

# ความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของ culture filtrate ของเชื้อรา *Pyricularia oryzae* Cav. สาเหตุโรคใบไหม้ของข้าว

## Pathogenicity of Culture Filtrate Produced by *Pyricularia oryzae* Cav., the Causal Agent of Rice Blast

ณรงค์ สิงห์บุระอุดม เพชรรัตน์ จันทรธิณ และ วิจัย รุกวิทยาสาสตร์<sup>1</sup>  
Narong Singburaudom, Petcharat Chuntharathin, and Vijai Rukvidhayasartra

### ABSTRACT

Capability of culture filtrate produced by *Pyricularia oryzae* Cav. to incite blast symptom was conducted on rice variety KDML 105. Five isolates of the fungal pathogen were isolated from rice infected leaves. The result revealed that the symptoms produced by culture filtrate were quite similar to those produced by the fungal pathogen. The capabilities of culture filtrates for inciting disease symptoms were different among 5 isolates of the fungal pathogen. It might be concluded that culture filtrate containing toxic substance which was classified to pathotoxin could played an important role on virulent factor of blast pathogen.

The response of rice leaves to culture filtrate was studied. The result indicated that as the increasing of culture filtrate concentrations, sizes and severity of lesions increased. The optimum incubation period for symptom appearance was 5 days after exposing culture filtrate to rice leaves. Rice varieties exhibited different responses to culture filtrate and their levels of response were determined by lesion sizes and lesion types.

**Key words :** pathotoxin, culture filtrate, rice blast, *Pyricularia oryzae*.

### บทคัดย่อ

จากการศึกษาความสามารถในการก่อให้เกิดโรคใบไหม้ของข้าวโดยใช้ culture filtrate ของเชื้อรา *Pyricularia oryzae* Cav. จำนวน 5 isolates โดยการทดสอบลงบนใบข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พบว่า

culture filtrate ที่เชื้อราสร้างขึ้นและปล่อยออกมาสามารถก่อให้เกิดอาการแผลโรคใบไหม้บนข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 คล้ายคลึงกับอาการของแผลโรคใบไหม้ที่เกิดจากการเข้าทำลายของสปอร์ของเชื้อรา พบว่า culture filtrate ของเชื้อรา 5 isolates มีความสามารถในการก่อให้เกิดแผลโรคได้แตกต่างกัน เมื่อ

<sup>1</sup> ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand.

ระดับความเข้มข้นของ culture filtrate เพิ่มขึ้น ขนาดแผลโรคและระดับความรุนแรงของแผลโรคเพิ่มขึ้นด้วยระยะเวลาที่เหมาะสมในการแสดงออกของแผลโรคคือ 5 วันหลังจากใบพืชได้รับ culture filtrate พันธุ์ข้าวมีปฏิกิริยาการตอบสนองต่อ culture filtrate แตกต่างกันสามารถวัดระดับของปฏิกิริยาการตอบสนองต่อ culture filtrate ได้โดยวัดขนาดของแผลโรค และใช้ลักษณะของแผลโรคที่เกิดขึ้น จากผลการทดลองนี้กล่าวได้ว่าใน culture filtrate มีสารพิษที่จัดเป็น Pathotoxin และเป็นสารพิษที่มีบทบาทเป็น virulence factor ในการก่อให้เกิดอาการโรคใบไหม้

## คำนำ

เชื้อรา *Pyricularia oryzae* Cav. เป็นเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้ของข้าวที่ระบาดทำความเสียหายทั่วทุกแห่งที่มีการเพาะปลูกข้าว เชื้อราสามารถเข้าทำลายต้นข้าวทั้งในระยะกล้า ระยะแตกกอ และระยะออกรวง ในประเทศไทยพบโรคนี้ระบาดรุนแรงมากในฤดูฝน ทั้งในระยะต้นกล้าและระยะออกรวง (ประพาส, 2531) ปี พ.ศ. 2535 พบโรคใบไหม้ระยะคอรวงระบาดทำความเสียหายแก่ข้าวในเขตภาคเหนือตอนบน และอีสานทั้งหมด 12 จังหวัด รวมพื้นที่เสียหายเนื่องจากโรคนี้ประมาณ 1.37 ล้านไร่ สาเหตุของการระบาดเนื่องจากสภาวะอากาศแปรปรวนและก่อให้เกิดสภาพที่เหมาะสมต่อการแพร่ระบาดของเชื้อรา (สมคิด, 2536). Katsube and Koshimizu (1970) ได้ประเมินความเสียหายของผลผลิตและคุณภาพข้าวเนื่องจากโรคใบไหม้ระยะคอรวง พบว่าทุกๆ 10 เปอร์เซ็นต์ของข้าวที่เป็นโรคใบไหม้คอรวง จะทำให้ผลผลิตลดลง 6 เปอร์เซ็นต์ และมีเปอร์เซ็นต์เมล็ดร่วงเพิ่มขึ้น 5 เปอร์เซ็นต์ และได้มีการประเมินความเสียหายเนื่องจากโรคใบไหม้พบว่าทำให้จำนวนรวงและน้ำหนักเมล็ดข้าวลดลง

เนื่องจากเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้มีหลายสายพันธุ์

(race) จึงมีความสามารถในการทำลายพันธุ์ข้าวได้แตกต่างกัน พันธุ์ข้าวที่ต้านทานต่อโรคใบไหม้จะต้านทานอยู่ได้ระยะเวลานานหนึ่ง ต่อมาก็จะอ่อนแอต่อเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ที่สามารถพัฒนาและปรับตัวได้ในเวลาต่อมา ทำให้ต้องมีการพัฒนาพันธุ์ข้าวที่ต้านทานต่อเชื้อราสายพันธุ์ใหม่ขึ้นมาอยู่ตลอดเวลา แต่เนื่องจากวิธีการพัฒนาพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อโรคต้องใช้เวลานาน และโดยเฉพาะเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้มีการเปลี่ยนแปลงเป็นเชื้อสายพันธุ์ใหม่ได้เร็ว ดังนั้นการปรับปรุงวิธีการคัดเลือกให้มีประสิทธิภาพสามารถใช้คัดเลือกพันธุ์ข้าวและได้พันธุ์ข้าวที่ต้านทานต่อโรคภายในระยะเวลาอันสั้นจึงเป็นสิ่งที่จำเป็น วิธีการหนึ่งที่กำลังแพร่หลายในปัจจุบันคือการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานต่อสารพิษในขบวนการเลี้ยงเนื้อเยื่อ จะช่วยให้ได้พันธุ์ข้าวที่มีความต้านทานเฉพาะเจาะจงต่อสารพิษที่ผลิตโดยเชื้อราแต่ละสายพันธุ์สามารถที่จะนำไปใช้ควบคุมเชื้อโรคได้ทันต่อการเปลี่ยนแปลงการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาบทบาทของ culture filtrate ที่ผลิตโดยเชื้อรา *P. oryzae* ในการก่อให้เกิดโรคใบไหม้กับเนื้อเยื่อข้าว เพื่อนำไปใช้ในการคัดเลือกพันธุ์ข้าวให้ต้านทานต่อสารพิษโดยใช้ร่วมกับเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวต่อไป

มีรายงานการพบสารพิษที่สร้างโดยเชื้อรา *Pyricularia oryzae* ได้แก่ piricularin (Tamari and Kaji, 1954) picolinic acid, pyriculol และ tenuazonic acid (Narayana and Suryanarayanan, 1974) โดยพบว่า piricularin ก่อให้เกิดอาการจุดสีน้ำตาล (necrotic) คล้ายคลึงกับอาการของโรคใบไหม้ และยับยั้งการเจริญของต้นกล้าข้าว (Tamari and Kaji, 1959) Umetsu et al. (1972) ได้ทำการแยกและสกัดสารพิษ picolinic acid, piricularin และ tenuazonic acid จากเชื้อรา *P. oryzae* จากแหล่งต่างๆ และพบว่าสาร tenuazonic acid ที่ความเข้มข้น 50 ppm ยับยั้งการเจริญของต้นกล้าข้าวได้ 100 เปอร์เซ็นต์ และยังก่อให้เกิดแผลไหม้บน

ใบข้าวด้วย Iwasaki *et al.* (1972) ทำการแยกสกัดสารจาก culture filtrate ของเชื้อรา *P.oryzae* ได้สาร pyriculol, 3,4-dihydro-3,4,8-trihydroxy-1 (2H)-naphthalenone และ tenuazonic acid ผลการทดสอบพบว่า tenuazonic acid ที่ความเข้มข้น 200 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของยอดและรากได้ 72.5 เปอร์เซ็นต์ Lebrun *et al.* (1984) ทดสอบสารพิษ tenuazonic acid กับใบอ่อนของข้าวพันธุ์ด้านทาน พบว่าสารพิษก่อให้เกิดอาการจุดสีน้ำตาลภายหลังได้รับสารพิษเป็นเวลา 48 ชั่วโมง Kozaka *et al.* (1985) ได้สกัดสารพิษบริสุทธิ์จาก culture filtrate ของเชื้อรา *P.oryzae* ที่ก่อให้เกิดโรคไหม้คอรวง พบว่าเป็นสารพวก glycopeptide ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน 15 ชนิดซึ่งส่วนใหญ่เป็นพวกซีรีนและทรีโอนีน มีน้ำตาล 2 ชนิดคือ กลูโคสและแมนโนส มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 30,000 ดาลตัน ละลายน้ำได้และไม่สลายตัว เมื่อถูกความร้อน สารพิษนี้จะไปขัดขวางทางเดินของน้ำโดยเฉพาะตรงบริเวณข้อของต้นข้าว (node) Lebrun *et al.* (1988) พบว่า tenuazonic acid เป็นสารที่เชื้อรา *P.oryzae* สร้างขึ้นและไปรบกวนขบวนการสังเคราะห์โปรตีนที่ระดับไรโบโซมของต้นข้าว Wang *et al.* (1988) ใช้ crude extract ที่ได้จากการกรองเอาเส้นใยหรือสปอร์ของเชื้อ *P.oryzae* ออกไปแล้วไปทดสอบกับส่วนต่างๆ ของข้าวโดยวิธีการจุ่มราก ใช้เข็มฉีดยาเข้าไปในเนื้อเยื่อชั้น mesophyll ของใบข้าว ฉีดเข้าที่กาบหุ้มข้อ และฉีดพ่นลงบนใบ พบว่า crude extract ก่อให้เกิดความเป็นพิษต่อส่วนต่างๆ ของข้าวได้ และการจุ่มรากลงไปในสารพิษจะทำให้ต้นกล้าเหี่ยว และปลายรากเน่าดำภายใน 6 วัน ส่วนการใส่สารพิษโดยวิธีการอื่นก่อให้เกิดอาการแผลไหม้บนส่วนของพืชได้ และได้สรุปไว้ว่า crude extract นี้สามารถใช้แทนเชื้อสาเหตุในการคัดเลือกพันธุ์ข้าวต้านทานต่อโรคใบไหม้ได้ Arase *et al.* (1990) รายงานว่าสารพิษที่แยกได้จาก culture filtrate ของเชื้อรา *P.oryzae* ได้แก่ pyriculol, pyricurariol และ

tenuazonic acid ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของรากข้าวได้ เช่นเดียวกับ Chen *et al.* (1989) ที่ได้ศึกษาความเป็นพิษของ culture filtrate ของเชื้อรา *P.oryzae* จำนวน 20 isolate พบว่ามีผลในการยับยั้งการเจริญของต้นกล้าข้าว Lokeshwari and Suryanarayanan (1992) ได้ทดสอบสารพิษ 3 ชนิด ได้แก่ picolinic acid, pyriculol และ tenuazonic acid บนใบข้าว พบว่าขนาดของแผลโรคจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารพิษ Batchvarova *et al.* (1992) นำพันธุ์ข้าว 4 พันธุ์ที่ต้านทานต่อเชื้อรา *Cercospora oryzae* มาทดสอบความต้านทานต่อสารพิษ cercosporin พบว่าพันธุ์ข้าวที่มีความต้านทานต่อเชื้อโรคจะต้านทานต่อสารพิษของเชื้อด้วย ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสามารถใช้สารพิษในการคัดเลือกพืชพันธุ์ต้านทานแทนการใช้เชื้อโรคโดยตรงได้

## อุปกรณ์และวิธีการ

**การแยกเชื้อรา:** ทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้จากแหล่งปลูกข้าวในประเทศไทยจำนวน 5 แหล่งได้แก่ ราชบุรี สุพรรณบุรี ขอนแก่น เพชรบูรณ์ และสมุทรสาคร ทำการแยกเชื้อราโดยวิธี single spore isolation บนอาหาร WA เพื่อให้ได้เชื้อราบริสุทธิ์ นำเชื้อราบริสุทธิ์ที่แยกได้มาทำการพิสูจน์โรคตามวิธีการของ Koch's postulate และตรวจสอบฐานวิทยาของเชื้อเพื่อพิสูจน์ว่าเป็นเชื้อราสาเหตุโรคใบไหม้จริงแล้วเก็บไว้ใช้ในการศึกษาต่อไป

**การเตรียม culture filtrate:** นำเชื้อราทั้ง 5 isolate มาเลี้ยงบนอาหาร PDA เป็นเวลา 2 สัปดาห์ ตัดปลายเส้นใยของเชื้อราที่เจริญให้มีขนาดชิ้นรุ่น 3 × 3 มิลลิเมตร แล้วนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว modified frie's medium (ซึ่งประกอบด้วยสูตรอาหาร Frie's medium จำนวน 150 มิลลิลิตร และเมล็ดข้าว 1 กรัม) จำนวน 150 มิลลิลิตรที่บรรจุใน flask ขนาด 250 มิลลิลิตร เลี้ยงเชื้อราไว้ที่อุณหภูมิ 27°C ในสภาพเขย่า

โดยใช้ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 14 วัน นำของเหลวที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อรามากรองเอาเส้นใย และอาหารส่วนที่เป็นเมล็ดข้าวออกโดยกรองผ่านผ้าขาวบาง 3 ชั้น หลังจากนั้นนำของเหลวที่ได้มากรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 อีกครั้งหนึ่ง ของเหลวที่ได้เรียกว่า culture filtrate ที่เชื่อว่ามีสารพิษที่เชื้อราปล่อยออกมาในขณะที่เลี้ยงอยู่ในอาหารเหลวน้ำ culture filtrate ที่เตรียมได้ไปลดปริมาตรลงให้เหลือ 10 เปอร์เซ็นต์จากปริมาณของ culture filtrate เริ่มต้น โดยใช้เครื่องกลั่นสารระเหยภายใต้ความดัน (vacuum evaporator) ก่อนนำไปใช้ทดสอบความเป็นพิษกับเนื้อเยื่อข้าวต่อไป

การทดสอบความเป็นพิษต่อพืชของ culture filtrate: ในการทดสอบความเป็นพิษของ culture filtrate ใช้วิธีการทดสอบบนใบพืชที่ตัดออกมาจากต้น (detached leaf) โดยปลูกพันธุ์ข้าวที่ใช้เป็นพืชทดลองให้มีอายุ 21 วัน เก็บใบข้าวใบที่ 2-3 โดยนับจากยอด ตัดปลายใบที่แหลมทิ้งแล้วนำมาตัดเป็นชิ้นยาวประมาณ 6 เซนติเมตรจากปลายใบ ฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวโดยแช่ในสารละลายคลอรีนเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 1-2 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นที่หนึ่งฆ่าเชื้อ 2 ครั้งก่อนนำไปข้าวไปติดบนแผ่นสไลด์ และวางไว้ในจานเลี้ยงเชื้อที่มีกระดาษกรองชุบน้ำวางรองไว้ที่ก้นจานเลี้ยงเชื้อเพื่อให้ความชื้น ทำแผ่นขนาดเท่าปลายปากกาโดยใช้เข็มกลดลงบริเวณกึ่งกลางใบ ใช้ micropipette คูด culture filtrate จำนวน 30 ไมโครลิตร แล้วหยดลงบนรอยแผลที่ทำไว้ ทำการบ่มใบพืชที่หยด culture filtrate ไว้ที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2$  องศาเซลเซียสภายใต้แสงเป็นเวลา 3-5 วัน ตรวจสอบการตอบสนองของใบข้าวต่อ culture filtrate โดยวัดขนาดแผลได้แก่ ความกว้าง ความยาว และความยาวของ running lesion และวัดระดับความรุนแรงของแผลโรคโดยแบ่งออกเป็น 5 ระดับโดยใช้ความยาวของแผลโรคและลักษณะของแผลโรคประกอบกันดังนี้

ระดับ 0 = ขนาดแผลเท่ากับจุดปลายเข็มที่ทำไว้โดยแผลไม่ขยาย มีขนาด 0.0-0.1 เซนติเมตร

ระดับ 1 = ขนาดแผลขยายมีความยาวระหว่าง 0.2-0.4 เซนติเมตร แผลเป็นสีน้ำตาล

ระดับ 2 = ขนาดแผลขยายมีความยาวระหว่าง 0.5-0.7 เซนติเมตร บริเวณกลางแผลมีสีเทา ขอบแผลมีสีน้ำตาลเข้ม

ระดับ 3 = ขนาดแผลขยายมีความยาวระหว่าง 0.8-1.0 เซนติเมตร บริเวณกลางแผลมีสีเทา ขอบแผลมีสีน้ำตาลเข้ม มีบริเวณสีเหลืองโดยรอบแผล (halo)

ระดับ 4 = ขนาดแผลขยายมีความยาวมากกว่า 1.0 เซนติเมตร บริเวณกลางแผลมีสีเทา ขอบแผลสีน้ำตาลเข้มหรือน้ำตาลปนเหลือง ขยายลุกลามจากปลายแผลทั้ง 2 ด้านไปตามความยาวของใบ (running lesion)

การทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของ culture filtrate ของเชื้อรา *P. oryzae* isolate ต่างๆ

ในการทดลองใช้พันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 เป็นพืชทดสอบ และใช้ culture filtrate ของเชื้อราจำนวน 5 isolate ที่ผ่านการลดปริมาตรลงให้เหลือ 10 เปอร์เซ็นต์ จากปริมาตรเริ่มต้น ทำการศึกษาความสามารถในการก่อให้เกิดแผลโรคใบไหม้โดยเปรียบเทียบระหว่าง culture filtrate ของเชื้อราจากแหล่งต่างๆ และเปรียบเทียบกับแผลโรคที่เกิดจากการเข้าทำลายโดยสปอร์ของเชื้อราโดยการฉีดสปอร์ของเชื้อลงบนต้นข้าวที่ปลูกในเรือนเพาะชำ ในการทดลองใช้น้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบโดยวางแผนการทดลองแบบ completely randomized design จำนวน 4 ซ้ำ ทำการบ่มใบพืชที่หยด culture filtrate ไว้เป็นเวลา 3, 4 และ 5 วันตามลำดับ

การศึกษการตอบสนองของเนื้อเยื่อข้าวต่อ culture filtrate ของเชื้อรา *P. oryzae*

นำ culture filtrate ของเชื้อรา isolate ขอน

แก่นซึ่งเป็นเชื้อที่ก่อให้เกิด โรครุนแรงที่สุด มาลด ปริมาตรลงเหลือ 10 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรเริ่มต้น ทำให้เจือจางลงโดยผสมกับน้ำกลั่นที่นิ่งมาเชื้อโดยใช้ อัตราส่วน culture filtrate ต่อน้ำกลั่นเท่ากับ 0:9, 1:9 2:9, 3:9, 4:9 และ 5:9 ตามลำดับ ในการทดลองใช้ culture filtrate ที่ลดปริมาตรลง เหลือ 10 เปอร์เซ็นต์ และน้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบใช้ข้าวพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 อายุ 21 วัน เป็นพืชทดสอบ ทำการบ่มใบพืช หลังจากหยด culture filtrate ไว้เป็นเวลา 3,4 และ 5 วัน โดยวาง แผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ

การศึกษาปฏิกิริยาการตอบสนองของพันธุ์ข้าว ต่อ culture filtrate ของเชื้อรา *P. oryzae*

ใช้พันธุ์ข้าวจำนวน 13 พันธุ์ (Table 4) ปลูก ในกระถางในเรือนเพาะชำ เมื่อต้นข้าวอายุ 21 วัน เก็บใบข้าวมาตัดให้เป็นชิ้นยาว 6 เซนติเมตร โดยเก็บ ใบข้าวใบที่ 2-3 โดยนับจากใบ ยอด แล้วนำไปผ่าน การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวตามวิธีการที่กล่าวมาแล้วก่อนนำไปใช้ทำการทดสอบการตอบสนองต่อ culture filtrate ของเชื้อรา isolate ขอนแก่น ในการทดลองใช้ culture filtrate ที่ลดปริมาตรลงเหลือ 10 เปอร์เซ็นต์จาก ปริมาตรเริ่มต้น ทำการบ่มใบพืชที่หยด culture filtrate ไว้เป็นเวลา 5 วัน วัดปฏิกิริยาการตอบสนองต่อ cul- ture filtrate โดย วัดความกว้าง ความยาวของแผล ความยาวของบริเวณที่ถูกกลืนจากแผลโรค (running lesion) และระดับความรุนแรงของแผลโรค โดยใช้ วิธีการเช่นเดียวกันกับที่กล่าวมาแล้ว วางแผนการ ทดลองแบบ CRD จำนวน 4 ซ้ำ

## ผล

### 1. ความสามารถในการก่อให้เกิดโรคของ cul- ture filtrate ของเชื้อรา *P. oryzae* isolates ต่างๆ

ผลการศึกษาความสามารถในการก่อให้เกิด อาการโรคใบไหม้ของ culture filtrate ของเชื้อรา *P.*

*oryzae* โดยการทดสอบบนใบข้าวพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 พบว่า culture filtrate ของเชื้อราสามารถก่อให้เกิด อาการของแผลโรคได้ อาการแผลโรคที่เกิดจาก culture filtrate นี้ สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 แบบ คือ 1) แผลรูปกระสวย มีสีเทาตรงกลางแผล ขอบแผลสี น้ำตาลเข้ม 2) แผลรูปกระสวย มีสีเทาตรงกลางแผล ขอบแผลสีน้ำตาลเข้ม มีบริเวณสีเหลืองที่เรียกว่า halo รอบๆ บริเวณขอบแผล 3) แผลรูปกระสวย มีสีเทา ตรงกลางแผล ขอบแผลสีน้ำตาลเข้ม มีรอยแถบแผล halo ขยายเป็นรูปกระสวยสีน้ำตาล หรือสีน้ำตาลปน เหลือง ขยายลุกลามจากปลายแผลทั้ง 2 ด้านไปตาม ความยาวของใบ (Figure 1A-1C) เนื่องจากอาการ ของแผลโรคที่เกิดขึ้นจาก culture filtrate มีลักษณะ คล้ายคลึงกับแผลโรคที่เกิดจากการเข้าทำลายของเชื้อรา (Figure 1D) แสดงให้เห็นว่าใน culture filtrate อาจ มีสารพิษที่เชื้อราสร้างขึ้นและปล่อยออกมาในอาหาร ที่ใช้เลี้ยงเชื้อ และเป็นสารพิษที่มีบทบาทที่สำคัญและ ก่อให้เกิดอาการของโรคใบไหม้ จึงกล่าวได้ว่าสารพิษ ที่เชื้อรา *P. oryzae* สร้างขึ้นมานั้นจัดเป็น pathotoxin

เมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการก่อให้เกิด โรคของ culture filtrate ของเชื้อราแต่ละ isolate พบว่า ความกว้างของแผลโรค ความยาวของการเกิด running lesion และระดับความรุนแรงของแผลโรคมีความ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ จาก Table 1 พบว่า culture filtrate ของเชื้อรา isolate สุพรรณบุรี ก่อให้เกิดแผลโรคที่มีความยาวมากที่สุดคือ 0.78 เซนติเมตร แต่เมื่อพิจารณาความยาวของ running lesion พบว่า culture filtrate ของเชื้อรา isolate ขอนแก่น ก่อให้เกิด running lesion ที่มีความยาวสูงที่สุดคือ 1.85 เซนติเมตร อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาระดับความ รุนแรงของแผลโรคในภาพรวมทั้งหมดแล้วพบว่าเชื้อรา isolate ขอนแก่นมีระดับความรุนแรงของการเกิดแผล โรคสูงที่สุดคือ ระดับ 3 รองลงมาคือ isolate สมุทร สาคกร มีระดับความรุนแรงของแผลโรคเท่ากับ 2.25

## 2. การตอบสนองของเนื้อเยื่อข้าวต่อ culture filtrate ของเชื้อรา *P. oryzae*

ผลการศึกษาการตอบสนองของเนื้อเยื่อข้าวต่อ culture filtrate ของเชื้อรา *P. oryzae* โดยใช้ culture filtrate ที่ทำให้เข้มข้นโดยการลดปริมาตรลงเหลือ 10 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรเริ่มต้น นำมาทำให้เจือจางที่ความเข้มข้น 5 ระดับ แล้วนำไปทดสอบความสามารถในการก่อให้เกิดแผลโรคนบนใบข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พบว่าเมื่อความเข้มข้นของ culture filtrate เพิ่มขึ้น ทำให้ความกว้างและความยาวของแผลโรค ความยาวของ running lesion และระดับความรุนแรงของการเกิดแผลโรคเพิ่มขึ้นด้วย และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจาก Table 2 พบว่า culture filtrate ที่ลดปริมาตรลงเหลือ 10 เปอร์เซ็นต์ ก่อให้เกิดแผลโรคสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับแผลโรคที่เกิดจาก culture filtrate ที่ทำให้เจือจางลงทั้ง 5 อัตราส่วนความเข้มข้น เมื่อพิจารณาลักษณะของแผลโรคที่เกิดจาก culture filtrate ที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ พบว่าที่อัตราส่วนความเข้มข้น 1:9 ลักษณะแผลโรคที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นจุดสีน้ำตาลขนาดเล็ก ที่อัตราส่วนความเข้มข้น 2:9 แผลสีน้ำตาลมีขนาดโตขึ้น แต่ยังคงมีลักษณะเป็นแผลกลม ที่อัตราส่วนความเข้มข้น 3:9 แผลเริ่มมีลักษณะเป็นรูปกลมรีและมีบริเวณสีเหลืองบริเวณรอบๆ แผล และเมื่อความเข้มข้นของ culture filtrate เพิ่มขึ้นเป็น 4:9 และ 5:9 แผลโรคที่เกิดขึ้นจะเป็นรูปกระสวยมีสีเทาตรงกลางแผลชัดเจนยิ่งขึ้นคล้ายกับแผลโรคที่เกิดขึ้นจากเชื้อราสำหรับแผลโรคที่เกิดจาก culture filtrate ที่ลดปริมาตรเหลือ 10 เปอร์เซ็นต์ จะมีขนาดแผลโตที่สุดและมีความคล้ายคลึงกับแผลโรคใบไหม้มากยิ่งขึ้น (Figure 2)

ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการแสดงอาการของแผลโรคหลังจากหยด culture filtrate ลงบนใบข้าว พบว่าเมื่อระยะเวลาการบ่มใบพืชนานขึ้น ขนาดของแผลโรคและระดับความรุนแรงของการเกิด

แผลโรคมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น แต่ขนาดของแผลโรค และระดับความรุนแรงของแผลโรคที่ 4 และ 5 วัน หลังหยด culture filtrate ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ (Table 3) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการบ่มใบพืชไว้เป็นเวลา 5 วัน ก่อให้เกิดแผลโรคที่มีขนาดโตที่สุด และมีระดับความรุนแรงของแผลโรคสูงที่สุด

## 3. ปฏิกริยาการตอบสนองของพันธุ์ข้าวต่อ culture filtrate ของเชื้อรา *P. oryzae*

ปฏิกริยาการตอบสนองต่อ culture filtrate ของพันธุ์ข้าว 13 พันธุ์แสดงอยู่ใน Table 4 เมื่อใช้ culture filtrate ที่ลดปริมาตรเหลือ 10 เปอร์เซ็นต์ ทดสอบลงบนใบข้าว พบว่าความกว้างของแผลโรคที่เกิดขึ้นบนพันธุ์ข้าวแต่ละพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ แผลโรคนบนใบข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีความกว้างมากที่สุดคือ 0.36 เซนติเมตร พันธุ์ Raminad และสุพรรณบุรี 60 มีความกว้างของแผลโรคต่ำที่สุดคือ 0.27 เซนติเมตร แต่เมื่อพิจารณาถึงความยาวของแผลโรคที่เกิดขึ้นบนพันธุ์ข้าวแต่ละพันธุ์พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งในทางสถิติ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีความยาวของแผลโรคยาวที่สุดคือ 0.98 เซนติเมตร พันธุ์ที่มีความยาวของแผลโรคต่ำที่สุดคือ พันธุ์ Raminad และ Kanto ซึ่งมีความยาวของแผลโรคเท่ากับ 0.69 เซนติเมตร สำหรับพันธุ์สุพรรณบุรี 60 มีความยาวของแผลโรคเท่ากับ 0.71 เซนติเมตร

เมื่อเปรียบเทียบความยาวของ running lesion ที่เกิดขึ้นบนพันธุ์ข้าวทั้งหมดที่ใช้ทดสอบพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งในทางสถิติเช่นเดียวกัน พันธุ์ RD6 มีความยาวของ running lesion มากที่สุด คือ 3.54 เซนติเมตร รองลงมาคือพันธุ์ Usen มีความยาวของ running lesion เท่ากับ 3.22 เซนติเมตร สำหรับพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีความยาวของ running lesion เท่ากับ 2.55 เซนติเมตร พันธุ์ Kanto มีความยาวของ running lesion ต่ำที่สุดเท่ากับ 1.88 เซนติเมตร

**Table 1** Mean values of width and length of lesion (cm), length of running lesion (cm) and severity of lesion produced by culture filtrate of *P. oryzae* 5 isolates on rice variety KDML 105.

| Fungus Isolates           | Width at 3 days      | Length at 3 days | Length of running lesion at 3 days 5 days |         | Severity |
|---------------------------|----------------------|------------------|-------------------------------------------|---------|----------|
| Phetchabun                | 0.25 ab <sup>1</sup> | 0.53 a           | 0.70 a                                    | 1.83 a  | 2.00 a   |
| Samut Sakhon              | 0.30 ab              | 0.75 a           | 0.68 a                                    | 1.65 a  | 2.25 a   |
| Ratchaburi                | 0.20 b               | 0.60 a           | 0.55 ab                                   | 1.18 ab | 1.75 ab  |
| Khon Kaen                 | 0.33 a               | 0.70 a           | 0.90 a                                    | 1.85 a  | 3.00 a   |
| Suphan Buri               | 0.35 a               | 0.78 a           | 0.30 ab                                   | 1.35 a  | 1.00 ab  |
| Control (Distilled water) | 0.00 c               | 0.00 b           | 0.00 b                                    | 0.00 b  | 0.00 b   |
| CV (%)                    | 22.5                 | 21.8             | 70.8                                      | 46.4    | 72.9     |
| F-cal2                    | 22.98**              | 22.47**          | 3.05*                                     | 5.23**  | 2.95*    |

<sup>1</sup> In a column, means followed by a common letter are not significantly different by DMRT

<sup>2</sup> ns = non significant

\* = significant at  $p < 0.05$

\*\* = significant at  $p < 0.01$

**Table 2** Mean value of width, length and length of running lesion and severity of lesion produced by *P. oryzae* culture filtrate at 5 concentrations on rice variety KDML 105.

| Concentrations  | Width (cm)          | Length (cm) | Running Lesion (cm) | Severity (0-4) |
|-----------------|---------------------|-------------|---------------------|----------------|
| 0:9             | 0.00 f <sup>1</sup> | 0.00 e      | 0.00 c              | 0.00 d         |
| 1:9             | 0.09 e              | 0.25 d      | 0.27 c              | 0.94 c         |
| 2:9             | 0.16 d              | 0.31 cd     | 0.59 b              | 1.83 b         |
| 3:9             | 0.20 c              | 0.36 bc     | 0.65 b              | 2.11 b         |
| 4:9             | 0.24 bc             | 0.39 bc     | 0.71 b              | 2.44 b         |
| 5:9             | 0.24 b              | 0.43 b      | 0.76 b              | 2.50 b         |
| Concentrated CF | 0.39 a              | 0.88 a      | 2.09 a              | 4.00 a         |
| CV.(%)          | 21.43 %             | 34.25 %     | 45.88               | 36.60          |
| F-cal2          | 167.60**            | 77.21**     | 71.21**             | 55.02**        |

<sup>1</sup> In a column, means followed by a common letter are not significantly different by DMRT

<sup>2</sup> ns = non significant

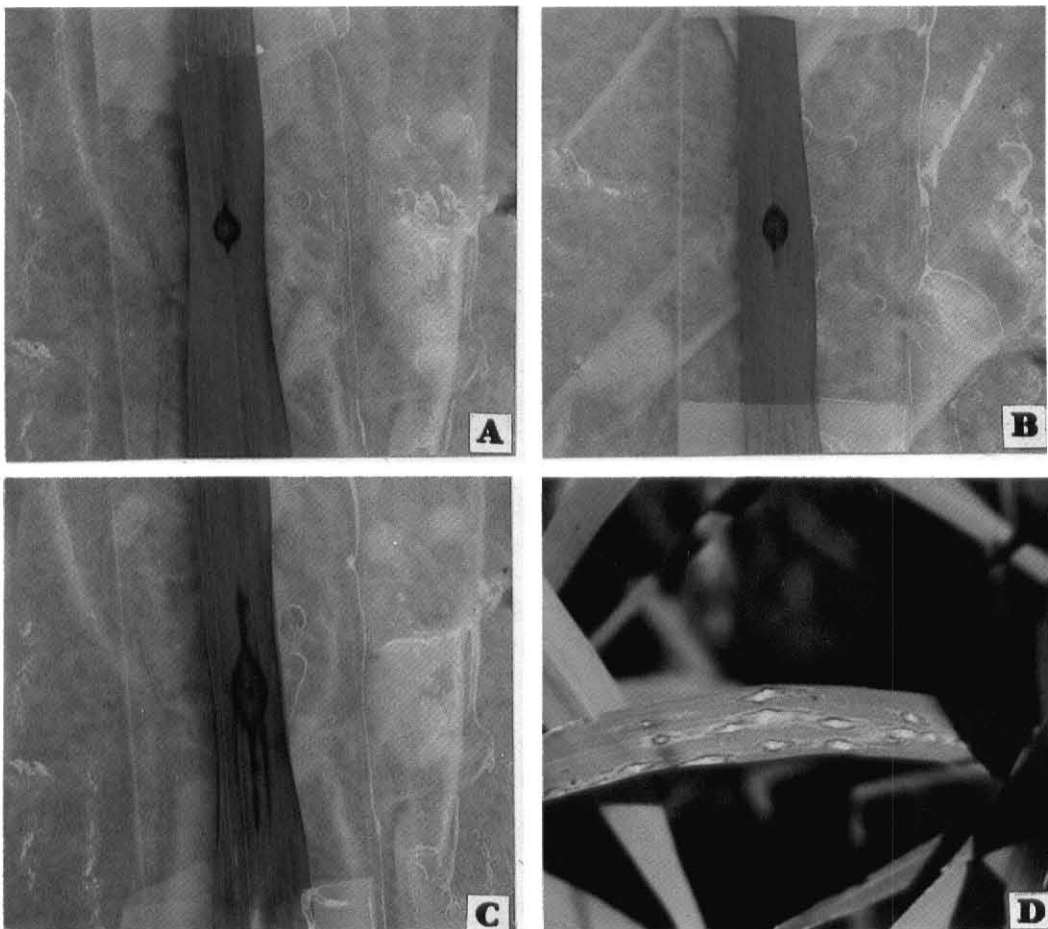
\* = significant at  $p < 0.05$

\*\* = significant at  $p < 0.01$

ผลการประเมินระดับความรุนแรงของแผลโรค โดยพิจารณาลักษณะความยาวของแผลโรคแล้วแบ่งออกเป็น 5 ระดับ พบว่าพันธุ์ Kanto มีระดับความรุนแรงของแผลโรคต่ำที่สุดคือ 2.13 พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ พันธุ์ RD6 มีระดับความรุนแรงของแผล

โรคสูงที่สุดคือ 3.25 ผลจากการศึกษาปฏิกิริยาการตอบสนองของพันธุ์ข้าวต่อ culture filtrate สามารถแบ่งพันธุ์ข้าวที่ใช้ทดสอบออกได้เป็น 2 กลุ่มคือ (Figure 3)

1) กลุ่มพันธุ์ข้าวที่ตอบสนองต่อ culture filtrate ปานกลาง แผลโรคมีขนาดปานกลางความยาว



**Figure 1** Typical blast symptoms on rice leaves variety KDML 105 produced by culture filtrate (A-C) and by the fungus *P. oryzae*. (D).

- A. Spindle shape lesion with greenish gray in the center and brown discolored necrotic area with out yellow poisoned area.
- B. Spindle shape lesion surrounding with yellow poisoned area.
- C. Spindle shape lesion surrounded with large yellow poisoned area, called running lesion.
- D. Spindle shape lesion and greenish gray in the center surrounded with brown discolored necrotic area produced by the fungus.



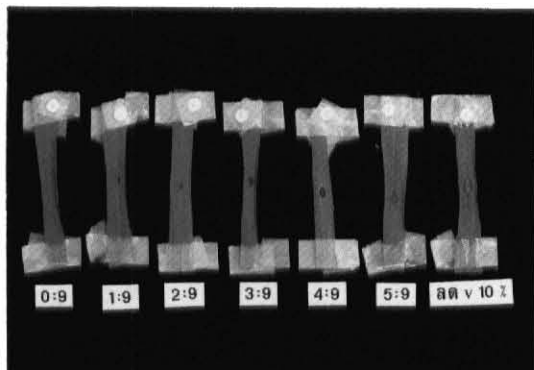
ของแผลโรคอยู่ระหว่าง 0.7-0.8 เซนติเมตร มี running lesion เกิดขึ้น พันธุ์ข้าวในกลุ่มนี้ได้แก่พันธุ์ดอกพะยอม สุพรรณบุรี 60 หางยี 71 บาสมาติ กข 13 Raminad Dular และ Zeneth และ Kanto

2) กลุ่มพันธุ์ข้าวที่ตอบสนองต่อ culture fil-

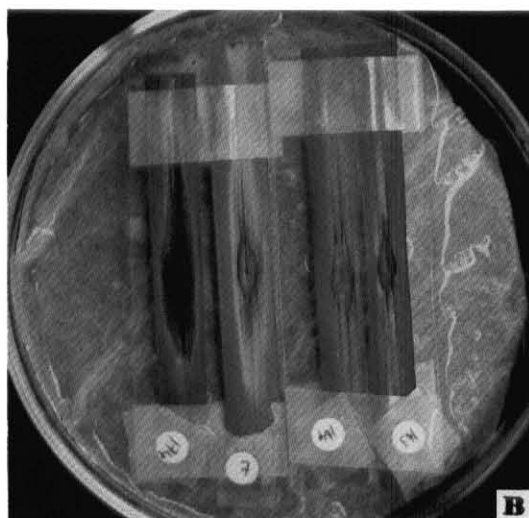
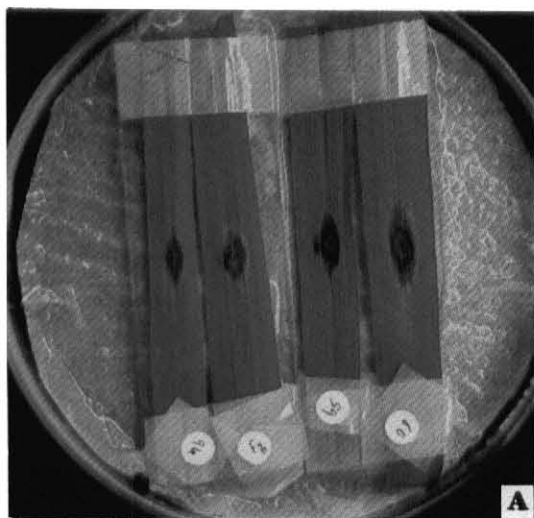
trate สูง โดยมีแผลโรคขนาดใหญ่ ความยาวของแผล โรคอยู่ระหว่าง 0.8-1.0 เซนติเมตร มี running lesion เกิดขึ้นยาวและชัดเจน ได้แก่ ข้าวพันธุ์ขาวตาแห้ง 17 กข 6 ขาวดอกมะลิ 105 และ Usen

## วิจารณ์และสรุป

สารพิษที่เชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืชสร้างขึ้น สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มคือ pathotoxin vivotoxin และ phytotoxin (Yoder, 1980) culture filtrate ที่เชื้อรา *Pyricularia oryzae* Cav. สร้างขึ้นสามารถก่อให้เกิดอาการโรคใบไหม้เหมือนกับอาการโรคที่เกิดขึ้นจากการเข้าทำลายของเชื้อราโดยตรง ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า ใน culture filtrate อาจจะมีสารพิษบางอย่างที่เชื้อราปล่อยออกมาในระหว่างการเจริญเติบโตอยู่ในอาหารเหลว และเป็นสารพิษที่จัดอยู่ในกลุ่มของ pathotoxin เนื่องจากสามารถก่อให้เกิดอาการของแผลเหมือนกับอาการของแผลโรคใบไหม้จากผลการเปรียบเทียบความสามารถในการก่อให้เกิดแผลโรคของ culture



**Figure 2** Chlorotic spots on detached leaves of rice variety KDML 105 produced by culture filtrate of *P. oryzae* isolate Khon Khen at 5 concentrations.



**Figure 3** Varietal differences of rice plants in response to culture filtrate of *P. oryzae* isolate Khon Kaen.  
A. Representation of varietal group for a medium response  
B. Representation of varietal group for a high response

**Table 3** Mean values of width, length, length of running lesion and severity of lesion produced by 5 concentrations culture filtrate of *P. oryzae* on rice variety KDML 105 at 3, 4, and 5 days after inoculation.

| Days after inoculation | Width (cm)          | Length (cm) | Running lesion (cm) | Severity (0-4) |
|------------------------|---------------------|-------------|---------------------|----------------|
| 3                      | 0.17 b <sup>1</sup> | 0.35 b      | 0.56 b              | 1.50 b         |
| 4                      | 0.19 a              | 0.37 ab     | 0.73 a              | 2.02 a         |
| 5                      | 0.20 a              | 0.40 a      | 0.88 a              | 2.41 a         |
| CV.(%)                 | 21.43 %             | 34.25 %     | 45.88               | 36.60          |
| F-cal2                 | 35.75**             | 5.93*       | 22.91**             | 23.33**        |

<sup>1</sup> In a column, means followed by a common letter are not significantly different by DMRT

<sup>2</sup> ns = non significant

\* = significant at  $p < 0.05$

\*\* = significant at  $p < 0.01$

**Table 4** Mean values of width, length, length of running lesion and severity of lesion produced by culture filtrate of *P. oryzae* isolate Khon Kaen on 13 rice varieties at 5 days after inoculation.

| Varieties                  | Width (cm)          | Length (cm) | Length of running lesion(cm) | severity (0-4) |
|----------------------------|---------------------|-------------|------------------------------|----------------|
| Raminad                    | 0.27 a <sup>1</sup> | 0.69 c      | 2.36 bcd                     | 2.38 abc       |
| Kanto 51                   | 0.31 a              | 0.69 c      | 1.88 d                       | 2.13 c         |
| Dok Pra Yom                | 0.35 a              | 0.70 c      | 2.71 abcd                    | 2.25 bc        |
| Suphan Buri 60             | 0.27 a              | 0.71 c      | 2.23 bcd                     | 2.25 bc        |
| Hang Yee 71                | 0.33 a              | 0.77 bc     | 2.32 bcd                     | 2.38 abc       |
| Zenith                     | 0.31 a              | 0.78 bc     | 2.15 cd                      | 2.75 abc       |
| Usen                       | 0.32 a              | 0.78 bc     | 3.22 ab                      | 2.50 abc       |
| Basmati                    | 0.31 a              | 0.79 bc     | 2.72 abcd                    | 2.50 abc       |
| Dular                      | 0.30 a              | 0.83 abc    | 2.45 bcd                     | 2.63 abc       |
| RD 13                      | 0.29 a              | 0.84 abc    | 2.92 abc                     | 2.75 abc       |
| Khao Tah Hang 17           | 0.35 a              | 0.85 abc    | 2.68 abcd                    | 3.13 ab        |
| RD 6                       | 0.34 a              | 0.95 ab     | 3.54 a                       | 3.25 a         |
| KDML 105                   | 0.36 a              | 0.98 a      | 2.55 bcd                     | 3.25 a         |
| Control (H <sub>2</sub> O) | 0.00 b              | 0.00 d      | 0.00 e                       | 0.00 e         |
| CV.(%)                     | 20.57               | 17.35       | 26.95                        | 23.84          |

<sup>1</sup> In a column, means followed by a common letter are not significantly different at  $p < 0.01$  by DMRT

filtrate ของเชื้อรา *P. oryzae* จำนวน 5 isolates พบว่าขนาดของแผลโรคและระดับความรุนแรงของแผลโรคมีความแตกต่างกันซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Chen *et al.* (1989) ที่พบว่า culture filtrate ของเชื้อรา *P. oryzae* จำนวน 20 isolates สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวได้แตกต่างกัน และความแตกต่างของ culture filtrate ของเชื้อราแต่ละ isolate ขึ้นอยู่กับการเจริญเติบโตทางเส้นใยและการสร้างรงควัตถุในอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อ จากผลการทดลองเบื้องต้นนี้จึงกล่าวได้ว่าใน culture filtrate ของเชื้อรา *P. oryzae* มีสารพิษที่เชื้อราปล่อยออกมา และมีบทบาทต่อการเกิดโรคโดยจัดเป็น secondary determinant หรือ virulence factor สำหรับบทบาทในการก่อให้เกิดโรคที่จัดเป็น primary determinant หรือ pathogenicity factor จะต้องมีการศึกษาต่อไป

ผลการศึกษาการตอบสนองของใบข้าวต่อ culture filtrate ของเชื้อ *P. oryzae* พบว่า อาการแผลโรคที่เกิดขึ้นใกล้เคียงกับผลการศึกษาของ Umetsu *et al.* (1972) ที่แบ่งลักษณะของแผลโรคออกเป็น 3 ส่วน ได้แก่ บริเวณสีเขียวอมเทาตรงกลางแผล บริเวณขอบแผลสีน้ำตาลและบริเวณสีเหลืองรอบๆ แผลโรค และจากการศึกษานี้ได้แบ่งลักษณะของแผลโรคที่เกิดขึ้นออกเป็น 3 แบบตามลักษณะของแผลโรคที่เกิดตามความเข้มข้นของ culture filtrate ที่เพิ่มขึ้น โดยที่ความเข้มข้น 4:9 และ 5:9 ก่อให้เกิดแผลโรครูปกระสวยเหมือนแผลโรคใบไหม้ชัดเจนที่สุด แผลโรคที่เกิดจาก culture filtrate ที่ลดปริมาณลงเหลือ 10 เปอร์เซ็นต์ ก่อให้เกิดแผลขนาดเล็กที่สุด และมี running lesion ชัดเจนยิ่งขึ้น (Figure 1) จากผลการทดลองนี้จึงกล่าวได้ว่าอัตราความเข้มข้นของ culture filtrate ที่ 4:9 และ 5:9 เป็นอัตราที่เหมาะสมของ culture filtrate ในการที่จะก่อให้เกิดแผลโรคได้ชัดเจนที่สุด การใช้ความเข้มข้นสูงเกินไปจะทำให้แผลโรคพัฒนาไปเป็นแผลที่มีรูปแบบไม่แน่นอน อย่างไรก็ตาม การตอบ

สนองของใบข้าวต่อ culture filtrate นอกจากจะขึ้นอยู่กับอัตราความเข้มข้นที่ใช้แล้ว ยังขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าวที่มีการตอบสนองต่อ culture filtrate แตกต่างกันด้วย จากการใช้ culture filtrate ทดสอบลงบนใบข้าวจำนวน 13 พันธุ์ พบว่ามีการตอบสนองแตกต่างกัน ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Umetsu *et al.* (1972) ซึ่งพบว่าพันธุ์ข้าว 6 พันธุ์มีการตอบสนองต่อสารพิษ tenuazonic acid ที่สร้างโดยเชื้อ *P. oryzae* แตกต่างกันโดยพบว่าขนาดของแผลโรค และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเติบโตของต้นกล้ามีความแตกต่างกัน

จากผลการศึกษาจึงสามารถกล่าวได้ว่าอาการโรคใบไหม้ที่เกิดขึ้นจากเชื้อรา *P. oryzae* นั้นเป็นผลเนื่องมาจากสารพิษที่เชื้อปล่อยออกมาในระหว่างกระบวนการเข้าทำลายพืช ความรุนแรงของแผลโรคขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารพิษที่เชื้อราปล่อยออกมา และสารพิษของเชื้อราต่าง isolate กันมีความสามารถในการก่อให้เกิดโรคได้แตกต่างกันด้วย แสดงว่าเชื้อราแต่ละ isolate สร้างสารพิษได้แตกต่างกันทั้งชนิดและปริมาณ สำหรับผลของสารพิษที่เกิดขึ้นกับต้นข้าว นั้น อาจจะไปก่อให้เกิดแผลโรคกับส่วนของใบคอรวงข้าว กาบใบ หรือไปก่อให้เกิดแผลกับปลายรากของต้นกล้าข้าว ซึ่งไปยับยั้งการเจริญเติบโตของต้นข้าวได้ (Wang *et al.*, 1988)

## เอกสารอ้างอิง

- ประพาส วีระแพทย์. 2531. ความรู้เรื่องข้าว สาขาคัดพันธุ์ด้านทานศัตรูข้าว กองการข้าว กรมวิชาการ เกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 108 น.
- สมคิด ดิสถาพร. 2536. โรคไหม้คอรวงข้าวระยะบดที่ภาคเหนือ. กลสิกร 66(2): 165-167.
- Arase, S., S. Konoshita, M. Kono, M. Nozu, E. Tanaka, and S. Nishimura. 1990. Studies on

- host-selective infection mechanism of *Pyricularia oryzae* Cavara (2). Production of susceptibility-inducing factor (s) from germinating spores and their phytotoxicity. Annual of the Phytopathological Society of Japan. 56 (3): 322-330.
- Batchvarova, R.B., V.S. Reddy, and J. Bemett. 1992. Cellular resistance in rice to cercosporin, a toxin of *Cercospora*. Phytopathology. 82: 642-646.
- Chen, Q.G., F.Q. Zhang, and L.G. Yin. 1989. The differences in toxicity of culture filtrates among the isolates of *Pyricularia oryzae*. Review of Plant Pathology. 71(8): 491.
- Iwasaki, S., H. Muro, S. Nozoe, and S. Okuda. 1972. Isolation of 3,4-dihydro-3,4,8-Tryhydroxy-1(2H)-naphthalenone and tenuazonic acid from *Pyricularia oryzae* Cavara. Tetrahedron Letter No. 1:13-16.
- Katsube, T. and Y. Koshimizu. 1970. Influence of blast disease on harvests of rice plant. 1. Effect of panicle infection on yield components and quality. Bulletin of the Tokoku Agricultural Experiment Station 39: 55-96.
- Kozaka, T., M. Tsuchizawa, M. Hanauf, and M. Natanabe. 1985. Phytotoxic glycopeptide inducing white head of rice plant produced by *Pyricularia oryzae*. Annuals of the Phytopathological Society of Japan. 51:199-205.
- Lebrun, M.H., J. Orcival, and C. Duchartre. 1984. Resistance of rice to Tenuazonic acid, a toxin from *Pyricularia oryzae*. Rice Abstr. 8:1985.
- Lebrun, M.H., L. Nicolas, M. Boutar, F. Gaudemer, S. Ranomenjanahary, and A. Gaudemer. 1988. Relationships between the structure and the phytotoxicity of the fungal toxin tenuazonic acid. Phytochemistry. 27 (1): 77-84.
- Lokeshwari, T.S. and S. Suryanarayanan. 1992. Induction of "green islands" in rice leaves by EDTA and some toxins of *Pyricularia oryzae* Cav. Review of Plant Pathology 71(8): 941.
- Narayana, R. and K. Suryanarayanan. 1974. Studies on the toxins of *Pyricularia* 2). Detection of pyriculol in blast disease leaves of Gramineae. Current Sci. 43: 3348-3349.
- Tamari, K. and J. Kaji. 1954. Biochemical studies of the blast fungus (*Pyricularia oryzae*), the causative fungus of the blast disease of rice plant I. Studies on the toxin produced by blast fungus. J. of the Agricultural Chemical Society of Japan. 28: 254-258.
- Tamari, K. and J. Kaji. 1959. The accumulation of coumarin in stunted rice plant caused by the ill-effects of piricularin. J. of the Agriculture Chemical Society of Japan. 33: 181-183 (Ja).
- Umetsu, N., J. Kaji, and K. Tamari. 1972. Investigation on the toxin production by several blast fungus strains and isolation of tenuazonic acid as novel toxin. Agr. Biol. Chem. 36(5): 859-866.
- Wang, J.L., W.Y. Xu, and Y.Y. Wang. 1988. Preparation of crude extracts of *Pyricularia oryzae* Cav. and determination of their toxicity to rice. Rice Abstr. 14(2): 82.
- Yoder, O.C. 1980. Toxins in pathogenesis. Ann. Rev. Phytopathol. 18:103-129.