

บทที่ 1

คำนำ

เชื้อราแปงจัดเป็นเชื้อราปรสิต (obligate parasite) ไม่สามารถเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ มีการสืบพันธุ์แบ่งได้สองแบบ คือ การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (perfect state) และการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (imperfect state) เชื้อรานี้พบได้ทั้งเขตหนาว เขตอบอุ่น เขตร้อน และพื้นที่ที่มีความชื้นสูง แพร่ระบาดในช่วงอุณหภูมิต่าง ๆ โดยอาศัยลม แมลง และน้ำฝน สามารถเข้าทำลายพืชอาศัยได้หลายชนิด เช่น ธัญพืช ผัก ไม้ผล และไม้ดอกไม้ประดับ เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถเข้าทำลายได้ตลอดทั้งปีและทุกระยะการเจริญเติบโตของพืชอาศัย (Agrios, 1988)

การจัดจำแนกเชื้อราแปงในระยะแรกเริ่มเกิดขึ้นตั้งแต่ปี ค.ศ. 1851 โดย Lèveillé (อ้างโดยชัยวัฒน์, 2546) ได้จัดจำแนกเชื้อราแปงออกเป็น 6 genera ตามลักษณะของการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ เช่น จำนวนของ asci ต่อหนึ่ง ascocarp, โครงสร้างของ appendage (เช่น myceloid, dichotomously branched หรือ apex uncinately-circinate) เป็นหลักในการจัดจำแนก ซึ่งหลักการจัดจำแนกดังกล่าวได้กลายเป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายทั่วไป ในทางตรงกันข้ามลักษณะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศกลับถูกละเลยและไม่นำมาใช้ในการจัดจำแนกโดยนักราวิทยาทั้งหลาย ด้วยเหตุนี้ลักษณะของ appendage จึงถูกยกระดับความสำคัญมากเกินความจำเป็น และก่อให้เกิดความสับสนขึ้น เช่น ในกรณีของเชื้อรา *Uncinula* และ *Pleochaeta* ที่มีลักษณะของ appendage เหมือนกันทุกประการ ในขณะที่เชื้อราทั้งสองมีการสร้าง conidia ที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน และถูกจำแนกให้อยู่ในคนละ genus ในกลุ่มของ hyphomycete นอกจากนี้ยังพบปัญหาคล้ายคลึงกันเกิดขึ้นกับเชื้อรา *Uncinula* กับเชื้อรา *Sawadaea* หรือระหว่างเชื้อรา *Microsphaera* และ *Arthrocladiella* เป็นต้น ต่อมาในปี ค.ศ. 1987 Braun ได้จัดจำแนกเชื้อราแปงโดยอาศัยลักษณะของการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศออกเป็น 18 genera และจัดจำแนกเชื้อราแปงโดยอาศัยลักษณะของการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศออกเป็น 4 genera แต่เขายังคงให้ความสำคัญกับลักษณะของการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ มากกว่าการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ จนกระทั่งเทคโนโลยีด้านการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิด Scanning Electron Microscopy (SEM) ได้เข้ามามีบทบาทในการจัดจำแนกเชื้อราแปงมากขึ้น ซึ่ง Cook *et al.* (1997) ได้จัดจำแนกเชื้อราแปงใน genus *Oidium* ออกเป็น 8 subgenera ต่อมาในปี ค.ศ. 2000 Braun and Takamatsu ได้รวบรวมผลงานการศึกษาเชื้อราแปงแบบไม่อาศัยเพศโดยอาศัยกล้อง SEM ร่วมกับผลการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยอาศัยเทคนิคด้านอณูชีววิทยา และนำมาเปรียบเทียบกับการจัดจำแนกเชื้อราแปงแบบเดิม ที่อาศัย

ลักษณะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเพียงอย่างเดียว พบว่าการจัดจำแนกแบบเดิมมีความไม่สัมพันธ์กัน จึงได้เสนอแนะการจัดจำแนกแบบใหม่ โดยรวมลักษณะการสืบพันธุ์ทั้งสองแบบเข้าด้วยกัน ซึ่งสามารถจัดจำแนกออกเป็น 13 genera

สำหรับเชื้อราแบ่งใน genus *Oidium* subgenus *Pseudoidium* นั้น จัดอยู่ใน Class Deuteromycetes, Order Moniliales, Family Moniliaceae ประกอบด้วย 4 genera ได้แก่ genus *Ovulariopsis*, *Streptopodium*, *Oidiopsis* และ *Oidium* โดยที่เชื้อราแบ่งใน 3 genera แรกจัดเป็นเชื้อราที่มีเส้นใยเป็นแบบปรกติภายใน (endophytic) ส่วนเชื้อราแบ่งที่อยู่ใน genus *Oidium* มีเส้นใยเป็นแบบปรกติภายนอก (ectophytic) สร้างก้านชูสปอร์ (conidiophore) เจริญมาจาก epiphytic mycelium (Braun, 1987) ซึ่งจากการศึกษาของ Cook *et al.* (1997) ที่แบ่งเชื้อราแบ่งใน genus *Oidium* นี้ออกเป็น 8 subgenera ได้แก่ *Pseudoidium*, *Setoidium*, *Fibroidium*, *Ociagoidium*, *Oidium*, *Striatoidium*, *Graciloidium* และ *Reticuloidium* ต่อมา To-anun *et al.* (2002) ได้รายงานพบราแบ่งใน subgenus *Microidium* ในประเทศไทย ด้วยเหตุนี้เชื้อราแบ่งใน genus *Oidium* ปัจจุบันจึงมีสมาชิกรวมทั้งสิ้น 9 subgenera โดยเชื้อราแบ่งใน subgenus *Pseudoidium* นั้นเป็น subgenus เดียวที่มีการสร้าง conidia เป็นแบบเดี่ยว (single type สร้าง conidia 1 conidium/วัน) ส่วนอีก 8 subgenera นั้นสร้าง conidia ขาวต่อกันเป็นลูกโซ่ (chain type สร้าง conidia มากกว่า 1 conidia/วัน) โดยลักษณะสำคัญของเชื้อราแบ่งใน subgenus *Pseudoidium* คือสร้าง conidia บนก้าน conidiophore ภายใน conidia ไม่มี fibrosin body เมื่อ conidia งอก germ tube เป็นแบบ polygoni type (Cook *et al.*, 1997) ซึ่งเชื้อราในกลุ่มนี้พบที่มีความสำคัญต่อทางเศรษฐกิจของไทยมาก เนื่องจากสามารถเข้าทำลายพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด เช่น มะขาม ส้ม มะเขือเทศ พุทรา และผัก เป็นต้น โดยเชื้อราแบ่งที่เข้าทำลายพืชกลุ่มดังกล่าวมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาของการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศที่คล้ายคลึงกัน และยังมีลำดับเบสที่เหมือนกันอีกด้วย (Takamatsu, 2002; personal communicated) แต่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาบางประการที่แตกต่างกัน ซึ่งทำให้เชื้อราแบ่งในกลุ่มนี้มีความหลากหลาย ได้แก่ ขนาด, รูปร่างของ conidia และ conidiophore เช่นในกรณีของเชื้อราแบ่งที่พบบนถั่ว (*Cassia fistula*) ซึ่งสร้าง conidia ที่มีขนาดใหญ่กว่าเชื้อราแบ่งทั่วไปที่จัดอยู่ใน genus *Oidium* subgenus *Pseudoidium* นอกจากนี้ conidiophore ยังมีรูปร่างค้อมมาจากการศึกษาต่อมาพบว่าในปลายฤดูเพาะปลูก (บางปี) เชื้อราแบ่งชนิดนี้สร้าง ascoma (fruiting body) เป็นแบบเดียวกับเชื้อราแบ่งใน genus *Phyllactinia* ซึ่งก่อให้เกิดความสับสนว่าเชื้อราแบ่งที่มีการสร้าง conidia จะเป็นเชื้อราแบ่งชนิดเดียวกับที่มีการสร้าง ascomata หรือไม่ เพราะตลอดระยะเวลาที่ผ่านมาเชื้อราแบ่งที่เข้าทำลายถั่วยังไม่พบ conidia ที่มีรูปร่างเช่นเดียวกับ conidia ของเชื้อรา *Phyllactinia* (สร้าง conidia แบบเดี่ยว รูปร่าง clavate, oblongate, rhomboid หรือ angular ซึ่งภายใน conidia ไม่มี fibrosin body, appressorium เป็นแบบ lobe, สร้าง germ tube แบบ

polygoni) ซึ่งหากจะตรวจสอบให้แน่ชัดว่า conidia ที่เป็น single type คล้ายกับเชื้อราแบ่งใน subgenus *Pseudoidium* นั้นเป็นเชื้อเดียวกับเชื้อรา *Phyllactinia* ที่สร้าง ascoma เป็นแบบ bulbous base appendage นั้นจำเป็นที่จะต้องตรวจสอบโดยการปลูกเชื้อราแบ่งดังกล่าวลงบนต้นถุนที่ไม่เป็นโรค ซึ่งเป็นเรื่องที่ทำได้ยากมาก จากเหตุผลดังกล่าวจึงมีความจำเป็นที่จะต้องนำเทคนิคด้านอณูชีววิทยามาช่วยในการตรวจสอบว่าเชื้อราทั้งสองชนิดเป็นเชื้อราเดียวกันหรือไม่

สำหรับเทคนิคด้านอณูชีววิทยา ที่ปัจจุบันนิยมนำมาใช้ในการตรวจสอบสายพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตจำนวนมากนั้น พบว่านอกจากจะช่วยตรวจสอบและจำแนกชนิดของเชื้อราแล้ว ยังสามารถใช้ตรวจหาวิวัฒนาการของเชื้อรา หรือวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อราได้อีกด้วย ด้วยเหตุนี้ในการทดลองครั้งนี้ผู้วิจัยจึงได้นำเทคนิคการวิเคราะห์หาลำดับเบส (rDNA sequencing) เพื่อช่วยแก้ปัญหาในการจัดจำแนกและใช้ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อราใน genus *Oidium* subgenus *Pseudoidium* ที่พบบนพืชอาศัยชนิดต่างๆ