Thesis Title Genetic Diversity of Bacterial Leaf Blight Pathogen in the Northern Thailand Using Near-Isogenic Lines, Insert-Sequence and AFLP Markers

Author Mr. Chatchai Kosawang

Degree Master of Science (Biotechnology)

Thesis Advisory Committee Assoc. Prof. Dr. Prasatporn Smitamana

Dr. Pattama Sirithunya

Abstract

Thirty-isolate of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* causing agent of rice bacterial leaf blight was collected from different rice-producing area in the northern Thailand. They were brought to evaluate for their virulence on 25 rice lines having a series of resistance genes: IRBB2 (*Xa*2), IRBB3 (*Xa*3), IRBB4 (*Xa*4), IRBB5 (*xa*5), IRBB7 (*Xa*7), IRBB8 (*xa*8), IRBB10 (*Xa*10), IRBB11 (*Xa*11), IRBB13 (*xa*13), IRBB14 (*Xa*14), IRBB21 (*Xa*21), 6 accession numbers from 2 wild rice species (*Oryza nivara* and O. *rufipogon*), and 7 lines were traditional and improved rice cultivars. In addition, two molecular tools, Insert-sequence PCR (IS-PCR) and AFLP, were used to access the genotypic diversity of bacterial blight pathogen.

According to the results, twenty lineages were found within this investigation with only one or two genes changing in pathotypic pattern. The resistance gene *Xa*4

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

found to be the best resistance gene in potential use against *X. oryzae* pv. *oryzae* in northern region. The additional resistance genes were *Xa*3, *xa*5, *xa*13, *Xa*14, and *Xa*21. Furthermore, the resistance gene *Xa*2, *Xa*7, *xa*8, and *Xa*10 deemed to be susceptible to northern isolates of bacterial leaf blight. Wild relatives of rice did not constitute the resistance gene in this study while traditional and improve rice presented vary reactions dependent on pathogen isolates.

Three clusters of pathogens were categorised by pathotypic divison. Isolates in cluster II were widely distributed throughout northern rice growing areas while cluster I and III were much area-specific clustering. Each cluster responded to different resistance genes presented the pathogen diversity in northern area and also suggested the distinguish strategies in manipulation of resistance gene employment. IS-PCR and AFLP revealed the different in number of genotypic clusters whereas IS-PCR bared a total of 28 bands and AFLP explored the larger number of DNA band at total of 221 bands. Therefore, four clusters were identified by IS-PCR and five clusters by AFLP. According to statistical analysis, AFLP seemed to be more robust and reliable in categorisation than IS-PCR. Bootstrap pointed out the exacting values in AFLP clustering as well as cophenetic value despite Insert-sequence markers give moderate evaluation. The results of this study will facilitate the deployment of effective resistance to *X. oryzae* pv. *oryzae* in northern Thailand through the breeding programme.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Key words: *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, genetic diversity, near-isogenic lines, insert-sequence, AFLP

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวในภาคเหนือของประเทศไทยโดยใช้ Near-Isogenic Lines เครื่องหมายโมเลกุลดีเอนเอ Insert-Sequence และ AFLP
ผู้เขียน	นายชัชชัย โกษาวัง
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. ประสาทพร สมิตะมาน ดร. ปัทมา ศิริธัญญา

อัตตานำ ทมยันต์ ลัณฑิตา
CHIANG MAI UNIVERSITY 1964

บทคัดย่อ

เชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวจำนวน 30 ตัวอย่างที่รวบรวมจากแหล่งปลูกข้าวต่าง ๆ ทั่วภาคเหนือเพื่อนำมาประเมินความรุนแรงโดยปลูกพันธุ์ข้าวทดสอบที่มียีนต้านทานต่างกันจำนวน 25 พันธุ์คือ IRBB2(*Xa*2) IRBB3(*Xa*3) IRBB4(*Xa*4) IRBB5(*xa*5) IRBB7(*Xa*7) IRBB8 (*xa*8) IRBB10(*Xa*10) IRBB11(*Xa*11) IRBB13(*xa*13) IRBB14(*Xa*14) IRBB21(*Xa*21) รวมทั้งข้าวป่า 6 หมายเลขจาก 2 สกุลคือ *Oryza nivara*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

และ *O. rufipogon* และข้าวปลูกจำนวน 8 พันธุ์และประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งของข้าวโดยวิธี Insert-sequence PCR (IS-PCR) และ AFLP

ผลการทดลองพบว่าสามารถจำแนกเชื้อออกได้ 20 สายพันธุ์โดยแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกันเพียงรูปแบบของความต้านทานที่เกิดขึ้นโดยยีนหนึ่งหรือสองยีนเท่านั้น ยีนต้านทาน *Xa*4 ให้ผลการทดสอบดีที่สุดกับเชื้อทั้ง 30 ตัวอย่างและเหมาะสำหรับนำไปใช้กับภาคเหนือ ในขณะที่ยีนต้านทานอื่น ๆ คือ *Xa*3 x*a*5 x*a*13 *Xa*14 และ *Xa*21 ให้ลักษณะของความต้านทานดีเป็นที่น่าพึงพอใจ อย่างไรก็ตามพบว่ายีนต้านทาน *Xa*2 *Xa*7 *xa*8 และ*Xa*10 อ่อนแอต่อเชื้อตัวอย่างในการทดสอบครั้งนี้เช่นเดียวกับข้าวป่าทั้ง 6 หมายเลขไม่ให้ลักษณะของความต้านทานต่อเชื้อขอบใบแห้ง ในขณะที่ข้าวปลูกให้ลักษณะของความต้านทานแตกต่างกันออกไปตามเชื้อตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ

เมื่อจำแนกถึงกลุ่มของเชื้อสาเหตุของโรคขอบใบแห้งตามลักษณะของความสามารถในการทำให้เกิดโรคกับข้าวทดสอบต่าง ๆ สามารถจำแนกออกได้เป็น 3 กลุ่ม โดยเชื้อในกลุ่มที่สองมีจำนวนมากที่สุดและกระจายตัวในหลายเขตปลูกข้าวภาคเหนือ ส่วนเชื้อในกลุ่มที่ 1 และ 3 มีจำนวนต่ำกว่า เชื้อแต่ละกลุ่มมีปฏิสัมพันธ์กับยีนต้านทานที่แตกต่างซึ่งแสดงให้เห็นถึงความหลากหลายของเชื้อสาเหตุโรคขอบใบแห้งในภาคเหนือและแนวทางการใช้ยีนต้านทานในการปรับปรุงพันธุ์ที่แตกต่างกัน การจำแนกกลุ่มของเชื้อโดยวิธี IS-PCR และ AFLP พบว่าได้จำนวนกลุ่มของเชื้อแตกต่างกัน โดย IS-PCR ให้แถบดีเอนเอ 28 แถบส่วน AFLP ให้แถบดีเอนเอมากถึง 221 แถบ เมื่อนำข้อมูลมาจัดกลุ่มพบว่า IS-PCR เมื่อใช้จะจัดกลุ่มได้เพียง 4 กลุ่มในขณะที่ AFLP จัดได้ 5 กลุ่ม เมื่อทำการวิเคราะห์โดยอาศัยค่าทางสถิติ Bootstrap และ Cophenetic value พบว่า AFLP ให้ผลการจัดกลุ่มที่ดีและน่าเชื่อถือกว่า ผลจากการศึกษาครั้งนี้จะเป็นประโยชน์ต่อแนวทาง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การใช้ประโยชน์ของยีนต้านทานเพื่อโครงการการปรับปรุงพันธุ์ข้าวต้านทานต่อโรคขอบใบแห้งในเขตภาคเหนือ

คำสำคัญ: *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, ความหลากหลายทางพันธุกรรม, near-isogenic lines, insert-sequence, AFLP

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved