ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศจากเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas solanacearum* โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค

ผู้เขียน นางสาว กาญจนา วิชิตตระกูลถาวร

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาโรคพืช

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ :

รศ. ดร.	นุชนารถ	จงเลขา	ประธานกรรมการ
ผศ.ดร.	วิชชา	สอาดสุด	กรรมการ
ผศ.	อภิญญา	ผลิโกมล	กรรมการ
อาจารย์	พิภพ	ลำยอง	กรรมการ

บทคัดย่อ

จากการแยกแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของพืชตระกูลมะเขือ จำนวน 3 ชนิด จากอำเภอ แม่ริม , สะเมิง และ เชียงดาว พบแบคทีเรีย *Pseudomonas solanacearum* จำนวน 8 ไอโซเลท จากนั้นนำแบคทีเรียทั้ง 8 ไอโซเลท มาทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ โดยการตัดปลายรากมะเขือเทศแช่ใน suspension ของเชื้อสาเหตุ ที่ความเข้มข้น 3 x 10^{8} cfu / ml เป็นเวลา 30 นาที ก่อนการย้ายปลูก พบว่าแบคทีเรียไอโซเลทที่ 8 ที่แยกได้จากมะเขือเทศ อำเภอแม่ริม มีความสามารถในการทำให้เกิดโรคเหี่ยวสูงสุด และจากการทดสอบความสามารถในการต้านทานโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ จำนวน 8 พันธุ์ พบว่า ทุกพันธุ์ คือ Sweetic Peto Seed , Red Sweet K.N. , Pep. T.K., Sweet Kanako , Santa # 0392 , Master No.2 T.K., Taiwan และ Royesta R.S. อ่อนแอต่อการเข้าทำลายของแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว (Ps.8)

จากการแยกเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค จากดิน 5 แหล่ง คือ อำเภอ แม่ริม (ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง หนองหอย) อำเภอ แม่แตง (ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง แม่หลอด) อำเภอ หางดง (ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง ทุ่งเรา) อำเภอ เชียงดาว (ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง ห้วยลึก) และ

อำเภอ เวียงป่าเป้า จังหวัด เชียงราย (ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง แม่ปูนหลวง) โดยวิธี Dilution Plate บนอาหาร 3 ชนิด คือ Potato Dextose Agar , Nutrient Agar และ King 's Medium B ที่ความเข้มข้น 10^{-3} , 10^{-4} และ 10^{-5} เป็นเวลา 3 วันพบแบคทีเรียและเชื้อรา จำนวน 165 ไอโซเลท จากนั้นนำเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้ มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย *P. solanacearum* (Ps. 8) ในห้องปฏิบัติการ โดยวิธี Disc Diffusion บนอาหาร NA เป็นเวลา 3 วัน พบแบคทีเรียจำนวน 40 ไอโซเลท ที่มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวได้ ในจำนวนนี้มี 3 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงสุด คือ RH 14 , RH 19 และ RH39 ซึ่งมีความกว้างของ clear zone 2.11 , 2.45 และ 2.21 ตามลำดับ จากนั้นนำแบคทีเรียดังกล่าวมาบ่งบอกชนิด โดยการวิเคราะห์แบบ API (Automatic Product Identification) พบว่า ไอโซเลท RH 14 คือ *Bacillus cereus* , ไอโซเลท RH 19 คือ *Pseudomonas aeruginosa* และ ไอโซเลท RH 39 คือ *P. putida* และเมื่อนำแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดมาทดสอบความสามารถในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ พันธุ์ Pep. T.K. และวิธีการใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรค ในสภาพเรือนทดลอง โดยแบ่งเป็น 8 กรรมวิธี คือ 1. การแช่รากมะเขือเทศในเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคแต่ละชนิด 30 นาทีก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุ 2. การแช่รากมะเขือเทศในเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคแต่ละชนิด 30 นาที หลังการปลูกเชื้อสาเหตุ 3. การแช่รากมะเขือเทศในเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคแต่ละชนิดร่วมกับเชื้อสาเหตุ 30 นาที 4. ราดเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคแต่ละชนิด 30 มล./ ต้น ลงในวัสดุปลูก 3 วัน ก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุ 5. การแช่เมล็ดลงในเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคแต่ละชนิด 30 นาทีก่อนการปลูกเชื้อสาเหตุ 6.การแช่รากมะเขือเทศลงในเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคแต่ละชนิด 30 นาที 7. การแช่รากมะเขือเทศในเชื้อสาเหตุ 30 นาที 8. การแช่รากในน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) พบว่า แบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด สามารถชะลอการเกิดโรคและลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวลงได้ในทุกกรรมวิธี เมื่อเทียบกับกรรมวิธีการปลูกเชื้อสาเหตุเพียงอย่างเดียว ในขณะที่เมื่อทำการทดสอบในสภาพแปลงปลูก ที่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง หนองหอย อำเภอ แม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ โดยแบ่งเป็น 5 กรรมวิธี คือ กรรมวิธีที่ 1. แช่รากมะเขือเทศ ในเชื้อ *B. cereus* 30 นาที ก่อนการย้ายปลูกและราด suspension ของเชื้อดังกล่าว 30 มล./ ต้น หลังย้ายปลูก ส่วนกรรมวิธีที่ 2 และ 3 ทำในทำนองเดียวกัน ต่างกันเฉพาะชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ต่อต้านโรคที่ใช้ โดยกรรมวิธีที่ 2 ใช้ *P. aeruginosa* กรรมวิธีที่ 3 ใช้ *P. putida* กรรมวิธีที่ 4 ใช้ suspension ผสมของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิดร่วมกัน และกรรมวิธีที่ 5 คือชุดควบคุม พบว่าการใช้เชื้อ *B. cereus* และ suspension ผสมของแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด สามารถลดเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเหี่ยวลงได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น โดยไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับชุดควบคุม

Thesis Title **Control of Bacterial Wilt Disease of Tomato Caused by *Pseudomonas solanacearum* with Antagonistic Microorganisms**

Author **Miss Kanjana Vichitragoontavorn**

M.S. **Plant Pathology**

Examining Committee :

Assoc. Prof. Dr.	**Nuchnart**	**Jonglaekha**	**Chairman**
Asst. Prof. Dr.	**Vicha**	**Sardsud**	**Member**
Asst. Prof.	**Abhinya**	**Plikomol**	**Member**
Lecturer	**Pipob**	**Lumyong**	**Member**

Abstract

Isolations were made form three kinds of wilted solanaceous plants. The diseased plants were collected from three districts ; Mae Rim , Samoeng and Chiang Dao. *Pseudomonas solanacearum* was found as the causal agent , 8 isolates were obtained from these isolations. All isolates were pathogenicity tested on tomato seedlings, using root dip inoculation technique. Their root tips were trimmed before soaking in the inoculum for 30 min. Results showed that Isolate 8 (Ps.8) of the Mae Rim's infected plant had highest pathogenicity ; all tested eight cultivars were susceptible to the pathogen i.e. Sweetic Peto Seed , Red Sweet K.N. , Pep. T.K., Sweet Kanako , Santa # 0392 , Master No.2 T.K., Taiwan and Royesta R.S..

Soil samples were collected from 5 locations districts i.e. Nhong Hoi Development Center Mae Rim District, Mae Lord Development Center Mae Taeng District, Tung Rao Development Center Hang Dong District, Mae Poon Luang Development Center Vieng Papao District Chiang Rai and Huay Leok Development Center Chiang Dao District. The isolations

were made on Potato Dextose Agar , Nutrient Agar and King ' s Medium B at concentrations of 10^{-3}, 10^{-4} and 10^{-5} respectively. After incubation for 3 days the soil isolation plates were examined bacteria and fungi whose colonies have simmilarity were grouped and 165 isolates were obtained. The isolates were then tested for their efficacy in inhibitting growth of *Pseudomonas solanacearum* under laboratory conditions. On NA medium, the causal pathogen and the antagonists were tested in pair using disc diffusion method for bacteric and culture disc method for fungi. After 3 days, it was found that 40 isolates out of 165 inhibited growth of the pathogen and three of them were most effective i.e. RH14, RH19 and RH39. The three isolates were identified to species, using API analysis. It was found that RH14, RH19 and RH39 are *Bacillus cereus, Pseudomonas aeruginosa* and *P. putida* respectively. These three antagonistic bacteria were then used for control of bacterial wilt of tomato c.v. Pep.T.K. under grasshouse conditions. The experiment consists of 8 treatments; 1. Soaking roots in bacteria suspension of each antagonist for 30 min. **before** inoculation. 2. Soaking roots in bacterial suspension for 30 min. **after** inoculation. 3. Soaking roots in mixture of the three antagonistic bacteria and the pathogen for 30 min. before planting. 4. Pouring bacterial suspension into the soil, 30 ml/pot 3 days prior to inoculation. 5. Soaking seeds in bacterial suspension for 30 min. before inoculation 6. Soaking roots in antagonistic bacterial suspension 30 min. before transplanting. 7. Soaking roots in pathogen suspension for 30 min. and 8. Control. It was found that all treatments with antagonistic bacteria showed reduction of percentage of wilted plants. The field experiment was divided into 5 treatments; 1. Soaking roots in *B. cereus* suspension for 30 min. before planting and followed by pouring 30 ml after planting into the soil Treatment 2 and Tr. 3 were carried out in the same manner, only the kind of antagonists used were different, *P. aeruginosa* (Tr.2) and *P. putida* (Tr.3). In treatment 4, tomato roots were soaked in mixture of the three antagonists and Treatment 5 using sterile water instead of bacterial suspension. The tomato plants in all treatments were not inoculated. Results showed that the treatments with *B. cereus* and with the mixture of 3 antagonists could slightly reduce percentage of wilted plants and it were not significant when compare with control.