วิจัยและพัฒนาการจัดการโรคมะเม่า

Research and Development on Integrated Diseases and Insect Pest of *Antidesma velutinosum* Blume

พรพิมล อธิปัญญาคม ชนินทร ดวงสะอาด และ สุณีรัตน์ สีมะเดื่อ
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

รายงานความก้าวหน้า

จากการสำรวจโรคมะเม่าในปี 2554-2555 พบโรคใบจุด ราดำ อาการเปลือกแตกยางไหล และอาการต้นโทรม อาการเปลือกแตกยางไหลแยกและจำแนกชนิดได้รา *Lasiodiplodia theobromae* อาการโคนต้นมะเม่าที่แสดงอาการเหี่ยวบนต้น โดยวิธี Tissue transplanting บนอาหาร PDA และ selective media: RNV พบรา 4 ชนิด ได้แก่ *Lasiodiplodia theobromae*, รา อีก 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

มะเม่า (*Antidesma velutinosum* Blume) อยู่ในวงศ์ Stilaginaceae. เป็นผลไม้ท้องถิ่นทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ พบปลูกมากในอำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร นิยมนำผลสุกมาบริโภคและสามารถนำมาใช้ในการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ ออกดอกช่วงเดือนมีนาคม – พฤษภาคม และผลจะสุกในช่วงเดือนสิงหาคม และกันยายน คุณค่าทางโภชนาการสูงจึงนิยมนำมาแปรรูปเป็นน้ำมะเม่า และไวน์ มากที่สุด ในปัจจุบันมีการขยายพื้นที่ปลูกมะเม่ามากขึ้นและการศึกษาด้านโรคพืชของมะเม่ายังมีน้อยมาก จึงได้ทำการศึกษาโรคของมะเม่าเพื่อเป็นข้อมูลและมีแนวทางในการป้องกันกำจัดโรคพืช การศึกษาครั้งนี้จะทำการศึกษาชนิดของโรคมะเม่า การจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุ และถ้าพบการระบาดของโรคที่สำคัญก็จะทำการศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดโรคที่สำคัญรวมทั้งการควบคุมโรคแบบผสมผสาน เพื่อที่จะได้วิธีการจัดการโรคแบบผสมผสานที่เหมาะสมและเกษตรสามารถแก้ปัญหาโรคพืชได้เพื่อผลผลิตที่เพิ่มมากขึ้น

รหัสการทดลอง 02-03-54-01-02-00-02-54

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างได้แก่ ถุงพลาสติก กระดาษบันทึก ปากกาเคมี เครื่องระบุพิกัด วัสดุอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ ตู้เขี่ยเชื้อ หม้อนึ่งความดัน ตู้อบฆ่าเชื้อ
1. อุปกรณ์เครื่องแก้ว ได้แก่ จานอาหารเลี้ยงเชื้อ หลอดทดลอง ขวดดูแรน บิกเกอร์ สไลด์และแผ่นแก้วปิดสไลด์ กระบอกตวง แท่งแก้ว ตะเกียงแอลกอฮอล์
2. เข็มเขี่ยปลายแหลม ห่วงถ่ายเชื้อ 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 เอธิลแอลกอฮอล์ 75
8. วัสดุปลูก และกระถางพลาสติก
9. อุปกรณ์ทำตัวอย่างแห้ง เช่น กระดาษหนังสือพิมพ์ ไม้อัดตัวอย่าง กระดาษฟาง ซองกระดาษสำหรับใส่ตัวอย่าง

วิธีการ

1. สืบค้นข้อมูล

สืบค้นข้อมูลโรคของมะเม่า จากเอกสารต่าง ๆ หรือจากข้อมูลอิเลคโทรนิค

2. สำรวจและเก็บตัวอย่างโรค

เก็บตัวอย่างโรคของมะเม่า ที่แสดงอาการโรคที่ใบ ดอก ผล ลำต้น และราก โดยเก็บตัวอย่างจากจังหวัดต่าง ๆ ในประเทศไทย ห่อตัวอย่างพืชที่เก็บมาด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ ใส่ในถุงพลาสติค บันทึกข้อมูลสถานที่เก็บ วันที่เก็บ ผู้เก็บ และข้อมูลภูมิศาสตร์ นำตัวอย่างมาศึกษาลักษณะอาการในห้องปฏิบัติการ จัดเก็บโรคพืชที่แสดงอาการที่ใบอัดทับเป็นตัวอย่างแห้งเข้าพิพิธภัณฑ์โรคพืชที่กลุ่มวิจัยโรคพืช ตึกอิงคศรีกสิการ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพ ฯ

3. การศึกษาสาเหตุโรคพืช

- การศึกษาสาเหตุจากตัวอย่างพืชเป็นโรค

ศึกษาสาเหตุจากตัวอย่างพืชที่เป็นโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เขี่ยเชื้อจากตัวอย่างดอก ใบ ผล กิ่ง ลำต้น ราก ของมะเม่าที่เป็นโรคลงบนแผ่นสไลด์ (slide) แล้วตรวจเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์

-การศึกษาเชื้อสาเหตุโดยวิธีแยกเชื้อจากเนื้อเยื่อพืชเป็นโรค

แยกเชื้อจากส่วนที่โรค ตัดตัวอย่างโรคพืชบริเวณที่เป็นรอยต่อของส่วนที่เป็นโรคและส่วน

ปกติขนาดประมาณ 2x2 มิลลิเมตร ทำการฆ่าเชื้อที่ผิวพืชโดยแช่ชิ้นส่วนพืชลงในสารละลายโซเดียมไฮโปร์คลอไรด์ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 5 นาที ซับให้แห้งด้วยกระดาษกรองที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจนแห้งสนิท นำชิ้นส่วนพืชมาวางบนอาหาร half strength Potato Dextrose Agar (1/2 PDA) แล้วบ่มไว้ในห้องปฏิบัติการ อุณหภูมิ 30±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-3 วัน ตรวจดูเส้นใยราภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ 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 ลำต้นของมะเม่า โดยทำแผลและไม่ทำแผลอย่างละ 10 ซ้ำ เปรียบเทียบกับการเกิดโรคบนส่วนที่ไม่ปลูกเชื้อด้วยวิธีเดียวกันแยกเชื้อสาเหตุจากต้นที่แสดงอาการโรค เปรียบเทียบชนิดของราสาเหตุโรคใช้ในการปลูกเชื้อ

เวลาและสถานที่

เวลา	**เริ่มต้น – สิ้นสุด**
	ตุลาคม 2553 – กันยายน 2556
สถานที่	แปลงปลูกมะเม่าของเกษตรกร
	ห้องปฏิบัติการกลุ่มงานวิทยาไมโค กลุ่มวิจัยโรคพืช
	สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

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

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

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

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

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

1. เส้นใยหยาบสีขาว ถึงสีนาตาลอ่อนและมีเส้นใยสีน้ำตาล เกิดเป็นวงตรงกลาง (ภาพที่ 4ก) โคโลนีด้านใต้อาหารมีสีเหลืองอมน้ำตาล (ภาพที่ 4ข) ไม่สร้างสปอร์
2. โคโลนีสีเทาดำ *Lasiodiplodia theobromae* (ภาพที่ 4ค)
3. *Fusarium* (ภาพที่ 4ง)

แยกเชื้อทั้ง 3 ชนิด ให้ได้บริสุทธิ์ เก็บเชื้อไว้ในตู้อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เพื่อทำการพิสูจน์โรค และเตรียมต้นกล้ามะเม่าสำหรับทำการศึกษาการทดสอบโรค

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

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

เอกสารอ้างอิง

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

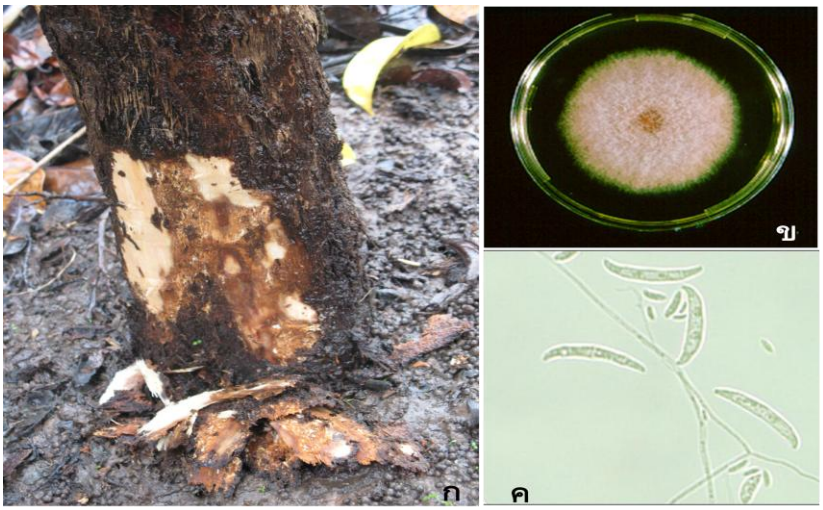
ภาคผนวก

ภาพที่ 1: โรคมะเม่าที่พบใน อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร

ก: โรคใบจุดสาหร่าย ข: ราดำ

ค: อาการเปลือกแตกยางไหล

ง: รา *Lasiodiplodia theobromae* ที่แยกได้จากอาการเปลือกแตกยางไหล



ภาพที่ 2: โรคมะเม่าที่พบใน อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร

ก: อาการสีนำตาลที่เปลือกเนื้อใน

ข: โคโลนีของรา *Fusarium*

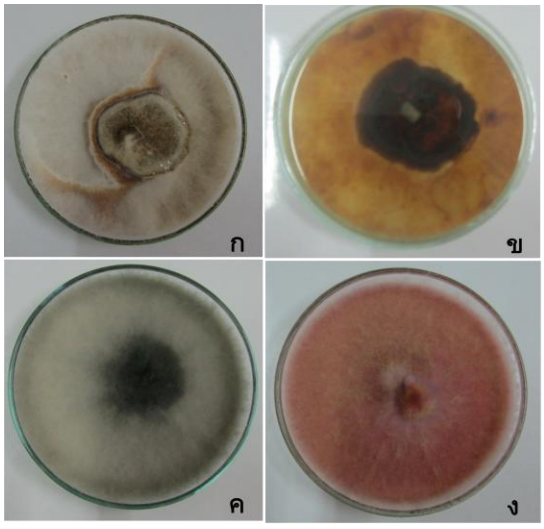
ค: macroconidia และ microconidia

ภาพที่ 3: อาการต้นโทรมของมะเม่า ที่พบใน อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร

ก: แสดงอาการใบเหลือง

ข: เส้นใยสีขาวของราบริเวณโคนต้น

ค: เส้นใยสีขาวของราบริเวณราก



ภาพที่ 3: ลักษณะโคโลนีของราที่แยกได้จากอาการต้นโทรมของมะเม่าที่พบใน อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร

A: เส้นใยหยาบสีขาว ถึงสีนาตาลอ่อนและมีเส้นใยสีน้ำตาล เกิดเป็นวงตรงกลาง

B: โคโลนีด้านใต้อาหารสีเหลืองอมน้ำตาล

C: โคโลนีสีเทาดำ ของรา *Lasiodiplodia theobromae*

D: โคโลนีสีชมพูอมแดง *Fusarium*