

## รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

---

1. แผนงานวิจัย  
วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตพืชเศรษฐกิจเฉพาะพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนล่าง
2. โครงการวิจัย  
กิจกรรม  
การทดลอง  
วิจัยการเพิ่มศักยภาพการผลิตน้อยหน้าคุณภาพ  
การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตน้อยหน้า  
การแพร่ระบาดของโรคกิ่งแห้งและชีววิทยาของเชื้อสาเหตุโรค  
Epidemic of Annona Dieback Disease and Causing Agent  
Biology
3. คณะผู้ดำเนินงาน  
หัวหน้าการทดลอง  
ผู้ร่วมงาน  
พจนา ตระกูลสุพรรณรัตน์    สังกัด    สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช  
รัชดา ปรัชเจริญวานิชย์    สังกัด    ศูนย์วิจัยและพัฒนาการเกษตร  
นครราชสีมา  
สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4

### 4. บทคัดย่อ

โรคกิ่งแห้งเป็นโรคสำคัญโรคหนึ่งของน้อยหน้า พบระบาดมากในเขตปลูกแถบอำเภอปากช่อง ที่เป็นพื้นที่ปลูกขนาดใหญ่ของจังหวัดนครราชสีมา และอำเภอกางเขน ระหว่างเดือนกันยายน 2559–ตุลาคม 2562 ได้ทำการสำรวจ ติดตามอาการ ลักษณะการแพร่ระบาดของโรค เก็บตัวอย่างพืชเป็นโรคมานำแยกหาเชื้อสาเหตุ พิสูจน์โรค และศึกษาชีววิทยาของเชื้อสาเหตุ ผลการทดลองพบว่า ต้นน้อยหน้าที่แสดงอาการโรคกิ่งแห้งเกิดแบบกระจุกกระจาย อาการโรคเริ่มพบภายหลังจากมีการตัดแต่งกิ่ง โดยเชื้อเข้าทางบาดแผลของกิ่งที่ถูกตัด ทำให้เนื้อเยื่อภายในที่เป็นบริเวณท่อน้ำท่ออาหารถูกทำลายเปลี่ยนสีกลายเป็นสีดำ ใบที่อยู่บนกิ่งด้านบนแสดงอาการเหี่ยวก่อนแห้งตายกิ่ง อาการเหี่ยวแห้งลุกลามไปกิ่งข้างเคียง ทำให้กิ่งขนาดใหญ่แห้งจนต้นน้อยหน้ายืนต้นตาย โรคระบาดได้กับน้อยหน้าทุกช่วงอายุที่ได้รับการตัดแต่งกิ่งจากอุปกรณ์ที่ไม่ได้รับการฆ่าเชื้อหลังจากที่ใช้กับต้นเป็นโรคก่อนหน้า ทำการแยกเชื้อ พิสูจน์โรคและจะจำแนกชนิดเชื้อด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลเพื่อหาเชื้อสาเหตุโรคที่ถูกต้องที่จะดำเนินการต่อไป

**คำสำคัญ :** น้อยหน้า, โรคกิ่งแห้ง, การแพร่ระบาด

Dieback disease is one of severe disease of annona in Pakchong and Klangdong district in Nakhon Ratchasima. During September 2016–October 2019, Experimental activities of surveying, monitoring its symptoms, collecting infected parts of plant, diagnosing and biological studying of causing agent were done. This result showed that the disease infected

plants after pruning as scattered pattern. Disease pathogen infected plants through wound via non-sterile tools. Infected branches dried from the top downward. A black wound was observed at the joint portion of infected and healthy parts of the branch. The disease spread from the branches to the main stem. It caused the phloem and xylem system of annona were destroyed and turned black. To isolated, identified and diagnosed pathogen by molecular technique to determine the correct causing agent are in progress.

**Keywords :** annona, dieback, disease epidemic

## 5. คำนำ

น้อยหน่า เป็นไม้ผลเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งที่มีคุณค่าทางโภชนาการหลายประการสามารถปรับตัวได้ดีปลูกได้ทุกภาคของประเทศไทย แหล่งปลูกที่สำคัญในปัจจุบันคืออำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา (กรมวิชาการเกษตร, 2014) ปัญหาสำคัญที่เกิดขึ้นระหว่างขั้นตอนการปลูกคือ ปัญหาด้านโรคพืชชนิดต่างๆ ซึ่งพบการแพร่ระบาดเสมอในสวน โดยเฉพาะโรคกิ่งแห้ง ซึ่งเมื่อมีการระบาดของโรคในสวนใดสวนหนึ่ง ก็มักพบว่ามีการแพร่ระบาดต่อไปยังสวนข้างเคียงด้วย ทำให้ผลผลิตเสียหายและมีคุณภาพต่ำ (เรืองศักดิ์ และกวีศรี, 2552) เชื่อว่าสาเหตุโรคมีเคยรายงานว่าทำให้เกิดอาการ dieback กับพืชตระกูล Annonaceae ในต่างประเทศ เช่น มีการพบเชื้อราในกลุ่ม *Phytophthora* 2 ชนิดคือ *P. nicotianae* และ *P. palmivora* เป็นสาเหตุของโรครากเน่า (root rot) ทำให้เกิดอาการกิ่งและใบแห้งของ sugar apple ซึ่งเป็นพืชในตระกูลที่ใกล้เคียงและมีลักษณะคล้ายน้อยหน่า ทำให้ผลกลายเป็นสีดำ (fruit rot) และแห้งตายในที่สุด (Ploetz, 2003) และแยกเชื้อรา *P. capsici* ได้จาก custard apple (*Annona squamosa*) (Weinert et al., 1998) สำหรับเชื้อ *Fusarium decemcellular* มีรายงานพบเป็นครั้งแรกในประเทศญี่ปุ่นเมื่อเดือนสิงหาคมปี 1993 ทำให้พืชเกิดอาการ dieback และสามารถแยกเชื้อได้จากเนื้อเยื่อลำต้นที่ตายแล้วของต้น atemoya ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ได้จากการผสมระหว่าง *Annona squamosa* และ *A. cherimora* (Togawa and Nomura, 1998) และพบรายงานว่าเชื้อรา *Botryodiplodia theobromae* เป็นสาเหตุของโรค dieback ของพืชในพันธุ์ Annona ในประเทศอียิปต์ (Haggag and Nofal, 2005)

จากรายงานในต่างประเทศที่มีการระบาดของโรคกิ่งแห้งกับพืชตระกูลเดียวหรือใกล้เคียงกับน้อยหน่า จะเห็นได้ว่ามีเชื้อราหลายชนิดเป็นสาเหตุโรค สำหรับในประเทศไทยยังขาดข้อมูลการแพร่ระบาดของโรคกิ่งแห้งรวมทั้งชนิดเชื้อสาเหตุโรคที่ถูกต้อง ดังนั้นการสำรวจ ติดตามอาการโรค รวบรวมข้อมูลลักษณะการแพร่ระบาดของโรคกิ่งแห้งในแปลงปลูก เก็บตัวอย่างเพื่อแยกเชื้อสาเหตุโรค และจำแนกชนิดเชื้อสาเหตุโรคที่ถูกต้อง เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับนำไปใช้ในการหาวิธีป้องกันกำจัดโรคที่เหมาะสม เสริมเพิ่มเติมให้เกิดแนวทางการจัดการและผลิตน้อยหน่าที่มีประสิทธิภาพต่อไป

## 6. วิธีดำเนินการ

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. น้อยหน่าที่ปลูกในเขตอำเภอบางบาล และอำเภอกลางดง จังหวัดนครราชสีมา และต้นน้อยหน่าที่ปลูกในเรือนปลูกพืชทดลอง

2. เครื่องมือระบุพิกัดภูมิศาสตร์ (GPS) และแผนที่ภาพถ่ายดาวเทียม
3. อุปกรณ์เก็บตัวอย่างพืชเป็นโรค เช่น ถุงพลาสติก เลื่อยตัดกิ่ง กรรไกรตัดแต่งกิ่ง ฯลฯ
4. อาหารเลี้ยงเชื้อในห้องปฏิบัติการ เช่น PDA (potato dextrose agar) WA (water agar) ฯลฯ
5. อุปกรณ์ และเครื่องแก้วในห้องปฏิบัติการ
6. อุปกรณ์บันทึกผล เช่น กล้องถ่ายรูป, สมุดบันทึก, ปากกา

### วิธีปฏิบัติการทดลอง

1. สำรวจและติดตามอาการต้นน้อยหน่าที่มีอาการโรคกิ่งแห้ง ข้อมูลสวนน้อยหน่าในเขตอำเภอบางบาล และอำเภอกลางดง จังหวัดนครราชสีมา โดยทำเครื่องหมายต้นที่เริ่มแสดงอาการโรค พร้อมทำแผนที่ตำแหน่งต้นที่เป็นโรคในสวนด้วยเครื่องมือระบุพิกัดทางภูมิศาสตร์ (Global Positioning System หรือ GPS) ของต้นที่แสดงอาการโรค และนำข้อมูลมาเปรียบเทียบกับแผนที่ภาพถ่ายทางดาวเทียมเพื่อระบุตำแหน่ง

2. เก็บตัวอย่างพืชเป็นโรค บันทึกลักษณะอาการที่พบในแปลง ห่อตัวอย่างพืชเป็นโรคด้วยกระดาษเก็บตัวอย่าง ก่อนนำไปใส่ถุงพลาสติก ไม่มัดปาก นำตัวอย่างขึ้นเนื้อเยื่อเป็นโรคมายกหาเชื้อราสาเหตุโรคโดยใช้วิธี Tissue transplanting technique โดยตัดเนื้อเยื่อกลางกิ่งบริเวณที่เป็นโรคให้มีความยาวประมาณ 0.5 เซนติเมตร นำมาฆ่าเชื้อด้วยการแช่ในคลอโรกซ์ (clorox) 10 เปอร์เซ็นต์ นาน 3-5 นาทีและ ล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้งเพื่อล้างคลอโรกซ์ที่ยังตกค้างอยู่ที่ผิวพืชออก ซับด้วยกระดาษทิชชู่อ่อนก่อนนำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) บ่มเชื้อไว้ในอุณหภูมิห้องจนเชื้อราสร้างโคโลนี บันทึกลักษณะและสี

3. นำเชื้อราที่แยกได้มาทำการปลูกเชื้อกลับให้ต้นน้อยหน่าที่เลี้ยงไว้ในเรือนปลูกพืชทดลอง นำโคโลนีเชื้อราที่แยกได้มาทำการปลูกเชื้อให้ต้นน้อยหน่าปกติ โดยใช้กรรไกรตัดกิ่งที่แตกออกจากกิ่งใหญ่ ใช้ cork borer เจาะขึ้นรู้นที่มีเชื้อราเจริญวางทับไปบนกิ่งที่ตัด วางปิดทับด้วยสำลีที่ชุบน้ำนิ่งฆ่าเชื้อบิให้หมดก่อนใช้ พาราฟิล์มปิดทับ ติดตามอาการที่เกิดกับต้นปกติ เพื่อพิสูจน์โรค

### บันทึกข้อมูล

1. บันทึกติดตามตำแหน่งต้นน้อยหน่าในสวนที่แสดงอาการโรคกิ่งแห้ง
2. บันทึกลักษณะอาการโรคกิ่งแห้งน้อยหน่าที่พบ
3. บันทึกลักษณะและสีของโคโลนีเชื้อราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ
4. บันทึกผลการพิสูจน์โรคจากเชื้อราที่แยกได้แต่ละไอโซเลทที่นำไปปลูกเชื้อกลับให้ต้นน้อยหน่าปกติ

### เวลาและสถานที่

ระหว่างเดือนตุลาคม 2559 – กันยายน 2562

- สวนน้อยหน่าในเขตอำเภอบางบาลและอำเภอกลางดง จังหวัดนครราชสีมา
- กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

## 7. ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ต้นน้อยหน่าในสวนที่มีการติดตามอาการโรคกิ่งแห้ง เมื่อนำตำแหน่งต้นที่แสดงอาการโรคที่ได้จากการใช้เครื่องระบุพิกัดทางภูมิศาสตร์กำหนดตำแหน่งเปรียบเทียบกับภาพแผนที่ทางดาวเทียมของสวน พบว่าการเกิดโรคเกิดแบบกระจัดกระจาย แต่ต้นที่แสดงอาการโรคในภายหลัง จะอยู่ในบริเวณใกล้เคียงกับต้นที่เป็นโรคก่อนที่จะมีการตัดแต่งกิ่ง (ภาพที่ 1) อาการโรคกิ่งแห้งที่พบ เริ่มพบภายหลังจากมีการตัดแต่งกิ่ง โดยเชื้อเข้าทางบาดแผลของกิ่งที่ถูกตัด ทำให้ใบด้านบนของกิ่งย่อยใกล้เคียงที่แยกจากกิ่งใหญ่เดียวกันเกิดอาการเหี่ยวก่อนใบแห้งติดคากิ่งย่อยและตายทั้งกิ่ง อาการเหี่ยวแห้งขยายลุกลามไปกิ่งอื่นๆ ข้างเคียง ทำให้เกิดการตายของกิ่งขนาดใหญ่จนต้นน้อยหน่ายืนต้นตาย อาการโรคจะเกิดได้กับน้อยหน่าทุกช่วงอายุที่ได้รับการตัดแต่งกิ่งจากอุปกรณ์ที่ไม่ได้รับการฆ่าเชื้อหลังจากที่ใช้กับต้นเป็นโรคก่อนหน้า (ภาพที่ 2) เมื่อตัดกิ่งบริเวณที่เป็นโรคเพื่อดูอาการภายใน พบว่า เนื้อเยื่อบริเวณที่เชื้อเข้าทำลายกลายเป็นสีดำ เนื้อเยื่อภายในกิ่งนั้นที่อยู่ต่อลงมาซึ่งเป็นบริเวณท่อน้ำท่ออาหารถูกทำลายกลายเป็นสีดำด้วย ในขณะที่เนื้อเยื่อกิ่งย่อยข้างเคียงที่แสดงอาการเหี่ยวยังเป็นปกติแค่มีอาการแห้งเท่านั้น เช่นเดียวกับเนื้อเยื่อบริเวณที่อยู่ต่อจากรอยตัดที่เชื้อเข้าทำลายยังคงปกติแค่มีลักษณะแห้งเท่านั้น ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลายเนื้อเยื่อระบบท่อลำเลียงภายในกิ่งเฉพาะตำแหน่งที่กิ่งถูกตัด จนพืชไม่สามารถลำเลียงน้ำและอาหารไปเลี้ยงใบด้านบนได้ ทำให้ใบบริเวณด้านบนเหี่ยวเพราะขาดน้ำและอาหาร แต่เชื้อไม่ได้เข้าทำลายทั้งกิ่ง อาการเนื้อเยื่อเปลี่ยนสีจึงไม่ลุกลามไปทั้งกิ่ง มีแค่เฉพาะตำแหน่งที่เชื้อเข้าทำลายเท่านั้น (ภาพที่ 3)

2. นำตัวอย่างกิ่งที่แสดงอาการของโรคมายกหาเชื้อสาเหตุและเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้โคโลนีมีความแตกต่างกัน 2 แบบ (ภาพที่ 4) คือ

แบบที่ 1 โคโลนีสีเทาถึงสีเข้มเกือบดำ ขอบไม่แน่นอน เส้นใยมีลักษณะขึ้นฟูเล็กน้อยบริเวณตรงกลางที่มีสีเทาอ่อนกว่าเส้นใยบริเวณขอบ มีลักษณะเป็นเส้นตรงค่อนข้างแบนราบไปกับผิวหน้าอาหาร

แบบที่ 2 โคโลนีสีเข้มถึงดำ ขอบไม่แน่นอน เส้นใยบริเวณขอบมีลักษณะเป็นเส้นตรงค่อนข้างแบนราบไปกับผิวหน้าอาหาร

3. ทำการการพิสูจน์โรคโดยปลูกเชื้อกลับให้ต้นน้อยหน่าปกติ ขณะนี้กำลังอยู่ระหว่างติดตามอาการที่เกิดขึ้นกับต้นน้อยหน่าปกติที่ได้รับการปลูกเชื้อ เนื่องจากเชื้อที่แยกได้มีมากกว่า 1 ไอโซเลท จำต้องติดตามผลการเข้าทำลายพืชทุกไอโซเลท ก่อนตรวจสอบลักษณะสัญญาณวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ร่วมกับการจำแนกชนิดด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลเพื่อยืนยันเชื้อสาเหตุโรคที่ถูกต้องที่จะดำเนินการต่อไป

## 8. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ทำการสำรวจและติดตามอาการการระบาดของโรคกิ่งแห้งของน้อยหน่าในเขตอำเภอปากช่อง และอำเภอกางเขน จังหวัดนครราชสีมา ระหว่างเดือนตุลาคม 2559 – กันยายน 2562 เก็บตัวอย่างพืชเป็นโรคนำมาแยกในห้องปฏิบัติการ ผลการทดลองพบว่า จากการติดตามอาการในสวนน้อยหน่า พบว่าต้นน้อยหน่าที่แสดงอาการโรคกิ่งแห้งจะเกิดแบบกระจัดกระจาย เริ่มพบโรคภายหลังจากมีการตัดแต่งกิ่ง โดยเชื้อเข้าทางบาดแผลของกิ่งที่ถูกตัด ทำให้เนื้อเยื่อภายในถูกทำลายจนเกิดอาการเหี่ยวก่อนแห้งตายกิ่ง และอาการเหี่ยวขยายลุกลามไปกิ่งข้างเคียง ทำให้เกิดตายของกิ่งขนาดใหญ่จนต้นน้อยหน่ายืนต้นตาย อาการโรคเกิดได้กับ

น้อยหน้าทุกช่วงอายุที่ได้รับการตัดแต่งกิ่งจากอุปกรณ์ที่ไม่ได้รับการฆ่าเชื้อหลังจากที่ใช้กับต้นเป็นโรคก่อนหน้า และกำลังอยู่ระหว่างการปลูกเชื้อที่แยกได้แต่ละไอโซเลทให้ต้นปกติเพื่อพิสูจน์โรค ก่อนจะจำแนกชนิดเชื้อด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลเพื่อหาเชื้อสาเหตุโรคที่ถูกต้อง

## 9. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ข้อมูลได้จากการติดตามอาการโรค ลักษณะการแพร่ระบาดของโรคกิ่งแห้งในพื้นที่ปลูกน้อยหน้า และข้อมูลเชื้อสาเหตุโรคที่ถูกต้อง จะนำไปใช้เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการหาวิธีป้องกันกำจัดโรคที่เหมาะสม เสริมเพิ่มเติมให้เกิดแนวทางการจัดการและผลิตน้อยหน้าที่มีประสิทธิภาพต่อไป

## 10. คำขอบคุณ (ถ้ามี)

## 11. เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2014. ฐานข้อมูลน้อยหน้าในจังหวัดนครราชสีมา.

[http://it.doa.go.th/sugarapple/index.php?option=com\\_content&view=frontpage&Itemid=1](http://it.doa.go.th/sugarapple/index.php?option=com_content&view=frontpage&Itemid=1)  
เรืองศักดิ์ กมขุนทด และกวีศร์ วานิชกุล. 2552. พันธุ์น้อยหน้าและน้อยหน้าลูกผสมในประเทศไทย และ  
แนวทางการผลิตน้อยหน้าและน้อยหน้าลูกผสมตามระบบเกษตรดีที่เหมาะสม (GAP). โปสเตอร์  
เผยแพร่ในงานนิทรรศการงานวิจัย “บนเส้นทางงานวิจัยของมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ ปี 2552”  
ระหว่างวันที่ 30 มกราคม–7 กุมภาพันธ์ 2552 ณ อาคารจักรพันธ์เพ็ญศิริฯ มหาวิทยาลัย  
เกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. [http://www.rdi.ku.ac.th/kasetresearch52/04-ylant/ruangsak/plant\\_00.html](http://www.rdi.ku.ac.th/kasetresearch52/04-ylant/ruangsak/plant_00.html) (เข้าถึงข้อมูล 30 มีนาคม 2555)

Haggag, W.M. and M.A. Nofal. 2005. Improving biological control of *Botryodiplodia* disease in some *Annona* cultivars by combining biological agents in Egypt. *Biological Control* 38 (3):341-349. (abstract in English)

Ploetz, R.C., 2003. Diseases of atemoya, cherimoya, soursop, sugar apple and related fruit crops. Pages 21-34 In *Diseases of Tropical Fruit Crops*. Ploetz, R.C. (ed.) CABI Publishing. CAB International Wallingford. UK. 527 p.

Togawa, M. and A. Nomura. 1998. Dieback of Atemoya caused by *Fusarium decemcellulare* Brick. *Annual of Phytopathological Society of Japan* 64(3):217-220. (abstract in English) cited by Internatioal Centre for Underutilised Crops (ICUC). *Annotated Bibliography of Annona (1990-2004)*

Weinart, M.P., Smith, B.N., Wagels, G. Hutton, D., and A. Drenth. 1999. First record of *Phytophthora capsici* from Queensland. *Australian Plant Pathology* 28(1):93. cited by Internatioal Centre for Underutilised Crops (ICUC). *Annotated Bibliography of Annona (1990-2004)*

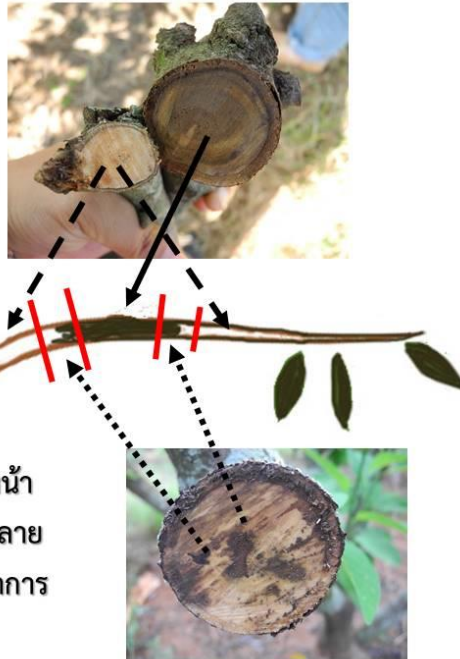


ภาพที่ 1 ภาพถ่ายทางดาวเทียมแสดงต้นน้อยหน่าเป็นโรคกิ่งแห้งที่พบในสวนน้อยหน่า  
ในอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา



ภาพที่ 2 แผนที่ดินเป็นโรคที่พบในสวน และอาการกิ่งแห้งที่เกิดบนต้นน้อยหน่า เริ่มจากอาการเหี่ยวของกิ่งที่  
เชื้อเข้าทางรอยถูกตัดแต่ง ทำให้กิ่งย่อยข้างเคียงที่แยกออกมาจากกิ่งใหญ่เดียวกันเริ่มเหี่ยวแห้งตายก่อนขยาย  
ลุกลามจนต้นน้อยหน่ายืนต้นตาย

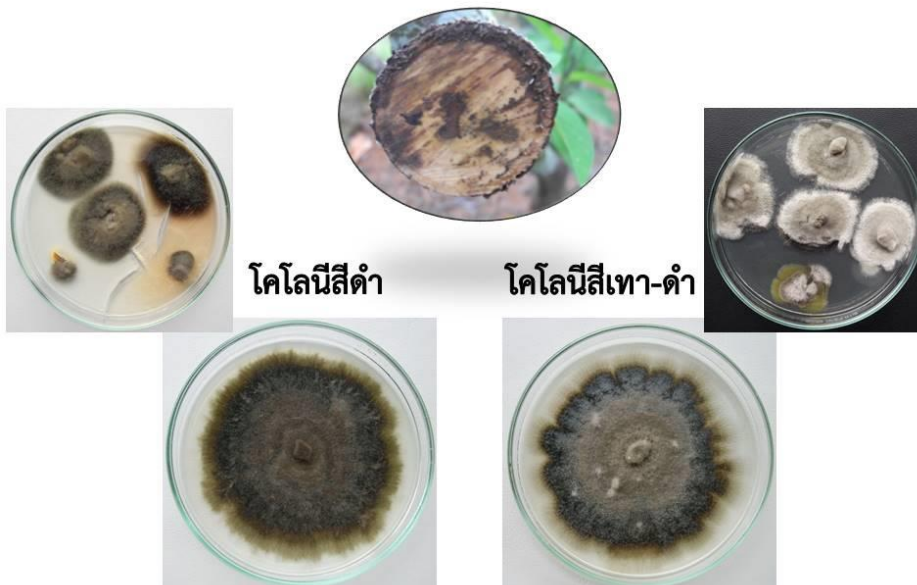
### ลักษณะแผลภายในลำต้น



เชื้อสาเหตุเข้าทางกิ่งที่ตัดแต่งก่อนหน้านี้  
ไปตามท่อลำเลียงกิ่งข้างเคียงและทำลาย  
เนื้อเยื่อภายในจนเสียหายทำให้เกิดอาการ  
แห้งตายลุกลามติดต่อกันทั้งต้น

ภาพที่ 3 ลักษณะเนื้อเยื่อภายในกิ่งที่ถูกเชื้อเข้าทำลายกลายเป็นสีดำ ในขณะที่กิ่งข้างเคียงเนื้อเยื่อบริเวณที่อยู่  
ต่อลงมาหรืออยู่เหนือขึ้นไปจากรอยตัดยังเป็นปกติ

### เชื้อสาเหตุที่แยกได้จากแผลภายในกิ่งที่พบอาการ



โคโลนีสีดำ

โคโลนีสีเทา-ดำ

ภาพที่ 4 ลักษณะโคโลนีเชื้อสาเหตุโรคที่แยกได้จากเนื้อเยื่อภายในกิ่งที่แสดงอาการโรคกิ่งแห้ง