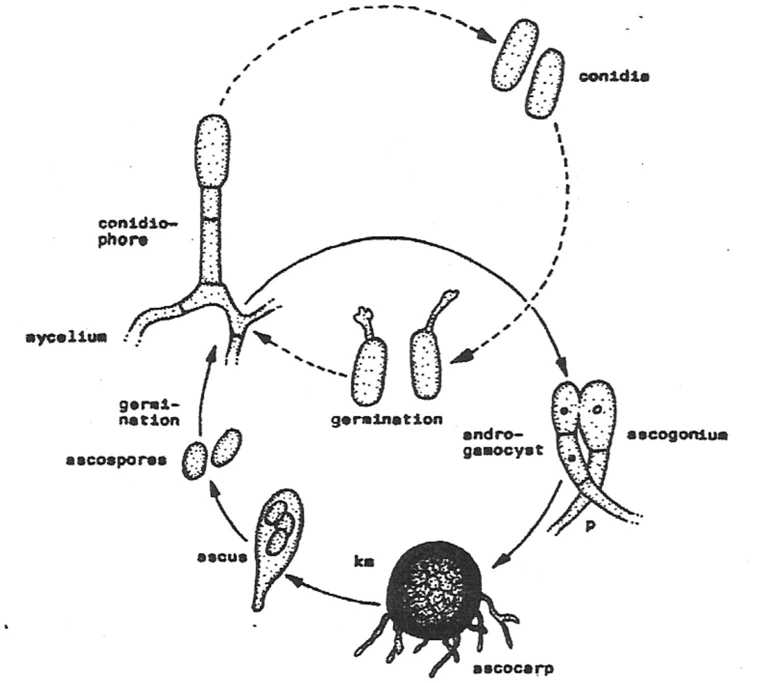
บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

เชื้อราแป้ง (Powdery mildew) จัดเป็นสาเหตุโรคพืชที่สำคัญชนิดหนึ่ง เนื่องจากเข้าทำลายพืชได้หลายชนิด เช่น ธัญพืช ไม้ดอกไม้ประดับ พืชผัก และไม้ผล เป็นต้น พบเชื้อราแป้งได้ทั้งในเขตหนาว เขตอบอุ่น เขตร้อน และพื้นที่ที่มีความชื้นสูง ซึ่งสามารถเข้าทำลายพืชได้ตลอดทั้งปี และทุกระยะการเจริญเติบโตของพืชอาศัย (Agrios, 1988) เชื้อราแป้งมีการดำรงชีวิตเป็นปรสิตถาวร (obligate parasite) คือ สามารถอาศัยอยู่บนสิ่งมีชีวิตเท่านั้น เมื่อสิ่งมีชีวิตตายจะต้องหาสิ่งมีชีวิตอื่นที่สามารถใช้เป็นพืชอาศัยได้ถึงจะมีชีวิตอยู่รอดได้ ไม่สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Agrios, 1988) เมื่อพืชถูกเชื้อราแป้งเข้าทำลายจะแสดงอาการโดยทั่วไปคือ เริ่มแรกปรากฏอาการเป็นรอยแผล หรือจุดเล็ก ๆ สีขาว หรือสีเทาอ่อน จากนั้นจะสังเกตเห็นอาการได้ชัดเจนขึ้น โดยพบลักษณะเป็นผงสีขาวคล้ายแป้งปกคลุมอยู่บนส่วนต่าง ๆ ของพืช เช่น ใบ กิ่ง ก้าน ฝัก และดอก เป็นต้น (Agrios, 1988; Braun, 1987) เชื้อราแป้งจะได้รับอาหารจากพืชโดยเส้นใย (mycelium) ซึ่งเจริญอยู่เหนือผิวพืช แล้วสร้าง specialized hyphae ที่เรียกว่า haustoria (feeding organ) แทงเข้าสู่ภายในเซลล์ของ epidermal cell ของพืช เพื่อดูดซับอาหาร การแพร่ระบาดของเชื้อราแป้งนั้น เกิดขึ้นในช่วงอุณหภูมิที่ต่าง ๆ กัน โดยอาศัย ลม แมลง และน้ำฝน เป็นต้น

เชื้อราแป้งมีการสืบพันธุ์ได้ 2 แบบคือ การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (perfect stage) ซึ่งจัดอยู่ใน Class Ascomycetes, Order Erysiphales, Family Erysiphaceae ประกอบด้วย 13 genus (Braun and Takamatsu, 2000) ในระยะนี้เชื้อราแป้งจะสร้าง ascospore (sexual spore) เกิดอยู่ในถุง ascus ภายในโครงสร้างที่มีรูปร่างกลมปิดสนิท (fruiting body) ที่เรียกว่า ascoma (cleistothecium) (Braun, 1987) มีลักษณะกลม สีน้ำตาลเข้ม หรือสีดำ เจริญอยู่บนผิวของพืชอาศัย สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (ชัยวัฒน์, 2546) เชื้อราแป้งสามารถอยู่ข้ามฤดูหนาว หรือสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมด้วยโครงสร้างนี้ หรือ resting mycelium และที่รอบ ๆ ผิวของ cleistothecium มีระยางค์ (appendage) ส่วนการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (imperfect stage) จัดอยู่ใน Class Deuteromycetes, Order Moniliales, Family Moniliaceae ประกอบด้วย 4 genus (Cook *et al.,* 1997) ในระยะนี้เชื้อราจะสร้าง asexual spore ที่เรียกว่า conidia อาจมีรูปร่างกลม รูปไข่ หรือรูปทรงกระบอก มี 1 เซลล์ ไม่มีสี (Agrios, 1988) เกิดอยู่บนก้านที่เรียกว่า conidiophore ซึ่งอาจเกิดขึ้นเดี่ยว ๆ ที่เรียกว่า solitary หรือ single type โดยสร้าง conidia 1 conidium ต่อวัน หรือเกิดต่อกันเป็นสายโซ่ที่เรียกว่า chain type และสร้าง conidia มากกว่า 1 conidium ต่อวัน ซึ่งวงชีวิตของเชื้อราแป้งดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 วงชีวิตของเชื้อราแป้ง (*Erysiphe polygoni*)
p- plasmogamy, k- karyogamy and m- meiosis (Braun, 1995) (อ้างโดย ชัยวัฒน์, 2546)

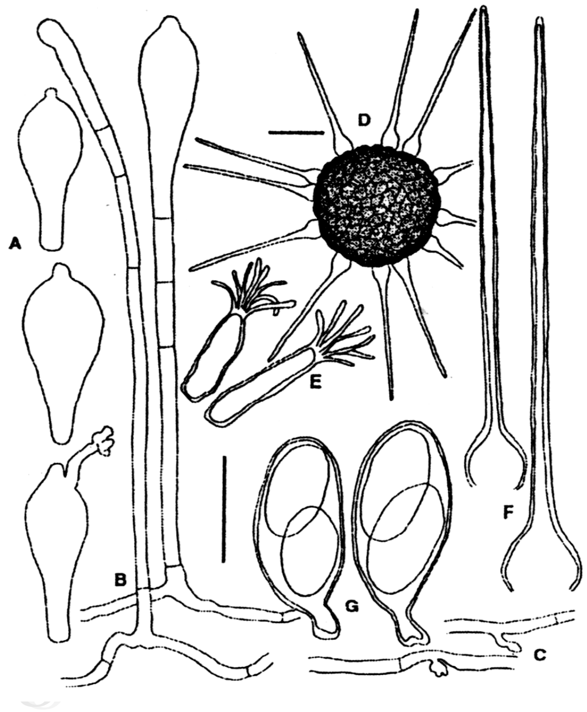
สำหรับประเทศไทยซึ่งอยู่ในเขตร้อนชื้น กล่าวคือ มีสภาพอากาศที่อบอุ่น และมีความชื้นสูงตลอดทั้งปี ทำให้เชื้อราแป้งที่พบในประเทศไทยมีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเป็นส่วนใหญ่ (Sontirat *et al.,* 1994) ด้วยเหตุนี้ ในอดีตที่ผ่านมาการจำแนกชนิดของเชื้อแป้งตามลักษณะของการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศนั้น จึงมีผลทำให้การจัดจำแนกชนิดเชื้อราแป้งในประเทศไทยไม่สามารถทำได้ ซึ่งนับเป็นอุปสรรคต่อการศึกษาเชื้อราแป้งในประเทศไทยมาจนถึงปัจจุบัน อย่างไรก็ตาม การศึกษาของ Braun *et al.* (2002) ที่ชี้ให้เห็นว่าลักษณะต่าง ๆ ของการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศสามารถนำมาใช้ในการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราแป้งในระดับ genus ได้ ด้วยเหตุนี้จึงเป็นที่น่าสนใจที่จะได้มีการศึกษาถึงการจัดจำแนกชนิดของเชื้อราแป้งในประเทศไทยตามลักษณะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

การจัดจำแนกเชื้อราแป้งตามลักษณะสำคัญของการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศนั้น สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ตามลักษณะการเจริญของเส้นใยคือ เชื้อราแป้งพวกที่มีการเจริญของเส้นใยอยู่ที่ผิวภายนอกพืชอาศัย มีลักษณะเป็น ectophytic mycelium โดยเชื้อราในกลุ่มนี้ได้รับอาหารจากการส่งโครงสร้างพิเศษที่เรียกว่า haustorium เข้าไปภายใน epidermal cell ของพืชอาศัย เพื่อดูดกินอาหารจากเซลล์พืช เชื้อราในกลุ่มนี้มีเพียง genus เดียวคือ genus *Oidium* ส่วนอีกประเภทหนึ่งเป็นเชื้อราแป้งที่มีเส้นใยส่วนหนึ่งเป็น endophytic mycelium กล่าวคือ เชื้อราแป้งในกลุ่มนี้จะสร้างเส้นใยเจริญเข้าไปในปากใบของพืชอาศัย และสร้าง haustorium ส่งเข้าไปดูดกินอาหารจากเซลล์ที่อยู่ภายใน โดยไม่พบการสร้าง haustorium เข้าไปดูดอาหารจาก epidermal cell ของพืชเลย ด้วยเหตุนี้จึงพบเชื้อราในกลุ่มนี้มากที่

ด้านใต้ใบพืช (hypophyllous) เนื่องจากเป็นบริเวณที่มีปากใบมากกว่าด้านบนใบ เชื้อราในกลุ่มนี้ ได้แก่ เชื้อราแป้งใน Tribe Phyllactinieae ซึ่งมีสมาชิกรวมทั้งสิ้น 3 genus คือ *Ovulariopsis, Oidiopsis* และ *Streptopodium* โดยมีระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจัดอยู่ใน genus *Phyllactinia, Leveillula* และ *Pleochaeta* ตามลำดับ (Braun, 1987; Shin, 2000) ซึ่งมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญดังต่อไปนี้

Genus *Ovulariopsis*

สร้าง conidia ชนิดเดียวแบบ single type มีรูปร่าง clavate ถึง angular-rhombiform, สร้างเส้นใยเจริญอยู่ภายนอกพืชอาศัย (ectophytic) โดยมีบางส่วนเจริญอยู่ภายใน (endophytic), ก้านชูสปอร์ (conidiophore) มีกำเนิดมาจากเส้นใยที่อยู่ภายนอก มีลักษณะผอมยาว, ที่เส้นใยพบ appressorium แบบ lobed, เมื่อ conidia งอกจะสร้าง germ tube แบบ polygoni type พบการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจัดอยู่ใน genus *Phyllactinia* ซึ่งมี ascoma ขนาดใหญ่ ประมาณ 100-400 µm. รูปร่างกลม มีผนังหลายชั้น สีเข้ม มีลักษณะเป็นแบบ dorsiventral, สร้าง appendage ที่ด้านข้างของ ascoma จำนวน 5-30 อัน มีลักษณะแข็ง ตรง ที่ฐานโป่งพองออก ไม่มีสี หรือมีสีอ่อน ที่ด้านบนของ ascoma พบ penicillate cell มีลักษณะที่ปลายแตกแขนง และสร้างสารเจลขึ้นปกคลุมเมื่อมีความชื้นสูง สร้าง ascus จำนวนมากที่มีลักษณะก้านสั้น ภายในมี ascospore ขนาดใหญ่จำนวน 2-4 ascospore (Braun, 1987; Shin, 2000) (ภาพที่ 2)



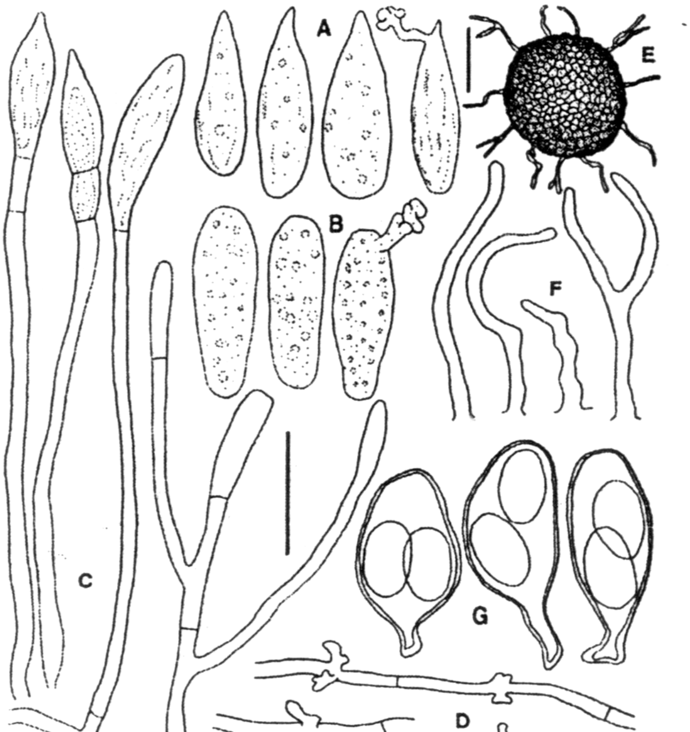
ลิขสิท ใหม่
Copyrigh versity
A l l v e d

ภาพที่ 2 *Phyllactinia kakicola*

A: conidia, B: conidiophore, C: hyphae และ appressoria, D: ascoma, E: penicillate cell, F: appendage, G: asci และ ascospore. (scale bar, 100 µm. สำหรับ ascoma และ 50 µm. สำหรับโครงสร้างอื่น ๆ) (Shin, 2000) (อ้างโดย ชัยวัฒน์, 2546)

Genus *Oidiopsis*

สร้าง conidia สองชนิดแบบ single type คือ primary conidia และ secondary conidia ที่มีรูปร่างไม่เหมือนกัน โดยที่ primary conidia มีรูปร่างแบบ ± lanceolate และมักเป็นแบบ apically pointed ส่วน secondary conidia มีรูปร่างแบบ ± ellipsoid ถึงรูปทรงกระบอก, เส้นใยอยู่ภายในพืชอาศัย (endophytic), สีขาว, เส้นใยที่อยู่ภายนอกมีลักษณะเป็น evanescent ถึง persistent รวมกันเป็นกลุ่ม หรือปกคลุมผิวพืชเกือบทั้งหมด ก้านชูสปอร์ (conidiophore) ปกติเจริญออกมาจากเส้นใยที่อยู่ภายในผ่านออกมาทางปากใบ มีส่วนน้อยที่สร้างจากเส้นใยที่อยู่ภายนอก ปกติไม่แตกแขนง แต่บางครั้งอาจแตกแขนงได้ มีลักษณะผอม บาง ที่ฐานไม่มีลักษณะบิดเป็นเกลียว ที่เส้นใยพบ appressoria แบบ lobed, เมื่อ conidia งอกสร้าง germ tube แบบ polygoni type พบการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจัดอยู่ใน genus *Leveillula* ซึ่งมีการสร้าง ascoma รูปร่างกลม ขนาดประมาณ 120-280 µm. ผนังของ ascoma มีหลายชั้น สีเข้ม สร้าง appendage จำนวนน้อยถึงมาก เกิดตรงส่วนล่างของ ascoma, รูปร่างแบบ mycelioid, ไม่แตกแขนง หรือแตกแขนงได้บ้างแบบไม่เป็นระเบียบ, สร้าง ascus จำนวนมากประมาณ 10-40 อัน ขนาดใหญ่ ภายในมี 1-4 ascospore (Arnaud, 1921) (อ้างโดย Shin, 2000) (ภาพที่ 3)

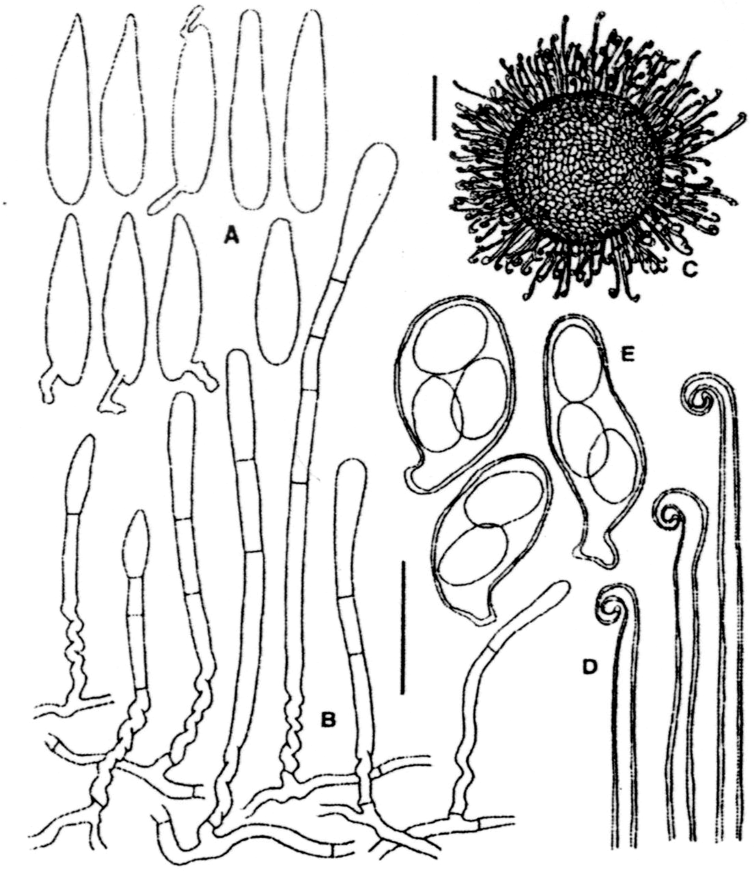


ภาพที่ 3 *Leveillula taurica*

A: primary conidia, B: secondary conidia, C: conidiophore, D: hyphae และ appressoria, E: ascoma, F: appendage, G: asci และ ascospore. (scale bar, 100 µm. สำหรับ ascoma และ 50 µm. สำหรับโครงสร้างอื่น ๆ) (Shin, 2000) (อ้างโดย ชัยวัฒน์, 2546)

Genus *Streptopodium*

สร้าง conidia สองชนิดแบบ single type คือ primary conidia และ secondary conidia ที่มีรูปร่างไม่เหมือนกัน โดยที่ primary conidia มีรูปร่างแบบ ± lanceolate ถึง ovoid-lanceolate และมักเป็นแบบ apically pointed ส่วน secondary conidia มีรูปร่างแบบ ± clavate, ovoid-ellipsoid ถึง subcylindric, สร้างเส้นใยอยู่ภายนอกพืชอาศัยโดยมีบางส่วนอยู่ภายใน ก้านชูสปอร์มีกำเนิดมาจากเส้นใยที่อยู่ภายนอก มีลักษณะผอม ยาว ที่ฐานมีลักษณะบิดเป็นเกลียว, ที่เส้นใยพบ appressoria แบบ lobed, เมื่อ conidia งอกสร้าง germ tube แบบ polygoni type พบการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศจัดอยู่ใน genus *Pleochaeta* สร้าง ascoma ขนาดใหญ่ รูปร่างแบบ ± turbinate, มีผนังหนาหลายชั้น สีเข้ม, appendage สร้างที่ส่วนบนของ ascoma ตั้งแต่จำนวนน้อยถึงจำนวนมาก ปลายม้วนงอ, สร้าง ascus หลายอัน ภายในมี 2-5 ascospore (Braun, 1987) (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 *Pleochaeta shiraiana*

A: conidia, B: conidiophore, C: ascoma, D: appendage, E: asci และ ascospore.

(scale bar, 100 µm. สำหรับ ascoma และ 50 µm. สำหรับโครงสร้างอื่น ๆ) (ชัยวัฒน์, 2546)

ลิขสิ ใหม่
Copyri rsity
All rights reserved

สำหรับเชื้อราแป้งใน Tribe Phyllactinieae ในระยะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศจัดอยู่ใน Class Deuteromycetes, Order Moniliales, Family Moniliaceae เชื้อราแป้งเหล่านี้เป็นเพียงกลุ่มเดียวที่มีเส้นใยแบบ endophytic (Braun, 1987) ซึ่งจากการสำรวจในประเทศไทยที่ผ่านมา (คฑาวุธ, 2545; พงษ์เทพ, 2545; พิชิต, 2545; วนิตดา, 2546; สุธิน, 2545 และ Kom-un, 2003) เชื้อราแป้งในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่ไม่พบการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ โดยพบเพียง 2 genus ได้แก่ genus *Ovulariopsis* และ genus *Oidiopsis* ส่วน genus *Streptopodium* นั้นยังไม่มีรายงานพบแพร่ระบาดในประเทศไทย แต่มีรายงานว่าพบ *Streptopodium* รวม 5 species ในอเมริกาเหนือ อเมริกาใต้ และแอฟริกาใต้ ส่วนในเอเชียมีรายงานว่าพบในประเทศจีน อินเดีย ญี่ปุ่น เกาหลี ไต้หวัน และปากีสถาน (Braun, 1982; Kimbr. & Korf., 1963; Zheng & Chen, 1978 อ้างโดย Braun, 1987) เป็นต้น ซึ่งเชื้อราแป้งในกลุ่มนี้พบว่า เริ่มมีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย เนื่องจากสามารถเข้าทำลายพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิด เช่น พริก หม่อน และ ปอสา เป็นต้น โดยเชื้อราแป้งในกลุ่มดังกล่าวมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่แตกต่างกันในแต่ละ genus ได้แก่ รูปร่าง, ขนาดของ conidia และ conidiophore (Shin, 2000) เป็นต้น และยังมีลำดับเบสที่แตกต่างกันอีกด้วย (Takamatsu, 2005; personal communication)

จากพัฒนาการของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM) และการนำเทคนิคทางอณูชีววิทยามาใช้ร่วมในการศึกษา Braun and Takamutsu (2000) ได้รวบรวมผลงานการศึกษาเชื้อราแป้งในระยะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยอาศัยผลการศึกษาของ Cook *et al.* (1997) ที่ศึกษาลักษณะของเชื้อราแป้งโดยใช้กล้อง SEM ร่วมกับผลการศึกษาของ Takamutsu *et al.* (1999) ที่ศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมโดยอาศัยเทคนิคระดับโมเลกุล (rDNA sequence analysis) และนำมาเปรียบเทียบกับการจัดจำแนกเชื้อราแป้งแบบเดิมตามรายงานของ Braun (1987, 1995) ที่อาศัยลักษณะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศเป็นหลักในการจัดจำแนก พบว่าการจัดจำแนกแบบเดิมมีความไม่สัมพันธ์กัน จึงได้เสนอแนะการจัดจำแนกแบบใหม่ โดยรวมลักษณะการสืบพันธุ์ทั้งสองแบบเข้าไว้ด้วยกัน ซึ่งสามารถจัดจำแนกออกเป็น 13 genus (Cook *et al.,* 1997; To-anun *et al.,* 2002) (อ้างโดย ชัยวัฒน์, 2546) (ตารางที่ 1) นอกจากนี้ ยังพบว่าลักษณะต่าง ๆ ที่สำรวจได้โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอนไปช่วยเสริมลักษณะต่าง ๆ ที่ตรวจพบได้โดยกล้องจุลทรรศน์ (Light microscope, LM) และยังสอดคล้องกับการศึกษาด้านอณูชีววิทยาด้วยวิธี DNA analysis อีกด้วย ซึ่ง Cook *et al.* (1997) ได้จัดจำแนกเชื้อราแป้งตามลักษณะของการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศใน genus *Oidium* ได้เป็น 8 subgenus ต่อมา To-anun *et al.* (2002) ได้รายงานพบเชื้อราแป้งใน subgenus ใหม่ที่พบบนพืช *Phyllanthus* spp. ด้วยเหตุนี้เชื้อราแป้งใน genus *Oidium* ในปัจจุบันจึงมีสมาชิกรวมทั้งสิ้น 9 subgenus ส่วนเชื้อราแป้งใน Tribe Phyllactinieae นั้นยังคงมีสมาชิกอยู่ทั้งสิ้น 3 genus ไม่เปลี่ยนแปลง (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 1 การจัดจำแนกเชื้อราแป้งตามลักษณะของการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศร่วมกับผลการศึกษาด้านอณูชีววิทยา (Cook *et al*., 1997; To-anun *et al*., 2005) (อ้างโดย ชัยวัฒน์, 2548)

Family	Tribe	Subtribe	Genus	Section	Subsection
Erysiphaceae	Blumeria		_Blumeria_		
	Cystotheceae	Cystothecianae	_Cystotheca_		
			Podosphaera	Podosphaera	
				Sphaerotheca	Sphaerotheca Magnicellulatae
		Sawadaeinae	_Sawadaea_		
	Erysipheae	Typhulochaetinae	_Typhulochaeta_		
		Erysiphinae	_Brasiliomyces_		
			Erysiphe	Erysiphe Microsphaera Uncinula	
	Golovinomyceteae	Golovinomycetinae	_Golovinomyces_	Depressi Golovinomyces	
		Arthrocladiellinae	_Arthrocladiella_		
		Neoerysiphinae	_Neoerysiphe_		
	Phyllactinieae		**_Phyllactinia_**		
			Leveillula		
			Pleochaeta		
			Caespitotheca*		
			Parauncinula*		

หมายเหตุ * เป็น genus ใหม่ที่ยังไม่ได้จัดว่าอยู่ใน Tribe ใด

ตารางที่ 2 การจัดจำแนกเชื้อราแป้งตามลักษณะของการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ (Cook *et al*., 1997; To-anun *et al*., 2005) (อ้างโดย ชัยวัฒน์, 2548)

Family	Genus	Subgenus	Teleomorph
Moniliaceae (Erysiphaceae)	**1. *Ovulariopsis***	-	***Phyllactinia***
	2. *Streptopodium*	-	***Pleochaeta***
	3. *Oidiopsis*	-	***Leveillula***
	4. *Oidium*	*Pseudoidium*	*Erysiphe*
		Setoidium	*Cystotheca*
		Fibroidium	*Podosphaera*
		Octagoidium	*Sawadaea*
		Oidium	*Blumeria*
		Striatoidium	*Neoerysiphe*
		Graciloidium	*Arthrocladiella*
		Reticuloidium	*Golovinomyces*
		Microidium	Unknown

การจัดจำแนกเชื้อราแป้งในระยะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศของ Cook และคณะ (1997) และ To-anun และคณะ (2002) ได้แบ่งเชื้อราแป้งออกเป็น 4 genus โดย 3 genus แรก (*Ovulariopsis, Oidiopsis* และ *Streptopodium*) เป็นเชื้อราแป้งพวก endophytic parasite ส่วนเชื้อราแป้งใน genus *Oidium* นั้นเป็นพวก ectophytic parasite ซึ่งเชื้อราแป้งใน genus นี้ประกอบด้วย 9 subgenus โดยเชื้อราแป้งใน subgenus *Pseudoidium* นั้นเป็นเพียง subgenus เดียวที่มีการสร้าง conidia เป็นแบบเดี่ยว ส่วนอีก 8 subgenus นั้นสร้าง conidia เป็นแบบ ต่อกันเป็นสายโซ่

สำหรับลักษณะของเชื้อราในแต่ละ genus และ subgenus สามารถสรุปเป็น key ได้ดังนี้ (Cook *et al*., 1997; To-anun *et al*., 2005) (อ้างโดย ชัยวัฒน์, 2548)

I. Teleomorphic Key to Genera of Powdery Mildews (Erysiphaceae);

1 Mycelium endoparasitic or partly endoparasitic, conidia produced solitary (singly) without fibrosin bodies, peridium more than one layer, polyasci (Tribe Phyllactinieae) 2

1' Mycelium ectoparasitic (mycelium external), conidia produced in chains or solitary with or without fibrosin bodies, peridium one or more than one layer, polyasci or single ascus 4

2 Producing only one type of conidia, appendage bristle-like (bulbous or swellen at the base), conidial state belonging to the genus *Ovulariopsis* . . . . ……………………………........ Genus *Phyllactinia*

2' Producing two types of conidia (primary and secondary conidia). . . . ………………. 3

3 Appendage mycelioid, conidial state belonging to the genus *Oidiopsis* ... ………. . . Genus *Leveillula*

3' Appendage apically uncinate-circinate (helicoid), conidial state belonging to the genus *Streptopodium* . . . . ……………………………... . Genus *Pleochaeta*

4 Produce conidial state (chains or solitary) . . . . . . ……………….. 5

4' Not produce conidial state . . . . ………………... 13

5 Conidia produced in chains (Euoidium-type) . . . . ………………. . . . 6

5' Conidia produced solitary (Pseudoidium-type), polyasci, peridium more than one layer, appendage mycelioid, dichotomously branched or unbranched but with uncinate-circinate apex (helicoid) . . . . …………………………………………………………. Genus *Erysiphe*

6 Fibrosin body absent, polyasci . . . . ……………. 7

6' Fibrosin bodies present . . . . ………………... 11

7 Produced one type of mycelia . . . . ………………... 8

7' Produced two types of mycelia (primary and secondary mycelium), conidiophore swelling at the base, parasitic to the Poaceae (monocot), (Tribe Blumerieae).. . . . . Genus *Blumeria*

8 Appendages simple, mycelioid . . . . ……………….. 9

8' Appendages dichotomousely branched or fasciculate . . . . ……………….. 10

9 Appressoria simple (indistinct or nipple shaped), polyasci, ascospore 2-3/ascus . . . . …………………………………. Genus *Golovinomyces*

9' Appressoria well developed (lobe-shaped), appendage mycelioid, polyasci, ascospore 2-6/ascus, ...…………………………….. . . . . Genus *Neoerysiphe*

10 Appendages dichotomously branched, polyasci, conidium initials and conidia hardly separable (subtribe Arthocladiellinae) . . . . ……………………….. . . . . . . Genus *Arthocladiella*

10' Appendages fasciculate, arise from upper part of ascoma . . . ……………….. . . . Genus *Caespitotheca*

11 Produced one type of condia (micro-conidia absent), single ascus . . . . ……………….. . . 12

11' Produced two types of conidia (micro and macro-conidia), polyasci, appendages branched and with uncinate-circinate apex. . . . . ……………………………….... . . Genus *Sawadaea*

12 Mycelium forms pigmented special aerial hyphae of falcate to filiform-shaped (brownish aerial hyphae), parasitic to the Fagaceae . . . . ……………………………………. . . . . . Genus *Cystotheca*

12' Appendage dichotomously branched or mycelioid . . ………………... . . . . Genus *Podosphaera*

13 Peridium multilayered . . . . ……………….. 14

13' Peridium one layer, appendage sparsely developed, mycelioid, few, often nearly absent or even lacking, polyasci . . . . ………………………….. . . . . Genus *Brasiliomyces*

14 True appendages absent but apecial cells (appendage-like structures, club-shaped) present, arising from the upper half, polyasci …………………………………... . . . . Genus *Typhulochaeta*

14' Appendages with uncinate-circinate apex and multiseptate, polyasci, ascospore curvate . . . .…………………………….. . . . . Genus *Parauncinula*

II. Anamorphic Key to Genera and Subgenera of Powdery Mildews (Erysiphaceae);

1 Mycelium endophytic as well as ectophytic, produced both internal and external mycelium 2

1' Mycelium ectophytic, conidiophores arise from the epiphytic mycelium . . . . the fungi belongs to the hyphomycetes genus *Oidium,* Subgenus . . . . . ……………………….. 4

2 Producing only one type of conidia, conidiophores arising from external mycelium, long and slender composed of several cells, conidia formed singly, very seldom short chains, large, clavate to angular-rhombiform, germ tubes polygoni-type, teleomorphic state belongs to *Phyllactinia* . . . . genus *Ovulariopsis.*

2' Producing two types of conidia (dimorphic), primary and secondary conidia 3

3 Conidiophore arising from the external mycelium, foot-cells spirally twisted, conidia formed singly, primary conidia ±lanceolate to ovoid-lanceolate, secondary conidia ±clavate, ovoid-ellipsoid to subcylindric, apex obtuse (-truncate), germ tubes polygoni-type, teleomorphic state belongs to *Pleochaeta* . . . . Genus *Streptopodium*.

3' Conidiophore arising from the internal mycelium through the stomata, rarely from the external mycelium, simple, foot-cells straight, primary conidia and secondary conidia variable in shape but usually not clavate, germ tubes polygoni-type, teleomorphic state belongs to *Leveillula* . . . . genus *Oidiopsis*.

4 Conidia produced singly (produced one at a time) without fibrosin bodies, germ tubes polygoni-type, teleomorphic state belongs to *Erysiphe* . . . . Subgenus *Pseudoidium.*

4' Conidia produced in chains 5

5 Conidia with fibrosin bodies 6

5' Conidia without fibrosin bodies 8

6 Mycelium forms pigmented special aerial hyphae of falcate to filiform-shaped (brownish aerial hyphae), appressoria indistinct or nipple-shaped, germ tubes pannosa-type, teleomorphic state belongs to *Cystotheca* . . . . Subgenus *Setoidium.*

6' Mycelium without distinct aerial hyphae (hairs) 7

7 Produced one type of conidia, appressoria indistinct or nipple-shaped, germ tubes fuliginea-type or pannosa-type, teleomorphic state belongs to *Podosphaera* . . . . Subgenus *Fibroidium.*

7' Produced two types of conidia, germ tubes pannosa-type, teleomorphic state belongs to *Sawadaea* . . . . Subgenus *Octagoidium.*

8 Conidia small (ca. 20 x 9.6 µm) with oil-drop like inclusion bodies, germ tubes microidium-type, teleomorphic state unknown . . . . Subgenus *Microidium.*

8' Conidia large, without oil-drop like inclusion bodies 9

9 Conidiophores bulbose swellings in the basal part, germ tubes cichoracearum-type, teleomorphic state belongs to *Blumeria* . . . . Subgenus *Oidium.*

9' Conidiophores not bulbose swellings, cylindric, simple 10

10 Appressoria well developed, lobed to multilobed, germ tubes polygoni-type, teleomorphic state belongs to *Neoerysiphe* . . . . Subgenus *Striatoidium.*

10' Appressoria indistinct or nipple-shaped or slightly lobed 11

11 Conidium initials and conidia hardly separable, the width of immature conidia on conidiophores only slightly broader than the conidia, germ tubes cichoracearum-type, teleomorphic state belongs to *Arthrocladiella* . . . . Subgenus *Graciloidium.*

11' Conidia wider than conidium initials, with sinuate edge, germ tubes cichoracearum-type, teleomorphic state belongs to *Golovinomyces* . . . . Subgenus *Reticuloidium.*

การศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (phylogenetic relationship) ของเชื้อรา

Phylogeny หมายถึง ความสัมพันธ์ และ/หรือ ประวัติทางวิวัฒนาการ (evolutionary relationship/history) ของสิ่งมีชีวิตหรือกลุ่มของสิ่งมีชีวิต เป็นเพียงการประเมิน (estimate) โดยอาศัยข้อมูลทางลักษณะสัณฐานวิทยาหรือข้อมูลทางพันธุกรรม เช่น isozyme หรือ restriction site หรือ DNA sequence โดยนำมาเปรียบเทียบและหาความสัมพันธ์ภายใน หรือระหว่างกลุ่มของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ (ชัยวัฒน์, 2546)

สำหรับในกรณีของเชื้อรา เทคนิคทางอณูวิทยามีส่วนช่วยทำให้การศึกษาเกี่ยวกับ phylogeny ของเชื้อราดังกล่าวสะดวก รวดเร็ว และมีความแม่นยำมากขึ้น โดยอาศัยโปรตีนและกรดนิวคลีอิกเป็น

เครื่องมือในการศึกษา (Takamatsu, 1998) อย่างไรก็ตาม การนำเอนไซม์ และโปรตีนมาใช้ในการศึกษา พบว่ามีข้อจำกัด เนื่องจากเอนไซม์และโปรตีนเป็นผลจากการแสดงกิจกรรมของยีน ซึ่งสภาพแวดล้อมมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของยีน ทำให้ผลการตรวจสอบที่ได้มีความแปรปรวน หรือมีความผิดพลาดอยู่บ้าง ด้วยเหตุนี้ จึงนิยมทำการศึกษา หรือตรวจสอบที่ระดับของดีเอ็นเอโดยตรง

Phylogenetic tree ที่วิเคราะห์จากลำดับเบสของยีนหนึ่ง ๆ สามารถใช้เป็นเครื่องมือในการหาความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของสิ่งมีชีวิตภายใน species และสามารถตอบคำถามเกี่ยวกับระยะเวลาที่เกิดการวิวัฒนาการ และปัญหาทางนิเวศวิทยาที่เกิดขึ้นได้ (Page and Holmes, 1996) โดย phylogenetic distance ระหว่างสิ่งมีชีวิต สามารถคำนวณได้จากจำนวนการเปลี่ยนแปลงที่เพิ่มขึ้นในยีน ซึ่งมีรหัสในการสร้างโปรตีน หรือ ribonucleic acid (RNA) เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นจะปรากฏในลำดับนิวคลีโอไทด์ (ลำดับเบส) ของยีน (Watson *et al.,* 1987)

ดีเอ็นเอเครื่องหมาย (DNA marker) ถือเป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมที่มีประสิทธิภาพ สามารถใช้หาความแตกต่างระหว่างสิ่งมีชีวิตได้อย่างแม่นยำ และชัดเจน เนื่องจากเป็นการตรวจสอบความแตกต่างถึงระดับพันธุกรรมซึ่งสามารถถ่ายทอดไปยังลูกหลานทำให้สามารถตรวจสอบบรรพบุรุษร่วมได้ จึงถูกนำมาใช้เป็นเครื่องหมายประจำตัวของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ในชื่อที่รู้จักกันว่า "ลายพิมพ์ดีเอ็นเอ" (DNA fingerprint) โดยเทคนิคดังกล่าวถูกนำมาใช้อย่างมากในงานวิจัยเกี่ยวกับการจัดจำแนก (identification) อนุกรมวิธาน (taxonomy) ของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ, พันธุศาสตร์ประชากร (population genetics) ตลอดจนการปรับปรุงพันธุ์ (breeding) การระบาดวิทยา (epidemiology) ของพืชและเชื้อรา ดีเอ็นเอเครื่องหมายถูกนำมาใช้ตรวจสอบความแตกต่างระหว่างสิ่งมีชีวิตโดยอาศัยความแตกต่างดังนี้

1. การเพิ่ม หรือสูญเสียไปของดีเอ็นเอตรงตำแหน่งของเอนไซม์ตัดจำเพาะจดจำ หรือตำแหน่งที่ PCR primer มาเข้าคู่
2. เกิดการแทรกเข้ามา หรือขาดหายไปของดีเอ็นเอตรงตำแหน่งที่เอนไซม์ตัดจำเพาะจดจำ หรือตำแหน่งที่ PCR primer มาเข้าคู่
3. จำนวนของดีเอ็นเอที่มีความซับซ้อนต่อเนื่องแตกต่างกันตรงบริเวณระหว่างตำแหน่งที่เอนไซม์ตัดจำเพาะจดจำ หรือตำแหน่งที่ PCR primer มาเข้าคู่
4. การเรียงลำดับเบสบนดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด

ดีเอ็นเอเครื่องหมายสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ ดีเอ็นเอเครื่องหมายที่ใช้วิธีการ DNA-DNA hybridization เช่น RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism) และดีเอ็นเอเครื่องหมายที่ใช้วิธีการ PCR (Polymerase Chain Reaction) เช่น RAPD (Random Amplified Polymorphism), SSR (Simple Sequence Repeat) และ AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) เป็นต้น

DNA Sequence Analysis

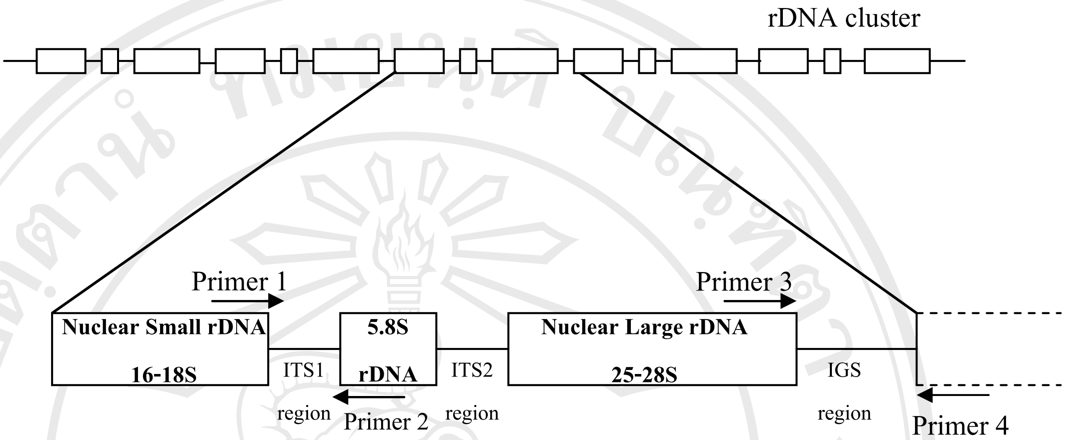
DNA sequence analysis คือ การตรวจหาการเรียงตัวของลำดับเบส เป็นการพิสูจน์ความแตกต่างของดีเอ็นเอโดยตรง โดยเปรียบเทียบการเรียงตัวของเบสทั้งสี่ชนิดที่เป็นส่วนประกอบของดีเอ็นเอ ผลที่ได้จากการทำ DNA sequence สามารถบอกได้ถึงการเปลี่ยนแปลงของลำดับเบสซึ่งอาจเป็นผลมาจากการเกิด transversion, transition, silent หรือ selected ของยีน และยังใช้เป็นเครื่องวัดระดับ nucleotide bias (Takamatsu, 1998) โดยที่ผลการทดลองที่ได้จากห้องปฏิบัติการหลาย ๆ แห่งสามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้โดยตรง การใช้เทคนิค DNA sequence analysis ได้ถูกนำมาใช้ในการจำแนกพันธุ์ รวมทั้งการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม (phylogenetic relationship) ของเชื้อราหลาย ๆ ชนิด ซึ่งเป็นการศึกษา หรือตรวจสอบในระดับของดีเอ็นเอโดยตรงที่ให้ผลการตรวจสอบ หรือการศึกษาใกล้เคียงกับความเป็นจริงมากที่สุด นอกจากนี้ ข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ของจีโนมสิ่งมีชีวิตหลาย ๆ ชนิด สามารถค้นหาได้จากเอกสารตีพิมพ์ผลงานวิจัยในวารสารต่าง ๆ หรือจาก nucleotide database ซึ่งเป็นฐานข้อมูลคอมพิวเตอร์ที่เก็บรวบรวมทุกลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มีผู้รายงานไว้ผ่านทางอินเตอร์เน็ต

เนื่องจากในปัจจุบันมีการเก็บรวบรวมข้อมูลลำดับเบสของดีเอ็นเอ และโปรตีนที่มีรายงานไว้ในศูนย์เก็บข้อมูลซึ่งมีเครือข่ายทางอินเตอร์เน็ต (nucleotide database) โดยข้อมูลลำดับเบสของดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ จะถูกเก็บรวบรวมไว้ในสี่ศูนย์ที่สำคัญ ได้แก่ The DNA Databank of Japan (DDBJ), The European Molecular Biology Laboratory (EMBL), The GenBank และ The Genome Sequence Database (GSDB) ซึ่งทั้งสี่ศูนย์จะเชื่อมโยงข้อมูลเข้าด้วยกัน โดยผู้ที่ทำการศึกษา หรือผู้ที่สนใจเกี่ยวกับการวิเคราะห์ลำดับเบสของดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ สามารถเข้าไปค้นหาข้อมูล เพื่อใช้เปรียบเทียบและอ้างอิงได้ นอกจากนี้ยังสามารถส่งข้อมูลไปเก็บไว้ในฐานข้อมูลของศูนย์ได้ (Burks, 1997) (ข้อมูลที่ตั้ง และที่อยู่ทางอินเตอร์เน็ตของศูนย์ทั้งสี่ แสดงไว้ในภาคผนวก)

Nuclear rRNA genes (rDNA)

ลำดับเบสของ nuclear rRNA gene ใช้ในการจัดจำแนก และศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต เนื่องจากเป็นองค์ประกอบที่พบโดยทั่วไปในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต และมีบทบาทสำคัญในเซลล์ ทำหน้าที่สังเคราะห์ rRNAs โดยตรง ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นใน rDNA อาจเป็นผลที่เกิดจากการเกิดวิวัฒนาการของจีโนมทั้งหมดในสิ่งมีชีวิต กลุ่มของ rDNA พบได้ใน nucleus และ mitochondria ประกอบด้วยตำแหน่งที่เป็น highly conserved และ variable สำหรับ nuclear rRNA gene ของเชื้อรามีลักษณะที่เป็นหน่วยที่เรียงซ้ำ ๆ ต่อกัน ซึ่งมีหลายร้อยชุดต่อจีโนม ลำดับเบสที่เป็นตำแหน่งอนุรักษ์จะพบที่ตำแหน่ง large subunit (LSU) และ small subunit (SSU) ซึ่งในส่วนของ subunit นี้ได้มีการนำไปใช้หาความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มของสิ่งมีชีวิตในระดับ Order และ Kingdom ในสิ่งมีชีวิตพวก eukaryote และลำดับเบสส่วนที่มีความผันแปรคือ ตำแหน่ง spacer region ซึ่งส่วนที่อยู่ระหว่าง subunit

จะเรียกว่า internal transcribed spacer (ITS) และที่อยู่ระหว่างกลุ่มยีน (gene cluster) เรียกว่า intergenic spacer (IGS) (ภาพที่ 5) ซึ่งในส่วนของ spacer เหล่านี้ใช้หาความสัมพันธ์ระหว่างกลุ่มของสิ่งมีชีวิตในระดับ genera และ sub-species ได้ (Cooke and Duncan, 1997) (อ้างโดย Duncan *et al.,* 1998)



ภาพที่ 5 ไดอะแกรมแสดงหน่วยของ rDNA repeat units โดย ITS คือ internal transcribed spacer และ IGS คือ intergenic spacer (Mill *et al.,* 1992)

ปัจจุบันได้มีการใช้ข้อมูลลำดับเบสของ rDNA ในการศึกษาความสัมพันธ์ทางอนุกรมวิธานและความผันแปรทางพันธุกรรมของเชื้อราหลายชนิด เช่น *Neurospora, Fusarium, Colletotrichum* และ powdery mildew เป็นต้น โดยใช้เทคนิคที่เรียกว่า Polymerase Chain Reaction (PCR) ในการเพิ่มปริมาณของ rDNA ตรงตำแหน่ง ITS1-5.8S-ITS2 จากนั้นจึงนำมาวิเคราะห์หาลำดับเบสและเปรียบเทียบผลที่ได้เพื่อสร้าง phylogenetic tree นอกจากนี้ ยังมีการใช้ข้อมูลลำดับเบสในส่วน mitochondria DNA (mtDNA) ซึ่งพบว่าเป็นตำแหน่งที่มีความผันแปรของลำดับเบสมากกว่าในตำแหน่ง subunits และได้นำมาใช้อย่างกว้างขวางในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง species และ/หรือ ระหว่างประชากรภายใน species (ชัยวัฒน์, 2546)

Internal Transcribed spacer หรือ ITS region

ITS ประกอบด้วยตำแหน่ง non-coding variable region 2 ตำแหน่ง ซึ่งจะพบอยู่ในหน่วยที่ซ้ำ ๆ กันของ rRNA gene (ภาพที่ 5) โดยพบอยู่ระหว่าง highly conserved small subunit rRNA gene, 5.8S subunit rRNA gene และ large subunit rRNA gene พบว่ามีการนำเอาลำดับเบสในบริเวณ ITS มาทำการเปรียบเทียบเพื่อใช้ในการจัดจำแนก และศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อราหลายชนิด เนื่องจาก

1. ตำแหน่งของยีนมีขนาดเล็ก (500-800 bp) และทำการเพิ่มปริมาณได้ง่ายด้วยเทคนิค PCR และสามารถใช้ universal primer เพียงตัวเดียวก็สามารถเพิ่มปริมาณลำดับเบสในตำแหน่ง ITS และ conserved regions ของ rRNA subunit gene ได้
2. มียีนอยู่หลายร้อยชุดในเซลล์ทำให้ง่ายในการเพิ่มปริมาณโดยที่แม้จะมี DNA sample น้อยก็สามารถศึกษาได้
3. ตำแหน่งยีนของ ITS อาจจะมีความผันแปรที่สูงมากระหว่าง species ของสิ่งมีชีวิตที่แตกต่างกัน ทำให้สามารถใช้ในการคาดเดา (estimate) ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และการจัดแบ่งกลุ่ม รวมทั้งการศึกษาทาง phylogenetic ได้
4. การสร้าง ITS-probe สามารถทำได้เร็ว โดยไม่จำเป็นต้องมี chromosomal library และนักวิทยาศาสตร์หลายคนเลือกลำดับเบสจาก ITS region เพื่อใช้เป็น probe เพราะลำดับเบสมีหลายชุดที่เหมือนกันใน species เดียวกัน และต่างกันในระหว่าง species ของเชื้อรา

การวิเคราะห์ลำดับเบสบน ribosomal DNA ในเชื้อรามีจุดประสงค์ที่สำคัญคือ เพื่อใช้ในการจัดจำแนกเชื้อรา, ศึกษาความสัมพันธ์ของเชื้อรา และนำข้อมูลที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในงานด้านต่างๆ ต่อไป

จากประสิทธิภาพของดีเอ็นเอเครื่องหมายดังกล่าว จึงทำให้มีผู้นำมาใช้ในงานด้านอนุกรมวิธานและจัดจำแนกเชื้อราอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะกับเชื้อราที่ไม่สามารถจัดจำแนกได้อย่างชัดเจน เช่น เชื้อราในกลุ่มของ *Colletotrichum, Fusarium* และเชื้อราแป้ง เป็นต้น (ชัยวัฒน์, 2546) นอกจากนั้นยังนำมาใช้ศึกษาความผันแปรทางพันธุกรรมของประชากรเชื้อรา และความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราสาเหตุโรคพืช เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการควบคุมโรค เช่น การวางแผนในการป้องกันกำจัด และการคัดเลือกพันธุ์ต้านทาน เป็นต้น สำหรับเชื้อราแป้งนั้นได้มีการศึกษาดังนี้

Chunwongse และคณะ (1994) ได้รายงานการตรวจหายีนต้านทาน (*Lv.*) ต่อเชื้อราแป้งของมะเขือเทศ (*Leveillula taurica* (Lèv) Arnaud) โดยใช้เทคนิค Random Amplified Polymorphism (RAPD) และ Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP) ทำให้สามารถตรวจหามะเขือพันธุ์ที่มียีนต้านทานหรืออ่อนแอต่อเชื้อราแป้งดังกล่าวได้

Hirata และ Takamatsu (1996) รายงานถึงขั้นตอนในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราแป้ง โดยศึกษาความผันแปรที่ลำดับเบสตรงตำแหน่ง rDNA ของเชื้อราแป้งว่า ประกอบด้วยขั้นตอนต่าง ๆ 3 ขั้นตอน คือ DNA extraction, amplification และ DNA purification จากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราแป้ง 4 ชนิด โดยศึกษาความผันแปรที่ลำดับเบสของ rDNA ตรงตำแหน่งของ ITS1-5.8S-ITS2 ซึ่งได้มาจาก conidia ของเชื้อราแป้งจำนวน 100 conidia หรือใช้

cleistothecia จำนวน 20 cleistothecia โดยผลจากการหาลำดับเบสของ rDNA ทั้งที่ได้จากระยะการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ (teleomorph) และไม่อาศัยเพศ (anamorph) ของเชื้อราแป้งแสดงให้เห็นได้อย่างชัดเจน ด้วยเหตุนี้ ข้อมูลที่ได้สามารถนำมาใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อราแป้งได้ แต่ที่ตำแหน่ง ITS นี้มีความผันแปรมาก จึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อราแป้งที่มีความแตกต่างกันทางพันธุกรรมมาก ๆ ได้ เพราะลำดับเบสมีความหลากหลายมากเกินไป ส่วนที่ตำแหน่ง 5.8S นั้นมีข้อมูลทางพันธุกรรมน้อยเกินไป อย่างไรก็ตามลำดับเบสของ rDNA ที่ตำแหน่ง ITS นี้สามารถนำมาใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของเชื้อราแป้งที่มีความใกล้ชิดกัน หรือเชื้อราภายในสปีชีส์เดียวกันได้

นอกจากนี้ Mori และคณะ (2000a, 2000b) จากการศึกษาลำดับเบสตรงตำแหน่ง 18S และ 28S โดยใช้ primer 2 ชนิด คือ PM3 และ PM4 พบว่า มีความน่าเชื่อถือ และได้พยายามหาลำดับเบสที่ตำแหน่ง 28S rDNA ของ *Phyllactinia kakicola* Sawada (Vaucher: MumH19) โดยใช้ universal primer ซึ่งส่วนใหญ่สามารถใช้ universal primer ได้ มีเพียงบางครั้งเท่านั้นที่ไม่สามารถใช้ได้ และเมื่อใช้ primer PM3 ในการเพิ่มปริมาณ DNA สามารถให้ผลดีที่ตำแหน่ง 28S ส่วนผลของตัวอย่างอื่น ๆ ที่ทำการเพิ่มปริมาณที่ตำแหน่ง 18S และ 28S โดยใช้ primer PM3 และ PM4 ทั้ง 2 ชนิดก็ให้ผลเช่นเดียวกัน

Jones และคณะ (2000) ได้เปรียบเทียบเชื้อราแป้ง *O. lycopersici* ที่พบบนมะเขือเทศกับเชื้อราแป้งอื่น ๆ ซึ่งพบว่ามีลักษณะที่แตกต่างไปจากเชื้อราแป้งชนิดอื่น ๆ แต่มีลักษณะที่คล้ายคลึงกันกับเชื้อรา *Erysiphe aquilegiae* var. *ranunculi* ซึ่งได้อธิบายการงอกของ conidia และลักษณะของ appressorium ใหม่ ทำการศึกษาโดยใช้ light microscope และ scanning electron microscope พบว่าผิวของ conidia มีลักษณะเรียบ (smooth) ถึง slightly rugose และมี appressorium เป็นแบบ multi-lobed เกาะติดผิว host โดย mucilaginous pad และทำการตรวจสอบเชื้อราแป้งนี้โดยการหาลำดับเบสของ rDNA ตรงตำแหน่ง ITS region ร่วมด้วย

Takamutsu และ Kano (2001) ทำการออกแบบ PCR primer 4 ชนิด (PM3, PM4, PM5 และ PM6) เพื่อใช้ในการหาลำดับเบสของ rDNA ของเชื้อราแป้ง ซึ่ง primer เหล่านี้มีความคงทนต่องานที่ใช้กับเชื้อราแป้งจำนวนมาก และมีความจำเพาะเจาะจงต่อ DNA ของเชื้อราแป้งเพื่อกำจัด DNA ที่ปนเปื้อนออกไป โดยลำดับเบสของ rDNA ตรงตำแหน่ง ITS นี้สามารถนำมาใช้ได้ แม้ว่าจะได้จากตัวอย่างที่มีการปนเปื้อนจากเชื้อราอื่น และผลจากการศึกษาลำดับเบสที่ตำแหน่ง 18S และ 28S rDNA เป็นที่น่าสนใจว่าสามารถนำ primer นี้มาประยุกต์ใช้กับตัวอย่างเชื้อราแป้งได้อย่างมาก

Khodaparast, Takamatsu และ Hedjaroude (2001) ได้ทำการศึกษาถึงโครงสร้างทางพันธุกรรม (phylogenetic structure) ของเชื้อราแป้งใน genus *Leveillula* (Erysiphales: Erysiphaceae) จากการหาลำดับเบสของ rDNA ตรงตำแหน่ง ITS ร่วมกับเชื้อรา *L. taurica* ซึ่งเป็น species complex จากเชื้อรา 54

ตัวอย่างพบว่ามี *Leveillula* อยู่ 13 species ในพืช 50 ชนิด สามารถจำแนกออกได้เป็น 6 กลุ่ม (clades) โดยผลที่ได้พบว่าสอดคล้องกับลักษณะสัณฐานวิทยาของ primary conidia

Kiss (2002) ทำการจัดจำแนกเชื้อราแป้งโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา, พืชอาศัย และการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) ร่วมกับ molecular phylogenetic analysis ในการจัดจำแนกเชื้อราแป้งที่เป็นสาเหตุโรคที่พบใหม่ หรือในบริเวณพื้นที่ต่าง ๆ

Shin และ Young (2003)ได้อธิบายลักษณะของเชื้อรา *Phyllactinia pistaciae* sp. Nov. (syn. *P. suffulta* f. *pistaciae)* ที่พบบน *Pistacia vera* ว่าเป็นลักษณะที่เด่นชัดของเชื้อรานี้ พบว่ามี multi-celled ที่ฐานของ penicillate cell ที่พบบน ascoma นอกจากนี้ foot-cell ของก้านชูสปอร์ (conidiophore) มีลักษณะที่บิดเป็นเกลียว (spirally twisted or wavy) ซึ่งเป็นลักษณะที่พบในเชื้อรา *P. dalbergiae* โดยได้อธิบายถึงรายละเอียดของ species ได้อย่างละเอียด พร้อมทั้งวาดภาพประกอบทั้งลักษณะ anamorph และ teleomorph ของเชื้อรานี้

Liberato, Barreto และ Louro (2004) ได้รายงานถึงการพบเชื้อราแป้ง *Streptopodium caricae* sp. ที่พบบนมะละกอ (*Carica papaya*) ในประเทศบราซิลโดยนำมาเปรียบเทียบกับเชื้อราแป้งชนิดอื่น ๆ ที่พบบนมะละกอ ได้แก่ *Oidiopsis sicula, Ovulariopsis papayae, Oidium carica, O. papayae, O. carcicola, O. indicum, O. caricae-papayae, Podosphaera* (Syn. *Sphaerotheca*) spp., และ *Erysiphe* spp. โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ซึ่งจากการตรวจสอบลักษณะของเชื้อรา *Phyllactinia caricaefolia* พบว่ามีการสร้าง conidia สองแบบ (dimorphic) ซึ่งลักษณะดังกล่าวชี้ให้เห็นว่า anamorph ของเชื้อรานี้ไม่ได้จัดอยู่ใน genus *Ovulariopsis* และ teleomorph ที่พบก็ไม่ใช่ *Phyllactinia guttata* ส่วนเชื้อรา *Oidium carica* เป็นเชื้อราแป้งที่พบโดยทั่วไปบนมะละกอ จัดอยู่ใน subgenus *Pseudoidium* ซึ่ง *O. papayae* มีลักษณะที่คล้ายคลึงกับ *Oidium carica* และมีการรายงานถึงเชื้อรานี้เป็นจำนวนมากที่เกิดความสับสนและไม่ถูกต้อง ซึ่งมีรายละเอียดของเชื้อรานี้ และภาพประกอบการอธิบายของลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่มีก้านชูสปอร์เป็นแบบ euoidium conidiophore

Mabaga และคณะ (2004) ทำการจัดจำแนกเชื้อรา *Erysiphe pulchra* และ *Phyllactinia guttata* จากพืช *Cornus florida* โดยใช้ ITS-specific primer ในการทำ PCR และได้พัฒนา specific primer เพื่อนำมาใช้ในการประเมินค่าสำหรับการวินิจฉัยโรค ซึ่งแถบดีเอ็นเอของเชื้อรา *E. pulchra* ที่ได้มีขนาด 568 bp. ในขณะที่ *P. Guttata* มีขนาด 597 bp. ทำให้ primer ทั้งสองชนิดนี้มีความจำเพาะเจาะจงสูง สามารถนำมาใช้ในการจัดจำแนกเชื้อราดังกล่าวได้