

บทที่ 1

บทนำ

เชื้อราแป้ง (Powdery mildew) จัดเป็นสาเหตุโรคพืชที่สำคัญชนิดหนึ่ง เนื่องจากเข้าทำลายพืชได้หลายชนิด เช่น ธัญพืช ไม้ดอกไม้ประดับ พืชผัก และไม้ผล เป็นต้น พบได้ทั้งในเขตหนาว เขตอบอุ่น เขตร้อน และพื้นที่ที่มีความชื้นสูง มีการดำรงชีวิตเป็นปรสิตถาวร (obligate parasite) ไม่สามารถเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อได้ การแพร่ระบาดของเชื้อราแป้งนั้น เกิดขึ้นในช่วงอุณหภูมิที่ต่าง ๆ กัน โดยอาศัย ลม แมลง และน้ำฝน เป็นต้น ซึ่งสามารถเข้าทำลายพืชได้ตลอดทั้งปี และทุกระยะการเจริญเติบโตของพืชอาศัย (Agrios, 1988)

การจัดจำแนกเชื้อราแป้งส่วนใหญ่ในอดีต ใช้วิธีการจัดจำแนกตามลักษณะสัณฐานวิทยา (morphology) ของการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (teleomorph) (Spencer, 1978) ได้แก่ จำนวน asci ต่อหนึ่ง ascocarp และโครงสร้างของ appendage เป็นหลักในการจัดจำแนก ซึ่งหลักการดังกล่าวได้กลายเป็นที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย ในทางตรงกันข้ามลักษณะของการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศกลับถูกละเลยและไม่ถูกนำมาใช้ในการจัดจำแนกโดยนักราวิทยาทั้งหลาย ด้วยเหตุนี้ ทำให้ลักษณะของ appendage ถูกยกระดับความสำคัญมากเกินความจำเป็น และก่อให้เกิดความสับสนขึ้น แต่เนื่องจากเชื้อราแป้งหลายชนิดยังไม่พบการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (teleomorph) (Guadet *et al.*, 1989) โดยเฉพาะเชื้อราแป้งที่พบในประเทศไทย (Giatgong, 1980) ประกอบกับในปัจจุบัน Braun *et al.* (2002) ได้เสนอแนวทางการจัดจำแนกเชื้อราแป้งแบบใหม่ซึ่งอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยาของการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเป็นหลักในการจัดจำแนก เช่น ลักษณะของ mycelium, appressorium, การสร้าง conidia ที่เป็นแบบเดี่ยว (single) หรือต่อกันเป็นสายโซ่ (chain), ลักษณะของ foot cell ที่เกิดบนก้าน conidiophore, การมีหรือไม่มี fibrosin body ของ conidia, ขนาดและรูปร่างของ conidia และลักษณะของ germ tube (Boesewinkel, 1980b; Shin, 1988 อ้างโดย Shin, 2000) เป็นต้น โดยเขาได้อธิบายว่า มูลเหตุสำคัญของการจัดจำแนกเชื้อราแป้งแบบใหม่นี้ เนื่องจากลักษณะต่าง ๆ ของการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศนั้น นับเป็นลักษณะที่มีความสำคัญในการจัดจำแนกชนิดในระดับ genus และมีความเกี่ยวข้องกับความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (phylogeny) ของเชื้อราแป้งมากกว่าลักษณะของการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศที่เคยใช้กันมาในอดีต โดยลักษณะของการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศได้ถูกลดระดับลงมาใช้ในการจัดจำแนกในระดับ species แทน ซึ่งการจัดจำแนกแบบใหม่นี้ ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงไปจากการจำแนกแบบเดิมอย่างมาก และยังไม่เป็นที่เข้าใจกันนักในกลุ่มคนที่ไม่ได้เป็นนักอนุกรมวิธาน (non-taxonomist) อย่างไรก็ตาม Braun *et al.* (2002) ได้ให้เหตุผลว่า การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวนี้ นับเป็นผลมาจากความก้าวหน้าทางด้านวิทยาศาสตร์

อย่างแท้จริง ทั้งนี้เป็นผลมาจากการพัฒนาการของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope) และการนำเทคนิคทางอนุชีววิทยาเข้ามาใช้ในการศึกษา ทำให้สามารถจัดจำแนกเชื้อราแบ่งออกเป็น 13 genus (Cook *et al.*, 1997; To-anun *et al.*, 2002 อ้างโดย ชัยวัฒน์, 2546) โดยเชื้อราแบ่งสามารถแบ่งตามลักษณะการเจริญของเส้นใยได้เป็น 2 ประเภท คือ เชื้อราแบ่งพวกที่มีการเจริญของเส้นใยอยู่ที่ผิวภายนอกพืชอาศัย มีลักษณะเป็น ectophytic mycelium โดยเชื้อราในกลุ่มนี้ได้รับอาหารจากการส่งโครงสร้างพิเศษที่เรียกว่า haustorium เข้าไปภายใน epidermal cell ของพืชอาศัย เพื่อดูดกินอาหารจากเซลล์พืช เชื้อราในกลุ่มนี้มีเพียง genus เดียว คือ genus *Oidium* ส่วนอีกประเภทหนึ่งเป็นเชื้อราแบ่งที่มีเส้นใยส่วนหนึ่งเป็น endophytic mycelium กล่าวคือ เชื้อราแบ่งในกลุ่มนี้จะสร้างเส้นใยเจริญเข้าไปในปากใบของพืชอาศัย และสร้าง haustorium ส่งเข้าไปดูดกินอาหารจากเซลล์ที่อยู่ภายใน โดยไม่พบการสร้าง haustorium เข้าไปดูดอาหารจาก epidermal cell ของพืชเลย ด้วยเหตุนี้จึงพบเชื้อราในกลุ่มนี้มากที่ด้านใต้ใบพืช (hypophyllous) เนื่องจากเป็นบริเวณที่มีปากใบมากกว่าด้านบนใบ เชื้อราในกลุ่มนี้ ได้แก่ เชื้อราแบ่งใน Tribe Phyllactinieae ซึ่งมีสมาชิกรวมทั้งสิ้น 3 genus คือ *Ovulariopsis*, *Oidiopsis* และ *Streptopodium*

สำหรับเชื้อราแบ่งใน Tribe Phyllactinieae ในระยะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศจัดอยู่ใน Class Deuteromycetes, Order Moniliales, Family Moniliaceae เชื้อราแบ่งเหล่านี้เป็นเพียงกลุ่มเดียวที่มีเส้นใยแบบ endophytic (Braun, 1987) ซึ่งจากการสำรวจในประเทศไทยที่ผ่านมา (คชาวุธ, 2545; พงษ์เทพ, 2545; พิชิต, 2545; วณิชดา, 2546; สุริน, 2545 และ Kom-un, 2003) เชื้อราแบ่งในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ไม่พบการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ โดยพบเพียง 2 genus ได้แก่ genus *Ovulariopsis* และ genus *Oidiopsis* ส่วน genus *Streptopodium* นั้นยังไม่มีรายงานพบแพร่ระบาดในประเทศไทย แต่มีรายงานว่าพบ *Streptopodium* รวม 5 species ในทวีปอเมริกาเหนือ อเมริกาใต้ และแอฟริกาใต้ ส่วนในทวีปเอเชีย มีรายงานว่าพบในประเทศจีน อินเดีย ญี่ปุ่น เกาหลี ไต้หวัน และปากีสถาน (Braun, 1982; Kimbr. & Korf., 1963; Zheng & Chen, 1978 อ้างโดย Braun, 1987) เป็นต้น ซึ่งเชื้อราแบ่งในกลุ่มนี้พบว่าเริ่มมีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เนื่องจากสามารถเข้าทำลายพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด เช่น พริก หม่อนและ ปอสา เป็นต้น โดยเชื้อราแบ่งในกลุ่มดังกล่าวมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันในแต่ละ genus ได้แก่ รูปร่าง ขนาดของ conidia และ conidiophore (Shin, 2000) เป็นต้น และยังมีลำดับเบสที่แตกต่างกันอีกด้วย (Takamatsu, 2005; personal communication) เช่นในกรณีของเชื้อราแบ่งที่พบบนถั่ว (*Cassia fistula*) ซึ่งสร้าง conidia ที่มีขนาดเล็กกว่าเชื้อราแบ่งทั่วไปที่จัดอยู่ใน genus *Ovulariopsis* และมีรูปร่างที่แตกต่างออกไป นอกจากนี้ conidiophore ยังมีขนาดที่ค่อนข้างสั้นกว่าอีกด้วย ซึ่งลักษณะดังกล่าวคล้ายคลึงกับเชื้อราแบ่งที่จัดอยู่ใน genus *Oidium* subgenus *Pseudoidium* จากการศึกษาค้นคว้าพบว่าในช่วงปลายฤดูร้อนบางปี เชื้อราแบ่งชนิดนี้มีการสร้าง ascumata แบบเดียวกับเชื้อราแบ่งใน genus *Phyllactinia* ซึ่งก่อให้เกิดความสับสนว่าเชื้อราแบ่งที่มีการสร้าง conidia จะเป็นเชื้อ

ราแป้งชนิดเดียวกับที่มีการสร้าง ascomata หรือไม่ เพราะตลอดระยะเวลาที่ผ่านมาเชื้อราแป้งที่เข้าทำลายคุณยังไม่พบการสร้าง conidia ที่มีลักษณะเช่นเดียวกับ conidia ของเชื้อรา *Phyllactinia* (สร้าง conidia แบบเดี่ยว รูปร่าง clavate, oblanceolate, rhomboid หรือ angular ซึ่งภายใน conidia ไม่มี fibrosin body สร้าง appressorium แบบ lobed เมื่อ conidia งอกสร้าง germ tube แบบ polygoni type) ซึ่งหากจะตรวจสอบว่าเชื้อราดังกล่าวเป็นชนิดเดียวกันหรือไม่นั้นจำเป็นต้องทำการปลูกเชื้อลงบนต้นคุณที่ไม่เป็นโรคซึ่งเป็นเรื่องที่ทำได้ยาก จึงมีความจำเป็นที่จะต้องนำเทคนิคทางด้านอนุชีววิทยามาช่วยในการตรวจสอบ

สำหรับเทคนิคด้านอนุชีววิทยาได้เข้ามามีบทบาทในการศึกษา และวินิจฉัยโรคพืชอย่างกว้างขวาง และมีแนวโน้มสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในงานต่าง ๆ มากขึ้นเป็นลำดับ ปัจจุบันนิยมนำมาใช้ในการตรวจสอบสายพันธุ์ของสิ่งมีชีวิตจำนวนมาก นอกจากนี้ยังสามารถนำมาใช้ในการจัดจำแนกชนิดของเชื้อรา และหาวิวัฒนาการหรือวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อราได้อีกด้วย

ด้วยเหตุนี้ การศึกษาวิจัยในครั้งนี้จึงมุ่งที่จะสำรวจ เก็บรวบรวม และจำแนกชนิดของเชื้อราแป้งใน Tribe Phyllactiniaceae โดยการจัดจำแนกชนิดจะอาศัยลักษณะสัณฐานวิทยาของการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเป็นหลักในการจัดจำแนก ร่วมกับเทคนิคทางอนุชีววิทยา โดยเปรียบเทียบลำดับเบสตรงตำแหน่ง rDNA ของเชื้อราแป้งในกลุ่มดังกล่าว ทั้งนี้จะทำการเปรียบเทียบกับเชื้อราแป้งใน Tribe Phyllactiniaceae ที่รวบรวมได้จากต่างประเทศอีกด้วย เพื่อช่วยแก้ปัญหาในการจัดจำแนก และใช้ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อราแป้งในกลุ่มดังกล่าวที่พบบนพืชอาศัยชนิดต่าง ๆ