บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

กาแฟอราบิก้า

กาแฟอราบิก้า (*Coffea arabica* L.) เป็นพืชที่มีชุดโครโมโซม เป็น tetraploid (4n) (Russell, 1978) เป็นพืชดั้งเดิมของเอธิโอเปีย ลักษณะเป็นต้นไม้พุ่มขนาดเล็ก ปกติมีใบเขียวติดต้นตลอดปี ใบมีขนาดเล็กประมาณ 6.5 – 7.7 x 4.1 – 4.7 เซนติเมตร ลำต้นอาจมีความสูงได้ถึง 5 เมตร ต้นกาแฟเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 15 – 23 องศาเซลเซียส ในพื้นที่ที่มีความสูง 800 – 1,500 เมตรจากระดับน้ำทะเล ผลสดมีรูปร่างกลมรี ขนาดของผลมีความยาวประมาณ 1.5 เซนติเมตร มีก้านผลสั้นเมื่อผลดิบอยู่จะมีสีเขียว ส่วนผลสุกอาจมีสีเหลือง ส้มแดง หรือแดงเข้ม ปัจจุบันปริมาณผลผลิตกาแฟของโลก มีอยู่ถึงเจ็ดล้านตัน เป็นผลผลิตของกาแฟอราบิก้าถึง 4.6 ล้านตันและโรบัสต้า 2.6 ล้านตัน แหล่งผลิตกาแฟของโลกกระจายอยู่ในทวีปอเมริกาใต้ อเมริกากลาง เอเชีย อาฟริกา และอเมริกาเหนือ โดยมีประเทศบราซิลเป็นผู้ผลิต และส่งออกรายใหญ่ที่สุดซึ่งมีสัดส่วนถึงร้อยละ 27 ของผลผลิตกาแฟทั้งโลก (พัชนี, 2549)

สำหรับประเทศไทย กาแฟอราบิก้าได้ถูกนำมาส่งเสริมให้เกษตรกรชาวเขาปลูกเพื่อเป็นทดแทนการปลูกพืชเสพติด (ฝิ่น) และพืชเสริมรายได้ทางภาคเหนือของประเทศมาตั้งแต่ปี 2520 (พงษ์ศักดิ์ และบัณฑูรย์, 2547) พื้นที่ส่วนใหญ่อยู่ในจังหวัดต่าง ๆ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย แม่ฮ่องสอน ลำปาง ลำพูน แพร่ น่าน และตาก แต่กาแฟอราบิก้ากลับประสบปัญหาด้านการตลาดค่อนข้างมาก แต่หลังจากปี พ.ศ. 2540 เป็นต้นมามีการนำเอากาแฟอราบิก้าไปเป็นส่วนผสมเพื่อทำให้กาแฟคั่ว-บดมีคุณภาพด้านกลิ่นรสที่หลากหลาย รวมทั้งมีการประชาสัมพันธ์โดยใช้ชื่ออราบิก้าเป็นจุดเด่นของกาแฟคั่วชนิดพิเศษ ผลที่เกิดขึ้นคือ การทำให้ราคากาแฟเมล็ดดิบในประเทศในช่วง 5 – 6 ปี ที่ผ่านมาค่อนข้างดี คือประมาณ 80 – 180 บาทต่อกิโลกรัมขึ้นอยู่กับคุณภาพของเมล็ดกาแฟ ซึ่งราคากาแฟอราบิก้าในตลาดโลกโดยเฉลี่ยประมาณ 60 บาทต่อกิโลกรัม หลังจากปี พ.ศ. 2525 เป็นต้นมา การส่งเสริมการปลูกกาแฟอราบิก้าบนที่สูงในภาคเหนือของประเทศไทย ได้ดำเนินการอย่างต่อเนื่องจนมีปริมาณผลผลิตถึงระดับสองพันตัน (พัชนี , 2549) สำหรับพื้นที่การปลูกกาแฟอราบิก้าได้มีการขยายจำนวนพื้นการปลูกเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ โดยสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2552)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ได้รายงานว่ามีพื้นที่ปลูกกาแฟอราบิก้า 27,341 ไร่เมื่อปี พ.ศ. 2549 และได้เพิ่มเป็น 39,807 ไร่ ในปี พ.ศ. 2552 (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 พื้นที่เพาะปลูก และผลผลิตรวมของกาแฟอราบิก้าที่มีการปลูกในจังหวัดต่างๆ ของประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2552

จังหวัด	พื้นที่เพาะปลูก (ไร่)	ผลผลิตรวม (ตัน)
เชียงราย	17,144	1,441
ลำปาง	1,455	153
เชียงใหม่	13,688	1,354
แม่ฮ่องสอน	2,386	333
ตาก	1,304	114
แพร่	933	82
น่าน	2,109	222
อุตรดิตถ์	788	-
รวม	39,807	3,699

ที่มา : สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2552)

โรคราสนิมใบกาแฟ (coffee leaf rust)

โรคราสนิมใบกาแฟเป็นโรคที่เกิดจากเชื้อรา *Hemileia vastatrix* จัดเป็นโรคที่มีความสำคัญในเขตร้อนชื้น และยังถือเป็นหนึ่งในโรคที่สร้างความเสียหายอย่างรุนแรง เช่นเดียวกับโรค ใบไหม้ของมันฝรั่ง (blight of potato) โรคราเขม่าดำของข้าวสาลี (stinking smut of wheat) โรคราสนิมของข้าวสาลี (black stem rust of wheat) โรครากบวมของกะหล่ำ (club root of cabbage) และโรคเหี่ยวของกล้วย (wilt of banana) (Kushalappa and Eskes, 1989a) โดยพบการระบาดของโรคนี้ครั้งแรกในประเทศศรีลังกา เมื่อปี ค.ศ. 1869 หลังจากนั้นอีก 20 ปี ก็กลายเป็นโรคที่ระบาดอย่างกว้างขวาง ทำให้ต้นกาแฟเสียหายจน ต้องเลิกปลูกกาแฟในเวลาต่อมา หลังจากนั้น ในศตวรรษที่ 20 หรือในช่วงปี ค.ศ. 1920 ถึง ค.ศ. 1930 ก็ยังมีรายงานว่าโรคนี้ได้แพร่ระบาดไปยังพื้นที่ปลูกกาแฟส่วนใหญ่ทั้งในทวีปอาฟริกา และเอเชีย (Schieber and Zentmyer, 1984; Brown *et al.,* 1995) ต่อมาในปี ค.ศ. 1970 ก็มีรายงานว่าพบโรคนี้ระบาดในประเทศบราซิล และทวีปอเมริกาใต้ ซึ่งการระบาดข้ามทวีปด้วยวิธีใดนั้นยังไม่ทราบแน่ชัด (Monaco, 1977)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ลักษณะอาการของโรค

ราสนิมใบกาแฟ สามารถ ทำลาย ใบกาแฟได้ทั้งใบอ่อน และ ใบแก่ ตั้งแต่ ระยะต้นกล้า ในเรือนเพาะชำไปจนถึงต้นที่ให้ผลผลิต ในแปลงปลูก (Op de Laak, 1992) ลักษณะอาการที่เด่นชัดของโรคนี้คือ แผลมีลักษณะสีส้ม -เหลืองอยู่บริเวณ ด้าน ใต้ใบกาแฟ โดยลักษณะอาการเริ่ม แรกจะเกิดจุดแผลสีเหลืองอ่อนขนาด 2 - 4 มิลลิเมตร ต่อมาแผลจะขยายใหญ่ขึ้น กลายเป็นแผลที่มีรูปร่างไม่แน่นอน หลังจากนั้น แผลหลายแผล อาจขยายมารวม กันกลายเป็นแผลที่มีขนาดใหญ่มากกว่า 5 เซนติเมตร เมื่อเชื้อราสนิมใบกาแฟเจริญเติบโตเต็มที่ก็จะสร้าง urediospore ขึ้นมาซึ่งมีลักษณะคล้ายผงฝุ่นสีส้ม - เหลืองปรากฏอยู่บนแผล โดยบริเวณผิวใบกาแฟด้านบนใบแผลไม่ชัดเจนเนื่องจากไม่มีการสร้าง urediospore ในบริเวณนี้ เมื่อแผลมีอายุมากขึ้นบริเวณกลางแผลจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มและหลังจากนั้นจะเกิดอาการตายของเนื้อเยื่อ (Kushalappa and Eskes, 1989a) แผลขยายไปทั่วทั้งใบทำให้ใบกาแฟร่วง กิ่งแห้งตาย แต่ต้นกาแฟยังไม่ตาย โดยโคนต้นกาแฟอาจมีหน่อแตกออกมาใหม่วนเวียนเช่นนี้ทุกปี แต่ผลผลิตที่ได้ไม่คุ้มค่ากับการลงทุน (อาภรณ์ และศุภชัย, 2534)

Op de Laak (1992) และ Brown *et al.* (1995) รายงานว่า หลังจากระยะที่ต้นกาแฟมีการให้ผลผลิตปริมาณมากเกินไปในกาแฟอราบิก้าสายพันธุ์ Caturra การเข้าทำลายของเชื้อราสนิมจะเกิดขึ้นอย่างรุนแรง เนื่องจากผลกาแฟที่กำลังสุกมีความต้องการสารคาร์โบไฮเดรตในปริมาณที่สูง ซึ่งใบกาแฟไม่สามารถจัดหาให้ได้อย่างเพียงพอ ทำให้เกิดการสูญเสียแหล่งคาร์โบไฮเดรตทั้งในกิ่ง ลำต้น และราก ส่งผลให้ใบร่วง และเกิดการตายยอด (die back)

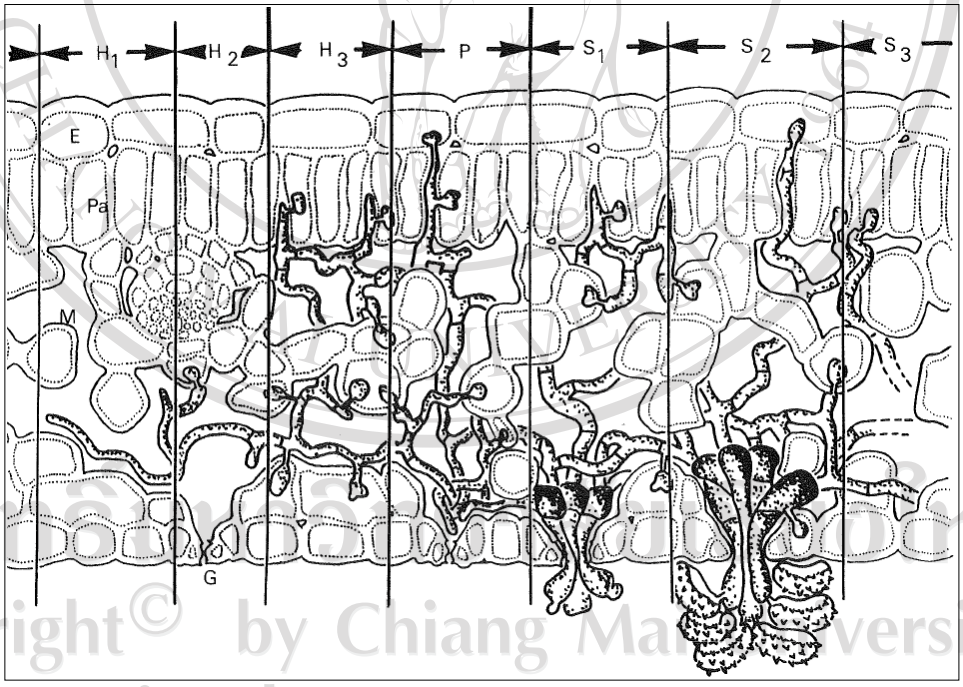
ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Hemileia vastatrix*

สำหรับเชื้อรา *H. vastatrix* จัดอยู่ใน Class Basidiomycetes, Order Uredinales, Family Pucciniaceae (Ainsworth *et al*., 1973 and Waller *et al*., 2007) นอกจากนี้ Gopalkrishnan (1951) ได้รายงานในปี ค.ศ. 1869 ว่า Berkeley เป็นผู้ตั้งชื่อเชื้อราชนิดนี้ว่า *Hemileia vastatrix* เนื่องจากมีลักษณะที่สำคัญคือ มีการสร้างสปอร์เจริญออกมาทางปากใบ รูปร่างลักษณะของสปอร์มีลักษณะคล้ายไต (reniform) มีหนาม (echinulate) อยู่ด้านบน (dorsal) โดยด้านล่าง (ventral) มีลักษณะเรียบ ต่อมา Ward (1882) ก็ได้ค้นพบว่า teliospore ของราสนิมใบกาแฟเป็นเซลล์เดี่ยวๆ มีลักษณะเป็นแบบหัวไม้ขีดไฟ (napiform) ซึ่งจะมีการงอกได้โดยไม่มีการพักตัว Rajendren (1965) ได้พบความผิดปกติของการพัฒนาการของ uredium ของเชื้อรา *H. vastatrix* โดยพบว่าเชื้อสร้าง uredium อยู่ใต้ผิวใบ (sub-epidermal uredium) ในกาแฟอราบิก้า ทำให้ชั้นผิวใบถูกยกโป่งขึ้นแต่ไม่มีการฉีกขาด นอกจากนี้ยังพบว่ามีการสร้าง uredium แทรกอยู่ระหว่างช่องว่างของเนื้อเยื่อ spongy ใน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กาแฟลิเบอ ริก้า ลักษณะเช่นนี้อาจมีสาเหตุมาจากสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่นการผ่านช่วงร้อน และแห้งแล้งในฤดูร้อน

Gopalkrishnan (1951) ได้แบ่งเชื้อรา *Hemileia* ออกตามลักษณะของ sorus ได้ 3 แบบ (type) คือ subepidermal type, superstomatal type A และ superstomatal type B สำหรับเชื้อรา *H. vastatrix* จัดเป็นแบบฉบับ (typical type) ของ superstomatal type A ซึ่งมีลักษณะและรูปแบบดังนี้คือ กลุ่มของ sorus ของ uredium หรือ telium สร้างมาจากกลุ่มของเส้นใย (hypha) ที่อยู่ระหว่างเซลล์โดยเคลื่อนที่ไปตามชั้น epidermis ของใบกาแฟ หลังจากนั้นเส้นใยจะสร้างโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นกลุ่มก้อน หรือรวมกันเป็นมัดเล็กๆ บนพื้นที่ว่างภายใต้ปากใบ (ซึ่งเป็นการรวมตัวกันของเส้นใยเป็นมัดเล็กๆ อาจจะมีทั้งแบบเดี่ยวหรือเป็นกลุ่มก็ได้) แล้วเคลื่อนที่ผ่านออกมาทางปากใบ โดยไม่ทำให้เซลล์คุม (guard cell) หรือชั้น epidermis เกิดความเสียหาย การผลิตและสร้างสปอร์ของเชื้อรา *H. vastatrix* จะปรากฏอยู่ภายนอกพืชอาศัย โดยแต่ละสปอร์ของเชื้อราจะอยู่บริเวณแต่ละปลายของเส้นใย (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 ลักษณะการเข้าทำลายและการเจริญของเชื้อรา *Hemileia vastatrix* ในใบกาแฟ ; H1 : บริเวณที่เชื้อราเริ่มสร้างเส้นใย, H2 : บริเวณที่เชื้อราเริ่มสร้าง haustorium, H3 : บริเวณที่เชื้อรามีการสร้าง haustorium จำนวนมาก, P : บริเวณจุดกำเนิด sorus, S1 : บริเวณที่เริ่มมีการสร้าง sorus, S2 : บริเวณที่ sorus มีการเจริญเติบโตเต็มที่, S3 : บริเวณที่ sorus แก่เต็มที่ (McCain and Hennen, 1984)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Harr and Guggenhein (1978) ได้ทำการศึกษาการงอกและการเข้าทำลายของสปอร์ของเชื้อรา *H. vastatrix* โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope, SEM) พบว่า urediospore จะงอกผ่านทางรูเปิด (pore) และมีการสร้าง appressorium น้อยมาก appressorium จะสร้าง vesicle อยู่ด้านบน เพื่อเป็นที่เก็บของ cytoplasm ของ germ tube ในบริเวณที่มีการเข้าทำลาย (infection site) หลังจากนั้นเชื้อราจะสร้าง penetration hypha แทงผ่านปากใบลงในช่องว่างใต้ปากใบ (substomatal cavity) ต่อมา germ tube ที่อยู่บนผิวใบเริ่มฝ่อและแห้งไปเหลือให้เห็นแต่ bulbous vesicle สำหรับ penetration hypha นั้นก็จะแตกแขนงแล้วแทงผ่านไปยังช่องว่างระหว่างเซลล์บริเวณใกล้เคียง (ศุภชัย และคณะ, 2535)

นอกจากนี้ Guggenheim and Harr (1978) ยังได้ศึกษาการสร้างสปอร์ของเชื้อรา *H. vastatrix* บนใบกาแฟอราบิก้า พบว่า sporophore ที่เจริญออกมาจากปากใบนั้นไม่ได้เกิดขึ้นมาแล้วแยกเป็นอันเดี่ยวๆ แต่จะมี membrane ปกคลุมอยู่ซึ่งจะขาดไปภายหลัง แต่ละ pustule จะประกอบด้วยสปอร์ที่มีอายุแตกต่างกันไป สปอร์ที่มีอายุมากกว่าจะอยู่รอบนอกเมื่อสปอร์แก่เต็มที่หลุดออกไปแล้ว pustule เดิมก็จะสร้างสปอร์ใหม่ขึ้นมาแทน ซึ่งจะเป็นแบบนี้เรื่อยไปได้หลายสัปดาห์ สปอร์ที่โตเต็มที่มีหนามแหลม (echinulate) ด้านบน ด้านล่างเรียบและมีรอย (scar) สำหรับให้สปอร์หลุดออกเมื่อสปอร์แก่

วงจรชีวิตของเชื้อราสนิมใบกาแฟ

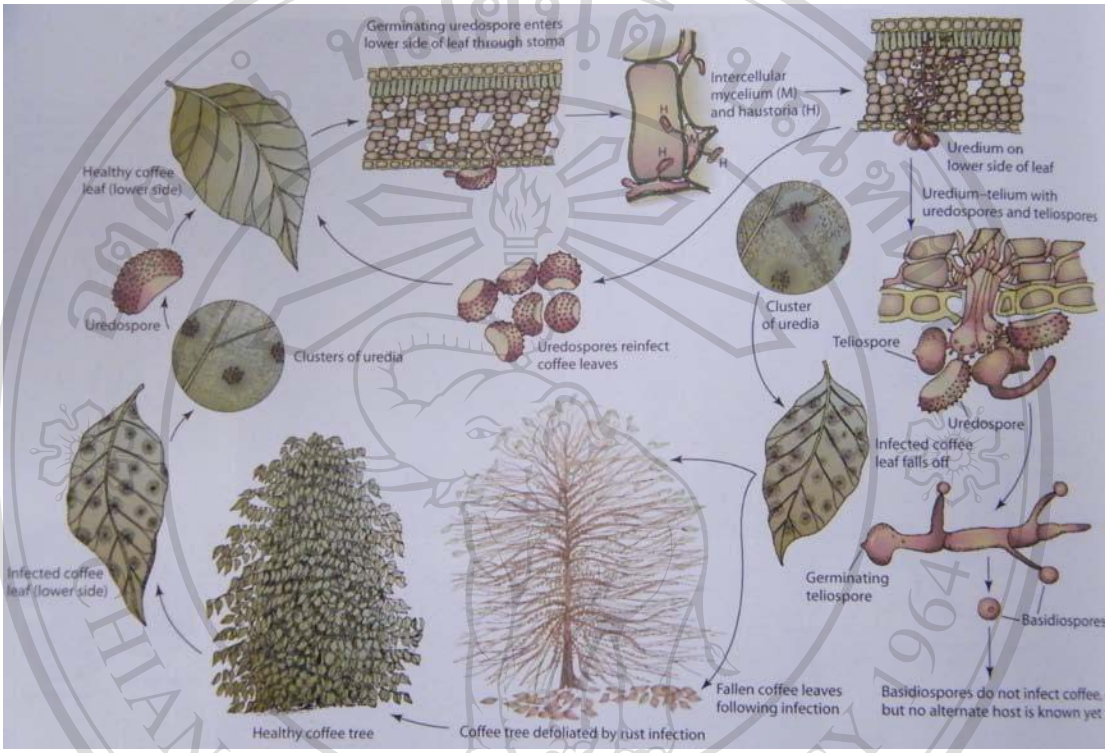
เชื้อรา *H. vastatrix* ในธรรมชาติ พบเพียงระยะสืบพันธุ์แบบ uredium, telium และ basidium ส่วนระยะ pycnium และ aecium ยังไม่พบ นอกจากนี้เชื้อรายังสามารถสร้างโครงสร้างสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศที่เรียกว่า urediospore ตลอดทั้งปี ส่วนโครงสร้างสืบพันธุ์แบบ teliospore และ basidiospore ยังไม่พบว่าเชื้อราสนิมใบกาแฟสร้างไว้เพื่อทำหน้าที่อะไร เชื้อราสนิมใบกาแฟนี้จัดเป็นราสนิมแบบ heteroecious โดยพบว่าระยะสืบพันธุ์แบบ aecium และ pycnium ถึงแม้ว่าจะไม่พบ alternate host ก็ตาม (Kushalappa and Eskes, 1989b) (ภาพที่ 2)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

พืชอาศัยของเชื้อราสนิมใบกาแฟ

เชื้อราสนิมใบกาแฟ *H. vastatrix* พบเข้าทำลายเพียงพืชในวงศ์ (family) *Rubiaceae* 2 สกุล (genus) ได้แก่ *Coffe*a sp. และ *Paracoffea* sp. และในชนิด (species) ของพืชตระกูลกาแฟที่อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อราสนิมใบกาแฟมีดังนี้ คือ *Coffea arabica, C. abeokutae, C.canephora, C. eugenioides, C. dewevrei, C. kivuensis, C. liberica, C. racemosa, C. stenophylla, C. salvatrix,*

C. madurensis, C. mauritiana, C. congensis, C. klainii, C. ligustroides, C. kapakata, C. humilis, Paracoffea bengalensis, P. lebruniana, P. travancorensis, และ *P. wightiana,* (Kushalappa and Eskes, 1989a)



ภาพที่ 2 วงจรชีวิตของเชื้อรา *Hemileia vastatrix* (Agrios, 2005)

การระบาดของโรคราสนิมใบกาแฟ

Waller *et al.* (2007) รายงานว่าปัจจัยที่มีผลต่อการแพร่ระบาดและความรุนแรงของโรคราสนิมใบกาแฟมีดังนี้

1. สายพันธุ์ของกาแฟ
2. อายุและความแข็งแรงของต้นกาแฟ
3. สภาพร่มเงาธรรมชาติและการบังร่มเงาแก่กาแฟ
4. ความสามารถในการสังเคราะห์แสงของต้นกาแฟ
5. สภาพภูมิอากาศและสภาพพื้นที่ของแปลงปลูกกาแฟ

ในสายพันธุ์กาแฟที่อ่อนแอต่อโรคราสนิม การเข้าทำลายใบกาแฟของเชื้อราสนิมจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ลักษณะการแพร่กระจายของโรคราสนิมใบกาแฟนั้นมักเกิดขึ้นภายในทรงพุ่มเพราะเป็นแหล่งสะสมสปอร์ของเชื้อราสนิม นอกจากนี้เป็นแหล่งแพร่กระจายของโรคระหว่างต้นกาแฟ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ด้วย ในสภาพภูมิอากาศและสภาพพื้นที่ของแปลงปลูกกาแฟที่เหมาะสมต่อการเกิดโรคราสนิมจะพบการแพร่ระบาดของโรคราสนิมใบกาแฟเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในต้นกาแฟที่มีอายุมาก และอ่อนแอ

Kushalappa and Eskes (1989a) รายงานว่าการแพร่ระบาดของเชื้อราสนิมใบกาแฟมีปัจจัยหลายประการ เช่น ความชื้น อุณหภูมิ ศัตรูธรรมชาติ และร่มเงา โดยเฉพาะร่มเงาซึ่งมีผลโดยตรงต่ออุณหภูมิของใบกาแฟเพราะใบกาแฟที่ได้รับแสงจะมีอุณหภูมิสูงกว่าใบกาแฟในร่ม 4 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิมีผลต่อการพัฒนาของราสนิมดังนี้ ในระหว่างการงอกของสปอร์ถ้าได้รับแสงอัตราการงอกจะลดลง ทำให้อัตราการเข้าทำลายพืชลดลงเช่นกัน ส่วนในที่มีอุณหภูมิต่ำเชื้อราสนิมจะใช้เวลาพัฒนาจนถึงสร้างสปอร์นานกว่าที่อุณหภูมิสูง ดังนั้นจำนวนวงจรชีวิตจึงลดลง โอกาสที่จะแพร่ขยายไปสู่ใบอื่นๆ ก็ลดลงเช่นกัน แต่หลังจากสปอร์งอกและเข้าสู่พืชแล้ว ถ้าอุณหภูมิสูงและแสงแดดจัดจะเร่งให้เกิดอาการมากขึ้น โดยที่อาการบริเวณแผลหลังจากเชื้อเข้าสู่เซลล์พืชแล้วต้องการอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ต่อเนื่องกัน 4 วัน แต่ถ้าสภาพที่อุณหภูมิแปรปรวนสูง ๆ ต่ำ ๆ จะเร่งให้เกิดอาการมากขึ้น สำหรับอิทธิพลโดยตรงของร่มเงา หรือผลของความเข้มแสงต่อกาแฟและเชื้อราสนิมพบว่า กาแฟที่เคยปลูกในร่มเงาป่าธรรมชาติเมื่อกำจัดร่มออกจะเกิดโรคราสนิมอย่างรุนแรง จากการทดลองปลูกเชื้อกับชิ้นส่วนใบกาแฟ (leaf disk inoculation) ในโรงเรือนเพาะชำ ใบที่ได้รับแสงความเข้มสูงก่อนนำมาปลูกเชื้อจะแสดงอาการ โรคราสนิมมากกว่าใบกาแฟที่ไม่เคยได้รับแสงถึง 8 เท่า ในทำนองเดียวกันรายงานจากการสังเกตพบว่าภายในกาแฟต้นเดียวกันใบคู่ที่ 2-3 ซึ่งถูกบังแสงมากกว่าจะแสดงอาการมากกว่าใบคู่ที่ 1 แต่หลังจากแสดงอาการแผลแล้วเมื่อได้รับแสงความเข้มสูงๆ กลับทำให้เกิดอาการแผลแห้ง (necrosis) ไม่สร้างสปอร์และหยุดการแสดงอาการของโรคทันที

การระบาดของโรคราสนิมใบกาแฟในพื้นที่ปลูกของประเทศศรีลังกาทำให้ผลผลิตลดลงถึงร้อยละ 75 ภายในระยะเวลา 10 ปีระหว่างปี ค.ศ. 1871–1878 ทำให้ประเทศศรีลังกาเปลี่ยนสภาพจากการเป็นผู้ผลิตกาแฟมาเป็นผู้ผลิตชาในเวลาต่อมา นอกจากนี้ประเทศผู้ผลิตกาแฟอื่นๆก็ประสบปัญหาการระบาดของโรคราสนิมใบกาแฟเช่นกัน เช่น อินเดีย บราซิล และเคนยา เป็นต้น ผู้ผลิตเหล่านี้จึงได้ให้ความสนใจกับวิธีในการแก้ปัญหา ซึ่งส่วนหนึ่งมีความพยายามที่จะใช้การฉีดพ่นสารเคมีประเภทต่างๆ ทั้งนี้เพื่อป้องกัน และควบคุมการเกิดโรค แต่วิธีดังกล่าวมีค่าใช้จ่ายสารเคมีและแรงงานค่อนข้างสูง รวมทั้งประสิทธิภาพของการใช้สารเคมีก็ไม่ได้ผลเท่าที่ควร (Waller *et al.*, 2007) นักปรับปรุงพันธุ์กาแฟของประเทศต่างๆ ได้ปรับปรุงสายพันธุ์ต้นกาแฟให้มีความต้านทานต่อโรคราสนิม โดยได้สายพันธุ์ที่เรียกว่า คาติมอร์ (Catimor) ที่เป็นลูกผสมที่เกิดจากพันธุ์คาทูร่า (Caturra) เป็นต้นแม่ และไฮบริโด เดอ ติมอร์ (Hibrido de Timor) เป็นต้นพ่อ และการผสมกลับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ระหว่างลูกผสมข้ามชนิดทำให้คาติมอร์เป็นลูกผสมที่มีลักษณะของทรงต้นเตี้ย ผลผลิตสูง และมีความต้านทานต่อโรคราสนิมใบกาแฟ (อักษร และพงษ์ศักดิ์, 2537)

การประเมินความรุนแรงของโรค

การประเมินโรคพืชนั้นมีความสำคัญมากต่อปริมาณ, ความรุนแรงของโรคพืชและยังเป็นพื้นฐานของการศึกษาและการวิเคราะห์การแพร่ระบาดของโรคพืช โดย Jones (1998) ได้ทำการศึกษาและนำวิธีการประเมินโรคพืชมาใช้ในการตรวจวัดหาปริมาณการเกิดโรคและความเสียหายของพืชผล ซึ่งวิธีการประเมินความรุนแรงของโรคนั้นสามารถนำมาใช้ในการหาปริมาณการเกิดโรคพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในอดีตการประเมินโรคพืชอาศัยเพียงเกณฑ์ในการประเมินโรคโดยแบ่งตามระดับความรุนแรงของการเกิดโรคตั้งแต่ 0 ถึง 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ในปัจจุบันการประเมินโรคพืชได้มีการนำวิทยาการทางคอมพิวเตอร์เข้ามาใช้ในการการวิเคราะห์มากขึ้นเพื่อความสะดวกและรวดเร็วของงานวิจัย นอกจากนี้ยังได้มีการนำเทคนิคทางภูมิคุ้มกันวิทยา เทคนิคทางอณูชีววิทยา การตรวจจับ และวัดปริมาณของเชื้อสาเหตุโรคพืชมาประยุกต์ใช้ในการประเมินโรคพืชได้

Kushalappa and Eskes (1989b) ได้ทำการประเมินระดับความรุนแรงของโรคราสนิมใบกาแฟในแปลงปลูก พบว่าต้องทำการประเมินโรคเมื่อต้นกาแฟเจริญเติบโตเต็มที่แล้ว สำหรับต้นกาแฟที่ยังเล็กไม่สามารถประเมินระดับความรุนแรงของโรคได้ สำหรับการตรวจสอบความแตกต่าง ทางความต้านทานของโรคราสนิมใบกาแฟนั้นต้องดำเนินการในช่วงระยะเวลาที่การระบาดของโรคสูงสุด โดยมีวิธีการประเมินระดับความรุนแรงของโรคราสนิมใบกาแฟซึ่งแบ่งเกณฑ์การประเมินออกเป็น 10 ระดับความรุนแรง ตั้งแต่ระดับ 0 ถึงระดับ 9 ซึ่งเป็นเกณฑ์ที่นำมาใช้ในการประเมินโรคราสนิมใบกาแฟในแปลงปลูก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การศึกษา physiological race ของเชื้อรา *Hemileia vastatrix*

โดยทั่วไป physiological race หมายถึง biotype หรือกลุ่ม biotype ภายในชนิด (species) หรือสายพันธุ์ (variety) ที่สามารถจำแนกออกได้อย่างเด่นชัดทางสรีรวิทยา (physiological) ซึ่งรวมทั้งความสามารถที่ทำให้เกิดโรค (pathogenicity) หรือลักษณะการเจริญเติบโตของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Stakeman and Harrar, 1957)

จากการศึกษาของ Rodrigues *et al*. (1975) และ Rodrigues (1984) ซึ่งได้จำแนกพันธุ์กาแฟที่ได้รับจากแหล่งปลูกกาแฟต่างๆ ทั่วโลกโดยแบ่งออกเป็น 24 กลุ่ม (group) ซึ่งแต่ละกลุ่มเหล่านี้ต่างมียีนที่ต้านทานต่อสายพันธุ์ (physiological race) ของเชื้อรา *H. vastatrix* แตกต่างกันไป ดังนั้น

ศูนย์วิจัยโรคราสนิมของกาแฟ (Centro de Investigação das Ferrugens do Cafeeiro; CIFC) จึงได้ใช้กาแฟทั้ง 24 กลุ่มนี้ เป็น differential clone ซึ่งสามารถจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อราสนิมใบกาแฟได้ถึง 30 สายพันธุ์ (ตารางที่ 2) อย่างไรก็ตามจากการศึกษาของ Echeveri ที่ประเทศกัวเตมาลา รายงานว่าจำนวนสายพันธุ์ของเชื้อราสนิมใบกาแฟนี้ได้ เพิ่มขึ้นจากเดิมเป็น 32 สายพันธุ์ (Echeveri, 1983) และต่อมาในปี ค.ศ. 2001 ศูนย์วิจัยโรคราสนิมของกาแฟประเทศโปรตุเกส ได้ทำการจัดจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อราสนิมใบกาแฟจากตัวอย่างในหลายพื้นที่ทั่วโลกพบว่า สายพันธุ์ ของเชื้อราสนิมใบกาแฟที่มีความรุนแรงต่อกาแฟเพิ่มขึ้นจากเดิม 32 เป็น 45 สายพันธุ์ (Cabral *et al.*, 2009)

ตารางที่ 2 differential clone และการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อราสนิมใบกาแฟ

	Coffea arabica																			*Coffea* spp.	
Physiologic races of *H. vastarrix*	832/1-1 - Híbrido de Timor - 1[a]	1343/269 - Híbrido de Timor - 2[b]	H. 420/ 10[b,c]	H. 420/ 2[b,c]	H. 419/ 20[b,c]	33/1 - S.288 - 23[b]	34/13 - S.353 4/5	644/18 - Kawisari hybrid[b]	849/1 - Matari[b]	63/1 - Bourbon[b]	128/2 - Dilla & Alghe[b]	87/1 - Geisha	32/1 - DK 1/6[b]	635/2 - S.12 Kaffa[b]	110/5 - S.4 Agaro	134/4 - S.12 Kaffa	635/3 - S.12 Kaffa	1006/10 - K. P. 532. tree 31	1621/13 - *C. congensis* Ugenda[b]	681/7 - *C. canephora* v. Ugandae[b]	829/1 - *C. camphora*[b]	263/1 - *C. congensis* Uganda[b]	168/12 - *C. excelsa* longkoi[b]	369/3 *C. racemosa*[b]
I									S	S			S										S	S
II									S	S													S	S
III									S	S	S	S											S	S
IV									MS													S	S	S
VI																							S	S
VII						MS			S	S													S	S
VIII						S	S		S	S			S										S	S
X									S	S	S	S		MS	MS	MS	MS						S	S
XI									MS												S		S	S
XII						S	S		S	S	S	S	S					S					S	S
XIII								S	S	S													S	S
XIV						S	S		S	S			S	S	S								S	S
XV									S	S				S	S								S	S
XVI						S	S		S	S	S	S	S	S	S	S	S	S					S	S
XVII									S	S	S	S	S					S			MR		S	S
XVIII																								S
XIX									MS		MS			MS		MS						S	S	S
XX									MS		MR			MR		MR				S		S	S	S
XXI									MS										MS			S	S	S
XXII		S							S	S													S	S
XXIII									S	S	S	S	S	MS	MS	MS	MS	S			MR		S	S
XXIV									S	S			S	MS	MS								S	S
XXV		S							S	S			S										S	S

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 2 (ต่อ)

	Coffea arabica																		*Coffea* spp.	
Physiologic races of *H. vastarrix*	832/1 1 - Hibrido de Timor - 1[a]	1343/269 - Hibrido de Timor - 2[b]	H. 420/ 10[b,c]	H. 420/ 2[b,c]	H. 419/ 20[b,c]	33/1 - S.288 - 23[b]	34/13 - S.353 4/5	644/18 - Kawisari hybrid[b]	849/1 - Matari[b]	63/1 - Bourbon[b]	128/2 - Dilla & Alghe[b]	87/1 - Geisha	32/1 - DK 1/6[b]	635/2 - S.12 Kaffa[b]	110/5 - S.4 Agaro	134/4 - S.12 Kaffa	635/3 - S.12 Kaffa	1006/10 - K. P. 532. tree 31	1621/13 - *C. congensis* Ugenda[b]	681/7 - *C. canephora* v. Ugandae[b]	829/1 - *C. canphora*[b]	263/1 - *C. congensis* Uganda[b]	168/12 - *C. excelsa* longkoi[b]	369/3 *C. racemosa*[b]
XXIX	S	S	MS	S				S	S													S	S
XXX			S					S	S													S	S
XXXI	S				S			S	S				S									S	S
XXXII	MS							MS											MS			S	S
XXVI	S							S	S													S	S
XXVII	MS							MS			MS			MS		MS					S	S	S
XXVIII	S							S	S				S	S	S							S	S

การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อรา

ดีเอ็นเอเครื่องหมาย (DNA marker) ได้มีการนำไปใช้ในการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อ *H. vastatrix* เพราะเครื่องหมายดีเอ็นเอมีคุณสมบัติเฉพาะที่เหมาะสมในการทดสอบความผันแปรในระดับโมเลกุลของเชื้อราสนิมหลาย ๆ เชื้อ (Chen *et al*., 1995; Hamelin *et al*., 1998; Kolmer and Liu 2000; Li *et al*., 2001 และ Steele *et al*., 2001)

ดีเอ็นเอเครื่องหมายถือเป็นเครื่องหมายทางพันธุกรรมที่มีประสิทธิภาพ สามารถใช้หาความแตกต่างระหว่างสิ่งมีชีวิตได้อย่างแม่นยำ และชัดเจน เนื่องจากเป็นการตรวจสอบความแตกต่างถึงระดับพันธุกรรมซึ่งสามารถถ่ายทอดไปยังลูกหลาน ทำให้สามารถตรวจสอบบรรพบุรุษร่วมได้ จึงถูกนำมาใช้เป็นเครื่องหมายประจำตัวของสิ่งมีชีวิตต่างๆ ในชื่อที่รู้จักกันว่าลายพิมพ์ดีเอนเอ (DNA fingerprint) ได้มีการการนำเทคนิคดังกล่าวใช้อย่างมากในงานวิจัยเกี่ยวกับการจัดจำแนก (identification) อนุกรมวิธาน (taxonomy) ของสิ่งมีชีวิตต่างๆ พันธุศาสตร์ประชากร (population genetics) ตลอดจนการปรับปรุงพันธุ์ (breeding) การระบาดวิทยา (epidemiology) ของพืชและเชื้อรา ดีเอ็นเอเครื่องหมายถูกนำมาใช้ตรวจสอบความแตกต่างระหว่างสิ่งมีชีวิตโดยอาศัยความแตกต่างดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1. การเพิ่มหรือสูญเสียไปของดีเอ็นเอตรงตำแหน่งที่เอ็นไซม์ตัดจำเพาะจดจำ หรือตำแหน่งที่ PCR primer มาเข้าคู่

2. เกิดการแทรกเข้ามาหรือขาดหายไปของดีเอ็นเอตรงตำแหน่งที่เอ็นไซม์ตัดจำเพาะจดจำหรือตำแหน่งที่ PCR primer มาเข้าคู่

3. จำนวนของดีเอ็นเอที่มีความซับซ้อนต่อเนื่องแตกต่างกันตรงบริเวณระหว่างตำแหน่งเอ็นไซม์ตัดจำเพาะหรือตำแหน่งที่ PCR primer มาเข้าคู่

4. การเรียงลำดับเบสบนดีเอ็นเอของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด

ดีเอ็นเอเครื่องหมายสามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ ดีเอ็นเอเครื่องหมายที่ใช้วิธีการ DNA-DNA hybridization เช่น restriction Fragment length polymorphism (RFLP) และดีเอ็นเอเครื่องหมายที่ใช้วิธีการ polymerase chain reaction (PCR) เช่น random amplified polymorphism (RAPD), amplified fragment length polymorphism (AFLP) และ simple sequence repeat (SSR) เป็นต้น (วนิตดา, 2548)

ดีเอ็นเอเครื่องหมายหลายเทคนิค เช่น RAPD, (AFLP), (RFLP) และ microsatellite ถูกนำมาใช้ในการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมและใช้ในการศึกษาโครงสร้างของเชื้อราสนิมที่สำคัญ (Gouveia *et al*, 2005) เช่น เชื้อรา *Puccinia recondita* (Kolmer *et al.*, 1995), เชื้อรา *P. striiformis* (Steele *et al.*, 2001 and Justesen *et al.*, 2002), เชื้อรา *Melampsora epitea* (Pei *et al.*, 1997 and Samils *et al.*, 2001), เชื้อรา *Cronartium ribicola* (Hamelin *et al.*, 1998 and Kinloch *et al.*, 1998), เชื้อรา *C. flaccidum* (Moricca and Ragazzi, 1998) และเชื้อรา *Peridermium pini* (Hantula *et al.*, 1998 and Moricca and Ragazzi, 1998)

Gouveia *et al*. (2005) ได้นำวิธี Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) มาใช้ในการประเมินความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรของเชื้อรา *H. vastatrix* จำนวน 45 ไอโซเลท แสดงให้เห็นว่าเชื้อราสนิมใบกาแฟในแต่ละไอโซเลทที่ได้จากการจัดจำแนกโดยวิธี physiological race เช่น race XXXII และ race XXXVII มีความคล้ายคลึงกันทางลักษณะทาง physiological race แต่เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับวิธี RAPD นั้น พบว่าทั้งสอง race มีความแตกต่างกันในระดับโมเลกุล

Cristancho *et al*. (2007) ได้มีการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของราสนิมกาแฟโดยการนำเอา internal transcribed spacer–rDNA (ITS) marker มาใช้ในการจำแนก race และถึงแม้ว่าการใช้ marker นี้จะเหมาะสมสำหรับการศึกษาเชื้อราสนิมกาแฟก็ตาม แต่ก็ยากที่จะพัฒนา markers ที่มีความจำเพาะต่อ race ของเชื้อราสนิมใบกาแฟ นอกจากนี้ Cristancho and Escobar,

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(2008) ยังได้นำ 25 SSR marker ที่ใช้ในการจำแนกเชื้อรา *Puccinia coronata* f. sp. *lolli* และ *Melampsora linii* มาทดสอบกับเชื้อรา *H. vastatrix* พบว่า 4 SSR markers สามารถใช้จำแนกสายพันธุ์ของเชื้อราสนิมใบกาแฟได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ปฏิกิริยาลูกโซ่จำลองตัว (Polymerase Chain Reaction : PCR)

Polymerase Chain Reaction (PCR) หรือที่เรียกอีกอย่างหนึ่งว่า *in vitro* enzymatic gene amplification ค้นพบครั้งแรกโดย Kary Mullis และคณะในปี 1985 ซึ่งต่อมาได้มีการพัฒนาอย่างมากมายทั้งในด้านสารเคมีและเครื่องมือเพื่อให้เทคนิคดังกล่าวง่ายและสะดวกต่อการนำไปใช้ เทคนิค PCR เป็นเทคนิคการเพิ่มปริมาณยีน หรือชิ้นส่วนของดีเอ็นเอเฉพาะบริเวณที่ต้องการศึกษาให้มีจำนวนมากขึ้นกว่าเดิมหลายล้านเท่าในหลอดทดลองโดยใช้ระยะเวลาอันสั้น ซึ่งกระบวนการต่างๆ เลียนแบบจากการจำลองตัวเองของสายดีเอ็นเอในสภาพธรรมชาติ (*in vitro* DNA replication) โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาที่ต่อเนื่องซ้ำๆ กันหลายๆ รอบแล้ว จะพบว่าสายดีเอ็นเอที่เพิ่มขึ้น โดยเริ่มจากสายดีเอ็นเอต้นแบบ 1 คู่ เมื่อสิ้นสุดรอบที่ 1 จะได้สายดีเอ็นเอเป็น 2 คู่ ดังนั้นเมื่อทำหลาย ๆ รอบของ PCR ดีเอ็นเอก็จะเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าของทุกๆ รอบถ้าทำ PCR ไป 20 รอบ ก็จะได้สายดีเอ็นเอเพิ่มเป็น 2^{21} สาย ดังนั้นถ้าทำปฏิกิริยา PCR จำนวน n รอบ ผลที่ได้ตามกฎทฤษฎีจะเท่ากับปริมาณ 2^{n+1} เมื่อประสิทธิภาพการผลิต 100 เปอร์เซ็นต์ แต่โดยทั่วไปมักจะทำ PCR ประมาณ 30-40 รอบ ซึ่งก็จะได้ชิ้นส่วนของดีเอ็นเอเป็นจำนวนถึงพันล้านเท่าของจำนวนดีเอ็นเอตั้งต้น (อังสนา, 2546)

หลักการเทคนิค PCR เป็นหลักการเลียนแบบธรรมชาติของดีเอ็นเอที่ว่า โดยทั่วไปสายดีเอ็นเอสามารถจับคู่กันได้เพราะมีเบสคู่สมกัน (complementary) ดังนั้นการสังเคราะห์สายดีเอ็นเอชิ้นใหม่ในหลอดทดลองจึงใช้หลักการเดียวกัน โดยอาศัยดีเอ็นเอเดิมเป็นต้นแบบ (template) และอาศัยดีเอ็นเอสายสั้นๆ (primer) ที่สามารถจับกับดีเอ็นเอต้นแบบเป็นจุดเริ่มต้น และมีเอนไซม์พวก DNA polymerase ช่วยทำให้สายดีเอ็นเอยาวออกไป โดยเลือกจับนิวคลีโอไทด์ตัวใดตัวหนึ่งใน 4 ชนิด (*d*NTPs) คือ *d*ATP, *d*CTP, *d*TTP และ *d*GTP เข้ามาต่อให้เป็นเบสคู่สมกับดีเอ็นเอสายต้นแบบเดิม ดังนั้นก็จะได้ดีเอ็นเอสายใหม่เกิดขึ้น (อังสนา, 2546) โดยเทคนิค PCR สามารถสังเคราะห์สายดีเอ็นเอได้ครั้งละ 2 สายพร้อมกัน โดยใช้ primer 1 คู่ สำหรับปฏิกิริยา PCR มีทั้งหมด 3 ขั้นตอนแล้วหมุนเวียนต่อเนื่องกันไปภายใต้สภาวะที่เหมาะสมของแต่ละขั้นตอน ขั้นแรกเรียกว่า denaturation เป็นการแยกสายดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบจากสภาพที่เป็นสายคู่ให้เป็นสายเดี่ยวโดยใช้อุณหภูมิที่ 92-95 องศาเซลเซียส ขั้นที่สองเรียกว่า annealing เป็นขั้นตอนที่ลดอุณหภูมิลงและทำให้ primer สายสั้นๆ (14-30 mers) ที่มีลำดับเบสที่เป็นคู่สมกับดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบจับคู่กัน ซึ่งนิยมใช้ช่วงอุณหภูมิ 37-60 องศาเซลเซียส ขั้นที่สามเรียกว่า extension เป็นขั้นตอนของการสังเคราะห์ดีเอ็น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เอสายใหม่โดยการสังเคราะห์เริ่มต่อจากส่วนปลาย 5' ของ primer ตามข้อมูลของต้นแบบดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบแต่ละสายโดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ DNA polymerase ที่อุณหภูมิ 72-75 องศาเซลเซียส เอ็นไซม์ DNA polymerase ที่ใช้จะต้องมีคุณสมบัติอยู่ได้ภายใต้ของสภาวะปฏิกิริยาตลอดสามขั้นตอน จากขั้นตอนที่ 1-3 รวมกันเป็น 1 รอบ (one cycle) ซึ่งจะให้ผลผลิตเป็น ดีเอ็นเอสายคู่จำนวนที่มีลำดับเบสเป็นคู่สมกับดีเอ็นเอที่เป็นต้นแบบ เมื่อจัดให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่จากขั้นที่หนึ่งถึงขั้นที่สามหมุนเวียนไปอีกหลายๆ รอบ จะเพิ่มปริมาณ (amplify) ดีเอ็นเอได้มากมาย (พิสสวรรณ, 2540)

ในขั้นตอนการเตรียมและทำ PCR ต้องใช้สารเคมีต่างๆ ดังนี้ บัฟเฟอร์สำหรับทำปฏิกิริยา ดีออกซีนิวคลีโอไทด์ไตรฟอสเฟต (deoxynucleotide triphosphate: *d*NTPs) ประกอบด้วย *d*ATP *d*CTP *d*TTP และ *d*GTP ส่วนนิวคลีโอไทด์ตั้งต้น (primer) ที่นิยมใช้คือ โอลิโกนิวคลีโอไทด์ขนาด 20-24 นิวคลีโอไทด์ ดีเอ็นเอเป้าหมายสามารถใช้ได้ทั้งดีเอ็นเอที่มีคุณภาพดีและที่มีคุณภาพไม่ดีนัก แต่ถ้าเลือกใช้คุณภาพดีผลผลิตที่ได้จะมีปริมาณและคุณภาพมากกว่า แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) ก็เป็นส่วนสำคัญในการเร่งปฏิกิริยา นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าความเข้มข้นของแมกนีเซียมมีผลต่อปฏิกิริยาและเอ็นไซม์ ในการเลือกใช้เอ็นไซม์ต้องเลือกเอนไซม์ที่สามารถทนความร้อนได้ดี (Thermostable DNA polymerse) ชนิดที่ใช้กันมากคือ *Taq* DNA polymerse (สุรินทร์, 2545)

การแยกขนาดของดีเอ็นเอโดยวิธีอีเล็กโทรโฟรีซิส (electrophoresis) เป็นการตรวจวิเคราะห์ผลผลิต (PCR Product)โดยอาศัยหลักการแยกโมเลกุลของสารที่มีประจุออกจากกันโดยให้เคลื่อนที่ในสนามไฟฟ้าระหว่างขั้วบวกและขั้วลบ โดยให้สารที่มีประจุนั้นเคลื่อนที่ผ่านตัวกลางชนิดหนึ่งในสารละลาย ซึ่งตัวกลางนี้อาจใช้ อะกาโรสเจล (agarose gel) หรือโพลีอะคริลาไมด์เจล (polyacrylamide gel) ก็ได้ สารที่มีประจุต่างกันจะเคลื่อนไปในทิศทางตรงข้าม นอกจากประจุแล้วอัตราการเคลื่อนที่ยังขึ้นกับขนาด รูปร่างโมเลกุล แรงเคลื่อนไฟฟ้า และตัวกลางที่ใช้ด้วย (สุรินทร์, 2545; อังสนา, 2546)

agarose gel เป็นโพลีเมอร์ของ D-glucose สลับกับ 3,6 anhydrogalactose แยกได้จากวุ้น (agar) เนื่องจากอะกาโรสจับตัวกับสารละลายต่างๆ ได้น้อยมาก จึงนิยมใช้เป็นตัวกลางในการทำอีเล็กโทรโฟรีซิส การแยกโมเลกุลของดีเอ็นเอโดยทั่วไปจะใช้อีเล็กโทรโฟรีซิสเป็นส่วนใหญ่เพราะมีช่วงที่ใช้ได้มากกว่า การเตรียมทำง่ายกว่าและไม่มีอันตรายเมื่อเทียบกับโพลีอะคริลาไมด์เจล (polyacrylamide gel) การทำอีเล็กโทรโฟรีซิสมักทำในแนวราบ (horizontal gel) (สุรินทร์, 2545)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved