

วิจัยและพัฒนาการจัดการโรคมะเเฒ่า

Research and Development on Integrated Diseases and Insect Pest of
Antidesma velutinsum Blume

พรพิมล อธิปัญญาคม ชนินทร ดวงสะอาด และ สุณิรัตน์ สิมะเตื้อ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

รายงานความก้าวหน้า

จากการสำรวจโรคมะเเฒ่าในปี 2554-2555 พบโรคใบจุด ราดำ อาการเปลือกแตกยางไหล และอาการต้นโทรม อาการเปลือกแตกยางไหลแยกและจำแนกชนิดได้รา *Lasiodiplodia theobromae* อาการโคนต้นมะเเฒ่าที่แสดงอาการเหี่ยวบนต้น โดยวิธี Tissue transplanting บนอาหาร PDA และ selective media: RNV พบรา 4 ชนิด ได้แก่ *Lasiodiplodia theobromae*, ราอีก 3 ชนิด ยังไม่สร้างสปอร์ และการแยกเชื้อบนอาหาร RNV ไม่พบรา *Phytophthora* อาการต้นโทรม ใบเหลือง แยกเชื้อสาเหตุได้เชื้อ 3 ชนิด ได้แก่ ราลักษณะเส้นใยหยาบสีขาว ไม่สร้างสปอร์ *Lasiodiplodia theobromae* และ *Fusarium* เชื้อที่แยกได้นี้จะต้องนำมาทดสอบการเกิดโรคต่อไป เก็บเชื้อที่แยกได้ไว้ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

คำนำ

มะเเฒ่า (*Antidesma velutinsum* Blume) อยู่ในวงศ์ Stilaginaceae. เป็นผลไม้ท้องถิ่นทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบปลูกมากในอำเภอกุพพาน จังหวัดสกลนคร นิยมนำผลสุกมาบริโภคและสามารถนำมาใช้ในการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ ออกดอกช่วงเดือนมีนาคม – พฤษภาคม และผลจะสุกในช่วงเดือนสิงหาคม และกันยายน คุณค่าทางโภชนาการสูงจึงนิยมนำมาแปรรูปเป็นน้ำมะเเฒ่า และไวน์ มากที่สุด ในปัจจุบันมีการขยายพื้นที่ปลูกมะเเฒ่ามากขึ้นและการศึกษาด้านโรคพืชของมะเเฒ่ายังมีน้อยมาก จึงได้ทำการศึกษารูปร่างของมะเเฒ่าเพื่อเป็นข้อมูลและมีแนวทางในการป้องกันกำจัดโรคพืช การศึกษารูปร่างนี้จะทำการศึกษารูปร่างของโรคมะเเฒ่า การจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุ และถ้าพบการะบาดของโรคที่สำคัญก็จะทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดโรคที่สำคัญรวมทั้งการควบคุมโรคแบบผสมผสาน เพื่อที่จะได้วิธีการจัดการโรคแบบผสมผสานที่เหมาะสมและเกษตรกรสามารถแก้ปัญหาโรคพืชได้เพื่อผลผลิตที่เพิ่มมากขึ้น

รหัสการทดลอง 02-03-54-01-02-00-02-54

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างได้แก่ ถุงพลาสติก กระดาษบันทึก ปากกาเคมี เครื่องระบุพิกัด วัสดุ อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้แช่แข็ง หม้อนึ่งความดัน ตู้บ่มเชื้อ
1. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง ขวดดูแรน บีกเกอร์ สไลด์ และแผ่นแก้วปิดสไลด์ กระบอกตวง แท่งแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์
2. เข็มเย็บปลายแหลม หัวง่ายเชื้อ ปากคีบ ใบมีดผ่าตัด มีด
3. กล้องจุลทรรศน์แบบ compound และ stereo
4. camera lucida สำหรับวาดภาพเชื้อรา
5. กล้องถ่ายภาพ
6. อาหารแยกและเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ water agar (WA) และ potato dextrose agar (PDA)
7. สารเคมีที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ ได้แก่ สารละลายโซเดียมไฮเปอร์คลอไรด์ และ เอทิลแอลกอฮอล์ 75
8. วัสดุปลูก และกระถางพลาสติก
9. อุปกรณ์ทำตัวอย่างแห้ง เช่น กระดาษหนังสือพิมพ์ ไม้อัดตัวอย่าง กระดาษฟาง ของ กระดาษสำหรับใส่ตัวอย่าง

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูล

สืบค้นข้อมูลโรคของมะเเฒ่า จากเอกสารต่าง ๆ หรือจากข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์

2. สํารวจและเก็บตัวอย่างโรค

เก็บตัวอย่างโรคของมะเเฒ่า ที่แสดงอาการโรคที่ใบ ดอก ผล ลำต้น และราก โดยเก็บตัวอย่างจากจังหวัดต่าง ๆ ในประเทศไทย ห่อตัวอย่างพืชที่เก็บมาด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติก บันทึกข้อมูลสถานที่เก็บ วันที่เก็บ ผู้เก็บ และข้อมูลภูมิศาสตร์ นำตัวอย่างมาศึกษาลักษณะอาการในห้องปฏิบัติการ จัดเก็บโรคพืชที่แสดงอาการที่ใบอัดทับเป็นตัวอย่างแห้งเข้าพิพิธภัณฑ์โรคพืชที่กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอภิศรีศรีการ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ ฯ

3. การศึกษาสาเหตุโรคพืช

- การศึกษาสาเหตุจากตัวอย่างพืชเป็นโรค

ศึกษาสาเหตุจากตัวอย่างพืชที่เป็นโรครายใต้กล้องจุลทรรศน์ เชื้อเชื้อจากตัวอย่างดอก ใบ ผล กิ่ง ลำต้น ราก ของมะเเฒ่าที่เป็นโรคลงบนแผ่นสไลด์ (slide) แล้วตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์

- การศึกษาเชื้อสาเหตุโดยวิธีแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชเป็นโรค

แยกเชื้อจากส่วนที่โรค ตัดตัวอย่างโรคพืชบริเวณที่เป็นรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและส่วน

ปกติขนาดประมาณ 2x2 มิลลิเมตร ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวพืชโดยแช่ชิ้นส่วนพืชลงในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรต์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจนแห้งสนิท นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนอาหาร half strength Potato Dextrose Agar (1/2 PDA) แล้วบ่มไว้ในห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-3 วัน ตรวจสอบเส้นใยภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ ตัด hyphal tip ของราที่เจริญออกมาจากชิ้นตัวอย่างพืช วางลงบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเชื้อเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และนำไปศึกษารายละเอียดของราเพื่อการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุต่อไป

แยกเชื้อสาเหตุที่เกิดจากแบคทีเรียและไส้เดือนฝอยและตรวจสอบอาการที่เกิดจากไวรัส

4. การจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุโรคพืช

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

5. การพิสูจน์โรค

ทำการพิสูจน์การเกิดโรค โดยทำการปลูกเชื้อบนส่วนต่าง ๆ ได้แก่ ใบ ผล กิ่ง ลำต้นของมะเเฒ่า โดยทำแผลและไม่ทำแผลอย่างละ 10 ซ้ำ เปรียบเทียบกับการเกิดโรคบนส่วนที่ไม่ปลูกเชื้อด้วยวิธีเดียวกันแยกเชื้อสาเหตุจากต้นที่แสดงอาการโรค เปรียบเทียบชนิดของราสาเหตุโรคใช้ในการปลูกเชื้อ

เวลาและสถานที่

เวลา	เริ่มต้น - สิ้นสุด ตุลาคม 2553 - กันยายน 2556
สถานที่	แปลงปลูกมะเเฒ่าของเกษตรกร ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทำการสำรวจโรคมะเเฒ่าในเดือนกันยายน 2554 - 2555 ที่อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร พบโรคใบจุดสาหร่าย ราดำ อาการเปลือกแตกยางไหล และอาการอาการต้นโทรม ใบเหลือง มาทำการแยกเชื้อโดยวิธี Tissue Transplanting แยก เปลือกต้นมะเเฒ่า เปลือกแตกยางไหล จากการศึกษาเชื้อเบื้องต้นพบเชื้อดังนี้

โรคใบจุดสาหร่าย สาเหตุเกิดจาก *Cephaleuros virescens* (ภาพที่ 1ก) ราดำ (ภาพที่ 1ข) แยกเชื้อจากลักษณะอาการเปลือกแตกยางไหล จำแนกชนิดเป็นรา *Lasiodiplodia*

theobromae (ภาพที่ 1ค และ1ง) แยกเชื้ออาการอาการต้นโทรม ใบเหลือง จากเปลือกต้นมะม่วง พบราโคโลนีสีแดง จำแนกชนิดเป็นรา *Fusarium* (ภาพที่ 2)

จากแยกเชื้อสาเหตุจากโคนต้นมะม่วงที่แสดงอาการเหี่ยวบนต้น โดยวิธี Tissue transplanting บนอาหาร PDA และ selective media: RNV พบรา 4 ชนิด ได้แก่ *Lasiodiplodia theobromae*, ราอีก 3 ชนิด ยังไม่สร้างสปอร์ และการแยกเชื้อบนอาหาร RNV ไม่พบรา *Phytophthora*

เก็บตัวอย่างมะม่วงแสดงอาการต้นโทรมจากแปลงเกษตรกร อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร มีลักษณะอาการใบเหลืองด้านใดด้านหนึ่ง ต่อมาใบเหลืองทั่วทั้งต้น (ภาพที่ 3ก) และยืนต้นตายในที่สุด ที่โคนต้นพบเส้นใยราสีขาว (ภาพที่ 3ข) เจริญอยู่บนบริเวณราก (ภาพที่ 3ค) และเมื่อถากโคนต้นพบว่าเนื้อเยื่อลำต้นถูกทำลาย จึงเก็บตัวอย่างมาแยกเชื้อที่ห้องปฏิบัติการ ได้เชื้อ 3 ชนิด ได้แก่

1. เส้นใยหยาบสีขาว ถึงสีน้ำตาลอ่อนและมีเส้นใยสีน้ำตาล เกิดเป็นวงตรงกลาง (ภาพที่ 4ก) โคลนีสั้นด้านใต้อาหารมีสีเหลืองอมน้ำตาล (ภาพที่ 4ข) ไม่สร้างสปอร์

2. โคลนีสีเทาดำ *Lasiodiplodia theobromae* (ภาพที่ 4ค)

3. *Fusarium* (ภาพที่ 4ง)

แยกเชื้อทั้ง 3 ชนิด ให้ได้บริสุทธิ์ เก็บเชื้อไว้ในตู้อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อทำการพิสูจน์โรค และเตรียมต้นกล้ามะม่วงสำหรับทำการศึกษารักษาโรค

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

จากการสำรวจโรคมะม่วงในปี 2554-2555 พบโรคใบจุด ราดำ อาการเปลือกแตกยางไหล จำแนกชนิดได้รา *Lasiodiplodia theobromae* อาการต้นโทรม ใบเหลือง แยกเชื้อจากเปลือกต้นมะม่วง พบราโคโลนีสีแดง จำแนกชนิดเป็นรา *Fusarium* และอาการโรคเหี่ยวของมะม่วงจากแปลงเกษตรกร นำมาแยกเชื้อที่ห้องปฏิบัติการ ได้เชื้อ 3 ชนิด ได้แก่ ราลักษณะเส้นใยหยาบสีขาว ไม่สร้างสปอร์ *Lasiodiplodia theobromae* และ *Fusarium* เชื้อที่แยกได้นี้จะต้องนำมาศึกษาการพิสูจน์โรคต่อไป

เอกสารอ้างอิง

สนิทพิมพ์ สิมมาทัน. 2552. หมากม่วง พืชพื้นบ้านเพื่อสุขภาพ. หนังสือพิมพ์กสิกร 82(1):53-56.

ภาคผนวก



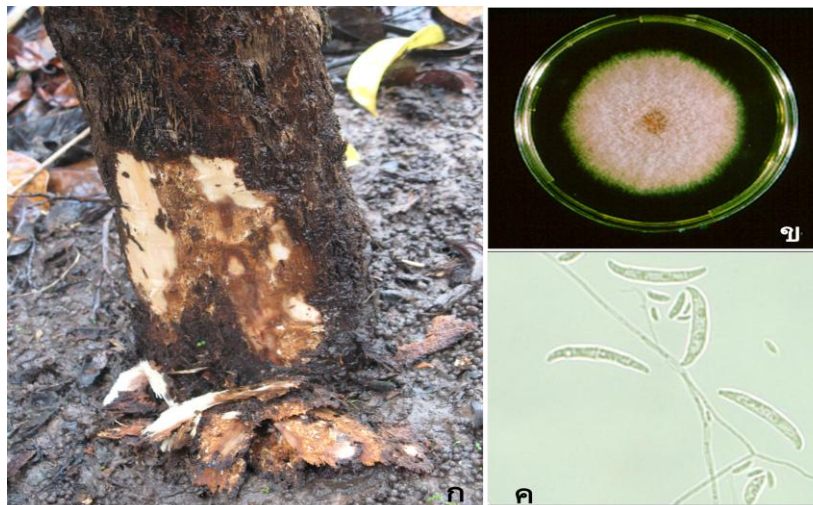
ภาพที่ 1: โรคมะเฒ่าที่พบใน อำเภอกุฉินารายณ์ จังหวัดสกลนคร

ก: โรคใบจุดสาหร่าย

ข: ราดำ

ค: อาการเปลือกแตกยางไหล

ง: รา *Lasiodiplodia theobromae* ที่แยกได้จากอาการเปลือกแตกยางไหล



ภาพที่ 2: โรคมะเฒ่าที่พบใน อำเภอกุฉินารายณ์ จังหวัดสกลนคร

ก: อาการสีน้ำตาลที่เปลือกเนื้อใน

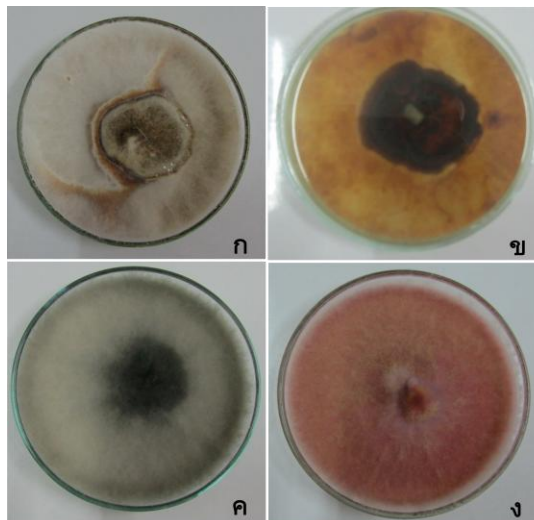
ข: โคลนีสของรา *Fusarium*

ค: macroconidia และ microconidia



ภาพที่ 3: อาการต้นโทรมของมะเเฒ่า ที่พบใน อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร

- ก: แสดงอาการใบเหลือง
 ข: เส้นใยสีขาวของราบริเวณโคนต้น
 ค: เส้นใยสีขาวของราบริเวณราก



ภาพที่ 3: ลักษณะโคโลนีของราที่แยกได้จากอาการต้นโทรมของมะเเฒ่าที่พบใน อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร

- A: เส้นใยหยาบสีขาว ถึงสีน้ำตาลอ่อนและมีเส้นใยสีน้ำตาล เกิดเป็นวงตรงกลาง
 B: โคโลนีด้านใต้อาหารสีเหลืองอมน้ำตาล
 C: โคโลนีสีเทาดำ ของรา *Lasiodiplodia theobromae*
 D: โคโลนีสีชมพูอมแดง *Fusarium*