

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

ชุดโครงการวิจัย	วิจัยและพัฒนาพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน
โครงการวิจัย	วิจัยและพัฒนาการผลิตมะเมาในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน
กิจกรรม	การวิจัยและพัฒนามะเมา
ชื่อการทดลอง	วิจัยและพัฒนาการจัดการโรคมะเมา

Research and Development on Integrated Diseases of *Antidesma*

คณะผู้ดำเนินงาน

หัวหน้าการทดลอง

นางสาวพรพิมล อธิปัญญาคม นักวิชาการโรคพืชชำนาญการพิเศษ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

ผู้ดำเนินงาน

นางสาวสุณีรัตน์ สีมะเต็อ นักวิชาการโรคพืชชำนาญการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

นางสาวชนินทร ดวงสะอาด นักวิชาการโรคพืชปฏิบัติการ สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

นางสาวพรทิพย์ แผงจันทร์ นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3

บทคัดย่อ

มะเมา (*Antidesma thwaitesianum* muell.) เป็นพืชเขตร้อน จัดอยู่ในวงศ์ Euphorbiaceae สกุล *Antidesma* และเป็นผลไม้ท้องถิ่นทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน วัตถุประสงค์ของการศึกษาโรคของมะเมา เพื่อทราบชนิดและสาเหตุของโรคมะเมา โดยรวบรวมและเก็บตัวอย่างโรค ที่กรุงเทพฯ และอำเภอภูพาน จังหวัด สกลนคร ระหว่างเดือนกันยายน 2554 – เดือนสิงหาคม 2556 นำตัวอย่างโรคมาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และ นำมาแยกเชื้อสาเหตุโดยวิธี Tissue transplanting method แยกเชื้อให้บริสุทธิ์ และนำมาศึกษาการจำแนกชนิดของ เชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ ผลการศึกษาพบโรคมะเมาทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ โรคใบจุด สาเหตุเกิด จาก *Guignardia* และ โรคใบจุด สาเหตุเกิดจาก *Pestalotiopsis* ใบจุดสาหร่าย สาเหตุเกิดจาก *Cephaleuros virescens* ราดำบนใบสาเหตุเกิดจาก *Scorias cylindrica* และ อาการเปลือกแตกยางไหล สาเหตุเกิดจากรา *Lasiodiplodia pseudotheobromae* โรครากเน่าโคนเน่าแยกและจำแนกได้รา 2 ชนิด ได้แก่ *Fusarium decemcellulare* และ *Phellinus noxius* และทำการทดสอบการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าพบว่ารา *P. noxius* ทำ

¹ กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

² สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 3 กรมวิชาการเกษตร อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น

ให้ต้นมะเเฒ่าแสดงอาการใบเหี่ยว เหลือง หลังจากปลูกเชื้อภายใน 75 วัน และต้นตายหลังจากนั้น 15 วัน และเมื่อแยกเชื้อกลับ นำเชื้อมาเลี้ยงบนอาหาร สามารถตรวจพบราชนิดเดิม สำหรับรา *F. decemcellulare* ไม่ทำให้ต้นมะเเฒ่าเกิดโรค จากการศึกษาครั้งนี้เป็นรายงานครั้งแรกของโรคมะเเฒ่าทั้งหมดที่เกิดในประเทศไทย ยกเว้นโรคใบจุดสำหรับาย ทำให้มีความจำเป็นที่จะต้องทำการศึกษาค้นคว้าควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าต่อไปซึ่งเป็นโรคสำคัญโรคหนึ่งของมะเเฒ่า

Abstract

Antidesma thwaitesianum muell. is a species of tropical plant in the Euphorbiaceae genus *Antidesma* and the local fruit tree of the upper Northeast. The aim of study was to identification the causal agent of Antidesma diseases. The diseased samples were collected from Phupan District, Sakolnakorn Province during September 2011 – August 2013. The diseased samples were observed under stereo and compound microscopes. The infected plants were isolated using the tissue transplanting method. The identification of the plant pathogenic fungi was based on morphological features. The results revealed that 6 diseases of Antidesma were found including leaf spot caused by *Guignardia* and *Pestalotiopsis*, algal leaf spot caused by *Cephaleuros virescens*, sooty mould caused by *Scorias cylindrica* and Gummosis caused by *Lasiodiplodia pseudotheobromae*. Root and foot rot disease were found two fungi associated with root and foot as *Fusarium decemcellulare* and *Phellinus noxius*. Pathogenicity test by Koch's postulate were conducted on root of *Antidesma* which inoculated by *F. decemcellulare* and *P. noxius*. Seventy five days later, symptoms began to appear in leaves, and fifteen days later, all plants died. No symptoms were observed on control, and inoculated plants by *F. decemcellulare*. The fungus was reisolated on potato dextrose agar from root and foot of all diseased plants. Results of this study show that the root and foot disease on *A. thwaitesianum* is caused by *P. noxius*. To our knowledge, this is the first report of all diseases of *A. thwaitesianum* in Thailand except algal leave spot and need for research to develop more effective management to control root and foot rot disease which is an important disease.

คำนำ

มะเเฒ่า (หมากเเฒ่า เเฒ่าเสี้ยน มัดเซ เเฒ่า) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Antidesma thwaitesianum* จัดอยู่ในวงศ์ Stilaginaceae เป็นพืชเขตร้อน มีประมาณ 170 ชนิด และเป็นผลไม้ท้องถิ่นทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน

¹Plant Pathology Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture

²The Office of Agricultural Research and Development Region 3, Department of Agriculture, Muang District, Khon Kaen

พบได้ทั่วไปในจังหวัดสกลนคร อุตรธานี กาฬสินธุ์ เลย หนองคาย นครพนม และมุกดาหาร และสามารถปลูกได้ทุกภาคในประเทศไทย ได้แก่ จังหวัดนครราชสีมา ปทุมธานี เป็นต้น ส่วนใหญ่นิยมนำผลสุกมาบริโภคและสามารถนำมาใช้ในการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ จากการตรวจเอกสาร สนิทพิมพ์ (2552) รายงานว่ามักพบการเข้าทำลายของด้วงแดงเจาะกิ่ง ทำให้กิ่งเหี่ยวเปราะหักง่าย แต่ยังไม่มีการรายงานเกี่ยวกับโรคของมะเมาะ สำหรับในต่างประเทศ Ramakrishnan และ Sundaram (1952) พบราสนิมชนิดใหม่บนพืชอาศัย *Antidesma* ในอินเดีย Marlatt และ Alfieri (1981) รายงานว่า *Antidesma bunius* (L.) Spreng. เป็นพืชอาศัยของสาหร่ายกลุ่ม *Cephaleuros* โดยมักพบการเจริญบริเวณใบพืชของมะเมาะดงในรัฐฟลอริดา ประเทศสหรัฐอเมริกา

ในประเทศไทยนั้น ส่วนใหญ่มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับลักษณะทางพฤกษศาสตร์ การสำรวจพันธุ์ของมะเมาะ ลักษณะเบื้องต้นและองค์ประกอบของผลผลิต การแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ แต่ยังไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับศัตรูพืชที่สำคัญของมะเมาะ โดยเฉพาะการศึกษาด้านโรคของมะเมาะ ซึ่งเป็นปัญหาที่สำคัญปัญหาหนึ่งของการผลิตมะเมาะ เนื่องจากพบต้นมะเมาะยืนต้นตาย ที่อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร โดยไม่ทราบสาเหตุ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษานี้จึงทำการศึกษานิตของโรคมะเมาะและการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุ เพื่อที่จะได้หาวิธีการป้องกันกำจัดโรคพืชที่เหมาะสมต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่าง ได้แก่ ถุงพลาสติก กระดาษบันทึก ปากกาเคมี เครื่องระบุพิกัด วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เย็นเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อ
2. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง ขวดดูแรน ปีกเกอร์ สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์ กระจกบอทวง แท่งแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์
3. เข็มเขี่ยปลายแหลม หัวง่ายเชื้อ ปากคืบ ใบมีดผ่าตัด
4. กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และ stereo พร้อม กล้องถ่ายภาพ และ camera lucida สำหรับวาดภาพเชื้อรา
5. อาหารแยกและเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ water agar (WA) และ potato dextrose agar (PDA)
6. สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ ได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ และ เอธิลแอลกอฮอล์ 75
7. วัสดุปลูก และกระถางพลาสติก
8. อุปกรณ์ทำตัวอย่างแห้ง เช่น กระดาษหนังสือพิมพ์ ไม้อัดตัวอย่าง กระดาษฟาง ของกระดาษสำหรับใส่ตัวอย่าง
9. ท่อนไม้สำหรับเลี้ยงรา Class Basidiomycetes

10. ต้นกล้ามะเเฒ่า

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูล

สืบค้นข้อมูลโรคของมะเเฒ่า จากเอกสารต่าง ๆ หรือจากข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์

2. สํารวจและเก็บตัวอย่างโรค

เก็บตัวอย่างโรคของมะเเฒ่า ที่แสดงอาการโรคที่ใบ ดอก ผล ลำต้น และราก โดยเก็บตัวอย่างจากแหล่งปลูกมะเเฒ่าในประเทศไทย ห่อตัวอย่างพืชที่เก็บมาด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติก บันทึกข้อมูลสถานที่เก็บ วันที่เก็บ ผู้เก็บ และข้อมูลภูมิศาสตร์ นำตัวอย่างมาศึกษาลักษณะอาการในห้องปฏิบัติการ จัดเก็บโรคพืชที่แสดงอาการที่ใบอัดทับเป็นตัวอย่างแห้งเข้าพิพิธภัณฑ์โรคพืช ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช ศึกษาคศกรีกสิการ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ ฯ

3. การศึกษาสาเหตุโรคพืช

- การศึกษาสาเหตุจากตัวอย่างพืชเป็นโรค

ศึกษาสาเหตุจากตัวอย่างพืชที่เป็นโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo เชื้อเชื้อจากตัวอย่างดอก ใบ ผล กิ่ง ลำต้น ราก ของมะเเฒ่าที่เป็นโรคลงบนแผ่นสไลด์ (slide) แล้วตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์ compound

-การศึกษาเชื้อสาเหตุโดยวิธีแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชเป็นโรค

แยกเชื้อจากส่วนที่โรค ตัดตัวอย่างโรคพืชบริเวณที่เป็นรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและส่วนปกติ ขนาดประมาณ 2x2 มิลลิเมตร ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวพืชโดยแช่ชิ้นส่วนพืชลงในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ชั้บให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจมน้ำแห้งสนิท นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนอาหาร half strength Potato Dextrose Agar (1/2 PDA) แล้วบ่มไว้ในห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-3 วัน ตรวจสอบเส้นใยราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ตัดส่วนปลายเส้นใยของราที่เจริญออกมาจากชิ้นตัวอย่างพืช วางลงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปศึกษารายละเอียดของราเพื่อการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุต่อไป

4. การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุโรคพืช

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อได้แก่ ลักษณะของเส้นใย ขนาด สี ลักษณะของสปอร์ conidiophore สี ขนาด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound บันทึกขนาด รูปร่าง วาดภาพ และบันทึกภาพด้วยกล้องถ่ายภาพ

5. การทดสอบการเกิดโรค

ทำการทดสอบการเกิดโรค โดยทำการปลูกเชื้อบนส่วนต่าง ๆ ได้แก่ ใบ ผล กิ่ง ลำต้น ของมะเมี๊ว โดยทำแผลและไม่ทำแผลอย่างละ 10 ซ้ำ เปรียบเทียบกับการเกิดโรคบนส่วนที่ไม่ปลูกเชื้อด้วยวิธีเดียวกันแยกเชื้อสาเหตุจากต้นที่แสดงอาการโรค เปรียบเทียบชนิดของราสาเหตุโรคใช้ในการปลูกเชื้อ

เวลาและสถานที่			
	ตุลาคม 2553	สิ้นสุด กันยายน 2556	รวม 3 ปี
เวลาและสถานที่			
เวลา	เริ่มต้น – สิ้นสุด		
	ตุลาคม 2553 – กันยายน 2556		รวม 3 ปี
สถานที่	<ul style="list-style-type: none"> - แหล่งปลูกมะเมี๊ว อำเภอกุฉินารายณ์ จังหวัดสุพรรณบุรี - ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช - สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร 		

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. รวบรวมและเก็บตัวอย่างโรค

ผลการรวบรวมและเก็บตัวอย่างโรคของมะเมี๊ว ได้ตัวอย่างโรคทั้งหมด 6 ตัวอย่าง ที่แสดงอาการโรคที่ใบ ลำต้น และราก โดยเก็บตัวอย่างจากแหล่งปลูกมะเมี๊วที่อำเภอกุฉินารายณ์ จังหวัดสุพรรณบุรี และที่กรุงเทพฯ ระหว่างเดือนกันยายน 2554 – เดือนสิงหาคม 2556 นำมาศึกษาในห้องปฏิบัติการโดยการศึกษาการโตตรงจากเนื้อเยื่อพืช และโดยวิธีการแยกรากจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค จัดเก็บโรคพืชที่แสดงอาการที่ใบอัดทับเป็นตัวอย่างแห้งเข้าพิพิธภัณฑ์โรคพืช ที่กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอสังคกรีสการ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ ฯ

2. การศึกษาสาเหตุโรคพืช

- การศึกษาสาเหตุจากตัวอย่างพืชเป็นโรคโดยตรง

ผลการศึกษารากโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืชภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo ของโรคใบจุด พบลักษณะอาการ 2 ชนิด ใช้เข็มปลายแหลมเขี่ยสปอร์ของราจากแผลที่ใบมาตรวจดูใต้กล้องจุลทรรศน์

พบว่าลักษณะอาการใบจุดมี 2 อาการ และราสร้างส่วนขยายพันธุ์ต่างกัน มีโครงสร้างที่ให้กำเนิดสปอร์ของรา 2 ชนิด ได้แก่ราสร้าง perithecium สีดำ รูปร่างกลม สร้าง ascospore สี เซลล์เดียวไม่มีผนังกัน รูปไข่ ตรงกลางขยายใหญ่ และอีกชนิดหนึ่งราสร้างโครงสร้างที่ให้กำเนิดราเรียกว่า acervulus สร้างสปอร์ มี 5 เซลล์ มี appendage นำไปแยกเชื้อโดยวิธีการแยกรากจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค

ผลการศึกษาลักษณะการใบจุดสาหร่าย พบสาหร่ายเจริญสร้างเส้นใยสีเหลืองอมน้ำตาลอยู่บนใบ

ผลการศึกษารากโดยตรงบนใบมะเมี๊ว พบลักษณะเส้นใยสีดำเกิดกระจุกกระจายบนผิวด้านบนใบและเจริญเชื่อมกันเป็นแผ่นใหญ่ และตรวจดูตัวอย่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo พบโครงสร้างที่ให้กำเนิดสปอร์ของรา

เรียกว่า perithecium มีสีดำหรือสีน้ำตาลเข้ม รูปร่างกลม ผิวขรุขระ มีขนรอบ พบกระจายอยู่ทั่วไปบนโคโลนีของเชื้อและชูขึ้นมาบนใบพืช ศึกษาลักษณะต่าง ๆ ของ perithecium ลักษณะของสปอร์และเส้นใย

-การศึกษาเชื้อสาเหตุโดยวิธีแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชเป็นโรค

ผลการแยกจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค โดยแยกจากส่วนที่เป็นโรคใบจุด 2 อาการ โรคเปลือกแตกยางไหล และโรครากเน่าโคนเน่า บนอาหาร PDA ได้ราทั้งหมด 5 ชนิด ใบจุด 2 อาการ แยกได้รา 2 ชนิด โรคเปลือกแตกยางไหล แยกได้รา 1 ชนิด และโรครากเน่าโคนเน่า แยกได้รา 2 ชนิด

3. การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุโรคพืช

ผลการศึกษาลักษณะต่าง ๆ ของราและโครงสร้างที่ให้กำเนิดสปอร์ของราโดยการศึกษาโดยตรงจากเนื้อเยื่อพืช การทำ moist chamber การแยกโดยวิธีแยกจากเนื้อเยื่อพืชที่เป็นโรค และจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อจำแนกได้ 6 สกุล (genera) 6 ชนิด (species) และสาหร่าย 1 ชนิด โดยมีการจัดจำแนกตามลักษณะอาการของโรคดังนี้

โรคใบจุด

จากการรวบรวมและเก็บตัวอย่างโรคใบจุดพบว่าเกิดจากราสาเหตุ 2 ชนิด พบโรคที่อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร ลักษณะอาการเป็นแผลใบจุด มีลักษณะอาการดังนี้

ลักษณะอาการ

ราสาเหตุเข้าทำลายใบ ทำให้เกิดจุดแผลสีน้ำตาลอ่อน รูปร่างกลม หรือ รี และอีกลักษณะอาการหนึ่งทำให้เกิดจุดแผลสีน้ำตาลอ่อน รูปร่างไม่แน่นอน

การศึกษาและจำแนกชนิดสาเหตุของโรค

จากการตรวจเชื้อตัวอย่างพืชเป็นโรคใบจุด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound พบรา 2 ชนิดเจริญอยู่บนแผล ผลของการจำแนกชนิดตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา จำแนกได้สาเหตุ 2 ชนิดดังนี้

สาเหตุ *Guignardia* sp.

Pestalotiopsis sp.

ลักษณะของรา มีรายละเอียดดังนี้

Guignardia sp.

ลักษณะอาการ: เกิดแผลแห้งสีน้ำตาล รูปร่างกลม ค่อนข้างกลม ขอบแผลมีสีน้ำตาล มักพบ ราสร้าง pseudothecium เจริญอยู่ในบริเวณแผล

โคโลนีบนอาหาร PDA สีเขียวดำ อายุ 21 วันมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.5 เซนติเมตร สร้างกลุ่มเส้นใยหนาหนาแน่น เจริญช้า

pseudothecium สีน้ำตาลดำ ผนังหนา ประกอบด้วย pseudoparenchyma cell สีน้ำตาลแดง รูปร่างกลมถึงค่อนข้างกลม ascus มีผนัง 2 ชั้น (bitunicate) รูปร่างคล้ายกระบอง หรือ ทรงกระบอก ภายในมี 8

ascospores อยู่ใน ascus ascospore ไม่มีสี เซลล์เดี่ยว รูปร่างรี ถึง ทรงกระบอก ตรงกลางเซลล์กว้างและปลายทั้งสองด้านมน พบสร้าง ascospore บนใบพืชด้วย

ราสร้าง ascospores 8 สปอร์ ใน ascus ที่มีรูปร่างคล้ายกระบอกและมีผนังหนา มีผนัง 2 ชั้น และ ascus เกิดอยู่ในโครงสร้างที่ให้กำเนิดสปอร์เรียกว่า pseudothecium ลักษณะมีสีดำ รูปร่างกลม คอยาว ascospore ไม่มีสี เซลล์เดี่ยว รูปไข่ ตรงกลางใหญ่และที่ปลายทั้ง 2 ด้านจะมน

ราสกุล *Guignardia* Viala & Ravaz จัดอยู่ใน Class Ascomycetes, Order Sphaeropsidales, Family Mycosphaerellaceae รา *Guignardia* เป็นสาเหตุโรคพืชที่สำคัญหลายชนิด ได้แก่ โรคผลจุดดำของฝรั่งสาเหตุเกิดจากรา *Guignardia psidii* (พรพิมล และศรีสุรางค์ 2549; พรพิมล และคณะ 2552) และรา *Guignardia* sp. เป็นสาเหตุโรคใบจุดของพุทราและเป็นระยะ teleomorph ที่บ้านโพหัก อำเภอดำเนินสะดวก จังหวัดราชบุรี และตำบลบางช้าง อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม

จากการศึกษาครั้งนี้พบรา *Guignardia* sp. บนใบจุดมะเมี ที่ อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร และไม่พบรายงานเชื้อบนมะเมีในประเทศอื่น ยังไม่สามารถจำแนกชนิดในระดับ species ได้

Pestalotiopsis sp.

ลักษณะอาการ: เกิดแผลแห้งสีน้ำตาล รูปร่างไม่แน่นอน ราสร้างโครงสร้างให้กำเนิดสปอร์ เรียกว่า acervulus สีดำ ขอบแผลมีสีน้ำตาล

โคโลนีบนอาหาร PDA อายุ 7 วัน มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.0 – 7.5 เซนติเมตร พุกคล้ายสำลี โคลนีสีขาว เจริญอยู่บนอาหาร และมีหยดของเหลวสีดำกระจายอยู่บนอาหาร เป็นกลุ่มของสปอร์

Acervulus ลักษณะเป็นสีดำ ภายในประกอบด้วยกลุ่มของสปอร์อัดกัน เกิดรวมกันเป็นกลุ่ม

สปอร์ มี 5 เซลล์ ผนังเรียบ รูปร่างคล้ายกระสวยโค้ง เซลล์ที่อยู่หัวท้ายสีน้ำตาลอ่อน ส่วนเซลล์ที่อยู่ตรงกลางมีสีน้ำตาลเข้ม สปอร์มีขนาด 18 – 26 × 5 – 7 ไมครอน appendage มีลักษณะเป็นเส้นสาย ใส ที่ฐานมี 1 เส้น และที่ปลายยอดมี 2-3 เส้น

มีรายงานพบรา *Pestalotiopsis* เป็นสาเหตุของโรคพืชหลายชนิด

ราดำ

ลักษณะอาการ

เชื้อสาเหตุสร้างเส้นใยเจริญคลุมบนผิวของใบ ลักษณะเป็นเส้นใยสีดำ เกิดกระจัดกระจาย บนผิวด้านใต้ใบ ไม้หนาแน่น เชื้อสาเหตุไม่ทำลายพืชโดยตรงแต่จะทำให้การสังเคราะห์แสงของใบลดลง คราบสีดำของเชื้อสาเหตุจะพบได้ทั้งบนใบ และผล ราดำผลนั้นทำให้คุณภาพต่ำ

การศึกษาและจำแนกชนิดสาเหตุของโรค

จากการตรวจเชื้อตัวอย่างพืชเป็นโรคใบจุด ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบ stereo และ compound พบรา 2 ชนิดเจริญอยู่บนผล ผลของการจำแนกชนิดตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา จำแนกชนิดได้ดังนี้

สาเหตุ *Scorias cylindrica* W. Yamam

anamorph: *Scolecocyphium*

ลักษณะของรา มีรายละเอียดดังนี้

Scorias cylindrica

pseudothecia มีก้าน ขนาดกว้างมากกว่า 90 ไมครอน ยาวมากกว่า 200 ไมครอน สีน้ำตาล ผงประกอบด้วยผนังหลายชั้น รูปร่างหลายเหลี่ยม asci รูปร่างคล้ายกระบอง ascospores มี 4 เซลล์ ด้านบนจะกว้างกว่าและค่อย ๆ เรียวทางด้านปลาย

Yamamoto (1954) ศึกษาและจำแนกชนิดของราสกุล *Scorias* 2 ชนิด คือ *S. communis* และ *S. cylindrica* ได้จำแนกลักษณะที่สำคัญของรา *S. cylindrical* ว่าราชนิดนี้ไม่สร้าง subiculum รูปร่าง sponge-like แต่มี pseudothecia ที่มีก้านและสร้าง ascospores ไม่มีสีถึงสีเขียวมะกอก รา *Conidiocarpus* เป็นระยะ anamorph ของรา *S. communis* และรา *Scolecocyphium* เป็นระยะ anamorph ของรา *S. cylindrical*

พรพิมล และคณะ (2553) รายงานพบโรคราดำที่ใบที่จังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย ราชบุรีและสระบุรี และพบโรคราดำที่ผลในจังหวัดเชียงราย ราสร้างเส้นใยเจริญอยู่ที่ซั้วของผล สาเหตุเกิดจากรา 3 ชนิดอยู่รวมกัน ได้แก่ *Cladosporium* , *Polychaeton* sp. และ *Scorias cylindrical*

โรคเปลือกแตกยางไหล

จากการรวบรวมและเก็บตัวอย่างโรคเปลือกแตกยางไหลที่อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร มีลักษณะอาการดังนี้

โคนต้นมีน้ำยางสีน้ำตาลไหลออกมา บริเวณกิ่งก้าน และ ลำต้นมียางไหลออกมา เริ่มแรกจะเป็นแผลสีดำเป็นรอยขีดและขยายขึ้น จากนั้นเปลือกจะปริแตกออก ทำให้กิ่งแห้งตาย เมื่อแกะเปลือกบริเวณยางไหลจะมีลักษณะเป็นแอ่งบวม

การศึกษาและจำแนกชนิดสาเหตุของโรค

จากการตรวจเชื้อตัวอย่างโรคเปลือกแตกยางไหล ผลของการจำแนกชนิดลักษณะทางสัณฐานวิทยาของรา จำแนกได้เชื้อ ดังนี้

สาเหตุ *Lasiodiplodia pseudotheobromae* A.J.L. Phillips, A.Alves & Crous

ลักษณะของรา มีรายละเอียดดังนี้

Lasiodiplodia pseudotheobromae

ลักษณะอาการ โคนต้นมีน้ำยางสีน้ำตาลไหลออกมา บริเวณกิ่งก้าน และ ลำต้นมียางไหลออกมา เริ่มแรกจะเป็นแผลสีดำเป็นรอยขีดและขยายขึ้น จากนั้นเปลือกจะปริแตกออก ทำให้กิ่งแห้งตาย เมื่อแกะเปลือกบริเวณยางไหลจะมีลักษณะเป็นแอ่งบวม

โคโลนีบนอาหาร PDA สีเทาดำ เส้นผ่านศูนย์กลาง 6.5 เซนติเมตร อายุ 21 วัน สร้างกลุ่มเส้นใยหนาหนาแน่น เจริญช้า

Pynidium สีน้ำตาลดำ เกิดอยู่ในเนื้อเยื่อพืช และเมื่อแก่ pynidium จะแตกออกมามีลักษณะปากเปิด

Paraphyses ใส รูปร่างคล้ายทรงกระบอก ส่วนใหญ่ไม่มีผนังกันเซลล์ บางครั้งมีการแตกกิ่ง ตรงส่วนปลายกลม ขนาดกว้าง 45-55 ไมครอน ยาว 3-5 ไมครอน paraphyses เกิดอยู่ระหว่าง conidiogenous cells

Conidiogenous cell ใส ผนังเรียบ รูปร่างทรงกระบอก ตรงส่วนฐานกว้างเล็กน้อย

Conidia ใส รูปร่างรีตรงกลางกว้าง ส่วนฐานและส่วนปลายกลมมน ไม่มีผนังกัน เซลล์เดี่ยว เมื่อแก่สปอร์มีสีน้ำตาลเข้ม และมีผนังกันเซลล์ 1 เส้น มี 2 เซลล์ ขนาด 25.5-33.0 x 11.0- 17.0 ไมครอน

รา *Lasiodiplodia theobromae* และ รา *Lasiodiplodia pseudotheobromae* เป็นราที่มีลักษณะคล้ายคลึงกันมาก มีการแพร่กระจายไปทั่วโลกและมีพืชอาศัยกว้างมาก

L. pseudotheobromae มีลักษณะคล้ายคลึงกับรา *L. theobromae* มาก แต่มีขนาดใหญ่กว่า (ตารางที่ 1) และจะมีการศึกษาในการเปรียบเทียบในระดับพันธุกรรมของทั้งสองเชื้อต่อไป

โรครากเน่าโคนเน่า

จากการรวบรวมและเก็บตัวอย่างโรครากเน่าโคนเน่าที่อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร และที่กรุงเทพฯ มีลักษณะอาการดังนี้

ลักษณะอาการ

ลักษณะอาการของโรครากเน่าโคนเน่าของมะเเฒ่า อาการของโรคเริ่มแรกพบว่าใบมีสีเหลือง และเหี่ยวจากกิ่งหนึ่งต่อมาแพร่กระจายไปยังกิ่งอื่น ๆ (ภาพที่ 1ก) ทำให้เกิดอาการเหี่ยวทั้งต้น ต่อมาต้นมะเเฒ่ายืนต้นตายในที่สุด เมื่อถากผิวลำต้นตามแนวยาวตรงส่วนที่เป็นโรคออกพบเนื้อไม้เป็นสีน้ำตาล (ภาพที่ 1ข) กระจัดกระจายเป็นหย่อม ๆ ถ้าอาการรุนแรงก็พบเนื้อไม้เป็นสีน้ำตาลเป็นพื้นที่กว้าง สำหรับในส่วนของรากที่เป็นโรคพบว่ารากที่ถูกทำลายเปลี่ยนแปลงเป็นสีน้ำตาลดำ เกิดรอยแผลที่ราก (ภาพที่ 1ค)

การศึกษาและจำแนกชนิดสาเหตุของโรค

จากการแยกและตรวจเชื้อตัวอย่างโรครากเน่าโคนเน่าของมะเเฒ่า ผลของแยกเชื้อ ได้เชื้อจำนวน 2 ชนิด และจำแนกชนิดของราโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ จำแนกได้เชื้อ 2 ชนิด ดังนี้

สาเหตุ *Fusarium decemcellulare* Brick

Phellinus noxius (Corner) G. Cunn

การทดสอบการเกิดโรค

ครั้งแรกทำการทดสอบการเกิด โดยทำการปลูกเชื้อบนลำต้นของมะเเฒ่า โดยทำแผล เลี้ยงราทั้งสองบนอาหาร PDA อายุ 10 วัน นำ cork borer มาตัดชิ้นไม้ที่มีราเจริญอยู่ และนำชิ้นไม้ไปวางบนส่วนของลำต้นที่ทำแผล ปิดเทป และไม่ทำแผลอย่างละ 10 ซ้ำ เปรียบเทียบกับการเกิดโรคบนส่วนที่ไม่ปลูกเชื้อด้วยวิธีเดียวกันแยกเชื้อสาเหตุจากต้นที่แสดงอาการโรค ผลการทดลองพบว่าต้นมะเเฒ่าไม่แสดงอาการเกิดโรคเลย จึงได้ทำการทดลองใหม่อีกครั้งหนึ่งเพราะรา *P. noxius* จัดอยู่ใน Class Basidiomycetes การปลูกเชื้อโดยวิธีแรกนั้น ไม่สามารถทำให้เกิดโรคได้ จึงใช้วิธีการทดสอบการเกิดโรคโดยวิธีที่สอง ผลการทดลองพบว่ารา *P. noxius* ทำให้เกิดโรคหลังจากปลูกเชื้อที่ลำต้นมะ

เม่าภายใน 90 วัน และเมื่อแยกเชื้อกลับเลี้ยงบนอาหาร สามารถตรวจพบราชนิดเดิม สำหรับรา *F. decemcellulare* ไม่ทำให้ต้นมะเม่าเกิดโรค พบว่ารา *P. noxius* ทำให้เกิดโรคหลังจากปลูกเชื้อที่ลำต้นมะเม่าภายใน 90 วัน และเมื่อแยกเชื้อกลับเลี้ยงบนอาหาร สามารถตรวจพบราชนิดเดิม สำหรับรา *F. decemcellulare* ไม่ทำให้ต้นมะเม่าเกิดโรค จากการศึกษาครั้งนี้สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของมะเม่าคือรา *P. noxius*

Phellinus noxius

โคโลนีบนอาหาร PDA เจริญเร็ว เส้นผ่านศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร อายุ 3 วัน ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ เริ่มแรกโคโลนีสีขาว และมีเส้นสีน้ำตาลเกิดเป็นทาง (ภาพที่ 1ง) โคโลนีด้านหลังเป็นวงกลมด้านในสีน้ำตาลเข้ม และรอบนอกมีสีน้ำตาลอ่อน (ภาพที่ 1จ)

ราสร้าง trichocysts (ภาพที่ 1ฉ) และ arthrospore (ภาพที่ 1ช) เส้นใยไม่มีการสร้าง camp connection ราสร้างดอกเห็ดเป็นแผ่นหนา แข็ง สีน้ำตาล (ภาพที่ 1ซ)

จากการศึกษาโรครากเน่าโคนเน่าของมะเม่าในประเทศไทยครั้งนี้และการทดสอบการเกิดโรค สรุปได้ว่าโรครากเน่าโคนเน่าของมะเม่าเกิดจากราสาเหตุ *Phellinus noxius* จัดอยู่ใน Class Basidiomycetes

ในประเทศไต้หวัน รา *P. noxius* เป็นสาเหตุโรครากเน่าสีน้ำตาลของไม้ผลเขตร้อนหลายชนิด ได้แก่ ลำไย ลิ้นจี่ มะเฟือง อาโวคาโด และน้อยหน่า สำหรับในประเทศไทยกิ่งเขตร้อน ราชนิดนี้ก็เข้าทำลายต้นพลับ ท้อ แอปเปิ้ล และองุ่น ด้วยเหมือนกัน รวมทั้งไม้ดอกไม้ประดับด้วย (Ann et al., 2002)

สำหรับในประเทศไทย รา *P. noxius* เข้าทำลายต้นยางพารา ทำให้เกิดโรครากเน่าสีน้ำตาล (สถาบันวิจัยยาง, 2555)

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

รวบรวมและเก็บตัวอย่างโรคมะเม่าที่กรุงเทพฯ และ อำเภอกุฉินารายณ์ จังหวัด ระหว่างเดือนกันยายน 2554 – เดือนสิงหาคม 2556 นำตัวอย่างโรคมะเม่ามาศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และนำมาแยกเชื้อสาเหตุโดยวิธี Tissue transplanting method แยกเชื้อให้บริสุทธิ์ และนำมาศึกษาการจำแนกชนิดของเชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ ผลการศึกษาพบโรคมะเม่าทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ โรคใบจุด สาเหตุเกิดจาก *Guignardia* และ โรคใบจุด สาเหตุเกิดจาก *Pestalotiopsis* ใบจุดสาหร่าย สาเหตุเกิดจาก *Cephaleuros virescens* ราดำบนใบสาเหตุเกิดจาก *Scorias cylindrica* อาการเปลือกแตกยางไหล สาเหตุเกิดจากรา *Lasiodiplodia pseudotheobromae* โรครากเน่าโคนเน่าแยกและจำแนกได้รา 2 ชนิด ได้แก่ *Fusarium decemcellulare* และ *Phellinus noxius* และทำการทดสอบการเกิดโรครากเน่าโคนเน่าพบว่ารา *P. noxius* ทำให้ต้นมะเม่าแสดงอาการใบเหี่ยว เหลือง หลังจากปลูกเชื้อภายใน 75 วัน และต้นตายหลังจากนั้น 15 วัน และเมื่อแยกเชื้อกลับ นำเชื้อมาเลี้ยงบนอาหาร สามารถตรวจพบราชนิดเดิม สำหรับรา *F. decemcellulare* ไม่ทำให้ต้นมะเม่าเกิดโรค และรา *P. noxius* เป็นสาเหตุของโรครากเน่าโคนเน่า

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลการศึกษาราบชนิดและสาเหตุของโรคมะเมา ทำให้มีแนวทางที่จะทำการป้องกันกำจัดโรคอย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีเกษตรกรผู้ปลูกและนักวิชาการเป็นกลุ่มเป้าหมายที่จะใช้ประโยชน์

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ อาจารย์คนพ วรรณวงศ์ สอนวรรณวงศ์ บ้านโพธิ์ชัยพัฒนา ตำบลสร้างค้อ อำเภอกุฉินารายณ์ จังหวัดสกลนคร ที่ให้ความรู้เกี่ยวกับมะเมาและให้ร่วมมือและช่วยเหลือในการเก็บตัวอย่างและศึกษาโรคมะเมาครั้งนี้

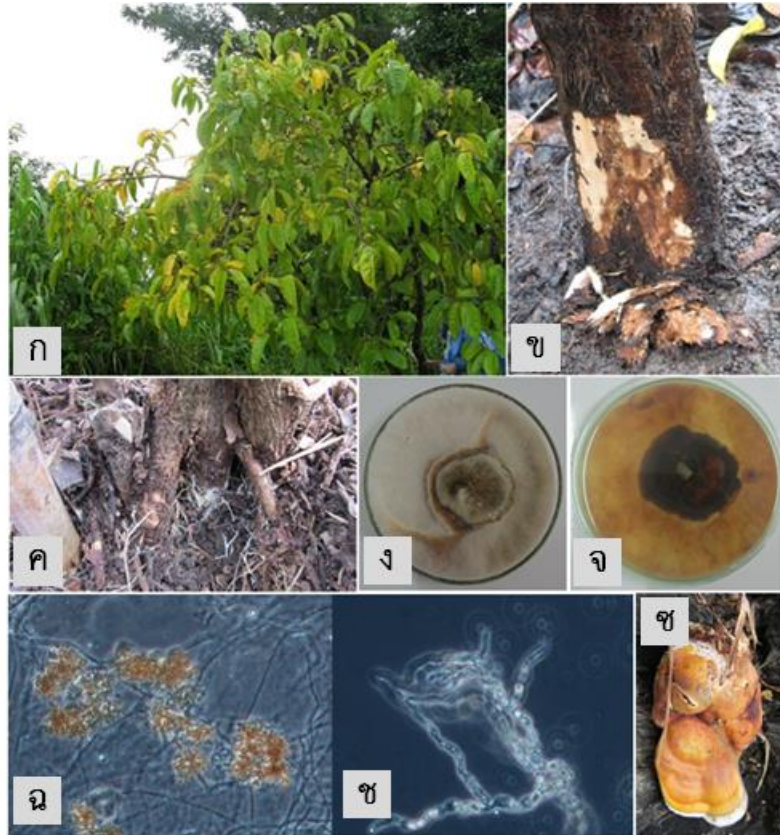
เอกสารอ้างอิง

- พรพิมล อธิปัญญาคม และ ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช. 2549. ราสาเหตุโรคพืช Class Ascomycetes บนไม้ผล. หน้า 762-770. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 30 มกราคม- 2 กุมภาพันธ์ 2549.
- พรพิมล อธิปัญญาคม และ ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช. 2552. อนุกรมวิธานราสาเหตุโรคพืช Class Ascomycetes. หน้า 440-449 . ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 17-20 มีนาคม 2552.
- พรพิมล อธิปัญญาคม ศรีสุรางค์ ลิขิตเอกราช และ พงณา ตระกูลสุขรัตน์. 2553. การศึกษาราบชนิดของโรคพุทราเพื่อการนำเข้า. หน้า 473-483. ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 3- 5 กุมภาพันธ์ 2553.
- สถาบันวิจัยยาง. 2555. โรค แมลงศัตรูพืช และอาการเปลือกแห้งของยางพารา. หน้า 65-72 .ใน ข้อมูลวิชาการยางพารา 2555. สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ. 123 หน้า.
- สนิทพิมพ์ สิมมาทัน. 2552. หมากเมา พืชพื้นบ้านเพื่อสุขภาพ. หนังสือพิมพ์กสิกร 82(1):53-56.
- Abdollahzadeh, J., A. Javadi, E. Mohammadi Goltaoeh, R. Zare, and A.J.L. Phillips. 2010. Phylogeny and morphology of four new species of *Lasiodiplodia* from Iran. *Persoonia* 25:1-10.
- Alves. A., P.W. Crous, A. Correia, and A.J.L. Phillips. 2008. Morphological and molecular data reveal cryptic species in *Lasiodiplodia theobromae*. *Fungal Diversity* 28: 1–13.
- Ann, P.J., T.T Chang, W.H. Ko. 2002. *Phellinus noxius* Brown Root Rot of Fruit and Ornamental Trees in Taiwan. *Plant Disease* 86 (8): 820-826.
- Marlatt, R. B., and S. A. JR. Alfieri. 1981. Host of *Cephaleuros*, A Parasitic Alga in Florida. *Proc. Fla. State Hort.Soc.* 94:311-317.
- Ramakrishnan, T.S. and N.V. Sundaram. (1952). A new rust on *Antidesma* in India. *Transactions of the British Mycological Society* 35: 26-28.
- Yamamoto, W. 1954. Taxonomic studies in the Capnodiaceae II. on the species of the Eucapnodiaceae. *Ann. Phytopath. Soc. Japan* 19: 1-5.

ภาคผนวก

ตารางที่ 1: เปรียบเทียบลักษณะของรา *Lasiodiplodia pseudotheobromae* และรา *Lasiodiplodia theobromae*

ชนิดของรา	จำนวนเซลล์	ขนาดสปอร์ (ไมครอน)	เอกสารอ้างอิง
<i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i>	1	23.5-32.0 × 14.0-18.0	Alves et al., 2008
<i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i>	1	21.7-26.3.0 × 13.4- 14.8	Abdollahzadeh et al., 2010
<i>Lasiodiplodia pseudotheobromae</i>	1	25.5-33.0 × 11.0- 17.0	การศึกษาค้นคว้า
<i>Lasiodiplodia theobromae</i>	1	26.2-27.0 × 14.0-14.4	Alves et al., 2008



ภาพที่ 1: โรครากเน่าโคนเน่า ของมะม่วง สาเหตุเกิดจากรา *Phellinus noxius*

- ก) แสดงอาการพืชเป็นโรค ใบเหลืองและต้นเหี่ยว
- ข) โคนต้นที่ถูกทำลาย มี เนื้อไม้ดำในมีสีน้ำตาล
- ค) รากที่ถูกทำลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และพบเส้นใยสีขาวเจริญอยู่บนราก
- ง) โคลนีสของรา *P. noxius* บนอาหาร Potato Dextros Agar
- จ) โคลนีสด้านหลัง
- ฉ) ราสร้าง Trichocysts บนอาหาร Potato Dextros Agar
- ช) ราสร้าง Arthrospores บน potato dextrose agar.
- ซ) ราสร้างดอกเห็ด