* 2.30% (Table 2) จากการศึกษาพบว่าสปอร์ของเชื้อรา *C. lunata* มีขนาด 3 – 4 เซลล์รูปร่างโค้ง ปลายเรียว เซลล์ตรงกลางมีขนาดใหญ่และมีสีเข้ม เซลล์หัวท้ายมีสีอ่อน เส้นใยมีสีเข้ม เชื้อรา *B. oryzae* สร้างสปอร์รูปร่างคล้ายกระบองขนาด 5 – 12 เซลล์มีสีน้ำตาล เกิดบนก้านชูสปอร์ เส้นใยมีสีเข้ม เชื้อรา *F. incarnatum* พบสปอร์แบบ macrospore รูปร่างโค้ง หัวท้ายแหลม มีขนาด 5 – 7 เซลล์ ใสไม่มีสี เชื้อรา *T. pedwickii* สร้างเส้นใยสีขาวเจริญปกคลุมเมล็ดข้าว พบสปอร์รูปร่างทรงกระบอง มีสีเข้มกว่าเส้นใย (Figure 2)

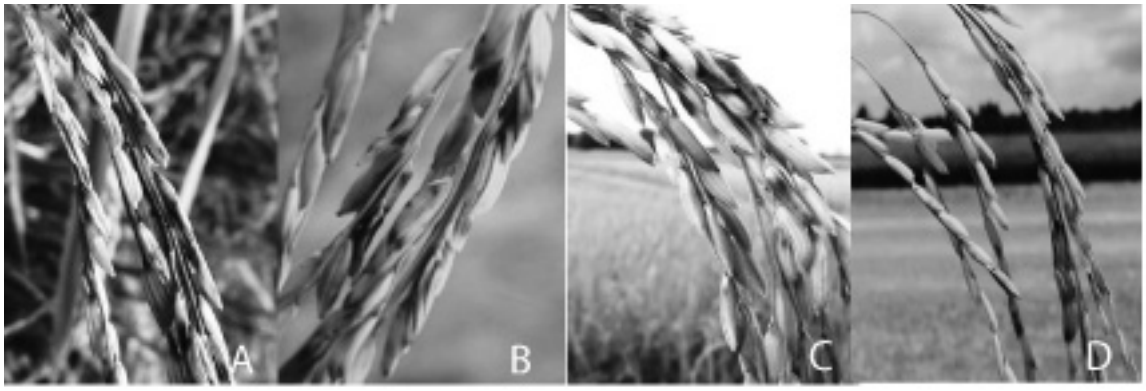

Figure 1 Rice dirty panicle symptom in paddy fields in (A) Chainat (B) Nakhon Si Thammarat (C) Sukhothai (D) and Pathum Thani Province

Table 1 Percentages of disease incidence in the field and disease severity on rice seed

Location	Disease incidence	Disease severity
Western	$74.3^{b} \pm 2.3$	$26.3^{c} \pm 2.8$
Northern	$98.0^{a} \pm 1.2$	$40.2^{a} \pm 2.2$
Central	$98.7^{a} \pm 1.2$	$34.8^{ab} \pm 1.5$
Southern	$99.1^{a} \pm 1.9$	$31.8^{bc} \pm 1.4$
CV (%)	11.03	37.37

* Mean values ± standard error. Means with different lowercase superscript letters were significantly different ($P \leq 0.05$).

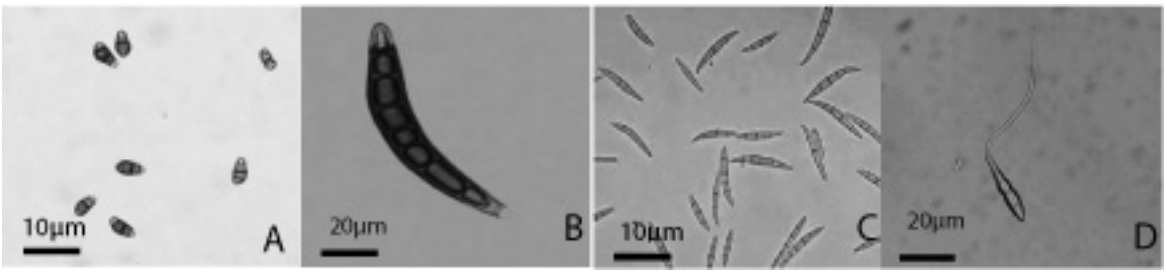

Figure 2 Conidial morphology of rice dirty panicle fungi (A) *Curvularia lunata* (B) *Bipolaris oryzae* (C) *Fursarium incarnatum* (D) *Trichoconis padwickii*

Table 2 Percentage of rice dirty party panicle fungi observed by blotter method

Location	Provinces	Percent of pathogen	*B.O**	*C.L**	*F.I**	*T.P**	Other
Central	Chainat	98.8	3.3	92.7	2.0	0.8	1.2
	Nakhon Pathom	72.5	9.8	45.3	15.8	1.5	27.5
	Sing Buri	69.5	9.5	47.7	8.4	3.8	30.5
	Suphan Buri	61.3	7.1	42.5	10.2	1.5	38.7
	Ang Thong	56.1	5.0	35.1	14.6	1.3	43.9
	Pathum Thani	22.2	1.2	20.2	0.8	0	77.8
	Ayutthaya	27.8	2.8	25	0	0	72.2
	average	58.3	5.5	44.1	7.4	1.3	41.7
Southern	Nakhon Si Thammarat	55.2	9.2	43.1	2.9	0.0	44.8
	Songkhla	82.6	15.2	62.4	5.0	0.0	17.4
	Phatthalung	61.5	6.5	48.7	6.3	0.0	38.5
	average	66.5	10.3	51.4	4.7	0.0	33.5
West	Kanchanaburi	71.1	17.6	42.6	10.9	0.0	28.9
	Ratchaburi	76.2	14.6	50.6	11.0	0.0	23.8
	average	73.6	16.1	46.6	11.0	0.0	26.4
Northern	Phi chit	65.5	8.8	49.4	7.2	0.0	34.5
	Nakhon Sawan	56.2	10.5	41.8	3.9	0.0	43.8
	Sukhothai	40.0	8.3	29.6	2.1	0.0	60.0
	Phitsanulok	59.4	11.6	42.6	5.3	0.0	40.6
	Kamphaeng Phet	78.0	2	42	36	10	22
	Chiang Rai	79.5	36.7	39.0	3.9	0.0	20.5
	Chiang Mai	66.2	2.6	30.6	24.0	12.6	33.8
	Lampang	68.9	1.3	31.1	17.3	17.3	31.1
	average	64.2	10.2	38.2	12.5	5.0	35.8
	Average in Thailand	63.80	9.40	43.43	9.30	2.30	36.20

**B.O=Bipolaris oryzae,C.L=Curvularia lunata,F.I=Fusarium incarnatum, T.P= Trichoconis padwickii*

การพัฒนาเทคนิคการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างข้าวในสภาพโรงเรือน

การพัฒนาวิธีการประเมินโรคเมล็ดด่างในสภาพโรงเรือน โดยทดสอบระยะของข้าวที่เหมาะสมต่อการเกิดโรคตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงระยะออกรวงก่อนเก็บเกี่ยวพบว่าในระยะที่มีการพ่นสปอร์แขวนลอยและติดตามการเกิดโรคจนข้าวออกรวงพบว่ามีการเกิดโรคน้อยมากเท่ากับวิธีการควบคุมที่ไม่ได้ปลูกเชื้อราทั้ง 3 ชนิด (Figure 3) ดังนั้นการ ทดสอบวิธีการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างจึงเลือกทดสอบในระยะตั้งท้องและระยะออกดอกโดยวิธีการหยอดสปอร์แขวนลอยเข้าไปในกาบหุ้มรวงข้าวในระยะตั้งท้องเปรียบเทียบกับการวิธีการพ่น สปอร์แขวนลอยในระยะออกดอก พบว่า การปลูกเชื้อโดยวิธีการหยอดสปอร์แขวนลอยมีการเกิดโรคเร็วกว่าและมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคสูงกว่าตั้งแต่ 3 วันหลังการปลูกเชื้อเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการพ่นสปอร์แขวนลอยในระยะออกดอก (Figure 4) ในการพัฒนาเทคนิคการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างข้าวโดยการหยอดสปอร์แขวนลอยในระยะตั้งท้องเป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุดในการปลูกเชื้อและการเก็บผลการทดลองทุกวันที่ 3 7 10 14 และ 21 วันหลังจากปลูกเชื้อ เนื่องจากภายในกาบหุ้มรวงมีความชื้นสูงซึ่งเป็นสภาพที่เหมาะสมต่อการพัฒนาโรคของเชื้อราและลดการปนเปื้อนจากภายนอก ซึ่งวิธีการหยอดสปอร์แขวนลอยเป็นวิธีการที่ได้มีการพัฒนาใช้กับการทดสอบโรคไหม้คอรวง โดยหยอดสปอร์แขวนลอยของเชื้อราที่บริเวณกาบใบธงข้าว พันธุ์ KTH17 และ พันธุ์ข้าว กข23 ขาวดอกมะลิ105 ในระยะตั้งท้องสามารถทำให้ข้าวแสดงอาการไหม้คอรวงได้เร็ว (Apichart *et al.,* 2006)

การศึกษาการก่อโรคของเชื้อราสาเหตุทั้ง 3 ชนิดบนข้าวพันธุ์ต่าง ๆ

จากการศึกษาลักษณะอาการของโรคเมล็ดด่างบนข้าว 15 สายพันธุ์ โดยการปลูกเชื้อด้วยเชื้อราทั้ง 3 ชนิด พบว่าอาการของโรคเมล็ดด่างแบ่งออกเป็น 4 ระดับ ดังนี้ ระดับ 1 แสดงอาการแผลจุดขนาดเล็กกว่า 0.1 มิลลิเมตร พบบนพันธุ์ 41พวงสูง IR62266 กข31 IR72 กข49 ระดับ 2 แสดงอาการแผลจุดขนาดใหญ่กว่า 0.1 มิลลิเมตร พบบนพันธุ์ IR29 ARC10550 ระดับ 3 แสดงอาการแผลดำใหญ่น้อยกว่า 50% ของพื้นที่เมล็ด พบบนพันธุ์ ดอสามเดือน สังข์หยดพัทลุง ชัยนาท1 น้ำสะกุย19 และระดับ 4 แสดงอาการแผลดำขนาดใหญ่ 50 – 75% ของพื้นที่เมล็ด พบบนพันธุ์ กข9 KDML105 41พวงเตี้ย Yandogon โดยข้าวแต่ละสายพันธุ์ตอบสนองต่อเชื้อราทั้ง 3 ชนิดเหมือนกัน (Figure 5) จากการปลูกเชื้อทดสอบในสภาพโรงเรือน จึงได้กำหนดเกณฑ์มาตรฐานการประเมินโรคเมล็ดด่างข้าว ได้เป็น 6 ระดับ คือ ระดับ 0 ไม่แสดงอาการของโรค (highly resistant) ระดับ 1 แผลจุดขนาดเล็กกว่า 0.1 มิลลิเมตร (resistant) ระดับ 2 แผลจุดขนาดใหญ่กว่า 0.1 มิลลิเมตร (moderately resistant) ระดับ 3 แผลดำใหญ่น้อยกว่า 50% ของพื้นที่เมล็ด (moderately susceptible) ระดับ 4 แผลดำขนาดใหญ่ 50 – 75% ของพื้นที่เมล็ด (susceptible) และระดับ 5 แสดงอาการเมล็ดดำมากกว่า 75% ของพื้นที่เมล็ด รวมถึงอาการเมล็ดลีบ (highly susceptible) (Table 3) โดยวิธีการประเมินนี้ได้กำหนดเกณฑ์ทั้งลักษณะอาการและเปอร์เซ็นต์ความเสียหายบนเมล็ดค่อนข้างชัดเจนและประเมินได้สะดวกเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการประเมินที่ใช้ทั่วไปโดยสังเกตจากลักษณะอาการบนเมล็ด (พรทิพย์, 2545)

สรุป

การสำรวจโรคเมล็ดด่างข้าวและเก็บข้อมูลความเสียหายจากโรคเมล็ดด่างพบว่า เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคในแปลงและความรุนแรงของโรคบนเมล็ดมีความแตกต่างกันไป เมื่อนำมาสำรวจเชื้อราบนเมล็ดโดยวิธี Blotter และศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาพบ

เปอร์เซ็นต์การปนเปื้อนของเชื้อราสาเหตุโรค 63.80 เปอร์เซ็นต์ และพบเชื้อรา 4 ชนิด ได้แก่ *C. lunata* ซึ่งเป็นเชื้อราสาเหตุโรคที่พบมากที่สุด *B. oryzae F. incarnatum* และ *T. padwickii* ตามลำดับ การพัฒนาวิธีการปลูกเชื้อราในสภาพโรงเรือนพบว่าการหยอดสปอร์แขวนลอยที่ความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตรเข้าไปที่กาบหุ้มรวงข้าวระยะตั้งท้องเป็นวิธีการที่เหมาะสมที่สุด และจากการศึกษาการก่อโรคของเชื้อราบนข้าวพันธุ์ต่าง ๆ สามารถจัดระดับอาการเพื่อการประเมินโรคบนรวงเป็น 6 ระดับ ในการศึกษานี้สามารถนำข้อมูลความเสียหายการพบเชื้อราสาเหตุโรคที่สำคัญ วิธีการทดสอบโรคและการประเมินโรคไปใช้เป็นพื้นฐานในการศึกษาต่อไป นอกจากนี้ยังเป็นประโยชน์ต่อการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวที่มีแนวโน้มต้านทานต่อเชื้อราสาเหตุโรคเมล็ดด่างเพื่อการปรับปรุงพันธุ์ข้าวของประเทศไทย

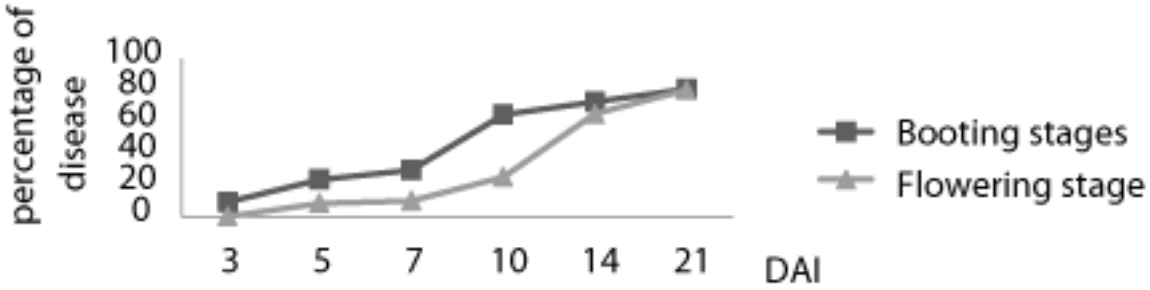

Figure 3 Percentage of dirty panicle occurrence on KDML 105 variety by inoculation with *Curvularia lunata* suspensions in booting and flowering stages

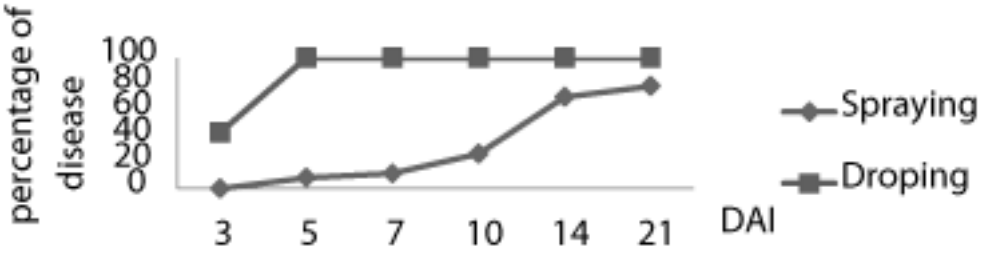

Figure 4 Percentage of dirty panicle occurrence on KDML 105 variety inoculation with *Curvularie lunata* suspensions by injection method in booting and spraying method in flowering stages

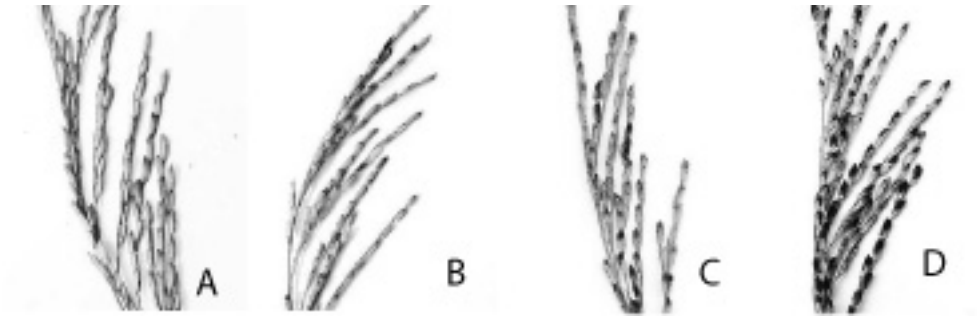

Figure 5 Rice dirty panicle symptom on different varieties after inoculation by dropping method with *Bipolaris oryzae* spores suspensions at 21 day after inoculation A: 41 POUNGSUNG B: IR 29 C: CHAINAT 1 D: RD 9

Table 3 Symptom and disease severity of rice dirty panicle evaluated in greenhouse condition

Symptom	Level
No symptom	0
Spot 0.1 mm.	1
Spot higher 0.1 mm.	2
Black lesions 26-50% of seed and more than 50% of panicle	3
Black lesions higher 50 - 75% of seed	4
Black lesions higher more 75% of seed	5

คำขอบคุณ

ผลการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ขอขอบคุณห้องปฏิบัติการค้นหาและใช้ประโยชน์ยีนข้าว กรมการข้าวและภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐมที่เอื้ออำนวยสถานที่และวัสดุอุปกรณ์ในการทำงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

Apichart, N., A. Vanavichitb, T. Toojindac, P. Sirithunyad, S. Tragoonrunge, S. Sriprakhonc and C. Vongsapromc. 2006. QTL mapping for leaf and neck blast resistance in Khao Dawk Mali105 and Jao Hom Nin Recombinant inbred lines. Sci.Asia. 32:133 – 142.

Chalermkwan, C., N. Ruensuk, A. Na Lampang Noemplab and Y. Petcharaporn 2014. Seasonal changes in rice diease epidemics at Pathum Thani rice Research Center. p. 62 – 72 *In* Proceeding of rice research conference 2013. Rice research center groups in central, eastern and western region, Pathum Thani, Thailand. (in Thai)

Somsak, T., K. Phumphunjai, S. Junbuathong, L. Arayarungrarit and S. Disthaporn. 1996. Quality of farmer's rice seeds and their contaminants in each region. Sci. Tech. J. p. 87 – 97. (In Thai)

Tawatchai, S. and T. Teerawudtitorn. 2000. Effectiveness of prochloraz 45 percent EC and prochloraz/carbendazim 38 percent SC for dirty panicle control. p. 107 – 108. *In* Proceedings of the fourth national plant protection conference technology of plant protection in next decade, Thailand. (In Thai)

Parkpian, A., A. Surin, W. Sirisantana, N. Napeerong and K. Bhudhasamai. 1979. Studies on rice seed discoloration disease. *In* Research Report in 1979. Plant Pathology and Microbiology Division. Department of Agriculture, Bangkok, Thailand. (In Thai)

Porntip, T. 2002. Effect of dirty panicle disease on rice seed vigor. Thai Agric. Res. J.