

มะเขือเทศ, *Lycopersicon esculcutum* Mill, พืชท้องถิ่นแถบ Andean จัดเป็นพืชผักที่รู้จักแพร่หลายทั่วโลก ได้มีการพัฒนาพันธุ์มะเขือเทศมากมายเพื่อปลูกในสภาพภูมิภาคต่างๆ ทั่วโลกซึ่งนอกจากมะเขือเทศมีคุณค่าทางอาหารสูงแล้วยังสามารถใช้รับประทานเป็นผลไม้และแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ มากมาย มีการผลิตมะเขือเทศเป็นการค้าปริมาณมากทุกปี ทวีปเอเชียเป็นผู้นำการผลิตมะเขือเทศรองลงมาก็คือทวีปยุโรป การผลิตมะเขือเทศประสบปัญหาหลายประการโดยเฉพาะเรื่องโรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของมะเขือเทศเกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (ชื่อที่รู้จักเดิม *Pseudomonas solanacearum*) เป็นโรคสำคัญชนิดหนึ่งที่เข้าทำลายมะเขือเทศที่ปลูกในเขตร้อนและกึ่งร้อนทั่วโลก รวมทั้งประเทศไทย ได้มีการพัฒนาวิธีการควบคุมโรคนี้แต่มีรายงานความสำเร็จน้อยมากเนื่องจากความซับซ้อนของเชื้อสาเหตุ เชื้อ *R. solanacearum* เป็นเชื้อมีพืชอาศัยกว้างมากกว่า 200 ชนิด ใน 30 วงศ์ สามารถอยู่อาศัยในดินได้นานเป็นพวก soilborne มีหลาย races และ biovar ดังนั้นโรคเหี่ยวของมะเขือเทศจึงจัดเป็นโรคแบคทีเรียของมะเขือเทศที่ควบคุมยากที่สุด การผลิตมะเขือเทศภายใต้สภาพโรงเรือนในประเทศไทยเป็นแนวทางใหม่ และยังไม่เคยมีการศึกษาการเกิดโรคและการควบคุมโรคในสภาวะเช่นนี้ จุดมุ่งหมายของโครงการวิจัยนี้คือการศึกษาให้เข้าใจถึงชีววิทยา นิเวศวิทยา การแพร่ระบาดของเชื้อโรคนี้กับพืชที่ปลูกภายใต้โรงเรือนเพื่อที่จะพัฒนาวิธีการจัดการโรคแบบผสมผสาน โดยใช้ พันธุ์ต้านทาน การป้องกันโดยชีววิธีด้วยเชื้อ

แบคทีเรียปฏิปักษ์ การจัดการดินโดยใส่พืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อโรคหรือยูเรียผสมปูนขาวให้ได้ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพสูงและปลอดภัยทั้งผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม

ทำการสำรวจมะเขือเทศที่เป็นโรคเหี่ยวในจังหวัดเพชรบุรีและอุดรธานีได้เชื้อ 12 สายพันธุ์ ประกอบด้วย 6 สายพันธุ์ จากเพชรบุรี (To-Pe1 ถึง To-Pe6) และ 6 สายพันธุ์ จากอุดรธานี (To-Ud1 ถึง To-Ud3 และ To-Udk1 ถึง To-Udk3) โดยทดสอบการเกิดโรคและจำแนกเป็นเชื้อ *R. solanacearum* และเชื้อทั้งหมดได้จัดแบ่งเป็น biovar3 โดยสามารถใช้น้ำตาลที่ทดสอบได้ทั้ง 6 ชนิดทำการเปรียบเทียบความรุนแรงในการทำให้เกิดโรคของเชื้อสายพันธุ์ที่แยกใหม่กับสายพันธุ์เก่ากับมะเขือเทศอ่อนแอพันธุ์สีดา พบว่าเชื้อทดสอบทั้ง 5 สายพันธุ์ใหม่เป็นเชื้อรุนแรงทั้งหมด ขณะที่เชื้อเก่า 5 สายพันธุ์มีความรุนแรงแตกต่างกันตั้งแต่ไม่ทำให้เกิดโรคจนถึงรุนแรง การศึกษาการเกิดโรคและความต้านทานโรคของมะเขือเทศ 4 พันธุ์ คือ สีดา, New-Kingkong, BL341 และ BL312 กับเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ใหม่ 3 เชื้อ (To-Ud1, To-Ud3 และ To-Udk 2) และเชื้อสายพันธุ์เก่า 2 เชื้อ (To-1342 และ To-4) ในโรงเรือนปลูกพืชที่สถาบันเทคโนโลยีแห่งเอเชียเป็นเวลา 8 สัปดาห์หลังปลูกเชื้อ พบว่ามะเขือเทศพันธุ์สีดาและพันธุ์ BL341 เป็นพันธุ์อ่อนแอ (S) และพันธุ์ค่อนข้างต้านทาน (MR) โดยมีการเกิดโรค 100% และ 30-60% ตามลำดับ ในขณะที่ 2 สายพันธุ์ คือ New-Kingkong และ BL312 เป็นพันธุ์อ่อนแอและพันธุ์ค่อนข้างอ่อนแอ (MS) ตามลำดับ เชื้อสายพันธุ์ To1342 มีความรุนแรงมากที่สุดในขณะที่เชื้อสายพันธุ์ To-4 มีความรุนแรงน้อยที่สุดใน การทำลายมะเขือเทศทดสอบทั้ง 4 พันธุ์ ปริมาณของเชื้อ *R. solanacearum* ในดิน 1 กรัม จะลดลง 10 เท่า จากเริ่มต้นทดสอบที่ 10^4 cfu/ml เป็น 10^3 cfu/ml เมื่อสัปดาห์ที่ 8 หลังการปลูกเชื้อ

การประเมินการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* สายพันธุ์ To-Udk2 ของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *Bacillus subtilis* สายพันธุ์ CH₄ และ CH₆ และเชื้อ *Pseudomonas fluorescens* สายพันธุ์ CR-S02 และ CM-R03 ในห้องปฏิบัติการและในเรือนปลูกพืชให้ผลควบคุมเชื้อโรคที่คืบหน้าพอใจคล้ายคลึงกันเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ สายพันธุ์ CH₆ ช่วยให้มีมะเขือเทศอยู่รอด 60% ซึ่งเป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในขณะที่เปรียบเทียบ (ที่ไม่มีเชื้อปฏิปักษ์) ไม่มีมะเขือเทศรอดตายเลย (0%) เชื้อปฏิปักษ์ *B. Subtilis* มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *R. solanacearum* ดีกว่าเชื้อปฏิปักษ์ *P. fluorescens*

การควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศโดยการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ CH₆ สามารถทำให้โรคเหี่ยวเกิดได้ช้าลง 2-4 สัปดาห์ หลังการปลูกเชื้อ *R. solanacearum* To-Ud3 โดยที่การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. Subtilis* สายพันธุ์ CH₆ ในรูปของผงเชื้อให้ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวได้ดีกว่าการใช้ในรูปของสารละลายเชื้อและการใส่ผงเชื้อปฏิปักษ์ 3 ครั้ง ห่างกัน 7 วันจะดีกว่าการใส่เพียงครั้งเดียว

การใช้สารสกัดจากขวงเจีย (*Zanthoxylum rhetsa* (Roxb.)DC.) ร่วมกับการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ *B. subtilis* สายพันธุ์ CH₆ ในรูปของผงเชื้อ 4 สัปดาห์ หลังการปลูกเชื้อ *R. solanacearum* To-Ud3 พบว่าสามารถทำให้โรคเหี่ยวเกิดได้ช้าลง และการใช้สารสกัดจากขวงเจียราดลงดินเพียงอย่างเดียว สามารถทำให้การเกิดโรคช้าลงกว่าการใช้สารสกัดจากขวงเจียร่วมกับการใช้เชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในรูปของผงเชื้อ

Tomato, *Lycopersicon esculentum* Mill, native to the Andean region is a universally known vegetable. All tomato varieties have long been developed to grow worldwide under different geographical conditions for not only special nutritive value but also for its dual usage as both fresh fruits and processing products. Large quantities of tomato are produced commercially each year. Asia leads in tomato production and followed by Europe. Production of tomato faces several problems especially diseases. Bacterial wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum* (previously known *Pseudomonas solanacearum*) is one of the most destructive diseases in tropical and subtropical areas worldwide including Thailand. Several control measures have been developed to control the disease but little successful is reported due to complexity of the pathogen. *R. solanacearum* has a wide host range of more than 200 species in 30 families, a long survival as soilborne in soil, and several races and biovars. Therefore, bacterial wilt of tomato is considered the most difficult bacterial disease to control. Production of tomato in protected greenhouse under humid tropic condition in Thailand is a new concept. Bacterial wilt disease and control have not been investigated under this condition. The goal of this research project is to understand biology, ecology and epidemiology of the pathogen under greenhouse cultivation in order to develop an effective integrated control management with host resistant varieties, biological control with bacterial antagonists, soil amendments with either plant active substances or urea-lime mixed. The products obtained are high quality and safety for either consumer and environments.

Surveys of bacterial wilt infected tomato were carried out in Phetchaburi and Udontani provinces. Twelve strains consisted of 6 strains (To-Pe1 to To-Pe6) from Phetchaburi and 6 strains (To-Ud1-3 and To-Udk1-3) from Udontani are identified as *R. solanacearum* and all of them are classified into biovar 3 by showing positive utilization of 6 tested sugars. Comparison on virulence of the new isolated strains and the old isolated strains on susceptible Seeda demonstrated that all 5 new strains are highly virulent whereas the 5 old strains are different varying from avirulent to high virulent. Disease incidence and resistant reaction of 4 tomato varieties; Seeda, New-Kingkong, BL341 and BL-312 were evaluated against 3 new strains (To-Ud1, To-Ud3 and To-Udk2) and 2 old strains (To-1342 and To-4) of *R. solanacearum*. In the greenhouse at Asian Institute of Technology for 8 weeks after inoculation demonstrated that Seeda and BL341 varieties were susceptible (S) and moderately resistant (MR) and had 100% and 30-60 % disease incidence, respectively. While the 2 varieties of New-Kingkong and BL-312 were susceptible (S) and moderately susceptible (MS), respectively. Strain To-1342 is the most virulent whereas strain To-4 is the less virulent to all 4 tested tomato varieties. Bacterial population in 1

gm of soil was 10 times reduction from the beginning of 10^4 cfu/ml to 10^3 cfu/ml at 8 weeks after inoculation. Evaluation of biological control activity using *Bacillus subtilis* CH₄ and CH6 and *Pseudomonas fluorescens* CR-S02 and CM-R03 under laboratory and greenhouse conditions showed similar promising inhibition of *R.solanacearum* To-Udk2. Antagonists strain CH6 provided 60% survival of tomato which was the most effectent whereas control (without antagonist) was no survival (0% survival) of tomato. Antagonistic *B. subtilis* strains gave an inhibition of *R.solanacearum* better than antagonistic *P.fluorescens* strains.

Biological control of bacterial wilt of tomato by antagonistic bacteria *B. subtilis* strain CH6 reduced wilt incidence for 2-4 weeks after inoculation with *R.solanacearum* strain To-Ud3. Application with powder form of *B.subtilis* strain CH6 gave effective biocontrol of bacterial wilt than the suspension form and three applications of powder at 7 days interval has better control than one application.

Integrated control of bacterial wilt of tomato by antagonistic bacteria and plant extract showed that antagonistic bacteria *B.subtilis* stain CH6 can delay bacterial wilt incident for 2-4 weeks after inoculation with *R.solanacearum* To-Ud3. The formulated powder was effective than the suspension form.

Application antagonistic bacteria powder of *B. subtilis* strain CH6 with plant extract of Chung Chia (*Zanthoxylum rhetsa* (Roxb.) DC.) can delay bacterial wilt incident for 4 weeks after inoculation with *R. solanacearum* To-Ud3. However, treated soil with plant extract alone gave a delay of bacterial wilt incidence more than treated the soil with combination of plant extract and power of antagonistic bacteria.