

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการควบคุม  
โรคตายพรายของกล้วยน้ำว้าที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp.  
*cubense* ในสภาพแปลงปลูก

Evaluation of the Efficiency of *Trichoderma harzianum* to Control  
Panama disease Caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* in  
Banana Plantation

อภิรักษ์ สมฤทธิ์ ยุทธศักดิ์ เจียมไชยศรี สุณิรัตน์ สิมะเตือ  
กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

รายงานความก้าวหน้า

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมโรคตาย  
พรายของกล้วยน้ำว้าที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* ในสภาพแปลง  
ปลูก ได้ดำเนินการ ค้นคว้าเอกสารอ้างอิงทางวิชาการ เตรียมอุปกรณ์ และ เตรียมปลูกพืชทดลอง และ  
นำเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* และเชื้อรา *T. harzianum* มาเลี้ยงบนอาหาร PDA แล้ว  
ขยายเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* ลงในข้าวฟ่าง และเลี้ยงเชื้อรา *T. harzianum* ใน  
ข้าวสารสุก นำเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* ใส่ในดินปลูกต้นอ่อนกล้วยน้ำว้า จากนั้นนำต้น  
กล้วยน้ำว้าปลูกในกระบะคอนกรีตที่มีดินคลุกด้วยเชื้อรา *T. harzianum* เปรียบเทียบกับต้นกล้วยที่  
ปลูกในดินที่ไม่ได้คลุกเชื้อรา *T. harzianum* ในระยะ 2 เดือนแรกยังไม่พบอาการความแตกต่างที่เกิด  
ขึ้นกับความเจริญของต้นกล้วย ในระยะ 3 เดือนหลังปลูกต้นกล้วย เริ่มพบความแตกต่างของการเจริญ  
โดยต้นกล้วยที่ปลูกในดินที่มีเชื้อรา *T. harzianum* เจริญได้ดีกว่า และไม่พบอาการเหลืองของใบล่าง  
ต้องรอตรวจสอบผลการทดลองต่อไป

รหัสการทดลอง 03-04-54-01-03-02-06-56

## คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่อยู่ในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งถือว่าเป็นถิ่นกำเนิดของกล้วยหลายชนิด และมีการปลูกกล้วยหลายสายพันธุ์เพื่อใช้ประโยชน์ ใช้รับประทานเป็นอาหาร และเพื่อการค้าอยู่ทั่วไปตามภาคต่าง ๆ ของประเทศ พันธุ์กล้วยที่ปลูกกันทั่วไป คือกล้วยน้ำว้า ซึ่งถือว่าเป็นไม้ผลพื้นเมืองของไทยที่มีคุณค่าทางอาหารสูง สามารถแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ได้หลายชนิด แต่การปลูกกล้วยน้ำว้ามักประสบปัญหาโรคตายพราย (Fusarium wilt or Panama disease) ซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* (FOC) เป็นเชื้อรา *F. oxysporum* ชนิดที่มีความจำเพาะในการเข้าทำลายพืชตระกูลกล้วย เช่น สกุล *Musa* และ สกุล *Heliconia* เชื้อราชนิดนี้ทำให้เกิดความเสียหายอย่างมากต่อการผลิตกล้วยทั่วโลก โดยมีบันทึกครั้งแรกในออสเตรเลียเมื่อปี ค.ศ. 1876 ต่อมาในปี ค.ศ. 1890 พบโรคนี้อบริเวณแถบทะเลแคริบเบียนและเขตร้อนของทวีปอเมริกา นับตั้งแต่นั้นมาจนถึงปี ค.ศ. 1995 มีรายงานว่าโรคนี้ได้ทำความเสียหายแก่การผลิตกล้วยพันธุ์ต่าง ๆ ในทุกพื้นที่ปลูกกล้วยของโลก อาการของโรคตายพรายเริ่มจาก เชื้อราเข้าสู่รากแล้วเจริญเข้าไปอยู่ในท่อน้ำเลี้ยงของเหง้า (rhizome) และลำต้นเทียม (pseudostem) ทำให้ท่อน้ำที่อาหารเกิดอุดตันและเนื้อเยื่อเน่าเป็นสีน้ำตาล ระบบการส่งน้ำและแร่ธาตุอาหารผิดปกติ ใบจึงขาดน้ำ และแสดงอาการเหี่ยวเป็นสีเหลือง จนในที่สุดแห้งเป็นสีน้ำตาล ก้านใบหักพับลงมาขนานกับลำต้น ส่วนใบยอดนั้นยังคงมีสีเขียวอ่อนและเจริญตั้งตรงอยู่ การเจริญเติบโตหยุดชะงักไม่สร้างดอกและผล เนื้อเยื่อในเหง้าเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล เมื่ออาการรุนแรงมากลำต้นเทียมจึงล้มลง โดยทั่วไปมักไม่พบอาการภายนอกของโรคในส่วนของหน่อ (sucker) ที่มีความสูงน้อยกว่า 5 ฟุต และอายุไม่ถึง 4 เดือน แต่เมื่อหน่อเจริญเป็นต้นและถึงระยะแตกปลี อาการโรคจึงปรากฏขึ้น (Stover, 1972) เชื้อรามักแพร่กระจายไปกับน้ำและหน่อที่นำไปปลูก และ โรคมักจะเกิดกับกล้วยที่ปลูกในดินเหนียวที่ระบายน้ำไม่ดี

เชื้อราสาเหตุโรคตายพรายนี้จัดอยู่ใน *formae speciales* (f. sp.) หนึ่งของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* ซึ่งเป็นเชื้อราที่อาศัยและแพร่กระจายอยู่ในดินปลูกพืชทั่วทุกแห่งของโลก เชื้อรา *F. oxysporum* บางสายพันธุ์เป็นราอาศัยในดินที่ไม่ก่อให้เกิดโรคกับพืช แต่มีสายพันธุ์อีกจำนวนมากที่เป็นเชื้อสาเหตุทำให้เกิดอาการเหี่ยว (vascular wilt) ซึ่งสร้างความเสียหายอย่างมากกับพืชหลายชนิด เชื้อราสามารถอยู่รอดในดินได้ในรูปของเส้นใย (mycelium) หรือ สปอร์ผนังหนา (chlamydospore) แล้วเจริญเข้าทำลายพืชในฤดูปลูกต่อไปได้ ทำให้การใช้สารเคมีในการป้องกันการแพร่ระบาด และกำจัดเชื้อราสาเหตุของโรคตายพราย ยังไม่ได้ผลดี คู่แข่งกับค่าใช้จ่ายที่เสียไป แต่กลับทำให้เสียเงินลงทุนทำการเกษตรมากขึ้น ในขณะที่ราคาผลผลิตเกษตรยังคงตกต่ำ เช่นปัจจุบัน

จากปัญหาดังกล่าว ที่สอดคล้องกับการพบรายงานการระบาดและเข้าทำลายของเชื้อรากลุ่มนี้เพิ่มมากขึ้น จึงจำเป็นต้องหาวิธีการป้องกันกำจัดเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* ที่มีประสิทธิภาพดี ทดแทนการใช้สารเคมีที่ โดยต้นทุนต่ำ และไม่ก่อให้เกิดปัญหาต่อเนื่องหลังการใช้ ซึ่งปัจจุบันวิธีการป้องกันกำจัดเชื้อราสาเหตุโรคพืชโดยการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เริ่มเข้ามามีบทบาทมากขึ้นในวิธีการป้องกันกำจัดเชื้อราโรคพืช ดังนั้นจึงได้วางแผนการศึกษาทดลองการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการป้องกันกำจัดเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense* เป็นทางเลือกใหม่ ซึ่งคาดว่าผลการศึกษาและข้อมูล รวมถึงผลสรุปที่ได้ จะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรในการป้องกันกำจัดเชื้อราชนิดนี้อย่างมีประสิทธิภาพในระดับแปลงปลูก และยังเป็นทางเลือกการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดโรคพืช เพื่อสร้างระบบเกษตรกรรมของประเทศไทยให้ยั่งยืน และยั่งยืนสืบต่อไป

## วัตถุประสงค์ของการทดลอง

เพื่อทดสอบและประเมินประสิทธิภาพของเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ไอโซเลทต่างๆ ในการควบคุมโรคตายพรายของกล้วยน้ำว้าที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *F. oxysporum* f. sp. *cubense*

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการโรคพืช เช่น ตู้เชื้อเชื้อ เข็มเขี่ย จานแก้วเลี้ยงเชื้อ แผ่นแก้วสไลด์พร้อมแผ่นแก้วปิดสไลด์ และตะเกียงแอลกอฮอล์
2. อาหารเลี้ยงเชื้อรา Potato Dextrose Agar (PDA), Water Agar (WA), Potato Dextrose Agar (PDA) และ Corn Leaf Ager (CLA)
3. กล้องจุลทรรศน์กำลังขยายสูง (Compound microscope) กล้อง Stereoscopic microscope และกล้องถ่ายภาพพร้อมอุปกรณ์
4. เอกสารและตำราเกี่ยวกับชนิดและภาพ (monograph) ของเชื้อรา
5. กล้องถ่ายภาพ กล้องจุลทรรศน์พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ
6. สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืช
7. สารสกัดจากพืช
8. เชื้อราปฏิปักษ์ *Trichoderma harzianum* และ *Trichoderma* sp.

### วิธีการ

1. เตรียมเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA
2. เตรียมเชื้อรา *T. harzianum* ไอโซเลทต่าง ๆ ที่มีจำหน่ายเป็นการค้าและมีการศึกษามาก่อนว่ามีสามารถควบคุมการเกิดโรคที่เกิดจากเชื้อราโรคพืชได้ บนอาหาร PDA
3. จุ่มรากต้นกล้ากล้วยน้ำว้าอายุ 3 เดือนลงในสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* ที่ความหนาแน่นของสปอร์  $10^7$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที นำออกมาวางพักในที่ร่มเป็นเวลา 3 ชั่วโมง
4. ทดสอบวิธีการใช้เชื้อรา *T. harzianum* ในการควบคุมการเกิดโรคตายพรายในกล้วยน้ำว้า ดำเนินการ 2 วิธี ดังนี้

#### วิธีที่ 1 : วางแผนการทดลอง ดังนี้

- ทำการทดลองแบบ RCBD (Randomized Complete Block Design)
- การทดลอง 4 กรรมวิธี ดังนี้ กรรมวิธีการใช้สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* ที่ความหนาแน่นของสปอร์  $10^5$ ,  $10^6$  และ  $10^7$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร และกรรมวิธีการใช้น้ำกลั่นหนึ่งฆ่าเชื้อ ซึ่งเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ แต่ละกรรมวิธีมีจำนวน 10 ซ้ำหรือ 10 ต้น

#### วิธีการทดลอง ดังนี้

- นำต้นกล้ากล้วยน้ำว้าที่ปลูกเชื้อแล้ว จุ่มลงในสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำลงปลูกในแปลงที่มีสภาพดินร่วนซุย ดูแลให้น้ำ และปุ๋ย ตรวจสอบการเกิดโรคทุก ๆ เดือน หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 2 เดือน จนต้นกล้วยอายุได้ 9 เดือนโดย

เปรียบเทียบกรรมวิธีการใช้สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *T. harzianum* ที่ความหนาแน่นของสปอร์  $10^5$ ,  $10^6$  และ  $10^7$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร กับกรรมวิธีการใช้น้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อ ซึ่งเป็นกรรมวิธีเปรียบเทียบ

วิธีที่ 2 : วางแผนการทดลอง ดังนี้

- ทำการทดลองแบบ RCBD (Randomized Complete Block Design)
- การทดลอง 5 กรรมวิธี ดังนี้ กรรมวิธีการใส่เชื้อรา *T. harzianum* บนเมล็ดข้าวเปลือกในอัตรา 50, 100, 150 และ 200 กรัม กับกรรมวิธีการใส่เมล็ดข้าวเปลือกที่ไม่มีเชื้อ แต่แต่ละกรรมวิธีมีจำนวน 10 ซ้ำหรือ 10 ต้น

วิธีการทดลอง ดังนี้

นำต้นกล้ากล้วยน้ำว้าที่ปลูกเชื้อแล้ว ลงปลูกในแปลงที่มีสภาพดินร่วนสวน ซึ่งพื้นหลุมที่ปลูกต้นกล้วย จะรองด้วยเชื้อรา *T. harzianum* ที่เลี้ยงบนเมล็ดข้าวเปลือก อายุ 7 วัน ดูแลให้น้ำ และปุ๋ย ตรวจสอบการเกิดโรคทุก ๆ เดือน หลังจากปลูกเชื้อแล้ว 2 เดือน จนต้นกล้วยอายุได้ 9 เดือนโดยเปรียบเทียบกรรมวิธีการใส่เชื้อรา *T. harzianum* บนเมล็ดข้าวเปลือกในอัตรา 50, 100, 150 และ 200 กรัม กับกรรมวิธีการใส่เมล็ดข้าวเปลือกที่ไม่มีเชื้อ

5. ตรวจสอบผลการทดลอง

ตรวจสอบและบันทึกลักษณะอาการภายนอกที่เกิดกับใบและลำต้นเทียม หลังการปลูกเชื้อ 2 ถึง 9 เดือน และอาการภายในที่เกิดขึ้นกับต้นกล้วยหลังจากปลูกเชื้อ 9 เดือนหรือระยะที่ต้นกล้วยแตกปลี บันทึกระดับความรุนแรงของโรคโดยอาศัยระดับการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลของเนื้อเยื่อภายในเหง้า 8 ระดับ ตามวิธีการของ Moore *et al.* (1993) ดังนี้

ระดับที่ 1 : เนื้อเยื่อภายในเหง้าหรือรอบๆ ไม่เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล

ระดับที่ 2 : เนื้อเยื่อภายในเหง้าไม่แสดงอาการเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล

แต่เปลี่ยนสีที่บริเวณเนื้อเยื่อเชื่อมต่อกันของรากและเหง้า

ระดับที่ 3 : เนื้อเยื่อภายในเหง้าเปลี่ยนสีเล็กน้อย จนถึง 5 % ของพื้นที่ทั้งหมดภายในเหง้า

ระดับที่ 4 : เนื้อเยื่อภายในเหง้าเปลี่ยนสี 6 – 20 % ของพื้นที่ทั้งหมดภายในเหง้า

ระดับที่ 5 : เนื้อเยื่อภายในเหง้าเปลี่ยนสี 21 – 50 % ของพื้นที่ทั้งหมดภายในเหง้า

ระดับที่ 6 : เนื้อเยื่อภายในเหง้าเปลี่ยนสีมากกว่า 50 % ของพื้นที่ทั้งหมดภายในเหง้า

ระดับที่ 7 : เนื้อเยื่อส่วนภายในเหง้าทั้งหมดเปลี่ยนสี (100 %)

ระดับที่ 8 : ต้นพืชตาย

นำผลการตรวจสอบที่ได้มาวิเคราะห์ผล และเปรียบเทียบในแต่ละกรรมวิธี และในเชื้อรา *T. harzianum* แต่ละไอโซเลท ด้วยวิธีการทางสถิติ

**เวลาและสถานที่**

เวลา                    เริ่มต้น ตุลาคม 2555    สิ้นสุด    กันยายน 2557

สถานที่                กลุ่มวิจัยโรคพืช    สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช

### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมโรคตายพรายของกล้วยน้ำว้าที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* ในสภาพแปลงปลูก ได้ดำเนินการ ค้นคว้าเอกสารอ้างอิงทางวิชาการ เตรียมอุปกรณ์ และ เตรียมปลูกพืชทดลอง และ นำเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* และเชื้อรา *T. harzianum* มาเลี้ยงบนอาหาร PDA แล้วขยายเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* ลงในข้าวฟ่าง และเลี้ยงเชื้อรา *T. harzianum* ในข้าวสารสุก นำเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* ใส่ในดินปลูกต้นอ่อนกล้วยน้ำว้า จากนั้นนำต้นกล้วยน้ำว้าปลูกในกระบะคอนกรีตที่มีดินคลุกด้วยเชื้อรา *T. harzianum* เปรียบเทียบกับต้นกล้วยที่ปลูกในดินที่ไม่ได้คลุกเชื้อรา *T. harzianum* ในระยะ 2 เดือนแรกยังไม่พบอาการความแตกต่างที่เกิดขึ้นกับความเจริญของต้นกล้วย ในระยะ 3 เดือนหลังปลูกต้นกล้วย เริ่มพบความแตกต่างของการเจริญ โดยต้นกล้วยที่ปลูกในดินที่มีเชื้อรา *T. harzianum* เจริญได้ดีกว่า และไม่พบอาการเหลืองของใบล่าง ต้องคอยตรวจสอบผลทดลองที่เกิดขึ้นต่อไป เมื่อต้นกล้วยอายุ 6 เดือน จึงทำการถอนต้นเพื่อผ่าดูอาการเน่าภายในต้นกล้วย แล้วเปรียบเทียบผลที่เกิดขึ้นในแต่ละกรรมวิธีการทดลอง

### สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบประสิทธิภาพเชื้อรา *Trichoderma harzianum* ในการควบคุมโรคตายพรายของกล้วยน้ำว้าที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* ในสภาพแปลงปลูก โดยนำเชื้อรา *F. oxysporum* f.sp. *cubense* ใส่ในดินปลูกต้นอ่อนกล้วยน้ำว้า จากนั้นนำต้นกล้วยน้ำว้าปลูกในกระบะคอนกรีตที่มีดินคลุกด้วยเชื้อรา *T. harzianum* เปรียบเทียบกับต้นกล้วยที่ปลูกในดินที่ไม่ได้คลุกเชื้อรา *T. harzianum* ในระยะ 2 เดือนแรกยังไม่พบอาการความแตกต่างที่เกิดขึ้นกับความเจริญของต้นกล้วย ในระยะ 3 เดือนหลังปลูกต้นกล้วย เริ่มพบความแตกต่างของการเจริญ โดยต้นกล้วยที่ปลูกในดินที่มีเชื้อรา *T. harzianum* เจริญได้ดีกว่า และไม่พบอาการเหลืองของใบล่าง ต้องเก็บผลการทดลองต่อไป เพื่อรอนกล้วยอายุ 6 เดือน จึงทำการถอนต้นเพื่อผ่าดูอาการเน่าภายในต้นกล้วยในแต่ละกรรมวิธีการทดลอง

### เอกสารอ้างอิง

- ปัญญารัตน์ สาลี. 2536. การใช้ *Trichoderma hamatum* (Bonard.) Bain ควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อรา *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, บทความวิจัยของนักศึกษาปริญญาตรี ปีการศึกษา 2536. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ. หน้า 350-351.
- Luongo, L., M. Galli, L. Corazza, E. Meeke, L. D. Haas, C. L. Van Der Plas, and J. Köhl. 2005. Potential of fungal antagonists for biocontrol of *Fusarium* spp. in wheat and maize through competition in crop debris. *Biocontrol Science and Technology*, Volume 15, Number 3, May 2005, pp. 229-242(14).

- Nel, B., C. Steinberg,, N. Labuschagne, and A. Viljoen. 2006. The potential of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* and other biological control organisms for suppressing fusarium wilt of banana. *Plant Pathology* 55 (2) : 217-223.
- Pratella, G. C., and M. Mari. 1993. Effectiveness of *Trichoderma*, *Gliocladium* and *Paecilomyces* in postharvest fruit protection. *Postharvest Biology and Technology* 3 (1): 49-56.
- Thangavelu, R., A. Palaniswami, and R. Velazhahan. 2004. Mass production of *Trichoderma harzianum* for managing fusarium wilt of banana. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 103 (1): 259-263.
- Zhang Yue-li, LIU Kai-qj, XIANG Mei-mei, and LIU Ren. 2004. Studies on the control of *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* with *Trichoderma*. *Journal Of Zhejiang Unicersity, AGRICULTURE & LIFE SCIENCES* 30(4).