

การศึกษาโรคแอนแทรกโนส (Anthracnose) ของกาแฟอาราบิกาในประเทศไทย  
Anthracnose Disease of Arabica Coffee

ธารทิพย์ ภาสบุตร<sup>1/</sup> ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี<sup>1/</sup>  
อภิรัชต์ สมฤทธิ์<sup>1/</sup> สุภัทรา เลิศวัฒนาเกียรติ<sup>2/</sup> ฉัตรนภา ช่มอาวุธ<sup>3/</sup>  
<sup>1/</sup>กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช  
<sup>2/</sup>กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชสวน  
<sup>3/</sup>ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ สถาบันวิจัยพืชสวน

รายงานความก้าวหน้า

จากการเก็บตัวอย่างผลและกิ่งของกาแฟอาราบิกาโรคแอนแทรกโนส ในปี พ.ศ. 2559-2560  
พื้นที่ ดอยวาวี จังหวัดเชียงราย ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (ขุนวาง) ศูนย์วิจัยเกษตรหลวง  
เชียงใหม่ (แม่จอนหลวง) อำเภออมก๋อย จังหวัดเชียงใหม่ บ้านสันเจริญ ตำบลผาทอง อำเภอท่าวังผา  
จังหวัดน่าน อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ ได้ตัวอย่างผลและกิ่งกาแฟที่แสดงอาการโรคแอนแทรก  
โนสจำนวน 10 ตัวอย่าง แยกเชื้อได้ 10 ไอโซเลท ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานของราที่แยกได้  
8 ไอโซเลท จำแนกเบื้องต้นได้เป็นรา *Colletotrichum gloeosporioides* ส่วนอีก 2 ไอโซเลทกำลัง  
ดำเนินการจำแนกชนิด (species)

คำหลัก : โรคแอนแทรกโนส กาแฟอาราบิกา

รหัสการทดลอง 01-58-59-03-03-00-01-59

รายงานผลงานวิจัยประจำปี ๒๕๖๐ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช



กรมวิชาการเกษตร

## คำนำ

รา *Colletotrichum* spp. เป็นราที่มีความสำคัญ เป็นสาเหตุโรคแอนแทรคโนส (anthracnose) ของพืชหลายชนิด สามารถเข้าทำลายได้เกือบทุกส่วนของพืชตั้งแต่ต้นกล้า ใบ ก้านใบ ลำต้น ดอก ผล และมีพืชอาศัยมากถึง 470 สกุล (Sutton, 1980) จัดอยู่ใน subdivision Deuteromycotina form-class Coelomycetes form-order Melanconiales form-family Melanconiaceae (วิจัย, 2546) กาแฟอะราบิก้า (*Coffea Arabica* L.) เป็นพืชสวนอุตสาหกรรมที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจโลก เจริญเติบโตได้ดีในสภาพพื้นที่สูงและมีอากาศหนาวเย็น ซึ่งมีประเทศมากกว่า 50 ประเทศ ปลูกกาแฟอะราบิก้าเป็นสินค้าส่งออกหรือประมาณ 70-75 เปอร์เซ็นต์ของผลผลิตกาแฟโลก เนื่องจากเป็นกาแฟที่มีรสชาติดี (Flavour) และมีกลิ่น (Aroma) หอม ([www.doa.go.th/hrc/cmroyal/index.php?option=com\\_content&view...id](http://www.doa.go.th/hrc/cmroyal/index.php?option=com_content&view...id)) วิรัชและคณะ (2528) รายงานไว้ว่าโรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) กาแฟ มีสาเหตุจากเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. พบระบาดกับกาแฟอาราบิก้าและกาแฟโรบัสต้า เชื้อราเข้าทำลายใบ กิ่ง ก้านดอก ก้านผลและผล พบเห็นได้ทั่วไปในสวนที่ไม่มี การดูแลเอาใจใส่ หรือแปลงที่ปลูกกลางแจ้ง ลักษณะอาการของโรคมักมีลักษณะตามส่วนที่เกิด เช่น เกิดกับใบ ผลเป็นจุดกลมสีน้ำตาลขนาดเล็กและขยายขึ้นเรื่อยๆหรือเกิดกับกิ่ง อาการเริ่มแรกใบกาแฟเป็นสีเหลืองทั้งที่ใบเหล่านี้ยังไม่แก่ จากการสำรวจรวบรวมและจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุโรคของกาแฟอาราบิก้าในประเทศไทย ในปี พ.ศ.2556-2557 ยุทธศักดิ์และคณะ พบอาการโรคแอนแทรคโนสเข้าทำลายก่อให้เกิดความเสียหายกับกาแฟอาราบิก้าในหลายพื้นที่ และจากการที่สภาพแวดล้อมทางภูมิอากาศ อุณหภูมิ ความชื้นที่เปลี่ยนแปลงไป เกษตรกรผู้ปลูกกาแฟในปัจจุบัน รายงานว่าพบการแพร่ระบาดของโรคแอนแทรคโนสเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจึงทำการสำรวจโรคแอนแทรคโนสของกาแฟอาราบิก้า เพื่อให้ทราบชนิดของเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของกาแฟอาราบิก้าในทุกระยะการเจริญเติบโตของกาแฟ รวมทั้งพืชอาศัยของราสาเหตุ เพื่อให้ได้ข้อมูลชนิดของเชื้อราสาเหตุโรค สภาพแวดล้อมที่พบการระบาดและพืชอาศัยที่เป็นปัจจุบัน เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับนักปรับปรุงพันธุ์ให้ต้านทานโรค และเป็นข้อมูลในการศึกษาการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสของกาแฟอาราบิก้าที่เหมาะสมต่อไป

## วิธีการดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างโรคพืช
2. อาหารเลี้ยงเชื้อราชนิดต่างๆ วัณ มันฝรั่ง
3. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง
4. กล้องถ่ายภาพและวัสดุอุปกรณ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ
5. โรงเรือนทดลอง

6. วัสดุอุปกรณ์สำหรับปลูกและดูแลรักษาพืชทดสอบ
7. อุปกรณ์สำหรับการบันทึกข้อมูล

## วิธีการ

### 1. สำรวจรวบรวมเก็บตัวอย่างกาแฟที่เป็นโรคแอนแทรคโนสและศึกษาลักษณะอาการ

สืบค้นข้อมูลและออกสำรวจเก็บตัวอย่างกาแฟที่เป็นโรค ศึกษาข้อมูลสภาพแวดล้อมเช่น อุณหภูมิ ความชื้น บริเวณพื้นที่พบโรคและเก็บตัวอย่างพืชเศรษฐกิจที่สำคัญรวมทั้งพืชอื่นที่แสดงอาการโรค ห่อตัวอย่างด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ใส่ในถุงพลาสติก บันทึกข้อมูลสถานที่เก็บตัวอย่าง วันที่และผู้เก็บตัวอย่าง นำตัวอย่างพืชมาศึกษาลักษณะอาการในห้องปฏิบัติการวิทยาไมโค กลุ่มวิจัย โรคพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

### 2. การศึกษาลักษณะอาการและลักษณะทางสัณฐานของราสาเหตุโรค

#### 2.1 ศึกษาสาเหตุโรคจากตัวอย่างพืชเป็นโรคโดยตรง

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานของราจากตัวอย่างพืชที่เป็นโรคโดยแยกเชื้อจากตัวอย่างพืชที่เป็นโรคลงบนแผ่นสไลด์ (slide) แล้วตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์

#### 2.2 ศึกษาสาเหตุโรคโดยวิธีแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชเป็นโรค (Tissue transplant)

แยกเชื้อจากส่วนที่เป็นโรค โดยตัดชิ้นส่วนพืชบริเวณที่เป็นรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติขนาดประมาณ 3x5 มิลลิเมตร ฆ่าเชื้อที่ผิวพืชโดยแช่ชิ้นส่วนพืชลงในสารละลายโซเดียมไฮเพอไรคลอไรด์ ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 5 นาที ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจนแห้งสนิท นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนอาหาร water agar แล้วบ่มไว้ในห้องปฏิบัติการที่อุณหภูมิ 25+2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2-3 วัน ตรวจดูเส้นใยราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ตัด hyphal tip ของราที่เจริญออกมาจากชิ้นตัวอย่างพืชวางลงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปทำการพิสูจน์การทำให้เกิดโรค โดยนำราสาเหตุโรคที่แยกได้มาทำการปลูกเชื้อให้กับต้นกล้ากาแฟอะราบิกา เปรียบเทียบกับพืชที่ไม่ปลูกเชื้อสังเกตอาการของโรคที่เกิดขึ้นและแยกราสาเหตุจากพืชที่แสดงอาการโรคซ้ำอีกครั้ง ศึกษาลักษณะทางสัณฐานเปรียบเทียบเชื้อราที่แยกได้กับราสาเหตุโรคที่ใช้ในการปลูกเชื้อศึกษาลักษณะทางสัณฐานจำแนกชนิดและเก็บรักษาเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

### 3. การศึกษาชีววิทยาของราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส

#### การศึกษากาแฟเจริญของราบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

นำเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสกาแฟอะราบิกาที่จำแนกชนิดแล้ว ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน มาตัดบริเวณขอบของโคโลนีด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร นำชิ้นวงมาวางตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ ตามกรรมวิธีที่กำหนด วางเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง

การบันทึกข้อมูล ตรวจวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา ในเนวราบทุก 3 5 และ 7 วันหรือจนกระทั่งเชื้อราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อเปรียบเทียบอัตราการเจริญของเชื้อราบนอาหารที่แตกต่างกัน

### การศึกษาการเจริญของราที่อุณหภูมิต่างๆ

นำเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกคโนสกาแพะราบิกาที่จำแนกชนิดแล้วที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน มาตัดบริเวณขอบของโคโลนีด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร นำชิ้นวุ้นมาวางตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมที่ได้จากผลการทดลอง 3.1 นำไปวางในตู้ควบคุมอุณหภูมิตามกรรมวิธีที่กำหนด

การบันทึกข้อมูล วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีในแนวราบทุก 3 5 และ 7 วันหรือจนกระทั่งเชื้อราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อเปรียบเทียบอัตราการเจริญของเชื้อราที่อุณหภูมิต่างๆ กัน

### การศึกษาพืชอาศัยของราสาเหตุโรคแอนแทรกคโนสกาแพะราบิกา

เตรียมพืชที่ต้องการทดสอบเช่น พริกหยวก พริกจินดา มะม่วง มะเขือ มะเขือเทศ นำเชื้อราสาเหตุโรคแอนแทรกคโนสกาแพะราบิกาที่จำแนกชนิดแล้ว ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน มาตัดบริเวณขอบของโคโลนีด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร มาปลูกเชื้อลงบนพืชที่ต้องการทดสอบ

การบันทึกข้อมูล ตรวจสอบการเกิดโรค นับจำนวนต้นที่เป็นโรค แยกเชื้อราจากพืชที่แสดงอาการโรค ตรวจสอบลักษณะของเชื้อราที่แยกได้ ศึกษาลักษณะทางสัณฐานเปรียบเทียบเชื้อราที่แยกได้กับราสาเหตุโรคที่ใช้ในการปลูกเชื้อ

### เวลาและสถานที่

ตุลาคม 2559 - กันยายน พ.ศ. 2560

แปลงปลูกกาแฟพันธุ์อาราบิก้าของเกษตรกร

ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

#### **1. สรุปรวบรวมเก็บตัวอย่างกาแพที่เป็นโรคแอนแทรกคโนสและศึกษาลักษณะอาการ**

เก็บตัวอย่างผลและกิ่งของกาแพะราบิกาที่แสดงอาการโรคแอนแทรกคโนส ในพื้นที่ ดอยวาวี อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (ขุนวาง) ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (แม่จอนหลวง) อำเภออมก๋อย จังหวัดเชียงใหม่ อำเภอท่าวังผา จังหวัดน่าน อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ ได้ตัวอย่างกาแพที่แสดงอาการโรคแอนแทรกคโนสจำนวน 10 ตัวอย่าง

#### ลักษณะอาการของโรค

อาการที่กิ่ง พบแผลยุบสีน้ำตาลเข้มถึงดำ บนกิ่งเขียว เมื่อแผลลุกลามขยายใหญ่ ใบจะเหลืองและร่วง กิ่งเหี่ยวและแห้งทั้งกิ่ง

อาการที่ผล เริ่มแรกผลเป็นจุดสีน้ำตาลเข้ม เมื่ออาการรุนแรงขึ้นจะขยายเป็นแผลรูปร่างไม่แน่นอน เนื้อเยื่อบริเวณผลยุบตัว ผลที่เป็นโรคจะหยุดการเจริญ เปลี่ยนเป็นสีดำ แต่ผลยังคงติดอยู่บนกิ่งกาแพ

## 2. การศึกษาลักษณะอาการและลักษณะทางสัณฐานของราสาเหตุโรค

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานของรา *Colletotrichum* sp. ที่แยกได้จากตัวอย่างผลและกิ่งของกาแฟที่เป็นโรคพบว่า โคนินมีสีขาวอมเทา สีเทาและสีเทาเข้มเมื่อมีอายุมากขึ้น เส้นใยเจริญฟูเหนืออาหาร เริ่มพบกลุ่มของโคนินเดี่ยวเมื่อเชื้อเจริญได้ 10-14 วัน ลักษณะกลุ่มโคนินเดี่ยวเป็นเมือกสีส้ม เมื่อส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าเส้นใยของราใสไม่มีสี มีผนังกัน (septum) โคนินเดี่ยวรูปร่างเป็นทรงกระบอกตรง เซลล์เดี่ยว ใส ไม่มีสี ส่วนปลายมน ส่วนฐานตัดตรง โคนินเดี่ยวมีขนาดเฉลี่ย  $5.72-5.96 \times 15.26-18.77$  ไมครอน จำแนกชนิดเบื้องต้นได้เป็นรา *Colletotrichum gloeosporioides* ซึ่งเป็นชนิดเดียวกับราที่แยกได้จากผลกาแฟอาราบิก้าที่แสดงอาการโรคแอนแทรคโนสในปี พ.ศ.2557

จากการพิสูจน์การเกิดโรคพบว่าทุกไอโซเลต สามารถทำให้ต้นกล้าและผลกาแฟ แสดงอาการโรคหลังปลูกเชื้อ 7-10 วัน เมื่อแยกราสาเหตุจากพืชที่แสดงอาการโรคซ้ำอีกครั้งและเปรียบเทียบชนิดของราที่แยกได้กับราสาเหตุโรคที่ใช้ในการปลูกเชื้อ

## 3. การศึกษาชีววิทยาของราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส

ผลการศึกษาการเจริญของรบบนอาหารเลี้ยงเชื้อ 1/2PDA PDA MEA CZA PSA และ PCA พบว่ารา *C. gloeosporioides* ที่แยกได้ เจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อได้อย่างรวดเร็วที่ 5-6 วันบนอาหาร PDA และ MEA สร้างโคนินเดี่ยว slime mass สีส้ม พบมากที่สุดบนอาหาร PCA

ผลการศึกษาการเจริญของรา *C. gloeosporioides* บนอาหาร MEA ที่อุณหภูมิ 20 25 และ 30 องศาเซลเซียส พบว่า ที่อุณหภูมิ 20 และ 25 องศาเซลเซียส มีสองไอโซเลตคือ ไอโซเลตที่แยกจาก จ.เพชรบูรณ์ และไอโซเลตที่แยกจาก อ.ท่าวังผา จ.น่าน มีอัตราการเจริญอย่างรวดเร็ว แต่ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีอัตราการเจริญช้าและเมื่อเก็บรักษาไว้ 14 วัน พบว่าเชื้อรา 2 ไอโซเลตดังกล่าวหยุดการเจริญ จึงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป

### สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

-

### เอกสารอ้างอิง

- วิจัย รักรักษาศาสตร์. 2546. *ราวิทยาเบื้องต้น*. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม. 351 หน้า
- วิรัช ชูบำรุง ประไพศรี พิทักษ์ไพรวรรณ และ พัฒนา สนธิรัตน์. 2528. *Colletotrichum* spp. ในประเทศไทย. หน้า 128-140. ใน: *รายงานผลงานวิจัย พ.ศ.2528*. กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.
- ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่. 2560. *กาแฟอาราบิก้า (Coffea Arabica L.)* (ระบบออนไลน์). แหล่งข้อมูล: [http://www.doa.go.th/hrc/cmroyal/index.php?option=com\\_content&view...id.](http://www.doa.go.th/hrc/cmroyal/index.php?option=com_content&view...id.) (26 กุมภาพันธ์ 2560).
- Sutton, B.C. 1980. *The Coelomycetes, Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata*. CMI. Kew Surrey, England. p.695