ชื่อวิทยานิพนธ์ การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศโดยชีววิธี ด้วยแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ไม่รุนแรง

ผู้เขียน นางสาวอโณทัย บุญแสง

สาขาวิชา โรคพืชวิทยา

ปีการศึกษา 2547

บทคัดย่อ

สำรวจและเก็บตัวอย่างโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียในประเทศไทย ระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2543 - กันยายน 2544 จำนวน 135 ตัวอย่าง แยกได้เชื้อแบคทีเรียจาก 62 ตัวอย่าง ได้เชื้อบริสุทธิ์จำนวน 198 ไอโซเลท จากพืชอาศัย 17 ชนิด ได้แก่ มะเขือเทศ มะเขือเปราะ มะเขือยาว พริกชี้หนูสวน พริกชี้ฟ้า พริกยักษ์ ถั่วลิสง มันฝรั่ง มันเทศ แมงลัก ดาวกระจาย ปทุมมา ยาสูบ โหระพา งา หน้าวัว และขิง เมื่อทำการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนต้นมะเขือเทศพันธุ์สีดาทิพย์ 3 โดยวิธีตัดใบ พบว่าทุกสายพันธุ์ทำให้เกิดโรคได้ จากการจำแนกชนิดของเชื้อโดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยาและชีวเคมี พบว่าเชื้อทุกสายพันธุ์คือ *Ralstonia solanacearum*

คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์รุนแรง และสายพันธุ์ไม่รุนแรง โดยการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค และศึกษาลักษณะโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ TZC พบว่า เชื้อสายพันธุ์รุนแรงมีโคโลนีสีขาว ตรงกลางสีชมพูอ่อน มีเมือกรอบ ๆ โคโลนี จำนวน 133 ไอโซเลท ส่วนเชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรง มีโคโลนีสีแดง ไม่มีเมือก จำนวน 65 ไอโซเลท ในการทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรค พบว่าเชื้อ *R. solanacearum* 1170-2 (พริกชี้ฟ้า) มีดัชนีการเกิดโรคสูงสุด 100% ส่วนเชื้อ *R. solanacearum* 1007-1, 1007-5 (พริกชี้หนูสวน) 1064-2 (ยาสูบ) 1081-4, 1081-8 (ขิง) และ 1106-5 (มะเขือยาว) มีดัชนีการเกิดโรคต่ำสุด (27.78%) ในระยะเวลา 3-15 วันหลังจากปลูกเชื้อ

การทดสอบปฏิกิริยาการยับยั้งของเชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรงต่อเชื้อสายพันธุ์รุนแรง ในห้องปฏิบัติการ พบว่าเชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรง สามารถยับยั้งเชื้อสายพันธุ์รุนแรงได้ทุกไอโซเลท แต่ระดับการยับยั้งแตกต่างกันไป ค่าเฉลี่ยของความกว้างวงใส 2.33 มิลลิเมตร โดยคู่เชื้อสายพันธุ์ 1031-4 x 1184-6 มีค่าเฉลี่ยความกว้างวงใสสูงสุด 3.50 มิลลิเมตร และคู่เชื้อสายพันธุ์ 1187-3 x 1164-2 มีค่าเฉลี่ยความกว้างวงใสต่ำสุด 1.50 มิลลิเมตร

การทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งของเชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรง 1031-4 ในการควบคุมสายพันธุ์รุนแรง 8 ไอโซเลท ได้แก่ 1003-5, 1021-4, 1032-2, 1073-2, 1134-5, 1167-2, 1170-2 และ 1184-6 ในเรือนกระจก โดยใช้กรรมวิธี 8 วิธีทดสอบ พบว่าการปลูกเชื้อสายพันธุ์ไม่รุนแรง ก่อน 30 นาที (T_1) พร้อมกัน (T_3) หรือปลูกก่อน 3 วัน (T_4) หรือ แช่เมล็ดในสายพันธุ์ไม่รุนแรงก่อน (T_5) แล้วจึงตามด้วยสายพันธุ์ไม่รุนแรงซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับกรรมวิธีการปลูกเชื้อสายพันธุ์รุนแรงก่อน แล้วตามด้วยสายพันธุ์ไม่รุนแรง (T_2) หรือกรรมวิธีที่ปลูกเชื้อสายพันธุ์รุนแรงเพียงอย่างเดียว (T_6) ซึ่งมีดัชนีการเกิดโรค 53.33 และ 100 ตามลำดับ และจากการตรวจหาปริมาณเชื้อในดิน พบเชื้อในปริมาณที่น้อยมาก บางกรรมวิธีไม่พบเชื้อในดิน

Thesis Title	Biological Control of Tomato Bacterial Wilt Using an Avirulent Strains of *Ralstonia solanacearum*
Author	Miss Anotai Boonsaeng
Major Program	Plant Pathology
Academic Year	2004

Abstract

A disease survey was conducted since November 2000 to September 2001 in the south of Thailand. In this survey, 135 plant diseased samples that had the wilt-disease symptom were collected. Among the 135 samples, 65 were found to be infected with plant pathogenic bacterium. A total of 198 isolates of bacterial culture from 17 host plants were obtained through on isolation procedure. Pathogenicity testing with tomato (variety Sidatip 3) using leaf cutting technique revealed that all of 198 isolates had a capacity to cause the wilt-diseased symptom. These bacteria were identified as *Ralstonia solanacearum* based upon morphological, physiological and biochemical characteristics.

Further pathogenicity test and a study of colony characteristic on TZC medium showed that 133 strains were categorized as virulent strains. These virulent strains had a distrinctive white and slimy colony with a soft pink color in the middle. The other 65 strains were categorized as avirulent strain. An all-red color and non-slimy colony were the characteristics of these avirulent strains. *R. solanacearum* strain 1170-2, which was isolated from a hot pepper plant, caused the most severe disease to test plants (causing 100% disease), while *R. solanacearum* strain 1007-1 and 1007-5 isolated from chilli, strain 1064-2 isolated from tobacco, strain 1081-4 and 1081-8 isolated from ginger and strain 1106-5 isolated from eggplant caused mild disease in the test plants (27.78% disease) within 3-15 days after artificial inoculation.

For an antagonistic study, strain 1031-4 was the best in inhibiting other virulent strains, creating the largest clear zone at 3.5 mm. against strain 1184-6. However, the smallest clear zone, 1.5 mm., was obtained when strain 1187-3 was tested against strain 1164-2.

Avirulent strain 1031-4 was subsequently evaluated for its protective efficacy against 8 other virulent strains (strain 1003-5, 1021-4, 1032-2, 1073-2, 1134-5, 1167-2, 1170-2 and 1184-6) in the greenhouse. It was found that there was no statistical difference between the following treatments, inoculating plants with avirulent strain 30 minutes or 3 days before a virulent strain, inoculating plants with avirulent strain and virulent strain simultaneously, or soaking seeds with avirulent strain before soaking them with virulent strain immediately following. Nevertheless, there was a highly statistically significant difference between the following treatments : plants that were inoculated with virulent strain prior to inoculating with avirulent strain (53.3% disease index), and plants that were inoculated only with a virulent strain (100% disease index). A very low amount of *R. solanacearum* was recovered from the soil and in some treatments the population of this plant pathogenic bacterium was not detectable.