รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. **แผนงานวิจัย** : วิจัยและพัฒนาเพื่อเพิ่มการผลิตกาแฟคุณภาพ
2. **โครงการวิจัย** : วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวกาแฟ

   กิจกรรม : วิจัยและพัฒนาการบริหารจัดการศัตรูพืชของกาแฟและวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว

   กิจกรรมย่อย (ถ้ามี) : -
3. **ชื่อการทดลอง (ภาษาไทย)** : การศึกษาโรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) ของกาแฟอะราบิกาในประเทศไทย

   ชื่อการทดลอง (ภาษาอังกฤษ) : Study on Anthracnose disease of Arabica coffee
4. **คณะผู้ดำเนินงาน**

   หัวหน้าการทดลอง : นางสาวธารทิพย ภาสบุตร สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

   ผู้ร่วมงาน : นายยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
   นายอภิรัชต์ สมฤทธิ์ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
   นางสาวฉัตต์นภา ข่มอาวุธ สถาบันวิจัยพืชสวน
   นางสุภัทรา เลิศวัฒนาเกียรติ สถาบันวิจัยพืชสวน
5. **บทคัดย่อ**

การศึกษาโรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) ของกาแฟอะราบิกา โดยการสำรวจเก็บตัวอย่างกิ่ง ใบและผลกาแฟที่แสดงอาการโรค จากพื้นที่ปลูกกาแฟอะราบิกา ในพื้นที่จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ น่าน แม่ฮ่องสอน ลำปาง เลย และ เพชรบูรณ์ นำมาแยกเชื้อและศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีววิทยาและพิสูจน์โรค ผลการศึกษาพบว่าเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่แยกได้ทั้งหมด 14 ไอโซเลต เมื่อนำมาพิสูจน์โรคโดยการปลูกเชื้อให้กับต้นกล้ากาแฟ ต้นกล้ากาแฟเริ่มแสดงอาการแผลสีดำหลังปลูกเชื้อได้ 5 วัน ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาสามารถจำแนกชนิดราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) ของกาแฟอะราบิกาได้เป็น *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

คำหลัก : โรคแอนแทรคโนส กาแฟอะราบิก้า

รหัสการทดลอง 01-58-59-03-03-00-01-59

Abstract

This study anthracnose disease was the principal above ground disease of field Arabica coffee. Leaves, branches and berries of coffee plants with symptoms

anthracnose and dieback were collected, in different location in Chiang Rai, Chiang Mai, Nan, Phayao, Mae Hong Son, Lampang, Phetchabun and Loei. Isolation of samples produced 14 Isolates of *Colletotrichum* spp. caused hypocotyls dark deep lesions with early bottlenecks after 5 days in vitro inoculation. Taxonomic studies on morphological of the *Colletotrichum* spp., indicated that the causal agent of Arabica coffee anthracnose disease to be *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

Keywords: anthracnose disease, Arabica coffee

6. คำนำ

กาแฟอะราบิก้า (*Coffea arabica* L.) เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจชนิดหนึ่งของไทย เนื่องจากเป็นกาแฟที่มีรสชาติดี (Flavor) และมีกลิ่น (Aroma) หอมชวนดื่ม พื้นที่ที่เหมาะสมกับการปลูกเป็นพื้นที่ที่มีความสูง 700-1,800 เมตรจากระดับน้ำทะเล อุณหภูมิเฉลี่ยระหว่าง 13-21 องศาเซลเซียส มีปริมาณน้ำฝนไม่น้อยกว่า 1,500 มิลลิเมตรต่อปี ความชื้นสัมพัทธ์มากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์ แหล่งปลูกกาแฟอาราบิก้าที่สำคัญของประเทศไทยจึงอยู่บนที่สูงและมีอากาศหนาวเย็น เช่น จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน น่าน ตาก และเพชบูรณ์ เป็นต้น ในการปลูกกาแฟอะราบิก้า โรคที่สำคัญที่พบเป็นประจำได้แก่ โรคราสนิม ที่เกิดจากรา *Hemileia vastatrix* รานี้สามารถเข้าทำลายได้ทั้งกาแฟอะราบิก้าและโรบัสตา แต่ความเสียหายจะเกิดรุนแรงกับกาแฟอะราบิก้ามากกว่าโรบัสตา โรคใบจุดสีน้ำตาลที่เกิดจากรา *Cercospora coffeicola* มักเกิดกับต้นกล้าของกาแฟอะราบิก้าและโรบัสตาในเรือนเพาะชำและต้นที่ได้รับแสงแดดมาก (http://www.pestnet.org/fact_sheets/coffee_browneye_spot_142.htm) โรคเน่าดำที่เกิดจากรา *Koleroga noxia* รานี้เข้าทำลายได้ทั้งกาแฟอะราบิก้าและโรบัสตาที่ปลูกภายใต้ร่มเงาค่อนข้างหนาทึบ แดดส่องไม่ถึง โดยมักพบโรคนี้ระบาดในฤดูฝน ช่วงที่ฝนตกติดต่อกันหลายวัน (https://www.researchgate.net/publication/230245135_Coffee_Diseases) โรคแอนแทรคโนสที่เกิดจากรา *Colletotrichum* spp. พบระบาดกับกาแฟอาราบิกาและกาแฟโรบัสต้า จากรายงานของวิรัชและคณะ ในปี พ.ศ.2528 พบโรคแอนแทรคโนสที่เกิดกับกาแฟโรบัสต้าที่มีสาเหตุจากรา *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. เชื้อราเข้าทำลายใบ กิ่ง ก้านดอก ก้านผลและผล พบเห็นได้ทั่วไปในสวนที่ไม่มีการดูแลเอาใจใส่หรือแปลงที่ปลูกกลางแจ้ง ลักษณะอาการของโรคมีลักษณะตามส่วนที่เกิด เช่น เกิดกับใบ แผลเป็นจุดกลมสีน้ำตาลขนาดเล็กและขยายขึ้นเรื่อยๆ หรือเกิดกับกิ่ง อาการเริ่มแรกใบกาแฟเป็นสีเหลืองทั้งที่ใบเหล่านี้ยังไม่แก่ ระหว่างปี พ.ศ. 2556–2557 ยุทธศักดิ์และคณะได้ทำการศึกษาโรคของกาแฟอาราบิกาในประเทศไทย พบลักษณะอาการของโรคแอนแทรคโนสเข้าทำลายกาแฟอาราบิกาและแพร่ระบาดก่อให้เกิดความเสียหายเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้เพื่อให้ทราบชนิดของราสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของกาแฟอาราบิกา เพื่อให้ได้ข้อมูลชนิดของเชื้อราสาเหตุโรค สภาพแวดล้อมที่พบการระบาด เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดโรคที่เหมาะสม รวมทั้งเป็นข้อมูลเพื่อการปรับปรุงพันธุ์กาแฟอาราบิกาให้ทนทานโรคแอนแทรคโนสต่อไป

7. วิธีดำเนินการ

- **อุปกรณ์**
    - แปลงกาแฟอะราบิกา
    - อุปกรณ์เก็บตัวอย่างโรคพืช
    - อาหารเลี้ยงเชื้อราชนิดต่างๆ
    - กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายต่ำ กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง
    - และวัสดุอุปกรณ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการ
    - อุปกรณ์สำหรับการบันทึกข้อมูล กล้องถ่ายภาพ

- **วิธีการ**

สำรวจรวบรวมเก็บตัวอย่างกาแฟที่เป็นโรคแอนแทรคโนสและศึกษาลักษณะอาการของโรค

เก็บตัวอย่างใบ กิ่ง ผลกาแฟที่เป็นโรคจากแหล่งปลูก บันทึกข้อมูลสถานที่ วันที่และผู้เก็บตัวอย่าง ลักษณะอาการ นำตัวอย่างห่อด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ใส่ในถุงพลาสติก นำตัวอย่างพืชมาแยกเชื้อสาเหตุในห้องปฏิบัติการวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

การแยกเชื้อราสาเหตุโรค

การแยกเชื้อจากตัวอย่างพืชที่เป็นโรคโดยตรง

กรณีพบส่วนของเชื้อราบนตัวอย่างพืชที่เป็นโรค ทำการเขี่ยส่วนของเชื้อจากตัวอย่างพืชลงบนแผ่นสไลด์ นำไปตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จากนั้นทำการแยกเชื้อบริสุทธิ์โดยวิธี single spore isolation

การแยกเชื้อโดยวิธีแยกจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค (Tissue transplant)

กรณีไม่พบส่วนของเชื้อราหรือเชื้อรายังไม่สร้างส่วนขยายพันธุ์ ทำการแยกเชื้อจากส่วนที่เป็นโรค โดยตัดชิ้นส่วนพืชบริเวณที่เป็นรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติ ฆ่าเชื้อที่ผิวพืชโดยแช่ชิ้นส่วนพืชในสารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจนแห้งสนิท นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนอาหาร water agar บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 25+2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน ตรวจดูเส้นใยราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ตัด hyphal tip ของราที่เจริญออกมาจากชิ้นตัวอย่างพืชวางลงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) เลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มใต้แสง near UV 12 ชั่วโมงสลับกับความมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน หรือเมื่อพบว่ารามีการสร้างกลุ่มโคนิเดีย (conidial mass) จึงนำมาแยกให้บริสุทธิ์อีกครั้งโดยวิธี single spore isolation บนอาหาร water agar (WA) ตรวจดูโคนิเดียที่งอกเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แล้วตัดย้ายไปวางบนอาหาร PDA เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

การพิสูจน์โรคโดยวิธี Koch’s Postulate

นำเชื้อบริสุทธิ์ที่แยกได้ในข้อ 2 มาเลี้ยงบนอาหาร PDA เลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มใต้แสง near UV 12 ชั่วโมงสลับกับความมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน หรือเมื่อพบการสร้างกลุ่มโคนิเดีย จากนั้นทำสารแขวนลอยโคนิเดีย โดยล้างกลุ่มโคนิเดียด้วยน้ำนึ่งฆ่า

เชื้อ ปรับให้มีความเข้มข้น $1x10^8$ โคนิเดียต่อมิลลิลิตร นำไปปลูกเชื้อโดยการพ่น (spray inoculation) ลงบนใบของต้นกล้ากาแฟ ระยะปีกผีเสื้อ สังเกตอาการโรคที่เกิดขึ้นหลังปลูกเชื้อเปรียบเทียบกับที่ไม่ปลูกเชื้อแล้วแยกเชื้อราจากพืชที่แสดงอาการโรคซ้ำอีกครั้ง

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานของรา

หลังจากพิสูจน์โรคด้วยวิธี Koch's Postulate แล้วว่าเป็นเชื้อสาเหตุโรค ศึกษาและจัดจำแนกสปชีสโดยนำเชื้อบริสุทธิ์ *Colletotrichum* sp. มาเลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มใต้แสง near UV 12 ชั่วโมงสลับกับความมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ศึกษาสีและลักษณะของโคโลนี จากนั้นเลี้ยงเชื้อราบนแผ่นกระจกสไลด์ (slide culture) ศึกษารูปร่างและวัดขนาดของโคนิเดีย ศึกษารูปร่างแอพเพรสซอเรีย (appressoria) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ จำแนกชนิดโดยใช้แนวทางการวินิจฉัยของ Mordue (1971), Sutton (1980,1992) และวิรัชและคณะ (2528)

การศึกษาชีววิทยาของรา

ศึกษาการเจริญของราบนอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ นึ่งฆ่าเชื้อ แล้วเทลงในจานเลี้ยงเชื้อ นำรา *Colletotrichum* sp. ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน มาตัดเส้นใยที่กำลังเจริญบริเวณขอบของโคโลนี ด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร นำชิ้นวุ้นมาวางตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่างๆ แล้วนำไปวางเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ตรวจวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อรา ในแนวราบที่ 7 วันหรือจนกระทั่งเชื้อราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อราบนอาหารที่แตกต่างกัน

ศึกษาการเจริญของราที่อุณหภูมิต่างๆ

เตรียมอาหาร PDA นึ่งฆ่าเชื้อ เทลงในจานเลี้ยงเชื้อ นำรา *Colletotrichum* spp. ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน มาตัดเส้นใยส่วนที่กำลังเจริญบริเวณขอบของโคโลนีด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร นำชิ้นวุ้นมาวางตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA นำไปวางในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิต่างๆกัน ตรวจวัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีในแนวราบที่ 7 วันหรือจนกระทั่งเชื้อราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อราที่อุณหภูมิต่างๆกัน

การศึกษาชนิดพืชอาศัย

เตรียมผลของพืชที่เคยมีรายงานการเข้าทำลายของรา *Colletotrichum* spp. เช่น พริกหยวก พริกจินดา มะม่วง มะเขือเทศ เป็นต้น นำเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่แยกได้จากกาแฟมาเลี้ยงบนอาหาร PDA เลี้ยงบนอาหาร PDA บ่มใต้แสง near UV 12 ชั่วโมงสลับกับความมืด 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน หรือเมื่อพบการสร้างกลุ่มโคนิเดีย นำมาปลูกเชื้อลงบนผลพืชที่ต้องการทดสอบ

- **การบันทึกผล**

บันทึกสถานที่ที่เก็บตัวอย่าง

บันทึกสภาพแวดล้อมและการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ขณะเก็บตัวอย่างเท่าที่จะทำได้

บันทึกเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเมื่อเลี้ยงเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อต่างกัน

บันทึกเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเมื่อเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิแตกต่างกัน

- **เวลาและสถานที่** ตุลาคม 2559 - กันยายน 2561
  แปลงปลูกกาแฟพันธุ์อาราบิก้า
  ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
  กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ

8. ผลการทดลองและวิจารณ์

สำรวจรวบรวมเก็บตัวอย่างกาแฟที่เป็นโรคแอนแทรคโนสและศึกษาลักษณะอาการของโรค

เก็บตัวอยางผล ใบ และกิ่งกาแฟที่แสดงอาการเป็นโรค จากแหลงปลูกที่พบการเกิดโรคแอนแทรคโนส ระหว่าง ตุลาคม 2559 - กันยายน 2561 พื้นที่จังหวัด เชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน ลำปาง น่าน พะเยา เลยและเพชรบูรณ์ รวมจำนวน 31 ตัวอย่าง นำมาศึกษาลักษณะอาการของโรค (ตารางที่ 1)

ลักษณะอาการที่ใบ พบแผลทั้งรูปร่างค่อนข้างกลมและแผลที่รูปร่างไม่แน่นอน เนื้อเยื่อกลางแผลมีสีน้ำตาลเข้มถึงดำ แผลจะขยายใหญ่ขึ้นเรื่อย จนเป็นแผลขนาดใหญ่

ลักษณะอาการที่กิ่ง กิ่งแห้งที่เกิดจากปลายยอด (ปลายกิ่ง) ลงมาที่โคนกิ่ง พบแผลสีน้ำตาลหรือสีดำบนกิ่ง แผลจะขยายลงไปตามกิ่ง ทำให้ใบเหลืองและร่วง กิ่งเหี่ยวแห้งเป็นสีดำ

ลักษณะอาการที่ผล แผลสีน้ำตาลเข้มหรือดำ เนื้อเยื่อบริเวณแผลยุบตัวลงไปในเนื้อเยื่อผล แผลจะขยายใหญ่ขึ้นเป็นแผลรูปร่างไม่แน่นอน ผลที่ยังไม่สุกจะหยุดการเจริญเติบโตและเปลี่ยนเป็นสีดำ แต่ผลยังคงติดอยู่บนกิ่งกาแฟ

การแยกเชื้อราสาเหตุโรค

ผลการแยกเชื้อจากส่วนของพืชที่เป็นโรคโดยตรงและการแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค ได้เชื้อรา *Colletotrichum* sp. จำนวน 14 ไอโซเลต

การพิสูจน์โรคด้วยวิธี Koch's Postulate

ผลการพิสูจน์โรคตามหลักการพิสูจน์โรคของ Koch (Koch's Postulates) พบว่า รา *Colletotrichum* spp. ที่แยกได้เป็นเชื้อสาเหตุโรคแอนแทรคโนสของกาแฟอะราบิก้า ต้นกล้ากาแฟต้นกล้าที่อายุ 60 วัน (ระยะปีกผีเสื้อ) ที่ได้รับการปลูกเชื้อแสดงอาการของโรคหลังทำการปลูกเชื้อได้ 5 วัน ลักษณะอาการที่พบคือใบเกิดแผลสีน้ำตาลดำ เมื่อนำส่วนของใบที่แสดงอาการโรคมาแยกเชื้อซ้ำอีกครั้ง แยกได้รา *Colletotrichum* spp. ที่มีลักษณะทางสัณฐานเช่นเดียวกันกับราที่นำมาปลูกเชื้อ

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานของราสาเหตุโรค

เมื่อนำรา *Colletotrichum* spp. บริสุทธิ์ทั้ง 14 ไอโซเลต มาศึกษารูปร่างและวัดขนาดของโคนิเดีย ศึกษารูปร่างแอพเพรสซอเรีย (appressoria) ภายใตกลองจุลทรรศน์ พบว่า ส่วนใหญ่ (12 ไอโซเลต) มีโคโลนีสีขาวเทาถึงสีเทา ตรงกลางโคโลนีสีเทาเข้ม เส้นใยบนผิวหน้าอาหารมีลักษณะเจริญฟูสลับกับ spore mass ที่เกิด เป็นวงซ้อนๆกัน (zonation) ด้านหลังโคโลนี (reverse) พบจุดดำเป็นวง ไม่พบการสร้าง setae เส้นใยไม่มีสี มีผนังกั้น โคนิเดียเกิดบนก้าน conidiophore โคนิเดียส่วนใหญ่มีลักษณะรูปทรงกระบอก (cylindrical) ปลายมน (obtuse) ฐานตัด (truncate) เซลล์เดียว

ไม่มีสี โคนิเดียมีขนาดเฉลี่ย 2.98-5.96 x 10.43-26.62 ไมครอน สร้าง acervulus ฝังลึกลงในอาหาร ด้านบน acervulus ปกคลุมด้วย spore mass สีส้ม แอพเพรสซอเรียรูปร่างคล้ายกระบอง รูปไข่ บางครั้งเป็นลูป (lobe) มีขนาดเฉลี่ย 6.25-9.23x8.94-13.11 ไมครอน

ไอโซเลตที่แยกจากตัวอย่างกาแฟบ้านห้วยห้อม ต.ห้วยห้อม อ.แม่ลาน้อย จ.แม่ฮ่องสอน โคโลนีมีสีเขียวอมเทา ด้านหลังโคโลนีไม่พบจุดดำ โคนิเดียมีทั้งรูปทรงกระบอก ปลายมน ฐานตัด และรูปร่างแบบกระบอง มีการสร้าง chlamydospore สีน้ำตาลต่อกันเป็น chain สั้นๆ แอพเพรสซอเรียรูปร่างค่อนข้างกลม

ไอโซเลตที่แยกจากตัวอย่างกาแฟของศูนย์วิจัยพืชสวนเลย (ภูเรือ) บ้านหินสอ ต.ปลาบ่า อ.ภูเรือ จ.เลย ขอบโคโลนีสีขาว ตรงกลางโคโลนีมีสีเข้ม ด้านหลังโคโลนีมีจุดดำกระจายเล็กน้อย โคนิเดียรูปทรงกระบอก ปลายมน ฐานตัด แอพเพรสซอเรียรูปร่างคล้ายกระบองและรูปไข่

จากการศึกษาและใช้แนวทางการวินิจฉัยของ Mordue (1971), Sutton (1980, 1992) และวิรัชและคณะ (2528) ได้จำแนกชนิดเป็นรา *Colletotrichum gloeosporioides*

การศึกษาชีววิทยาของรา

ผลการศึกษาการเจริญของราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA HPDA MEA CZA PSA และ PCA พบว่า เส้นใยของ *C. gloeosporioides* เจริญได้ดีที่สุดบนอาหาร PDA และ MEA เชื้อราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อภายใน 5-7 วัน พบการสร้างโคนิเดียได้มากที่สุดบนอาหาร PCA โดยเห็นเป็น spore mass สีส้มเรียงซ้อนกันเป็นวงหลังจากเลี้ยงเชื้อบนอาหารภายใน 7-10 วัน

ผลการศึกษาการเจริญของราบนอาหาร PDA ในสภาพอุณหภูมิต่างๆกันพบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของรา *C. gloeosporioides* ส่วนใหญ่ อยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส

การศึกษาชนิดพืชอาศัย

Colletotrichum gloeosporioides ที่แยกจากกาแฟ สามารถทำให้ พริกจินดา มะม่วง มะเขือเทศ มะละกอ แสดงอาการแผลให้เห็น 3-5 หลังจากปลูกเชื้อ แผลมีลักษณะค่อนข้างกลม สีน้ำตาลเข้มถึงดำ เนื้อเยื่อพืชบุ๋มยุบลง บางแผลพบการสร้างกลุ่มโคนิเดียเรียงเป็นวงซ้อนกัน

9. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การศึกษาโรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) ของกาแฟอะราบิกา โดยการสำรวจเก็บตัวอย่างกิ่ง ใบและผลกาแฟที่แสดงอาการโรค จากพื้นที่ปลูกกาแฟอะราบิกาในพื้นที่จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ น่าน แม่ฮ่องสอน ลำปาง เลย และ เพชรบูรณ์ รวมจำนวน 31 ตัวอย่าง นำมาแยกเชื้อพิสูจน์โรคศึกษาลักษณะทางสัณฐานและศึกษาชีววิทยา ผลการศึกษาพบว่าเชื้อรา *Colletotrichum* spp. ที่แยกได้ทั้งหมด 14 ไอโซเลต เมื่อนำมาพิสูจน์โรคโดยการปลูกเชื้อให้กับต้นกล้ากาแฟ ต้นกล้ากาแฟเริ่มแสดงอาการแผลสีดำหลังปลูกเชื้อได้ 5 วัน ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาร่วมกับการใช้แนวทางการวินิจฉัยของ Mordue (1971), Sutton (1980,1992)และวิรัชและคณะ (2528) จึงจำแนกชนิดราสาเหตุโรคแอนแทรคโนส (Anthracnose) ของกาแฟอะราบิกาที่ได้ทำการศึกษาครั้งนี้เป็น *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc.

เนื่องจากในการศึกษาครั้งนี้อาศัยลักษณะทางสัณฐานเพียงอย่างเดียวในการจำแนกชนิด ซึ่งพบปัญหาในการจำแนก เนื่องจากรา *Colletotrichum* spp. บางไอโซเลต มีลักษณะของโคโลนีแตกต่างกันแต่รูปร่างของโคนิเดียเหมือนกัน และบางไอโซเลตมีลักษณะของโคโลนีไม่แตกต่างกัน แต่โคนิเดียมีรูปร่างแตกต่างกันบ้างเล็กน้อย ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมโดยการนำเทคนิคทางอนูชีววิทยาเข้ามาช่วยในการจัดจำแนกชนิดรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรคโนสของกาแฟอะราบิก้าที่รวบรวมจากต่างสถานที่และความรุนแรงของโรคแตกต่างกัน เพื่อสนับสนุนให้ข้อมูลของชนิดหรือสายพันธุ์ของเชื้อรามีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น แต่สิ่งที่สำคัญที่สุดที่ควรศึกษาเพิ่มเติมคือการศึกษาวิธีการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสด้วยวิธีการต่าง รวมทั้งวิธีการป้องกันกำจัดโรคแบบผสมผสานเพื่อการแนะนำสู่เกษตรกร เนื่องจากข้อมูลดังกล่าวมีความสำคัญที่มากและเกษตรกรต้องการเมื่อพบการระบาดของศัตรูพืชทุกขนิด

10. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์ : ผลการทดลอง ได้นำไปใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการศึกษาการป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสกาแฟอะราบิกาที่เกิดจากรา *Colletotrichum* spp. เป็นข้อมูลเพื่อแนะนำเกษตรกรผู้ปลูกกาแฟอะราบิกา ในพื้นที่ปลูกกาแฟอะราบิกาภาคเหนือ โดยนักวิชาการเกษตรศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ได้นำไปถ่ายทอดสู่กลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกกาแฟอะราบิกา ในวาระต่างๆที่เป็นวิทยากร

11. คำขอบคุณ (ถ้ามี) : พนักงานราชการ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่(ขุนวาง) ในการช่วยเก็บตัวอย่างโรค

12. เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2544. กาแฟ ผลงานวิชาการประจำปี 2543. เอกสารประกอบการประชุมวิชาการประจำปี 2544, เล่มที่ 1, โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด. กรุงเทพฯ.

วิจัย รักวิทยาศาสตร์. 2546. ราวิทยาเบื้องต้น. ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อ.กำแพงแสน จ.นครปฐม. 351 หน้า

วิรัช ชูบำรุง, ประไพศรี พิทักษ์ไพรวันและพัฒนา สนธิรัตน. 2528. *Colletotrichum* spp. ในประเทศไทย. หน้า 128-140. *ใน* : รายงานผลงานวิจัย พ.ศ.2528 กลุ่มงานวิทยาไมโค กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

Mordue JEM, 1 9 7 1 . Colletotrichum gloeosporioides. Kew, UK: Commonwealth Mycological Institute: CMI Descriptions of Pathogenic Fungi and Bacteria no. 315.

Muller R.A., Berry D., Avelino J., Bieysse D. 2009. Coffee diseases. *In* : Wintgens Jean Nicolas.(ed.). Coffee: growing, processing, sustainable production: A guidebook for growers, processors, traders, and researchers. Weinheim: Wiley-VCH, p. 495-

549. (ระบบออนไลน์). แหล่งที่มา:
https://www.researchgate.net/publication/230245135_Coffee_Diseases
(วันที่ 26 มกราคม พ.ศ.2561)

Pacific Pests and Pathogens - Fact Sheets (ระบบออนไลน์).
แหล่งที่มา: http://www.pestnet.org/fact_sheets/coffee_browneye_spot_142.htm
(วันที่ 26 กุมภาพันธ์ พ.ศ.2560)

Sutton BC, 1980. The Coelomycetes: Fungi Imperfecti with Pycnidia, Acervuli and Stromata. Kew, UK: Commonwealth Mycological Institute. 695p.

Sutton BC, 1992. The genus Glomerella and its anamorph Colletotrichum. In: Bailey JA, Jeger MJ, eds. Colletotrichum: Biology, Pathology and Control. Wallingford, UK: CAB International, p.1–26.

13. ภาคผนวก :

Table 1 Colletotrichum isolates obtained from infected coffee at different locations

ลำดับที่	สถานที่	ส่วนของพืช	ลักษณะอาการ
1	ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่(ขุนวาง) ต.แม่วิน อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่	กิ่งกาแฟ ใบกาแฟ ผลเริ่มเปลี่ยนสี ผลสุก	I II III
2	บ้านใหม่พัฒนา ต.แจ้ซ้อน อ.เมืองปาน จ.ลำปาง	ใบกาแฟ ผลเริ่มเปลี่ยนสี	II III
3	บ้านแม่ตอน ต.เทพเสด็จ อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่	ใบกาแฟ ผลสุก	II III
4	ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ (แม่จอนหลวง) ต.แม่นาจร อ.แม่แจ่ม จ.เชียงใหม่	ใบกาแฟ ผลเริ่มเปลี่ยนสี ผลสุก	I III III
5	ศูนย์วิจัยพืชสวนเลย (ภูเรือ) บ้านหินสอ ต.ปลาบ่า อ.ภูเรือ จ.เลย	ผลเริ่มเปลี่ยนสี	III
6	บ้านปางขอน ต.ห้วยชมภู อ.เมือง จ.เชียงราย	ใบกาแฟ	II
7	บ้านผาฮี้ ต.โป่งงาม อ.แม่สาย จ.เชียงราย	ใบกาแฟ ผลเริ่มเปลี่ยนสี	II III
8	บ้านสันเจริญ ต.ผาทอง องท่าวังผา จ.น่าน	ใบกาแฟ ผลเขียว ผลสุกแดง กิ่ง/ก้านกาแฟ	II III III I
9	**บ้านห้วยห้อม ต.ห้วยห้อม อ.แม่ลาน้อย จ.แม่ฮ่องสอน**	**ใบกาแฟ ผลสีเขียว**	**II III**
10	บ้านนาเกียน ต.นาเกียน อ.อมก๋อย จ.เชียงใหม่	ใบกาแฟ ผลสุก	II III
11	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเชียงราย (ดอยช้าง) ต.วาวี อ.แม่สรวย จ.เชียงราย	ผลเริ่มเปลี่ยนสี ผลสุก ใบกาแฟ	III III II
12	ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตรที่สูงเพชรบูรณ์ (เขาค้อ) บ้านเสลียงแห้ง ต.สะเดาะพง อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์	ผลเริ่มเปลี่ยนสี ผลสุก	III III
13	ผาช้างน้อย อ.ปง จ.พะเยา	กิ่ง/ก้านกาแฟ ผลสุก	II III
14	บ้านสบขุ่น ต.ป่าคา อ.ท่าวังผา จ.น่าน	ใบกาแฟ ผลเริ่มเปลี่ยนสี	II III

ลักษณะอาการ I= กิ่งแห้งจากปลายยอด (ปลายกิ่ง) ลงมาที่โคนกิ่ง, II= แผลรูปร่างกลมถึงไม่แน่นอนสีน้ำตาลเข้มถึงดำบนใบ, III = แผลสีน้ำตาลเข้มถึงดำ เนื้อเยื่อบริเวณแผลยุบลึกลงจากผิวผลปก