

บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาโรคราสนิมใบกาแฟพบว่าโรคราสนิมเป็นโรคที่สร้างความเสียหายอย่างรุนแรงที่สุดต่อกาแฟโดยเฉพาะอย่างยิ่งกาแฟอาราบิก้า โดยการระบาดของราสนิมใบกาแฟจะเริ่มต้นระบาดในช่วงฤดูหนาวตั้งแต่ปลายเดือนตุลาคมจนถึงเดือนมีนาคมซึ่งตรงกับรายงานของ Waller *et al.*, (2007) ที่รายงานไว้ว่าพบโรคราสนิมใบกาแฟระบาดสูงสุดในประเทศบราซิลช่วงเดือนพฤศจิกายนจนถึงเดือนมีนาคม นอกจากนี้การระบาดของโรคราสนิมใบกาแฟในช่วงนี้ยังเป็นช่วงระยะเวลาเดียวกันกับที่ผลกาแฟมีการสะสมปริมาณอาหารมากขึ้นเพื่อพัฒนาเป็นผลที่สุกแก่เต็มที่ จึงส่งผลทำให้ต้นกาแฟอ่อนแอต่อการเข้าทำลายของเชื้อราสนิมใบกาแฟได้ง่ายมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Brown *et al.* (1995) และ Phiri *et al.* (2001) ที่รายงานไว้ว่า หลังจากระยะที่ต้นกาแฟมีการให้ผลผลิตปริมาณมากเกินไปในกาแฟอาราบิก้า การเข้าทำลายของเชื้อราสนิมจะเกิดขึ้นอย่างรุนแรง และเนื่องมาจากผลกาแฟที่กำลังสุกมีความต้องการสารคาร์โบไฮเดรตในปริมาณที่สูง ซึ่งใบกาแฟไม่สามารถจัดหาให้ได้อย่างเพียงพอทำให้เกิดการสูญเสียแหล่งคาร์โบไฮเดรตทั้งในกิ่ง ลำต้น และรากส่งผลให้ใบร่วงและเกิดการตายยอด

สำหรับการศึกษาในครั้งนี้เริ่มต้นด้วยการเก็บรวบรวมตัวอย่างใบกาแฟ ที่เป็นโรคราสนิมจากพื้นที่ปลูกกาแฟ 5 จังหวัดภาคเหนือตอนบนมาศึกษาลักษณะอาการ ทำการเก็บรักษาตัวอย่างเพื่อนำไปทดสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมในห้องปฏิบัติการ จากการศึกษาลักษณะอาการของโรคราสนิมใบกาแฟจากตัวอย่างใบกาแฟในพื้นที่ปลูก 1. ตำบลลาวี อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย 2. ตำบลเทพเสด็จ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ 3. ตำบลอมก๋อย อำเภออมก๋อย จังหวัดเชียงใหม่ 4. ตำบลปางมะผ้า อำเภอปางมะผ้า จังหวัดแม่ฮ่องสอน 5. ตำบลแม่เหาะ อำเภอแม่สะเรียง จังหวัดแม่ฮ่องสอน และ 6. ตำบลห้วยห้อม อำเภอแม่ลาน้อย จังหวัดแม่ฮ่องสอน พบว่า ใบกาแฟที่เป็นโรคราสนิมจะเห็นลักษณะโคโลนีเป็นรอยแผลสีเหลือง-ส้มกระจายอยู่ทั่วบริเวณผิวใบด้านล่าง โดยมีลักษณะเป็นผงแป้งสีเหลือง-ส้มซึ่งเป็นโครงสร้างของ uredium และ urediospore ของเชื้อราสนิมใบกาแฟ ซึ่งขึ้นเป็นกลุ่มกระจุกกระจายอยู่ทั่วไป เนื้อเยื่อด้านบนใบกาแฟที่อยู่ตรงข้ามจะมีจุดสีเหลือง สามารถสังเกตเห็นโรคนี้ได้ง่าย เมื่อเวลาผ่านไปจุดสีเหลืองจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลมากขึ้นและมีวงแหวนสีเหลืองล้อมรอบ ใบกาแฟที่แสดงลักษณะอาการ

ดังกล่าวเมื่อสัมผัสเพียงเบา ๆ ก็จะหลุดร่วงได้ง่าย ซึ่งลักษณะอาการดังกล่าวตรงกับรายงานของ Op de Laak (1992) ที่รายงานว่าลักษณะอาการที่เด่นชัดของโรคนี้คือ แผลมีลักษณะสีส้ม - เหลือง ขึ้นอยู่บริเวณใต้ผิวใบกาแฟ เมื่อลักษณะอาการเริ่มปรากฏจะเกิดจุดแผลสีเหลืองอ่อน ในระยะต่อมาแผลจะมีขยายใหญ่ขึ้นและอาจกลายเป็นแผลที่มีรูปร่างไม่แน่นอน เมื่อเชื้อราสนิมใบกาแฟเจริญเติบโตเต็มที่ก็จะสร้าง urediospore ขึ้นมาซึ่งมีลักษณะคล้าย ผงฝุ่นสีส้ม - เหลืองปรากฏอยู่บนแผล

การประเมินระดับการเกิดและความรุนแรงของโรคราสนิมใบกาแฟในแปลงปลูก 20 แปลง ในพื้นที่ตำบลลาวี อำเภอมะสรวยจังหวัดเชียงราย , ตำบลเทพเสด็จ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่, ตำบลจอมก้อย อำเภอมก้อย จังหวัดเชียงใหม่ , ตำบลปางมะพร้าว อำเภอปางมะพร้าว จังหวัดแม่ฮ่องสอน, ตำบลแม่เหาะ อำเภอมะเริง จังหวัดแม่ฮ่องสอน และตำบลห้วยห้อม อำเภอมะลาไย จังหวัดแม่ฮ่องสอน พบว่าแปลงกาแฟ PP101 ซึ่งพื้นที่อยู่ในหมู่บ้านป่าป่าน ตำบลเทพเสด็จ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ มีค่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราสนิมใบกาแฟสูงที่สุดคือ 96.67 % และเมื่อทำการเปรียบเทียบค่าดัชนีความรุนแรงของโรคราสนิมพบว่าแปลงที่ มีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคสูงที่สุดคือแปลง DIC 106 ซึ่งพื้นที่อยู่ในหมู่บ้านดอยช้าง ตำบลลาวี อำเภอมะสรวย จังหวัดเชียงราย มีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 5.62 แต่เมื่อนำค่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราสนิมใบกาแฟและค่าดัชนีความรุนแรงของโรคของทั้งสองแปลงมาวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าทั้งค่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราสนิมใบกาแฟและค่าดัชนีความรุนแรงของโรคของทั้งสองแปลง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% เช่นเดียวกับแปลงกาแฟ DIC 101 ซึ่งพื้นที่อยู่ในหมู่บ้านป่าป่าน ตำบลเทพเสด็จ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ ที่มีค่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราสนิมใบกาแฟต่ำที่สุดคือ 46 % และเมื่อทำการเปรียบเทียบค่าดัชนีความรุนแรงของโรคราสนิมพบว่าแปลงที่มีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคต่ำที่สุดคือแปลง DIC 106 ซึ่งพื้นที่อยู่ในหมู่บ้านดอยช้าง ตำบลลาวี อำเภอมะสรวย จังหวัดเชียงราย มีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 5.62 แต่เมื่อนำค่าเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราสนิมใบกาแฟและค่าดัชนีความรุนแรงของโรคของทั้งสองแปลงมาวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าค่า เปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราสนิมใบกาแฟ และค่าดัชนีความรุนแรงของโรคของทั้งสองแปลง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95%

การคำนวณหาสมการเส้นแนวโน้มของเปอร์เซ็นต์ระดับความรุนแรงของโรคในแต่ละระดับ พบว่า ค่าของเส้นแนวโน้มของเปอร์เซ็นต์ระดับความรุนแรงของโรคระดับด้านทานโรค มีแนวโน้มของ ค่าดัชนีการเกิดโรค ลดลงซึ่งต่างจากค่าของ เส้นแนวโน้มของเปอร์เซ็นต์ระดับความรุนแรงของโรคระดับ ด้านทางโรคปานกลาง ค่อนข้างอ่อนแอต่อโรคและอ่อนแอต่อโรคที่มีแนวโน้มของค่าดัชนีการเกิดโรคเพิ่มขึ้น แต่การนำค่าเส้นแนวโน้มมาใช้ต้องทำทุกปีเพื่อนำค่าเฉลี่ยที่ได้มาเปรียบเทียบเพื่อใช้ในการหาปริมาณการเกิดโรคพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งตรงกับ

รายงานของ Jones (1998) ที่รายงานว่า การนำเอาวิธีการประเมินความรุนแรงของโรคพืชนั้น สามารถนำมาใช้ในการตรวจวัดหาปริมาณการเกิดโรคและความเสียหายของพืชผลได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้จากการประเมินระดับความรุนแรงของโรคราสนิมใบกาแฟในแปลงปลูกกาแฟอราบิก้าที่เป็นระบบการปลูกกาแฟกลางแจ้งเปรียบเทียบกับแปลงปลูกกาแฟอราบิก้าที่เป็นระบบการปลูกภายใต้ร่มเงา พบว่าแปลง แปลงปลูกกาแฟอราบิก้าที่เป็นระบบการปลูกกาแฟกลางแจ้งมีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคและเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราสนิมใบกาแฟ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95 % กับแปลงปลูกกาแฟอราบิก้าที่เป็นระบบการปลูกภายใต้ร่มเงา โดยพบว่าแปลงปลูกกาแฟอราบิก้าที่เป็นระบบการปลูกกาแฟกลางแจ้งมีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 4.01 และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราสนิมใบกาแฟเท่ากับ 64.93 % ซึ่งแตกต่างจากแปลงปลูกกาแฟอราบิก้าที่เป็นระบบการปลูกภายใต้ร่มเงาก็มีค่าดัชนีความรุนแรงของโรคเท่ากับ 5.31 และเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคราสนิมใบกาแฟเท่ากับ 87.33 % ซึ่งผลการทดลองนี้แตกต่างกับรายงานของ Kushalappa and Eskes (1989a) และ Op de Laak (1992) ที่รายงานว่า การปลูกกาแฟภายใต้ร่มเงาสามารถลดอัตรา การแพร่ระบาดของความรุนแรง ของโรคราสนิมใบกาแฟได้มากกว่า การปลูกกาแฟกลางแจ้ง แต่สอดคล้องกับรายงานของ Waller *et al.* (2007) ที่ได้รายงานว่าปัจจัยที่มีผลต่อการแพร่ระบาดของความรุนแรงของโรคราสนิมใบกาแฟ นอกจากสภาพร่มเงาธรรมชาติและการบังร่มเงาแก่กาแฟแล้วยังมีปัจจัยในเรื่องของสภาพภูมิอากาศและสภาพพื้นที่ของแปลงปลูกกาแฟ ความสามารถในการสังเคราะห์แสงของต้นกาแฟ อายุและความแข็งแรงของต้นกาแฟ และสายพันธุ์ของกาแฟ ซึ่งจากการทดลองนี้แปลงที่ปลูกกาแฟกลางแจ้งส่วนใหญ่ต้นกาแฟเป็นสายพันธุ์ใหม่ที่มีความต้านทานต่อโรคราสนิมกาแฟมากกว่าแปลงกาแฟที่ปลูกภายใต้ร่มเงา อีกทั้งอายุและความแข็งแรงของต้นกาแฟในแปลงส่วนใหญ่มีอายุที่น้อยและแข็งแรงกว่าต้นกาแฟที่ปลูกภายใต้ร่มเงา

การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Hemileia vastatrix* ซึ่งเข้าทำลายเฉพาะพืชในวงศ์กาแฟภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1,000 เท่า พบว่าเชื้อรา สนิมใบกาแฟ มีลักษณะดังนี้คือ กลุ่มของ sorus ของ uredium สร้างขึ้นภายในช่องว่างใต้ปากใบซึ่งเกิดจากกลุ่มของเส้นใย (hypha) ของเชื้อราสนิมใบกาแฟที่เจริญอยู่ภายในระหว่างเซลล์ หลังจากนั้นเส้นใยจะสานเข้าด้วยกันสร้างโครงสร้างที่เป็นกลุ่มก้อน หลังจากนั้น sorus ของ uredium เคลื่อนที่ออกมาทางปากใบโดยไม่ทำให้ guard cell หรือชั้น epidermis เกิดความเสียหาย สำหรับขนาด sorus ของ uredium มีขนาดเฉลี่ย 54.46×80.73 ไมโครเมตร การผลิตและสร้างสปอร์ของเชื้อราสนิมใบกาแฟจะปรากฏอยู่ภายนอกใบกาแฟ การสร้าง urediospore เกิดเป็นแบบเดี่ยว สำหรับขนาดของ urediospore มีขนาดความกว้างเฉลี่ย 20.26 ไมโครเมตร และมีขนาดความยาวเฉลี่ย 28.87 ไมโครเมตร ซึ่งตรงกับ

รายงานของ Gopalkrishnan (1951), McCain *et al.* (1984) และ Waller *et al.* (2007) ที่รายงานว่าเชื้อราสนิมใบกาแฟมีการสร้างสปอร์ผ่านออกมาทางปากใบ รูปร่างลักษณะของสปอร์มีลักษณะเหมือนไต (reniform) มีหนาม (echinulate) อยู่ด้านบน (dorsal) และด้านล่าง (ventral) มีลักษณะเรียบ นอกจากนี้จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราสนิมใบกาแฟโดยการตรวจสอบภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าพบว่าแต่ละ pustule ประกอบด้วย urediospore ที่มีอายุแตกต่างกันไป เมื่อ urediospore อายุน้อยมีลักษณะโค้ง ส่วนปลายของ urediospore โดกว่าส่วนโคนและพบว่าเริ่มมีการสร้างหนามแหลม เมื่อ urediospore โดเต็มที่มีหนามแหลม (echinulate) ด้านบน (dorsal) ส่วนด้านล่าง (ventral) เรียบและมีรอย (scar) ซึ่งสอดคล้องกับการรายงานของ Guggenheim and Harr (1978), McCain *et al.* (1984) และศุภชัยและคณะ (2535) ที่รายงานว่าแต่ละ pustule จะประกอบด้วยสปอร์ที่มีอายุแตกต่างกันไป สปอร์ที่มีอายุมากกว่าจะอยู่รอบนอกเมื่อสปอร์แก่เต็มที่หลุดออกไปแล้ว pustule เดิมก็จะสร้างสปอร์ใหม่ขึ้นมาแทน ซึ่งจะเป็นแบบนี้เรื่อยไปได้หลายสัปดาห์ สปอร์ที่โดเต็มที่มีหนามแหลม (echinulate) ด้านบน ด้านล่างจะเรียบและมีรอย (scar) สำหรับให้สปอร์หลุดออกเมื่อสปอร์แก่ และจากการทดสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อรา *H. vastatrix* ที่เป็นสาเหตุของโรคราสนิมใบกาแฟ เปรียบเทียบเทียบเชื้อราสนิมใบข้าวโพดด้วยเทคนิค PCR ปรากฏว่าพบแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างของเชื้อราสนิมข้าวโพด พบแถบดีเอ็นเอขนาดประมาณ 500 คู่เบส จากตัวอย่างของเชื้อราสนิมข้าวโพด แต่ไม่พบแถบดีเอ็นเอจากตัวอย่างเชื้อราสนิมใบกาแฟ ซึ่งเป็นไปได้ว่าลักษณะทางสัณฐานวิทยาและการเข้าทำลายของเชื้อราสนิมใบกาแฟมีผลทำให้ลักษณะทางพันธุกรรมเชื้อราสนิมใบกาแฟแตกต่างจากเชื้อราสนิมข้าวโพด ซึ่ง Gopalkrishnan (1951) ได้รายงานไว้ว่า uredium ของเชื้อราสนิมใบกาแฟจะเคลื่อนที่ผ่านออกมาทางปากใบโดยไม่ทำให้ guard cell หรือชั้น epidermis เกิดความเสียหาย การผลิตและสร้างสปอร์ของเชื้อราจะปรากฏอยู่ภายนอกพืชอาศัยซึ่งแตกต่างจากเชื้อราสนิมข้าวโพดที่จะสร้าง uredium อยู่บริเวณภายในชั้น epidermis แล้วก็สร้างสปอร์ภายในพืชอาศัย เพราะฉะนั้นเป็นไปได้ว่าแม้จะมีการใช้ universal primer จึงไม่สามารถเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของเชื้อราสนิมใบกาแฟได้ นอกจากนี้ประเทศไทยยังไม่มีรายงานการศึกษาและวิจัยในเรื่องการทดสอบความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราสนิมใบกาแฟ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าขั้นตอนและวิธีการในงานวิจัยครั้งนี้ไม่มีความเหมาะสมกับเชื้อราสนิมใบกาแฟ สำหรับนักวิจัยและผู้สนใจในเรื่องความหลากหลายทางพันธุกรรมของเชื้อราสนิมใบกาแฟก็ควรปรับวิธีการให้มีความเหมาะสมและมีประสิทธิภาพมากขึ้นกว่าเดิม