

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

การจำแนกพันธุกรรมของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้
(*Pyricularia grisea*) ในประเทศไทยด้วยสายพันธุ์ข้าว
และเครื่องหมายโมเลกุลที่เฉพาะกับยีน *Avirulence 3* ยีน

ผู้เขียน

นางสาวศิริธรณ์ สุระจินดา

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ. ดร. ประสาทพร สมิตะมาน ประธานกรรมการ
ดร. ปัทมา ศิริธัญญา กรรมการ

บทคัดย่อ

ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างเชื้อรา *Pyricularia grisea* สาเหตุของโรคไหม้กับข้าวพันธุ์ทดสอบ โดยทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคของเชื้อ (Pathotype) ของเชื้อจำนวน 75 ไอโซเลทกับพันธุ์ข้าวทดสอบจำนวน 29 สายพันธุ์ สามารถจำแนกเชื้อ 7 กลุ่มที่ระดับความเหมือน 75% ซึ่งข้าวแต่ละสายพันธุ์มีการตอบสนองต่อการเข้าทำลายของเชื้อราที่มีระดับความรุนแรงแตกต่างกันและพบว่าระดับความรุนแรงจะแตกต่างกันตามสภาพแวดล้อมของแต่ละแห่ง โดยกลุ่มที่ 4 เป็นเชื้อกลุ่มใหญ่ที่สุด มีจำนวนเชื้อรา 55 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 73.3 ของจำนวนเชื้อทั้งหมด ประกอบด้วยเชื้อที่มาจากทุกภาคของประเทศซึ่งเชื้อส่วนใหญ่มาจากภาคเหนือ โดยกลุ่มอื่น ๆ มีจำนวนไอโซเลทของเชื้อราในแต่ละกลุ่มไม่มากนัก ในขณะที่ยีนเมื่อนำข้อมูล Pathotype มาจัดกลุ่มสายพันธุ์ข้าวสามารถจัดแบ่งกลุ่มพันธุ์ข้าวได้ 2 กลุ่มใหญ่ คือกลุ่ม A และกลุ่ม B ที่ระดับความเหมือน 50% โดยสายพันธุ์ข้าวจะแบ่งกลุ่มตามความสามารถต้านทานโรค กลุ่ม A สามารถแยกได้เป็น 4 กลุ่มย่อยที่ระดับความเหมือน 75% กลุ่ม A เป็นกลุ่มพันธุ์ข้าวที่มีต้านทานต่อโรคตั้งแต่อ่อนแอ ปานกลางและต้านทาน ส่วนกลุ่ม B ถือว่าเป็นกลุ่มพันธุ์ข้าวที่มีต้านทานต่อโรคไหม้อย่างสูง สอดคล้องกับการวิเคราะห์ความต้านทานของพันธุ์ข้าวต่อเชื้อราสาเหตุโรคไหม้แบบกว้าง (Broad Spectrum Resistance, BSR) โดยพบว่าพันธุ์ข้าวคือ CT9993 ข้าวเจ้าหอมนิล ข้าวชัยนาท1 CT13432 ข้าวสุพรรณบุรี60 ข้าวท่าดอกแขก1 ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ BSR มีระดับความต้านทานสูงสุดเท่ากับ 98.6 97.3 96.0 95.8 94.4 และ 92.0% ตามลำดับ และข้าว NILs ที่มียีนต้านทาน *Pi1 Pi33* และ *Pi2* ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ BSR ระหว่าง 92.0 ถึง 98.7 % ซึ่งพันธุ์ข้าวเหล่านี้

จัดเป็นพันธุ์ต้านทาน ส่วนสายพันธุ์ข้าวที่ให้ค่าความต้านทานต่ำ ได้แก่ ข้าวพันธุ์ Sariceltik ขาวหอมดอกมะลิ105 IR68144 และ CO39 ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ BSR ที่ต่ำคือ 1.4 2.7 12.0 33.3 ตามลำดับ ซึ่งพันธุ์เหล่านี้จัดเป็นพันธุ์อ่อนแอต่อเชื้อราโรคไหม้ เมื่อนำผลการปลูกเชื้อมาหาค่าเปอร์เซ็นต์ Aggressiveness ซึ่งบอกระดับความรุนแรงของเชื้อราสาเหตุโรคไหม้ต่อพันธุ์ข้าวทดสอบพบว่าเชื้อจากภาคเหนือมีความรุนแรงมากที่สุดถึง 36.36% รองลงมาคือภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกและภาคใต้ตามลำดับ

การจำแนกพันธุกรรมเชื้อสาเหตุโรคไหม้ด้วยเครื่องหมายโมเลกุลที่เฉพาะกับยีน Avirulence (AVR) ของเชื้อสาเหตุโรคจำนวน 3 ยีน คือ *ACE1 AVR-Pita* และ *AVR-CO39* โดยอาศัยเทคนิค PCR-based method พบว่า เครื่องหมายโมเลกุล *ACE1* ที่เฉพาะกับยีนต้านทานของข้าวคือ *Pi33* สามารถตรวจพบในประชากรมากที่สุดจากเชื้อราทั้งหมด คิดเป็น 73.3% เครื่องหมายโมเลกุล *AVR-Pita* ที่เฉพาะกับยีนต้านทานของข้าว *Pi-ta* ตรวจพบ 56.0 % และเครื่องหมายโมเลกุล *AVR-CO39* ที่เฉพาะกับยีนต้านทานของข้าว *Pi-a* ซึ่งตรวจพบน้อยที่สุด คิดเป็น 37.3 % และสามารถจัดกลุ่มเชื้อราสาเหตุโรคออกเป็น 8 กลุ่มตามการกระจายตัวของ AVR gene โดยที่แต่ละกลุ่มประกอบด้วยจำนวนสมาชิกแตกต่างกัน กลุ่มที่ 3 เป็นกลุ่มใหญ่ที่สุด เชื้อราโรคไหม้ในกลุ่มนี้มาจากทุกภาคของประเทศไทย พบว่ามีการกระจายตัวของ *AVR-Pita* และ *ACE1* แต่ไม่มี *AVR-CO39*

การศึกษานี้แสดงให้เห็นพันธุ์ข้าวที่เป็นแหล่งพันธุกรรมของยีนต้านทานโรคไหม้และยีนต้านทานที่มีแนวโน้มให้ความต้านทานได้ดีกับประชากรของเชื้อสาเหตุโรคไหม้ในประเทศไทย คือ ยีน *Pi1 Pi2 Pi33* และ *Pi-ta*

Thesis Title Genetic Identification of Rice Blast Pathogens (*Pyricularia grisea*) in Thailand by Rice Cultivars and Molecular Marker Specific to 3 *Avirulence* Genes

Author Miss Sirithorn Surajinda

Degree Master of Science (Biotechnology)

Thesis Advisory Committee

Assoc. Prof. Dr. Prasartporn Smitamana Chairperson

Dr. Pattama Sirithunya Member

Abstract

The relationships between rice and blast pathogen (*P. grisea*) were studied by pathotypic testing of 75 blast isolates with 29 rice cultivars. According to phenotypic characters, there were 7 groups of blast pathogen dividing at 75% similarity level. The predominant group is group 4 representing 73.3% of the total examined isolates across Thailand, and most of them were originated from the northern part while other groups comprised seldom isolates. On the other hand, rice cultivars clustering based on rice cultivars, only 2 major groups A and B at 50% similarity were identified. Group A comprised various rice varieties which assigned into 4 subgroups at 75% similarity level. Group A showed several resistant characters from susceptible to resistant, while group B was highly resistant group which was consensus on the result from broad spectrum analysis. Rice cultivars CT9993, Jao Hom Nin, Chainat1, CT13432, Supanburi60 and TDK1 gave the highest BSR scores at 98.6, 97.3, 96.0, 95.8, 94.4 and 92.0 % , respectively. Near-Isogenic lines containing resistant gene *Pi1*, *Pi33* and *Pi2* valued BSR between 92.0 to 98.7 % which were blast resistant cultivars. The cultivars of low BSR values such as Sariceltik, KDML105, IR68144 and CO39 awarded only 1.4%, 2.7%, 12.2% and 33.3% were classified to susceptible cultivars. Pathotypic scorings were subjected to calculate percentage of aggressiveness representing pathogens' severity. Pathotypic analysis mirrored pathogen existing

in northern area was the most virulent at 36.36% following by ones from north-east, central, east, and south consecutively.

Identifying blast pathogen with 3 avirulence gene markers *ACE1*, *AVR-Pita*, and *AVR-CO39* was performed through PCR-based method. The pathogen's avirulence genes *ACE1*, *AVR-Pita*, and *AVR-CO39* were specific with *Pi33*, *Pi-ta* and *Pi-a* resistance genes. According to the results, *ACE1* was detected the most in population representing 73.33% while *AVR-Pita* gene was discovered 56.0% and 37.3% for *AVR-CO39*. A total of 8 groups were formed based on 3 avirulence genes; each individual group made up of various isolate. Group 3, carrying *AVR-Pita* and *ACE1*, was predominant group with most of the member came from over Thailand.

This study represent the cultivar that are able to use as genetic resource to improve of rice breeding programme in Thailand and we can see that the resistant genes *Pi1*, *Pi33* and *Pi-ta* are the most preferable resistance gene in Thailand.