

## บทที่ 5

## สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมเชื้อราแป้งบนพืชอาศัยต่างๆ รวม 50 ชนิด ใน 26 ตระกูล ซึ่งประกอบด้วย พืชผัก ไม้ดอก ไม้ยืนต้น และวัชพืช จากพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย และ แม่ฮ่องสอน พบว่าโดยทั่วไปจะปรากฏอาการบนส่วนต่างๆของพืช โดยเฉพาะบนใบจะมีโคโลนีสีขาวลักษณะคล้ายผงแป้งปกคลุม บางครั้งพบทั้งด้านบนใบและใต้ใบ หรือเพียงด้านใดด้านหนึ่ง ในกรณีที่มีการระบาดรุนแรงจะทำให้ต้นโทรม และแห้งตาย เมื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราแป้งเหล่านี้ พบว่าเชื้อราดังกล่าวสร้างเฉพาะระยะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศเท่านั้น โดยสามารถจำแนกเชื้อราแป้งที่พบออกได้เป็น 3 genera คือ *Oidiopsis*, *Ovulariopsis* และ *Oidium* โดยที่เชื้อราใน genus *Oidiopsis* และ *Ovulariopsis* จัดเป็นเชื้อราแป้งที่มีการสร้างเส้นใยเจริญอยู่ภายในพืชอาศัย (endoparasitic mycelium) โดยสร้างก้านชูสปอร์เจริญผ่านปากใบของพืชขึ้นมาและเนื่องจากด้านใต้ใบมีจำนวนปากใบมากกว่าด้านบนใบ จึงพบเชื้อราบริเวณด้านใต้ใบมากกว่าด้านบนใบ ลักษณะ conidia ของเชื้อราแป้งใน genus *Oidiopsis* มีลักษณะเป็น diamorphic กล่าวคือมีรูปร่างแตกต่างกัน 2 แบบ (Foex, 1913) โดยที่ conidia อันแรกที่สร้างขึ้นจะเกิดบนก้าน conidiophore (primary conidia) และมีรูปร่างแตกต่างกันอย่างชัดเจนกับ conidia ที่สร้างขึ้นต่อมาภายหลัง (secondary conidia) โดยพบว่าลักษณะของ primary conidia รูปร่างเป็นแบบ lanceolate ซึ่งมีปลายยอดแหลม ส่วน secondary conidia จะมีรูปร่างตั้งแต่แบบ ellipsoid จนถึงรูปร่างแบบ cylindrical ที่มีส่วนปลายกลม หรือยอดตัดปลายไม่แหลม โดยปกติพบว่า conidiophore ของเชื้อราแป้งใน genus นี้ ประกอบด้วยเซลล์หลายเซลล์ มีจำนวนไม่แน่นอน ส่วนเชื้อราแป้งใน genus *Ovulariopsis* ลักษณะของ conidia มีรูปร่างแบบ clavate บางครั้งพบรูปร่างแบบ oblanceolate, rhomboid หรือ angular (Tulasne, 1861) conidiophore ของเชื้อราในกลุ่มนี้ มีลักษณะพอมบาง ยาว ประกอบด้วยเซลล์หลายเซลล์มีลักษณะคล้ายกับเชื้อราแป้งใน genus *Oidiopsis* ดังที่กล่าวมา ซึ่งมีลักษณะสอดคล้องกับผลการศึกษาของ วนิดดา (2548) ส่วนเชื้อราแป้งใน genus *Oidium* จัดเป็นเชื้อราแป้งที่สร้างเส้นใยอยู่ภายนอกพืชอาศัย (ectoparasitic mycelium) โดยพบบนพืชอาศัยต่างๆ กันมากที่สุดถึง 47 ชนิด ซึ่งสามารถจำแนกออกได้เป็น 5 subgenera คือ *Fibroidium*, *Pseudoidium*, *Recticuloidium*, *Microidium* และ *Graciloidium* โดยที่ราแป้งใน genus นี้มีการสร้าง conidia ได้ 2 คือ แบบที่ต่อกันเป็นสายโซ่ (chain type) และแบบเดี่ยว (single type) โดยที่เชื้อราในกลุ่มที่สร้าง conidia ต่อกันเป็นสายโซ่นั้นพบว่ามีมากถึง 4 subgenera ได้แก่ subgenus *Fibroidium*,

*Reticuloidium*, *Microidium* และ *Graciloidium* ส่วนเชื้อราแป็งที่มีการสร้าง conidia แบบเดี่ยวนั้น พบเพียง subgenus เดียวเท่านั้น คือ *Pseudoidium*

สำหรับเชื้อราแป็งใน genus *Oidium* ที่สร้าง conidia คู่กันเป็นสายโซ่ ในแต่ละ subgenus มีความแตกต่างกันทางสัณฐานวิทยา คือ subgenus *Fibroidium* มีลักษณะของ conidia รูปร่างแบบ ellipsoid ถึง cylindric-doliform ภายในมีโครงสร้างพิเศษที่เรียกว่า fibrosin body เมื่อ conidia งอก จะสร้าง germ tube ลักษณะแบบ fuliginea type หรือ pannosa type มีลักษณะของ appressoria เป็นแบบ indistinct หรือ nipple-shaped สอดคล้องกับผลการศึกษาก่อนของ ดวงดาว (2549) ซึ่งผลจากการศึกษาในครั้งนี้พบเชื้อราแป็งใน subgenus *Fibroidium* บนพืชอาศัยต่างๆ มากที่สุดคือพบมากถึง 24 ชนิด ที่สำคัญได้แก่ มะเขือเปราะ แตงกวา ดาวกระจาย หญ้าสาบเสือ เป็นต้น ส่วนเชื้อราแป็งใน subgenus *Reticuloidium* สร้าง conidia คู่กันเป็นสายโซ่ ลักษณะของสายโซ่มีขอบด้านข้างเป็นแบบ sinuate-edge (ไม่หยักเป็นคลื่นยอดแหลม) ลักษณะของ conidia รูปร่างแบบ ellipsoid ถึง ovoid ภายในไม่มี fibrosin body ลักษณะ appressoria เป็นแบบ indistinct หรือ nipple-shaped เมื่อ conidia งอกสร้าง germ-tube แบบ cichoracearum type จากผลการศึกษาเชื้อราแป็งใน subgenus นี้ พบบนพืชอาศัยต่างๆ รวม 3 ชนิด ได้แก่ ผักกาดน้ำ สตรอเบอร์รี่ และผักเผ็ดแมว เชื้อราแป็งใน subgenus *Microidium* มีลักษณะสำคัญคือ conidia มีรูปร่างแบบ cylindric ภายใน conidia พบลักษณะคล้ายหยดน้ำมัน (oil-drop liked inclusion bodies) ที่บริเวณฐานของ foot cell จะบิดเป็นเกลียว ลักษณะของ appressorium มีทั้งแบบ nipple-shaped, lobe และ lobed-opposite เมื่อ conidia งอกจะสร้าง germ tube แบบ microidium type ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ To-anun *et al.* (2002) โดยพบว่าเชื้อราแป็งใน subgenus นี้มีขนาดของลักษณะทางสัณฐานต่างๆ ได้แก่ conidiophore, conidia, mycelium cell และ foot cell ที่วัดได้จากกล้องจุลทรรศน์มีขนาดโดยเฉลี่ยเล็กกว่าเชื้อราในกลุ่มอื่น จากการศึกษาครั้งนี้พบเชื้อราแป็งใน subgenus *Microidium* บนพืชอาศัยรวม 3 ชนิด ได้แก่ ลูกใต้ใบใหญ่ ลูกใต้ใบเล็ก และมะยม สำหรับเชื้อราแป็งใน subgenus *Graciloidium* มีลักษณะที่สำคัญ คือ conidia คู่กันเป็นสายโซ่ มีลักษณะที่แยกกันไม่ออกระหว่าง conidia กับเซลล์ที่สร้าง conidia (conidium initials) คือมีขนาดใกล้เคียงกัน (ไม่พบลักษณะหยักที่รอยต่อระหว่าง conidia) ลักษณะของ conidia มีรูปร่างแบบ ellipsoid ถึง ovoid ภายในไม่มี fibrosin body ลักษณะ appressoria เป็นแบบ nipple-shaped เมื่อ conidia งอกจะสร้าง germ tube แบบ cichoracearum type ซึ่งจากการศึกษาในครั้งนี้พบเชื้อราใน subgenus *Graciloidium* บนพืชอาศัยรวม 2 ชนิด ได้แก่ ตำลึง และ โหระพาช้าง

สำหรับเชื้อราใน subgenus *Pseudoidium* นั้น ได้แก่เชื้อราที่มีลักษณะการสร้าง conidia แบบเดี่ยว โดยมีลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือ ลักษณะของ conidia มีรูปร่างแบบ ellipsoid ถึง ovoid

ภายในไม่มี fibrosin body ลักษณะ appressorium แบบ lobe ถึง multilobed เกิดขึ้นอันเดียวหรือในลักษณะตรงข้ามกัน เมื่อ conidia งอกจะสร้าง germ tube เป็นแบบ polygoni type ซึ่งมีความสอดคล้องกับผลการศึกษาของ อำไพวรรณ (2547) จากการศึกษาในครั้งนี้พบเชื้อราเป็งใน subgenus *Pseudoidium* บนพืชอาศัยต่างๆรวม 15 ชนิด ได้แก่ มะเขือเทศ ถั่วลิ้นเต่า กระเพรา บัว เป็นต้น โดยเชื้อราเป็งที่ศึกษาจะมีลักษณะทางสัณฐานวิทยาและขนาดที่แตกต่างกันไปตามชนิดของพืชอาศัย สำหรับการศึกษาคั้งนี้พบเชื้อราเป็งบางชนิดที่มีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ คือ เชื้อราเป็งที่พบบนอะซาเลียหรือกุหลาบพันปี (*Rhododendron* sp.) เนื่องจากพบว่าเชื้อราเป็งมีการสร้าง ascoma ที่ไม่สมบูรณ์ จึงไม่สามารถนำมาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และวัดขนาดจากกล้องจุลทรรศน์ได้

สำหรับผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราเป็ง โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ SEM พบว่าเชื้อราในแต่ละ genus และ subgenus มีลักษณะของพื้นผิว conidia แตกต่างกันไป กล่าวคือ เชื้อราเป็งใน genus *Oidiopsis* ที่พบบนพริกหยวก มีลักษณะผิวของ conidia แบบ turgid conidia ลักษณะเรียบมีปุ่มขึ้นกระจายเล็กน้อย รูปแบบของ septa จะมีลักษณะทั้งแบบเรียบจนถึงขรุขระปานกลาง เชื้อราเป็งใน genus *Ovulariopsis* ที่พบบนจุก (*Cassia fistula* L.) มีลักษณะผิวของ conidia แบบ wrinkle conidia ลักษณะย่นแบบ fluted คือย่นเป็นร่องยาวและถี่กรวย ย่นสลับไปมา septa มีลักษณะเป็นแบบ fibrillar ส่วนเชื้อราเป็งใน genus *Oidium* subgenus *Friboidium* ที่พบบนดาวกระจาย (*Cosmos sulphureus*) มีลักษณะผิวของ conidia แบบ wrinkle conidia ลักษณะย่นแบบ sinuous คือย่นเป็นร่องยาวและถี่มีความคดเคี้ยว septa มีลักษณะเป็นแบบ fibrillar เชื้อราเป็งใน subgenus *Pseudoidium* ที่พบบนกระเพรา (*Ocimum sanctum* L.) มีลักษณะผิว conidia แบบ wrinkle conidia ลักษณะย่นแบบ angular หรือ rectangular คือเป็นมุมที่กว้างและยาว ลักษณะ septa เป็นแบบ fibrillar เชื้อราเป็งใน subgenus *Reticuloidium* ที่พบบนผักกาดน้ำ (*Plantago major* L.) มีลักษณะผิวของ conidia แบบ wrinkle conidia ลักษณะย่นแบบ polygonal หรือ reticulate คือมีความคดเคี้ยว และมีปุ่มขึ้นหนาแน่นเป็นกลุ่ม โดยเฉพาะที่ปลายของ conidia ลักษณะ septa เป็นแบบ fibrillar ส่วนเชื้อราเป็งใน subgenus *Microidium* ที่พบบนลูกใต้ใบ (*Phyllanthus niruri* L.) มีลักษณะผิวของ conidia แบบ wrinkled conidia ลักษณะย่นแบบ polygonal คือมีความคดเคี้ยว ลักษณะ septa เป็นแบบเรียบมีปุ่มขึ้นขรุขระเล็กน้อย และ เชื้อราเป็ง subgenus *Graciloidium* ที่พบบนคำตัง (*Coccinia grandis*) มีลักษณะผิวของ conidia แบบ wrinkle conidia ลักษณะย่นแบบ sinuous serpentine มีปุ่มขึ้นกระจายเป็นกลุ่ม รูปแบบของ septa เป็นแบบเรียบหรือขรุขระเล็กน้อย ซึ่งในเชื้อราแต่ละ genus และ subgenus ดังกล่าวจะมีลักษณะพื้นผิวของ conidia แตกต่างกัน โดยที่การศึกษาคั้งนี้พบว่าผิวของ conidia มีลักษณะย่นเนื่องมาจากการเตรียม

ตัวอย่างลำซาจันทำให้ผิว conidia เที่ยวย่น ซึ่งผลที่ได้จากการศึกษาปรากฏว่ามีลักษณะที่สอดคล้องกับตัวอย่าง conidia แบบแห้งจาก herbarium ตามที่ Cook *et al.* (1997) ได้รายงานไว้ ดังนั้น การศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ SEM นี้ จึงต้องใช้ตัวอย่างเชื้อราแป็งที่มี colony ใหม่โดยสังเกตจากสีของ colony ที่มีสีขาวเส้นใยไม่ลึบหรือแห้ง ไม่มีเชื้อราอื่นปนเปื้อน และเป็นตัวอย่างที่สามารถนำมาศึกษาได้ทันที เพื่อให้ตัวอย่างมีความสมบูรณ์สำหรับการถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ SEM ดังนั้นการคัดเลือกตัวอย่างจึงถือว่ามีความสำคัญต่อการศึกษาทางด้านลักษณะสัณฐานวิทยาของเชื้อราแป็งเป็นอย่างมาก สำหรับสปอร์ของเชื้อราแป็งสามารถดูตัวอย่างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบ SEM ชนิด low vacuum ได้โดยตรง โดยไม่ต้องผ่านขั้นตอนการเตรียมตัวอย่าง แต่ต้องศึกษาด้วย low accelerating voltage ที่ 5 KV ซึ่งจะได้ภาพที่มีการแยกจุดและเส้นคี่ (resolution) แต่ความแตกต่างของสี (contrast) ต่ำ (ถ้าหากตัวอย่างที่ศึกษามีผิวเรียบให้เพิ่ม contrast โดยเคลือบตัวอย่างด้วยโลหะนำไฟฟ้า เช่น ทอง และถ้าต้องการ resolution มากขึ้น ให้เพิ่มกระแสไฟฟ้าเข้า codenser lens (Bozzola, 1998) แต่สำหรับการดูตัวอย่างสดด้วยวิธีนี้ จะสังเกตรายละเอียดลักษณะพื้นผิวของ conidia ไม่ชัดเจนเท่ากับวิธีที่มีการเตรียมตัวอย่างด้วยสารเคมีต่างๆ ดังที่กล่าวไว้ในวิธีการศึกษา

การเก็บเชื้อราในรูปตัวอย่างแห้ง (herbarium) เพื่อรักษาสภาพของเชื้อราแป็งให้สามารถนำกลับมาใช้ศึกษาในภายหลังได้ โดยใช้ silica gel ซึ่งเป็นตัวดูดความชื้นเพื่อไม่ให้เชื้อราชนิดอื่นปนเปื้อน หรือนำไปเก็บไว้ในอุณหภูมิ  $-4^{\circ}\text{C}$  และมีสภาพแห้งจะช่วยในการรักษาสภาพดีเอ็นเอไว้ได้ โดยสามารถนำไปศึกษาทางด้านอนุชีววิทยา

สำหรับผลการวิจัยครั้งนี้ สามารถจัดจำแนกเชื้อราแป็งโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยาของระยะการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ ซึ่งศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ให้ผลการศึกษาที่มีความสอดคล้องกัน เนื่องจากลักษณะพื้นผิวของเชื้อราในแต่ละ genus และ subgenus มีลักษณะเด่นที่แตกต่างกันไปดังที่ได้กล่าวมา ดังนั้นการนำลักษณะพื้นผิว conidia มาร่วมในการจัดจำแนกจึงสามารถช่วยเสริมให้การจัดจำแนกโดยกล้องจุลทรรศน์มีความชัดเจนมากขึ้น และด้วยข้อจำกัดของงบประมาณจึงคัดเลือกตัวแทนจาก แต่ละ genus และ subgenus มาศึกษา โดยในอนาคตควรจะมีการศึกษาในด้านพื้นผิว conidia เพิ่มขึ้นเพื่อเป็นประโยชน์และใช้เป็นเกณฑ์ในการจัดจำแนกเชื้อราแป็งได้