

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์

ความรุนแรงและความหลากหลายทางชีวภาพของ

ราสนิมใบกาแฟในภาคเหนือของประเทศไทย

ผู้เขียน นายยุทธการ กองวงศ์

ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (โรคพืช)

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดร. ชัยวัฒน์ โตอมนันต์ ประธานกรรมการ

อ.ดร. สรัญญา วัลยะเสวี กรรมการ

ผศ.ดร. ชวนพิศ บุญชิตศิริกุล กรรมการ

บทคัดย่อ

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างโรคราสนิมใบกาแฟในแปลงปลูกกาแฟอราบิก้า 20 แปลง ในพื้นที่ 3 จังหวัดของภาคเหนือของประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดเชียงราย เชียงใหม่ และ แม่ฮ่องสอน โดยวัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้เพื่อประเมินระดับความรุนแรงโรคราสนิมใบกาแฟ ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อราสาเหตุของโรคราสนิมใบกาแฟ จากการศึกษาลักษณะอาการแสดงให้เห็นว่า เชื้อราสนิมใบกาแฟส่วนใหญ่เข้าทำลายเฉพาะใบกาแฟโดยพบการเข้าทำลายในส่วนของลำต้น และผลกาแฟบ้างเพียงเล็กน้อย โดยทั่วไปลักษณะอาการจะเกิดผงสีเหลือง – ส้ม หรือลักษณะเป็นจุดอยู่บริเวณใต้ผิวใบกาแฟ ซึ่งในระยะเริ่มแรกลักษณะอาการของใบกาแฟที่ถูกเชื้อราสนิมเข้าทำลายปรากฏเป็นจุดสีเหลือง หรือเหลืองซีดก่อนที่เชื้อราจะสร้างสปอร์ ผลที่ถูกเชื้อราเข้าทำลายนี้มีขนาดแตกต่างกัน สำหรับการสร้างสปอร์ของเชื้อราสร้างออกมาทางปากใบ นอกจากนี้การเข้าทำลายของเชื้อราสนิมใบกาแฟมีผลทำให้ปริมาณการสังเคราะห์แสงของใบกาแฟลดลงซึ่งมีผลทำให้ใบกาแฟร่วงหล่นได้ ผลจากการประเมินระดับความรุนแรงของโรคราสนิมใบกาแฟในแปลงปลูก 20 แปลงในเขตพื้นที่ จังหวัด

เชียงราย เชียงใหม่ และแม่ฮ่องสอน โดยบันทึกระดับความรุนแรงของโรค ที่พบบนต้นกาแฟ คำนวณค่าดัชนีความรุนแรงของโรค และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราสนิมใบกาแฟ จากนั้นนำค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่ได้ทั้งหมดมาเปรียบเทียบโดยวิธี least significant difference (LSD) พบว่า ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แปลงกาแฟ PP101 (หมู่บ้านป่าปาน จังหวัดเชียงใหม่) มีค่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราสนิมใบกาแฟสูงที่สุดคือ 96.67 เปอร์เซ็นต์ และแปลง DIC106 (หมู่บ้านดอยช้าง จังหวัดเชียงราย) มีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคราสนิมสูงที่สุดคือ 5.62 ในขณะที่แปลงกาแฟ DIC101 (หมู่บ้านดอยช้าง จังหวัดเชียงราย) มีค่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราสนิมใบกาแฟ ต่ำสุดคือ 46.00 เปอร์เซ็นต์ และแปลง PHJ101 (หมู่บ้านผาเจริญ จังหวัดแม่ฮ่องสอน) มีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคราสนิมต่ำสุดคือ 2.83 กล่าวโดยสรุปผลจากการศึกษาพบว่าค่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค และความรุนแรงในการเข้าทำลายของเชื้อรา *Hemileia vastatrix* มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา ราสนิมใบกาแฟโดยอาศัยเทคนิค paraffin section พบว่า sorus ของเชื้อราสนิมนี้เจริญออกมาทางปากใบ และมีขนาดความกว้าง (24.40)39.04 – 70.76(73.20) ไมโครเมตร (ค่าเฉลี่ย 54.46 ไมโครเมตร) และมีขนาดความยาว (58.56)63.44 – 95.16(100.04) ไมโครเมตร (ค่าเฉลี่ย 80.73 ไมโครเมตร) สำหรับรูปร่างลักษณะของสปอร์ มีลักษณะคล้ายไต (reniform) มีหนาม (echinulate) อยู่ด้านบน (dorsal) ส่วนด้านล่าง (ventral) มีลักษณะเรียบ โดยมีขนาด (18.67)19.31 - 20.82(20.96) × (25.79)27.87 – 30.04(30.38) ไมโครเมตร (ค่าเฉลี่ย 20.26 × 28.87 ไมโครเมตร) ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นลักษณะจำเพาะของเชื้อราในจีนัส *Hemileia* ถูกจัดจำแนกเป็น เชื้อรา *Hemileia vastatrix* Berkely and Broome ผลการวิเคราะห์ความหลากหลายทางชีวภาพของราสนิมใบกาแฟ พบว่า เมื่อทำการเพิ่มปริมาณ ดีเอ็นเอของเชื้อรา *H. vastatrix* ตรงตำแหน่ง rDNA ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ไพรเมอร์ ITS1 และ ITS4 โดยเปรียบเทียบกับเชื้อราสนิมใบข้าวโพดที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อ รา *Puccinia polysora* พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณ rDNA ของราสนิมใบข้าวโพดได้ แต่ไม่สามารถเพิ่มปริมาณ rDNA ของราสนิมใบกาแฟได้ ดังนั้นในการศึกษาต่อไป จึงควร คัดเลือกไพรเมอร์และปรับสภาวะในการเพิ่มปริมาณ rDNA ด้วยเทคนิค PCR ให้มีความเหมาะสมต่อไป

Thesis Title	Severity and Biodiversity of Coffee Leaf Rust Fungi in Northern Thailand	
Author	Mr. Yoothakarn Kongwong	
Degree	Master of Science (Plant Pathology)	
Thesis Advisory Committee	Assoc. Prof. Dr. Chaiwat To-anun	Chairperson
	Lect. Dr. Sarunya Valyasevi	Member
	Asst. Prof. Dr. Chuanpit Boonchitsirikul	Member

Abstract

Survey and collection of coffee leaf rust were carried out on *Coffea arabica* in 20 plots of 3 provinces in Northern Thailand; Chiang Rai, Chiang Mai and Mae Hong Son. The objective of this study was to assess the severity level of the disease, as well as the morphology and biodiversity of the pathogen. The results showed that the rust fungi mainly attacked the leaves and were rarely found on young stems and fruits. Typically, the disease was recognized by the yellow-orange powdery lesions or spots on the lower surface of leaves. Initially, very young lesions appeared as chlorotic or pale yellow spots before sporulation was evident. These spots varied in size. Therefore since sporulation of this pathogen occurs through the stomata. The damage caused by coffee leaf rust causes a reduction in the photosynthetic capacity of infected leaves. An assessment of incidence and severity of *Hemileia vastatrix* infection was done in 20 plots in Chiang Rai, Chiang Mai, and Mae Hong Son. The severity level per tree was recorded and calculated based on a disease severity index as well as the percentage of total coffee trees that were infected per plot. The averages of all data were compared by the least significant different method (LSD). The results showed that plot PP101 (Ban Pa Pan, Chiang Mai) had the highest

percentage of infected trees (96.67 %) and plot DIC106 (Ban Doi Chang, Chiang Rai) had the highest severity index (5.62) with a confidence level of 95%. Conversely, plot DIC101 (Ban Doi Chang, Chiang Rai) had the lowest percentage of infected trees (46.00 %) and plot PHJ101 (Ban Pha Charoen, Mae Hong Son) had the lowest severity index (2.83) with a confidence level of 95%. In conclusion, the percentage of diseased incidence had a positive correlation with the severity of *Hemileia vastatrix* infection.

A study on the morphology of the pathogen using the paraffin section technique found that the sorus of the fungi emerged from leaf stomata with the size of (24.40)39.04 – 70.76(73.20) μm in width (ca. 54.46 μm) and (58.56)63.44 – 95.16(100.04) μm in depth (ca. 80.73 μm). Urediospore formation appeared outside the leaves and characteristically reniform urediniospores which were echinulated dorsally and smooth ventrally with the size of (18.67)19.31 - 20.82(20.96) \times (25.79)27.87 – 30.04(30.38) μm (ca. 20.26 \times 28.87 μm). The smooth ventral side of the urediniospore is responsible for the generic name *Hemileia* and was identified as *Hemileia vastatrix* Berkely and Broome. An analysis of the biodiversity of the coffee leaf rust fungus using rDNA sequencing analysis found that a PCR analysis of *H. vastatrix* using the universal primers ITS1 and ITS4 was unsuccessful. Although these primers were able to amplify rDNA region of *Puccinia polysora*, maize rust fungi, but did not amplify the target region of *H. vastatrix* and were therefore not available for analysis this particular pathogen. Further experiment *H. vastatrix* could determine the appropriate primer and conditions for amplifying the rDNA region.