

รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองที่สิ้นสุด

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

4. บทคัดย่อ

จากตัวอย่างกิ่งน้อยหน้าที่มีอาการกิ่งแห้งซึ่งเก็บรวบรวมได้จากสวนในพื้นที่ปลูกเขตอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมาที่พบการระบาดของโรค ผลการแยกเชื้อและเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA (potato dextrose agar) โดยใช้วิธี tissue transplanting ได้เชื้อราที่คาดว่าจะสาเหตุอาการโรคที่มีลักษณะโคโคนี้แตกต่างกัน 2 แบบ ระหว่างนี้กำลังอยู่ในขั้นตอนการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุภายใต้กล้องจุลทรรศน์และการพิสูจน์โรคโดยปลูกเชื้อกลับไปต้นน้อยหน้าปกติ

คำสำคัญ : น้อยหน้า, โรคกิ่งแห้ง, การแพร่ระบาด

Some samples of dieback disease of annona were collected from Pakchong district in Nakhon Ratchasima province. Infected parts of plant were isolated and cultured on PDA (potato dextrose agar) media by tissue transplanting technique in laboratory. There were two types of difference colony. To isolated, identified and diagnosed pathogen by retransplanting back to the normal plants to determine the correct causing agent wrer in progress.

Keywords : annona, dieback, disease epidemic

5. คำนำ

น้อยหน่าหรือ sugar apple หรือ sweetsop มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Annona squamosa* L. อยู่ในตระกูล Annonaceae มีพืชที่มีลักษณะใกล้เคียงและอยู่ในวงศ์เดียวกันอีก 3 ชนิดคือ cherimoya (*A. cherimoya* Mill.), soursop (*A. muricata* L.) และ custard apple (*A. reticulata* L.) มีถิ่นกำเนิดอยู่ทางใต้ของทวีปแอฟริกา จัดเป็นไม้ผลยืนต้นกิ่งเมืองร้อน ผลัดใบขนาดเล็ก ทรงพุ่มขนาดกลาง ลำต้นมีความสูงประมาณ 2–5 เมตร สามารถเจริญเติบโตได้ในดินเกือบทุกประเภทแถบร้อนชื้น (tropic) แต่ดินต้องมีการระบายน้ำดี (de Q. Pinto *et al.*, 2005) เป็นพืชส่งออกในรูปผลสดที่มีศักยภาพอีกพืชหนึ่ง ทำรายได้เข้าประเทศปีละหลายสิบล้าน น้อยหน่าปลูกมากในเขตจังหวัดนครราชสีมา ชัยภูมิ สระบุรี เพชรบูรณ์ มหาสารคาม ร้อยเอ็ด (พันธิตร, 2549) น้อยหน่าในประเทศไทยที่ปลูกกันอยู่ในปัจจุบันมี 2 ประเภท คือ น้อยหน่าพื้นบ้าน ได้แก่ น้อยหน่าหนังและน้อยหน่าฝ้าย มีพื้นที่ปลูกประมาณร้อยละ 75 อีกประเภทหนึ่งได้แก่ น้อยหน่าลูกผสม เช่น น้อยหน่าพันธุ์เพชรปากช่อง และพันธุ์ออสเตรเลีย เป็นต้น มีพื้นที่ปลูกประมาณร้อยละ 25 แหล่งปลูกน้อยหน่าในเชิงการค้าที่สำคัญอยู่ที่อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา (กรมวิชาการเกษตร, 2014) และการปลูกแบบพอมเพียง พบที่ตำบลด่านคล้า อำเภอโนนสูง จังหวัดนครราชสีมา (รัชดา และคณะ, 2556)

ปัญหาที่สำคัญในการผลิตน้อยหน่านอกจากปัญหาเรื่องแมลงศัตรูพืชคือเพลี้ยแป้ง (ขมัยพร และคณะ, 2556) แล้วปัญหาด้านโรคพืชชนิดต่างๆ ซึ่งพบการแพร่ระบาดเสมอในสวนก็เป็นปัญหาที่สำคัญ นอกจากนี้เมื่อมีการระบาดของโรคในสวนใดสวนหนึ่ง ก็มักพบว่าการแพร่ระบาดต่อไปยังสวนข้างเคียงด้วย ทำให้ผลผลิตเสียหายและมีคุณภาพ (เรื่องศักดิ์และกวีศรี, 2552) เชื้อราสาเหตุโรคมียะเร็งรายงานว่าทำให้เกิดอาการ 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 antemoya ซึ่งเป็นพันธุ์ที่ได้จากการผสมระหว่าง *Annona squamosa* และ *A. cherimora* (Togawa and Nomura, 1998) และพบรายงานว่าเชื้อรา *Botryodiplodia theobromae* เป็นสาเหตุของโรค dieback ของพืชในพันธุ์ *Annona* ในประเทศอียิปต์ (Haggag and Nofal, 2005)

ในปัจจุบัน กรมวิชาการเกษตรได้รวบรวมฐานข้อมูลผู้ปลูกน้อยหน่าในเขตจังหวัดนครราชสีมา มีการจัดข้อมูลเป็นหมวดหมู่ จัดทำเป็นเว็บไซต์ให้สามารถเข้าถึงข้อมูลสะดวก เข้าใจง่าย และใช้งานได้จริง มีการเชื่อมต่อหน่วยงานหรือแหล่งข้อมูลอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น ข้อมูลอุตุวิทยามหาวิทยาลัยเกษตรบุรีรัมย์ และข้อมูลจังหวัด เป็นต้น ช่วยในการตัดสินใจและวางแผน ใช้งานได้ทันเวลา (กรมวิชาการเกษตร, 2014) ดังนั้นการสำรวจหาพื้นที่และรูปแบบการแพร่ระบาด และการศึกษาเชื้อสาเหตุโรคพืช จะเป็นข้อมูลเสริมเพิ่มเติมให้เกิดแนวทางการจัดการและผลิตน้อยหน่าที่มีประสิทธิภาพต่อไป

6. วิธีดำเนินการ

สิ่งที่ใช้ในการทดลอง

1. น้อยหน่าที่ปลูกในเขตอำเภอปากช่อง และอำเภอกกลางดง 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 ข้อมูลสวนน้อยหน่าในเขตอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 5 สวน พร้อมทำแผนที่ระบุพิกัดทางภูมิศาสตร์ (Global Positioning System หรือ GPS) ของสวนที่มีต้นที่แสดงอาการโรค และนำข้อมูลมาเปรียบเทียบกับแผนที่ภาพถ่ายทางดาวเทียมเพื่อระบุตำแหน่ง

2. เก็บตัวอย่างพืชเป็นโรค บันทึกลักษณะอาการที่พบในแปลง ห่อตัวอย่างพืชเป็นโรคด้วยกระดาษเก็บตัวอย่าง ก่อนนำไปใส่ถุงพลาสติก ไม่มัดปาก นำตัวอย่างชิ้นเนื้อเยื่อเป็นโรคมายกหาเชื้อราสาเหตุโรคโดยใช้วิธี 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 วางปิดทับด้วยสำลีที่ชุบน้ำนิ่งฆ่าเชื้อบิบให้หมดก่อนใช้ พาราฟิล์มปิดทับ ติดตามอาการที่เกิดกับต้นปกติ เพื่อพิสูจน์โรค

บันทึกข้อมูล

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

เวลาและสถานที่

ระหว่างเดือนตุลาคม 2559 – กันยายน 2561

- สวนน้อยหน่าในเขตอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา
- กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ

7. ผลการทดลองและวิจารณ์

- (1) การสำรวจและเก็บข้อมูลการแพร่ระบาดของโรค

การสำรวจและเก็บข้อมูลการแพร่ระบาดของโรคกิ่งแห้งของน้อยหน่า ในพื้นที่ปลูกเขตอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา ระหว่างเดือนธันวาคม 2559 – สิงหาคม 2560 ที่พบการระบาด พบว่าจำนวน 5 สวนเดิมที่พบตัวอย่าง มีการไถเกรดพื้นที่ ถอนหรือต้นน้อยหน่าทั้งหมดทั้งแปลงเพื่อปลูกใหม่ จึงไม่มีผลติดตามการแพร่ระบาดในปี 2560

(2) การแยกหาเชื้อสาเหตุโรค

นำตัวอย่างกิ่งที่แสดงอาการของโรคมานำมาแยกหาเชื้อสาเหตุและเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้โคโลนีมีความแตกต่างกัน 2 แบบ คือ

แบบที่ 1 ลักษณะขึ้นฟู สีเทา ตรงกลางโคโลนีมีสีเข้มกว่าเส้นใยบริเวณขอบ (ภาพที่ 1A)

แบบที่ 2 ลักษณะขึ้นฟูเล็กน้อย สีดำ (ภาพที่ 1B)

กำลังอยู่ระหว่างจำแนกลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และรอพิสูจน์โรคโดยการปลูกเชื้อกลับไปต้นน้อยหน่าปกติ



ภาพที่ 1A



ภาพที่ 1B

3. ทำการการพิสูจน์โรคโดยปลูกเชื้อกลับไปต้นน้อยหน่าปกติ ขณะนี้กำลังอยู่ระหว่างติดตามอาการที่เกิดขึ้นกับต้นน้อยหน่าปกติที่ได้รับการปลูกเชื้อ เนื่องจากเชื้อที่แยกได้มีมากกว่า 1 ไอโซเลท จำต้องติดตามผลการเข้าทำลายพืชทุกไอโซเลท ก่อนตรวจสอบลักษณะสัญญาณวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ร่วมกับการจำแนกชนิดด้วยเทคนิคทางชีวโมเลกุลเพื่อยืนยันเชื้อสาเหตุโรคที่ถูกต้องที่จะดำเนินการต่อไป

8. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สำรวจและเก็บข้อมูลการแพร่ระบาดของโรคกิ่งแห้งของน้อยหน่า ในพื้นที่ปลูกเขตอำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา ระหว่างเดือนธันวาคม 2559 – สิงหาคม 2560 จำนวน 5 สวนที่พบการระบาด มีการไถเกรดพื้นที่ ถอนหรือต้นน้อยหน่าทั้งหมดทั้งแปลงเพื่อปลูกใหม่ จึงไม่มีผลการติดตามการแพร่ระบาดในปี 2560 ผลการแยกและเลี้ยงเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้เชื้อราที่คาดว่าจะสาเหตุอาการโรคที่มีลักษณะโคโลนี

แตกต่างกัน 2 แบบ ระหว่างนี้กำลังอยู่ในขั้นตอนการจำแนกชนิดของเชื้อสาเหตุภายใต้กล้องจุลทรรศน์และการพิสูจน์โรคโดยปลูกเชื้อกลับไปต้นน้อยหน่าปกติ

9. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ข้อมูลได้จากการติดตามอาการโรค ลักษณะการแพร่ระบาดของโรคกิ่งแห้งในพื้นที่ปลูกน้อยหน่า และข้อมูลเชื้อสาเหตุโรคที่ถูกต้อง จะนำไปใช้เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการหาวิธีป้องกันกำจัดโรคที่เหมาะสมเสริมเพิ่มเติมให้เกิดแนวทางการจัดการและผลิตน้อยหน่าที่มีประสิทธิภาพต่อไป

10. คำขอบคุณ (ถ้ามี)

11. เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2014. ฐานข้อมูลน้อยหน่าในจังหวัดนครราชสีมา.

http://it.doa.go.th/sugarapple/index.php?option=com_content&view=frontpage&Itemid=1

พันธิ์ตร มะลิสุวรรณ (บก.). 2549. คู่มือการเพิ่มผลผลิต ชุด การปลูกน้อยหน่าปลอดสารพิษและวิธีเพิ่มผลผลิตอีกเท่าตัว. บริษัท สำนักพิมพ์ ยูทิลิตี้ จำกัด. กรุงเทพฯ. 73 หน้า

รัชดา ปรัชเจริญวิชัย สายชล แสงแก้ว เบญจมาศ คำสีบ ญัฐสิทธิ์ อยู่เย็น สุรียพร ม้ากระโทก ปัญจพร เลิศรัตน์ ชมัยพร บัวมาศ พวงผกา อ่างมณี ประภัสสร เขยคำแหง พจนา ตระกูลสุจริตน์ กฤษณา ทวีศักดิ์ วิชิตชัย คุรุวรรณ ภามาตย์ รัชดาวัลย์ อัมมินทร์ จำลอง กรัมย์ และอุดม คำชา. 2557. วิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตน้อยหน่าคุณภาพในจังหวัดนครราชสีมา. แก่นเกษตร 42 (ฉบับพิเศษ 2) : 175-182.

เรืองศักดิ์ กมขุนทด และกวิศร์ วานิชกุล. 2552. พันธุ์น้อยหน่าและน้อยหน่าลูกผสมในประเทศไทย และแนวทางการผลิตน้อยหน่าและน้อยหน่าลูกผสมตามระบบเกษตรที่ดีที่เหมาะสม (GAP). โปสเตอร์เผยแพร่ในงานนิทรรศการงานวิจัย “บนเส้นทางงานวิจัยของมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ ปี 2552” ระหว่างวันที่ 30 มกราคม–7 กุมภาพันธ์ 2552 ณ อาคารจักรพันธ์เพ็ญศิริ มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. http://www.rdi.ku.ac.th/kasetresearch52/04-ylant/ruangsak/plant_00.html (เข้าถึงข้อมูล 30 มีนาคม 2555)

de Q. Pinto, A.C., Cordeiro, M.C.R., de Andrade, S.R.M., Ferreira, F.R., de C. Filgueiras, H.A., Alves, R.E., and D.I. Kinpara. 2005. *Annona Species*. Williams, J.T., Smith, R.W., Hughes, A., Haq, N., and C.R. Clement (eds.). 2005. *Annona :1. Tropical Fruit Trees*. International Centre for Underutilised Crops, University of Southampton, Southampton, UK.284 p.

- 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 International 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 International Centre for Underutilised Crops (ICUC). Annotated Bibliography of Annona (1990-2004)