

การศึกษาวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* Tropical Race 4 (Foc TR4) สาเหตุโรครตายพรายในกล้วยหอมคาเวนดิช
Study on Efficient Treatments for Controlling Pathogenic *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* Tropical Race 4 (Foc TR4) Causing Fusarium Wilt of Cavendish Banana

เทอดพันธ์ ธรรมรัตน์พงษ์^{1/*} ภัสชญภณ หมื่นแจ้ง^{1/} อัครลี นามวงษ์^{1/} สัจจิรา สุวรรณคดี^{1/}
Thurdpan Tummarattanapong^{1/*} Phatchayaphon Meurchang^{1/}
Utchalee Namvong^{1/} Sujitra Suwankadee^{1/}

Received 17 Nov 2020/Revised 10 Jan 2021/Accepted 16 Apr 2021

ABSTRACT

The effective treatments for controlling Fusarium wilt in Cavendish banana were investigated. The objective of the study was to compare the efficacy of biological, chemical and natural material treatments for controlling pathogenic *Fusarium oxysporum* f.sp. *cabense* Tropical race 4 (Foc TR4) causing Fusarium wilt in Cavendish banana, at Chiangsaen Plant Quarantine Station, Chiang Rai Province from October 2020 to September 2021. Results revealed that all 5 treatments namely, calcium oxide, CaO (1 g/200 ml), ashes (1 g/200 ml), *Trichoderma harzianum*-DOA (10^7 spores/ml), *Bacillus subtilis* (3 g/L) and captan (3 g/L) were effective in controlling Foc TR4. Treated plants showed 35% - 50% disease severity which was statistically significant ($p \leq 0.01$) different from 100 % disease incidence of the control treatment that received only Foc TR4 inoculation. Rhizosphere soil samples of each treatment were determined for the population of Foc TR4. Results showed that in treated soils the population of Foc TR4 was ranged from 1.8×10^2 to 25×10^2 CFU/g whereas the population of Foc TR4 control treatment was 1.3×10^3 CFU/g. Results of the experiment suggested that, adding calcium oxide, ash, *T. harzianum*-DOA, *B. subtilis* or captan in the bottom of the pit or mixing the soil around the Cavendish banana alone or in combination would reduce the severity of Fusarium wilt.

Keywords: *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* Tropical race 4, Fusarium wilt, Cavendish Banana

บทคัดย่อ

การทดสอบวิธีการควบคุมโรคตายพรายในกล้วยหอมคาเวนดิช มีวัตถุประสงค์ เพื่อเปรียบเทียบ ประสิทธิภาพการใช้สารชีวภาพ สารเคมี และ การใช้วัสดุธรรมชาติ ในการควบคุมเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cabense* Tropical race 4 (Foc TR4) สาเหตุโรครตายพรายในกล้วยหอมคาเวนดิช ณด่านตรวจพืชเชียงใหม่ เชียงราย ระหว่างเดือน ตุลาคม 2562 - กันยายน 2563 การทดสอบประสิทธิภาพ ในการควบคุมเชื้อรา Foc TR4 ในต้นกล้วยหอมคาเวนดิชในสภาพโรงเรือน พบว่า กรรมวิธี 5 วิธี ได้แก่

^{1/} สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร กรมวิชาการเกษตร แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

^{1/*} The Office of Agricultural Regulation, Department of Agriculture, Lat Yao, Chatuchak, Bangkok, 10900

*Corresponding author: thurdpan.tum@gmail.com

1) การใช้ calcium oxide, CaO (1 ก./200 มล.)
 2) ชี้เถ้า (1 ก./200 มล.) 3) เชื้อรา *Trichoderma harzianum*-DOA (10^7 สปอร์/มล.) 4) แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* (3 ก./ล.) และ 5) สารเคมี captan (3 ก./ล.) มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา Foc TR4 โดยพบเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงของโรคตายพราย เพียง 35 - 50% ซึ่งให้ผลการควบคุมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$) จากชุดควบคุมที่ใส่เฉพาะเชื้อรา Foc TR4 เพียงอย่างเดียว โดยพบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคตายพราย 100% เมื่อนำดินบริเวณรอบรากกล้วยหอมคาเวนดิชแต่ละกรรมวิธีข้างต้น มาตรวจปริมาณเชื้อรา Foc TR4 พบปริมาณเชื้อรา $1.8 \times 10^2 - 2.5 \times 10^2$ CFU/g เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใส่เฉพาะเชื้อรา Foc TR4 เพียงอย่างเดียว จะพบปริมาณเชื้อรา สูงถึง 1.3×10^3 CFU/g แนวทางควบคุมและป้องกันโรคตายพรายสามารถทำได้โดยการใส่ปูนขาว ชี้เถ้า เชื้อรา *T. harzianum*-DOA แบคทีเรีย *B. subtilis* หรือสารเคมี captan รองกันหลุมหรือคลุกดินรอบต้นกล้วย ด้วยวิธีใดวิธีหนึ่งหรือการใช้ร่วมกัน จะช่วยปรับสภาพดินไม่เหมาะสมต่อการงอกของสปอร์ของเชื้อรา Foc TR4 ที่จะเข้าทำลายต้นกล้วยหอมคาเวนดิชได้

คำสำคัญ: *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical race 4, โรคตายพราย, กล้วยหอมคาเวนดิช

บทนำ

กล้วยหอมคาเวนดิช (*Musa acuminata*) มีการบริโภคปีละประมาณ 100 - 120 ล้านตัน มูลค่าการบริโภคทั่วโลก มากกว่าล้านล้านบาท โดยประเทศที่มีการปลูกกล้วยหอมคาเวนดิชมาก คือ เอกวาดอร์ ฟิลิปปินส์ และอเมริกาใต้ และประเทศผู้นำเข้ารายใหญ่ คือ อเมริกา ยุโรป และสาธารณรัฐประชาชนจีน (Ghag *et al.*, 2015) สำหรับประเทศไทย เริ่มมีการส่งเสริมการปลูกกล้วยหอมคาเวนดิชในหลายภูมิภาค อย่างไรก็ตาม กล้วยหอมคาเวนดิชจะมีความอ่อนแอต่อโรคกล้วยตายพราย (*Fusarium wilt*) หรือ โรคปานามา (Panama disease) ที่มีสาเหตุเกิดจากเชื้อราในดิน (soil-borne) ชื่อ *Fusarium oxysporum* f. sp.

cubense (Foc.) Tropical race 4 (Foc TR4) (Ploetz, 2005) เชื้อราเข้าสู่พืชโดยผ่านทางราก และเจริญเพิ่มจำนวนในท่อลำเลียงน้ำ (xylem) ทำให้เชื้อราไปขัดขวางการส่งผ่านน้ำและสารอาหารภายในต้นกล้วย ต้นกล้วยจะแสดงอาการเหี่ยว โดยเริ่มจากใบแก่ด้านบนจะเหลืองและค่อยหักพับลง จนในที่สุดกล้วยจะยืนต้นตาย อาการโรครากในลำต้นเทียมจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือสีม่วงเข้ม เชื้อรา Foc TR4 มีความสามารถงอกอยู่ในดินได้หลายสิบปี มีพืชอาศัยหลายชนิด องค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAO)) จึงจัดให้เป็นเชื้อโรคพืชชนิดร้ายแรง ที่จะก่อให้เกิดโรคกับกล้วยทุกสายพันธุ์ โดยเฉพาะกล้วยหอมคาเวนดิช ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีความอ่อนแอต่อโรคตายพรายสูงมาก (Luis *et al.*, 2014) จากการศึกษาวิธีการป้องกันกำจัด เชื้อรา Foc TR4, Laith and Shaymaa (2018) รายงานว่า การป้องกันกำจัดดำเนินการได้ยากมีเพียงแต่การใช้วิธีการป้องกันและการควบคุม โดยปรับสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการงอกของสปอร์เชื้อราที่เข้าทำลายกล้วยหอมเท่านั้น การใช้วิธีควบคุมและการป้องกันโรคตายพรายของกล้วย มีผู้ศึกษาหลายวิธีการ โดยเฉพาะการใช้วิธีทางชีวภาพ Mohammed *et al.* (2011) ทดลองใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* ควบคุมรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* ในการควบคุมโรคตายพราย ในกล้วยหอม Al-Ani (2017) พบว่า แบคทีเรีย *Bacillus subtilis* และ เชื้อรา *Trichoderma harzianum* และ *T. parareesei* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา Foc TR4 ในห้องปฏิบัติการได้ เช่นเดียวกับ อภิรัชต์และคณะ (2556) ทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *T. harzianum* ในการควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* ในสภาพแปลงปลูก พบว่า ต้นกล้วยที่ปลูกในดินหลังคลุกเชื้อราปฏิปักษ์ 3 เดือน จะไม่พบอาการเหลืองของใบล่างเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้คลุกดินด้วยเชื้อรา *T. harzianum* จะพบอาการตายพรายเกิดขึ้น นอกจากนี้ มีรายงานการใช้สารเคมี azoxystrobin, carbendazim, propiconazole (Ram *et al.*, 2012) และ captan (Bhimani *et al.*, 2018) ในการ

ควบคุมโรคตายพราย และการควบคุมด้วยวิธีธรรมชาติ Hper et al. (1995) ได้ใช้ Calcium oxide (CaO) ความเข้มข้น 175 - 280 มก./กก. รองกันหลุมและโรยรอบโคนต้นกล้วย สามารถลดอัตราการเกิดโรคกล้วยตายพรายในกล้วยคาเวนดิชได้ ทั้งนี้ พบว่า CaO ช่วยลดความงอกของ Chlamydospores ของเชื้อรา Foc TR4 ได้ เช่นเดียวกับ Peng et al. (1999) ทดลองใช้ Calcium carbonate (CaCO₃), Calcium hydroxide (Ca(OH)₂), Calcium sulphate (CaSO₄), Iron chelates เช่น Fe-EDDHA ผสมในดินปลูกกล้วย พบว่า ช่วยลดความงอกของสปอร์ Foc TR4 และลดความรุนแรงของอาการโรคกล้วยตายพรายได้จากความสำคัญและปัญหาโรคตายพรายของกล้วยหอมคาเวนดิชทางภาคเหนือของไทย ผู้วิจัยมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพ การใช้วิธีชีวภาพ การใช้สารเคมี และการใช้วัสดุธรรมชาติ ในการควบคุมเชื้อรา Foc TR4 สาเหตุโรคตายพรายในกล้วยหอมคาเวนดิช เพื่อส่งเสริมให้เกษตรกรนำไปใช้ป้องกันการเกิดโรคตายพรายในกล้วยหอมคาเวนดิช ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การศึกษาลักษณะพื้นฐานของเชื้อรา Foc TR4 สาเหตุโรคกล้วยตายพรายในกล้วยหอมคาเวนดิช

สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร และสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร ได้ร่วมกันเก็บตัวอย่างกล้วยหอมคาเวนดิชที่แสดงอาการเหี่ยว จากสวนกล้วย ต.เม็ญราย อ.พญาเม็ญราย จ.เชียงราย โดยสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชเป็นผู้ตรวจวินิจฉัยเชื้อรา ด้วยวิธี duplex PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่มีความจำเพาะเจาะจงสูงกับ Foc TR4 ที่เป็นสาเหตุโรคตายพรายในกล้วยหอมคาเวนดิช จากนั้น จึงนำเชื้อรา Foc TR4 ที่ตรวจวินิจฉัยยืนยันแล้ว มาศึกษาลักษณะพื้นฐานของบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) ได้แก่ ลักษณะโคโลนี และสีของโคโลนี การสร้าง Macroconidia, Microconidia, Conidiophore และ Chlamydospores ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

2. การทดสอบประสิทธิภาพของวิธีการต่าง ๆ ในการควบคุมเชื้อรา Foc TR4 สาเหตุโรคตายพรายในกล้วยหอมคาเวนดิช

ปลูกต้นกล้วยหอมคาเวนดิช อายุ 1 เดือน ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ลงในกระถางพลาสติก ขนาด 17 นิ้ว (กว้าง 43 ซม. สูง 31 ซม.) ที่นึ่งฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำเป็นเวลา 72 ชม. บรรจุดินฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 6 กก./กระถาง แล้วหุ้มกระถางด้วยถุงดำ (กว้าง 45 ซม. สูง 60 ซม.) วางกระถางปลูกพืชไว้ในโรงเรือนทดลอง ณ ด่านตรวจพืชเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ เป็นเวลา 2 อาทิตย์ เพื่อให้ต้นกล้วยปรับสภาพภายในโรงเรือนปลูกเตรียม สารละลาย Calcium oxide (CaO) อัตรา 1 ก./ 200 มล. น้ำซีเถ้า อัตรา 1 ก./ 200 มล. เชื้อรา *Trichoderma harzianum* – DOA (ได้รับความอนุเคราะห์จากสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร) ที่ระดับความเข้มข้นของสารแขวนลอยของสปอร์ที่ 10⁷ สปอร์/มล. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* (Bionbac) อัตรา 3 ก./น้ำ 1 ล. และสารเคมีกำจัดโรคพืช captan อัตรา 3 ก./น้ำ 1 ล. และเตรียมสารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา Foc TR4 ที่ระดับความเข้มข้นของ 10⁶ สปอร์/มล. ตามวิธีการของ Luis et al. (2014) วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCB) จำนวน 4 ซ้ำ 7 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 สารละลาย Calcium oxide (CaO) (200 มล.) + สารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา Foc TR4 (200 มล.)

กรรมวิธีที่ 2 น้ำซีเถ้า (200 มล.) + สารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา Foc TR4 (200 มล.)

กรรมวิธีที่ 3 สารแขวนลอยสปอร์ *T. harzianum* (200 มล.) + สารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา Foc TR4 (200 มล.)

กรรมวิธีที่ 4 สารละลาย *B. subtilis* (Biobac) (200 มล.) + สารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา Foc TR4 (200 มล.)

กรรมวิธีที่ 5 สารละลาย captan (200 มล.) + สารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา Foc TR4 (200 มล.)

กรรมวิธีที่ 6 สารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา Foc TR4 (200 มล.) + น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ (200 มล.) (Positive Control)

กรรมวิธีที่ 7 น้ำนึ่งฆ่าเชื้อ (400 มล.) (Negative Control)

นำสารละลาย Calcium oxide (กรรมวิธีที่ 1), น้ำซี้เก่า (กรรมวิธีที่ 2), สารแขวนลอยสปอร์เชื้อรา *T. harzianum* (กรรมวิธีที่ 3), สารแขวนลอยแบคทีเรีย *B. subtilis* (กรรมวิธีที่ 4), สารละลาย captan (กรรมวิธีที่ 5) และน้ำนึ่งฆ่าเชื้อ (กรรมวิธีที่ 7) ทั้ง 6 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 200 มล. มาเทราดบริเวณโคนต้นกล้วยหอมคาเวนดิช ที่ปลูกในกระถางก่อนเป็นเวลา 24 ชม. หลังจากนั้น จึงนำสารแขวนลอยเชื้อรา Foc TR4 ที่ระดับความเข้มข้นของ 10^6 สปอร์/มล. ปริมาตร

200 มล. เทราดบริเวณโคนต้นกล้วยหอมคาเวนดิช ในทุกกรรมวิธีทดลอง (ยกเว้นกรรมวิธีที่ 7) แล้ว หุ้มกระถางทดลองทั้งหมดด้วยพลาสติกเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากภายนอก จากนั้นนำกระถางไปวางไว้ในโรงเรือนปลูก ในที่มีแสงแดดส่องถึง ตามแผนการทดลองที่วางไว้ ดำเนินการทดลองเดือนตุลาคม 2562 ถึงเดือนกันยายน 2563 บันทึกข้อมูล โดยทำการประเมินความรุนแรงของอาการโรคตายพรายของกล้วยทุกเดือน การให้คะแนนตามระดับความรุนแรงของโรค (Disease class) ดังแสดงใน (Table 1)

Table 1 Disease class for evaluation Fusarium wilt of banana based on external symptoms

Disease class	External Symptoms
1	No symptoms
2	Initial yellowing mainly in the lower leaves
3	Yellowing of all the lower leaves with some discoloration of younger leaves
4	All leaves with intense yellowing
5	Banana dead

นำคะแนนการเกิดโรคแต่ละระดับ มาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรค (Disease severity index; % DSI) โดยใช้สูตร ดังนี้

$$\% \text{ DSI} = \sum \left(\frac{N_i \times V_i}{N \times V} \right) \times 100$$

เมื่อ N_i = จำนวนต้นที่แสดงการเกิดโรคตายพรายในแต่ละระดับ,
 V_i = ระดับการเกิดโรค (1, 2, 3, 4 หรือ 5)
 N = จำนวนต้น
 V = ระดับอาการโรคสูงสุด

นำค่าเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรคในแต่ละกรรมวิธีมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-Way ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 %

3. การศึกษาปริมาณเชื้อรา Foc TR4 บริเวณรอบรากกล้วยหอมคาเวนดิช

เก็บตัวอย่างดินบริเวณราก (rhizosphere soil) ของต้นกล้วยคาเวนดิช ปริมาณกระถางละ 100 ก. ในแต่ละกรรมวิธี หลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 8 เดือน ผึ่งดินให้แห้งเป็นเวลา 48 ชม. จากนั้น

สุ่มดินมาจำนวน 1 ก. บดให้ละเอียดในโกร่ง แล้วละลายด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 : 50 ทำการเจือจางสารละลายดินที่ระดับความเข้มข้นระดับต่าง ๆ แบบ serial dilution และนำสารละลายดินที่ระดับ 10^{-3} และ 10^{-4} ปริมาณ 0.1 มล. มาหยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Komada modified media (K2) แล้วเกลี่ยสารละลายดินให้ทั่วบนผิวหน้าอาหาร (Luis *et. al.*, 2014) ทำการทดสอบความเข้มข้นละ 5 ซ้ำ/ตัวอย่างดิน บันทึกผลโดยนับจำนวนโคโลนีเชื้อรา Foc TR4 ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังจากป่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็น

เวลา 7 วัน นำไปคำนวณหาค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีเชื้อรา Foc TR4 ที่นับได้ต่อจานอาหาร (CFU/g) ตามสูตร ดังนี้

$$\text{จำนวนโคโลนีเชื้อรา Foc TR4 (CFU/g)} = \frac{\text{ค่าเฉลี่ยของจำนวนโคโลนีที่นับได้ต่อจานอาหาร}}{\text{ระดับความเจือจาง} \times \text{ปริมาตรสารละลายดินที่หยดต่อจานอาหาร}}$$

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ลักษณะสัญญาณของเชื้อรา Foc TR4 สาเหตุโรคกล้วยตายพรายในกล้วยหอมคาเวนดิช

ลักษณะของต้นกล้วยหอมคาเวนดิชที่แสดงอาการโรคเหี่ยวในแปลงปลูก ใบแก่ด้านบนจะเหลืองและค่อยหักพับลง และลักษณะของลำต้นตัดขวางที่ภายในลำต้นเทียมจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลหรือสีม่วงเข้ม เนื่องจากเชื้อรา Foc TR4 (Figure 1A and 1B) และจากการนำเชื้อรามาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เมื่ออายุ 7 วัน พบว่าโคโลนีเชื้อราจะสร้างเส้นใยฟูละเอียดสีขาว เจริญอย่างรวดเร็ว (Figure 1C) เมื่อนำเส้นใยเชื้อราไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูงพบลักษณะ macroconidia ของเชื้อราไม่มีสิบริเวณกลาง conidium ค่อนข้างตรง และผนังทั้ง 2 ด้าน ขนานกันจนเกือบตลอด ตรงส่วนหัวและส่วนท้ายโค้งเข้าเล็กน้อย เซลล์ที่ฐานมีลักษณะคอดเข้าหากัน (foot-shaped) และ microconidia มีลักษณะเป็นรูปไข่ยาวรี จนถึงรูปทรงกระบอกหัวและท้ายมน ไม่มีสี พบ 1 - 2 เซลล์ (Figure 1D) สอดคล้องกับรายงานของ Luis *et al.*, (2014)

2. ประสิทธิภาพของกรรมวิธีต่าง ๆ ในการควบคุมเชื้อรา Foc TR4 สาเหตุโรคตายพรายในกล้วยหอมคาเวนดิช

ผลการประเมินความรุนแรงของโรคตายพรายหลังจากการปลูกเชื้อ Foc TR4 พบว่ากรรมวิธีที่ 6 คือ การปลูกเชื้อ Foc TR4 เพียงอย่างเดียว ใบกล้วยเริ่มแสดงอาการเหลือง ภายหลังจากการปลูกเชื้อราไปแล้วเป็นเวลา 6 เดือน ลำต้นเริ่มหักพับลงและต้นกล้วยตายทุกต้น เมื่อระยะเวลา 8 เดือนหลังปลูกเชื้อ โดยมีเปอร์เซ็นต์ดัชนีการเกิดโรค เท่ากับ 45, 40, 35, 50, 45, 100 และ 0.00 % ตามลำดับ สำหรับกรรมวิธีที่ 1 การใส่สารละลาย Calcium oxide (CaO) กรรมวิธีที่ 2 การใส่น้ำซี้เถ้า กรรมวิธีที่ 3 การใส่ *T. harzianum*-DOA กรรมวิธีที่ 4 การใส่ *B. subtilis*

กรรมวิธีที่ 5 การใส่สารเคมี captan กรรมวิธีที่ 6 การใส่ Foc TR4 เพียงอย่างเดียว (Control +) และกรรมวิธีที่ 7 การใส่น้ำซี้เถ้าเชื้อ เพียงอย่างเดียว (Control -) ตามลำดับ และมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (Table 2) ประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา Foc TR4 สาเหตุโรคตายพรายในกล้วยหอมคาเวนดิช กรรมวิธีที่ 1-5 ไม่มีความแตกต่างกัน แต่มีความแตกต่างจากชุดควบคุม (Control +, -) ที่ใช้เปรียบเทียบ ทั้ง 2 วิธี คือ การใส่ Foc TR4 เพียงอย่างเดียว ซึ่งทำให้ต้นกล้วยคาเวนดิชแสดงอาการโรคตายพรายตายทั้งหมด ขณะที่กรรมวิธีการใส่น้ำซี้เถ้าเชื้อเพียงอย่างเดียว พบว่า ต้นกล้วยหอมคาเวนดิชไม่แสดงอาการโรคตายพราย และต้นกล้วยยังมีชีวิตรอดทั้งหมด (Figure 2)

การใส่สารละลาย Calcium oxide (CaO) การใส่น้ำซี้เถ้า การใส่ *T. harzianum*-DOA และการใส่สารเคมี captan พบความรุนแรงของโรคตายพรายที่ระดับ 2 เท่านั้น คือ ใบแก่ด้านบนเปลี่ยนเป็นสีเหลือง สำหรับใบอ่อนยังคงเป็นสีเขียว ภายหลังจากการปลูกเชื้อรา Foc TR4 ไปแล้วเป็นเวลา 8 เดือน และไม่พบการตายของต้นกล้วยสำหรับกรรมวิธีการใช้ *B. subtilis* พบว่า ต้นกล้วยตายเพียง 1 ต้น เท่านั้น (Figure 2) ดังนั้น จึงสรุปผลได้ว่า การใช้สารละลาย Calcium oxide อัตรา 1 ก./200 มล. การใส่น้ำซี้เถ้า อัตรา 1 ก./200 มล. การใช้ *T. harzianum*-DOA อัตรา 10^7 สปอร์/มล. การใช้ *B. subtilis* อัตรา 3 ก./ล. และ การใช้สารเคมี captan อัตรา 3 ก./ล. มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา Foc TR4 สาเหตุโรคตายพรายในกล้วยหอมคาเวนดิชได้ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ใส่ Foc TR4 เพียงอย่างเดียว ทำให้ต้นกล้วยหอมคาเวนดิชตายทุกต้น ผลการทดลองนี้ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Al-Ani (2017) ที่ใช้แบคทีเรีย *B. subtilis* และ เชื้อรา *T. harzianum* ในการยับยั้งเส้นใยเชื้อรา Foc TR4 ในห้องปฏิบัติการ และเช่นเดียวกับ อภิรัชต์และคณะ (2556) ที่



Figure 1 External symptoms of Fusarium wilt of Cavendish banana showing general yellowing and necrosis of leaves (A); Cross section of infected vasculature of infected xylem vessels (B); Foc TR4 on PDA media from surface and reverse (7 Days after incubation) (C); Sickle-shaped, thin-walled and delicate, macroconidia (a) and Oval to kidney-shaped, microconidia (b) (D)

Table 2 Disease severity index of Fusarium wilt on treated Cavendish banana with different treatments in greenhouse tests after inoculation with Foc TR4 at 6 and 8 months

Treatments	Disease severity index of Fusarium wilt (%)	
	6 Months	8 Months
1. CaO + Foc TR4	10 ^{1/} b ^{2/}	45 ^{1/} b ^{2/}
2. Ash water + Foc TR4	5 b	40 b
3. <i>Trichoderma harzianum</i> + Foc TR4	5 b	40 b
4. <i>Bacillus subtilis</i> + Foc TR4	10 b	50 b
5. captan + Foc TR4	10 b	45 b
6. Foc TR4, (Control +)	50 c	100 c
7. Sterilized water (Control -)	0 a	0 a
CV (%)	34.84	40.15

^{1/} Average from 4 replications

^{2/} Means in the same column followed by a common letters are not significantly different at the 1% level by DMRT.

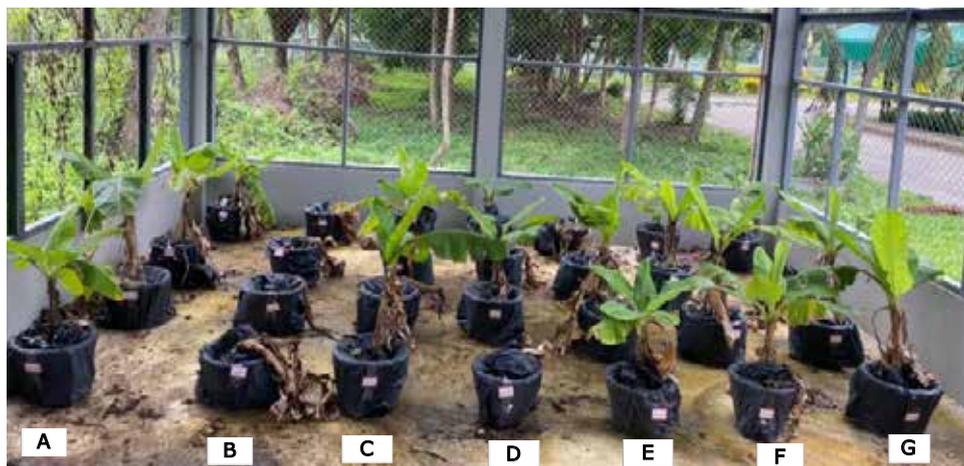


Figure 2 External symptoms of Cavendish banana at 8 months after application of various treatments in the greenhouse tests; (A) water application as negative control; (B) Foc TR4 inoculated as positive control; (C) captan + Foc TR4; (D) *B. subtilis* + Foc TR4; (E) *T. harzianum* + Foc TR4; (F) Ash water + Foc TR4 and (G) CaO + Foc TR4

รายงานพบว่า เชื้อรา *T. harzianum* ควบคุมเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* ในสภาพแปลงปลูกได้ โดยพบว่า ต้นกล้วยที่ปลูกในดินหลังคลุกด้วยเชื้อรา *T. harzianum* 3 เดือน ไม่พบอาการของโรคตายพราย เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้คลุกดินด้วยเชื้อรา จะพบอาการโรคตายพราย ส่วนผลการควบคุมโรคตายพรายโดยใช้สารเคมีของงานวิจัยนี้ จะสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bhimani *et al.* (2018) ที่พบว่า การใช้สาร captan สามารถควบคุมโรคตายพรายในกล้วยได้ สำหรับการควบคุมด้วยวิธีธรรมชาติ Hper *et al.* (1995) รายงานว่า ใช้ Calcium oxide (CaO) ความเข้มข้น 175 - 280 มล./กก. โรยรอบโคนต้นกล้วยช่วยลดอัตราการเกิดโรคตายพรายในกล้วยหอมคาเวนดิชได้ เนื่องจากเชื้อรา Foc TR4 เจริญได้ดีในดินที่มีสภาพเป็นกรด (pH 4.2) ซึ่งจะช่วยให้ส่งเสริมการงอกของสปอร์เชื้อรา Foc TR4 แต่ในทางตรงข้าม ดินที่มีสภาพเป็นด่างเพิ่มขึ้น (pH > 4.2) จะช่วยยับยั้งการงอกของสปอร์ และ Chlamydospores ของเชื้อรา Foc TR4 ได้ (Peng *et al.*, 1999)

3. ปริมาณเชื้อรา Foc TR4 จากดินบริเวณรอบรากกล้วยหอมคาเวนดิช

การตรวจปริมาณโคโลนีของเชื้อรา Foc TR4 สาเหตุโรคตายพราย จากดินบริเวณรอบรากกล้วยหอมคาเวนดิชของทั้ง 7 กรรมวิธี (Table 3) พบว่า ดินจากกรรมวิธีที่ 1 การใส่สารละลาย

Calcium oxide (CaO) พบปริมาณเชื้อรา Foc TR4 เท่ากับ 2.3×10^2 CFU/g กรรมวิธีที่ 2 การใส่น้ำซี้เถ้า พบปริมาณเชื้อรา Foc TR4 เท่ากับ 1.8×10^2 CFU/g กรรมวิธีที่ 3 การใส่เชื้อรา *T. harzianum*-DOA พบปริมาณเชื้อรา Foc TR4 เท่ากับ 2.8×10^2 CFU/g กรรมวิธีที่ 4 การใส่แบคทีเรีย *B. subtilis* พบปริมาณเชื้อรา Foc TR4 เท่ากับ 2.5×10^2 CFU/g กรรมวิธีที่ 5 การใส่สารเคมี captan พบปริมาณเชื้อรา Foc TR4 เท่ากับ 2.3×10^2 CFU/g ขณะที่กรรมวิธีที่ 6 การใส่ Foc TR4 เพียงอย่างเดียว พบปริมาณเชื้อรา Foc TR4 ปริมาณมากเท่ากับ 1.3×10^3 CFU/g และกรรมวิธีที่ 7 การใส่น้ำนิ่งฆ่าเชื้อ เพียงอย่างเดียว ไม่พบเชื้อรา จากดินบริเวณรอบรากกล้วยหอมคาเวนดิช (Table 3) ทั้งนี้ เมื่อนำเส้นใยเชื้อรา Foc TR4 ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อซึ่งได้จากกรรมวิธีที่ 1-6 ไปตรวจภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง พบว่า เชื้อรา Foc TR4 สร้าง chlamydospore ผนังหนา รูปร่างกลมบริเวณปลายเส้นใย หรือสร้างตรงกลางเส้นใย เพื่อให้ทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (Figure 3)

ผลจากการศึกษาปริมาณเชื้อรา Foc TR4 บริเวณรอบรากกล้วยหอมคาเวนดิชของงานวิจัยนี้ สอดคล้องกับ Luis *et al.* (2014) ที่รายงานว่าการผสมเชื้อรา *T. harzianum* กับเชื้อรา Foc TR4 ในดินปลูกกล้วยหอมคาเวนดิช ภายหลังจากการปลูกเชื้อแล้วเป็นเวลา 6 เดือน พบปริมาณ เชื้อรา Foc TR4 รอบรากกล้วยหอมคาเวนดิช ระหว่าง

Table 3 Quantitative of Foc TR4 in rhizosphere of the Cavendish banana roots of each treatment after inoculation with Foc TR4 for 8 months

Treatments	No. of Foc TR4 colonies (CFU/g)
1. CaO + Foc TR4	2.3×10^2
2. Ash water + Foc TR4	1.8×10^2
3. <i>Trichodema harzianum</i> + Foc TR4	2.8×10^2
4. <i>Bacillus subtilis</i> + Foc TR4	2.5×10^2
5. captan + Foc TR4	2.3×10^2
6. Foc TR4, (Control +)	1.3×10^3
7. Sterilized water (Control -)	0.00

Average of 5 replications

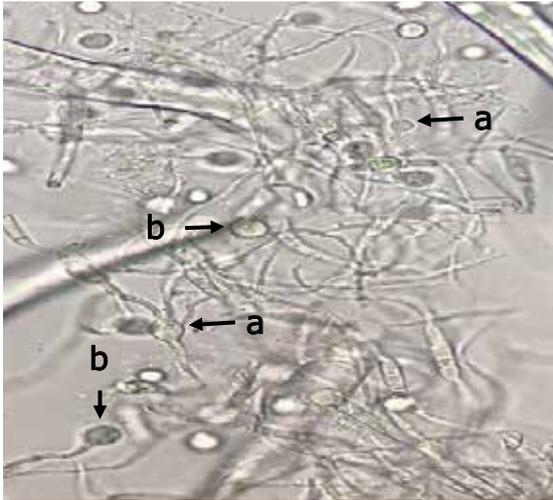


Figure 3 Thick-walled chlamydospores formed mainly on hyphae singly or in short chains, (a) intercalary chlamydospores; and (b) terminal chlamydospores

$1.7 \times 10^2 - 3.4 \times 10^3$ CFU/g และสอดคล้องกับ Peng *et al.* (1999) พบว่า การใส่ Calcium oxide (CaO) หรือใส่ iron chelates เช่น Fe-EDDHA จะช่วยสร้างสภาพที่ไม่เหมาะสมในดินต่อการออกของสปอร์ และ chlamydospores ของ Foc TR4 ดังนั้น การใส่ปูนขาว (Calcium oxide) หรือการใส่ซีเมนต์ หรือการใช้เชื้อรา *T. harzianum* หรือแบคทีเรีย *B. subtilis* หรือ สารเคมี captan อย่างไม่อย่างหนึ่ง หรือการใช้ร่วมกัน เพื่อรอกันหลุมก่อนปลูกกล้วยหอมคาเวนดิช การคลุกกับดินปลูกหรือการโรยรอบโคนต้นกล้วยเป็นประจำ จะช่วยเพิ่มสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม หรือช่วยยับยั้งการงอกของสปอร์ หรือ chlamydospores เชื้อรา Foc TR4 ภายในดินได้ ทั้งนี้ การปฏิบัติตามวิธีข้างต้นควรใช้ร่วมกับวิธีทางเขตกรรม โดยการหมั่นดูแลทำความสะอาดแปลงปลูกกล้วย อย่าให้มีวัชพืชขึ้นรกเพื่อป้องกัน เชื้อรา Foc TR4 ใช้เป็นพืชอาศัย และการปรับสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเกิดโรค โดยการตัดใบไม่ให้ทึบ เพื่อให้อากาศถ่ายเทและลดความชื้นในแปลงปลูกกล้วย วิธีการเหล่านี้ เป็นวิธีเป็นการควบคุมและป้องกันการเกิดโรคตายพรายได้ เพราะสามารถลดการเจริญของเชื้อรา Foc TR4 ไม่ให้เข้าทำลายกล้วยหอมคาเวนดิชได้โดยง่าย

สรุปผลการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพในการป้องกันเชื้อรา Foc TR4 สาเหตุโรคตายพรายในกล้วยหอมคาเวนดิช ด้วยกรรมวิธีป้องกัน 5 วิธี ได้แก่ การใส่ Calcium oxide ซีเมนต์ เชื้อราปฏิปักษ์ *T. harzianum*-DOA แบคทีเรีย *B. subtilis* และ การใช้สารเคมี captan 24 ชม. ก่อนการใส่เชื้อรา Foc TR4 สามารถลดความรุนแรงของโรคได้ อยู่ที่ระดับ 2 คือ ใบแก่ด้านล่างเปลี่ยนเป็นสีเหลืองสำหรับใบอ่อนยังคงเป็นสีเขียว ภายหลังปลูกเชื้อรา Foc TR4 ในดินปลูกกล้วยไปแล้วเป็นเวลา 8 เดือน และไม่พบการตายของต้นกล้วย ยกเว้นการใส่ *B. subtilis* พบการตายของต้นกล้วยเพียง 1 ต้นเท่านั้น ขณะที่การใส่เชื้อ Foc TR4 ให้กับกล้วยหอมคาเวนดิชเพียงอย่างเดียว จะทำให้ต้นกล้วยทดลองตายทุกต้น และพบว่า ปริมาณเชื้อรา Foc TR4 บริเวณรอบรากกล้วยหอมคาเวนดิช ของทั้ง 5 กรรมวิธีทดสอบ มีปริมาณเชื้อรา Foc TR4 ระหว่าง $1.8 \times 10^2 - 2.3 \times 10^2$ CFU/g ขณะที่กรรมวิธีที่ใส่เชื้อรา Foc TR4 เพียงอย่างเดียว พบปริมาณโคโลนีของเชื้อราสูงถึง 1.3×10^3 CFU/g ซึ่งกรรมวิธีที่ใช้ Calcium oxide และ ซีเมนต์ อัตรา 1 กรัม ต่อ น้ำ 200 มล. จะช่วยสร้างสภาพดินที่ไม่เหมาะสมต่อการออกของสปอร์เชื้อรา Foc TR4 ถึงอย่างไรก็ตาม การปฏิบัติตามวิธีดังกล่าว ควรใช้ร่วมกับวิธีทางเขตกรรมด้วย และควรมีการทดสอบอีกครั้งในสภาพแปลงปลูกกล้วยหอมคาเวนดิช

เอกสารอ้างอิง

อภิรักษ์ สมฤทธิ์ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี และ สุณีรัตน์ สิมะเต็อ. 2556. การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมโรคตายพรายของกล้วยน้ำว่าที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* ในสภาพแปลงปลูก ใน: รายงานความก้าวหน้าประจำปี 2556. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร จตุจักร กรุงเทพฯ.

- Al-Ani, L.K.T. 2017. PGPR: A good step to control several of plant pathogens. pp. 398-410. *In: Singh, H.B., B.K. Sarma, and C. Keswani, (Eds), Advances in PGPR Research. CABI, UK.*
- Bhimani, M.D., B.B. Golakiya and L.F. Akbari. 2018. Evaluation of different fungicides against fenugreek wilt (*Fusarium oxysporum* Schlecht.). *Int. J. Chem. Stud.* 6: 29-34
- Ghag, S.B., U.K.S. Shekhawat and T.R. Ganapathi. 2015. Fusarium wilt of banana: biology, epidemiology and management. *Int. J. Pest Manag* 61: 250-263.
- Hper, H., C. Steinberg and C. Alabouvette. 1995. Involvement of clay type and pH in the mechanism of soil suppressiveness to Fusarium wilt of flax. *J. Soil bio. Biochem.* 27: 955-967.
- Laith, K.T. and F.A. Shaymaa. 2018. Antagonistic of some *Trichoderma* against *Fusarium Oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 (FocTR4). Pages 35-38. *In: International Conference on Research in Education and Science (ICRES) April 28 – May 1, 2018, Marmaris/Turkey.*
- Luis, P.V., M.A. Dita and L.E. Martnez. 2014. Technical Manual Prevention and diagnostic of Fusarium Wilt (Panama disease) of banana caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Tropical Race 4 (TR4). FAO, Rome Italy. 74 p.
- Mohammed, A.M., L.K.T. AL-Ani, L. Bekbayeva and B. Salleh. 2011. Biological Control of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* by *Pseudomonas fluorescens* and BABA in vitro. *World Appl. Sci. J.* 15: 189-191.
- Peng, H.X.X., K. Sivasithamparama and D.W.W. Turner. 1999. Chlamydospore germination and Fusarium wilt of banana plantlets in suppressive and conducive soils are affected by physical and chemical factors. *J. Soil Biol. Biochem.* 31: 1363-1374.
- Ploetz, R. C. 2005. Panama disease, an old nemesis rears its ugly head: Part 1, the beginnings of the banana export trades. *J. Plant Health Prog.* 6: 18-31.
- Ram, N., C. Gireesh and S.A. Chandra 2020 In vitro evaluation of fungicides against growth of *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* causing panama wilt disease of Banana. *Int. J. Chem. Stud.* 8(1): 191-194.