ขยายผลการใช้ชุดควบคุมโรคเหี่ยวแบคทีเรียของมันฝรั่ง ในแปลงเกษตรกรโดยชีววิธี

Increased utility of biocontrol kit for bacterial wilt of potato on commercial farm

วงศ์ บุญสืบสกุล[1] ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล[1] ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์[1]
รุ่งนภา คงสุวรรณ์[1] สุรีย์พร บัวอาจ[1] วิวัฒน์ ภานุอำไพ[2]
1 = กลุ่มงานบักเตรีวิทยา กลุ่มวิจัยโรคพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช
2 = ศบป. เชียงใหม่ อ.ฝาง จ. เชียงใหม่

บทคัดย่อ

ได้ใช้เชื้อ DOA-WB4 ที่พัฒนาเป็นชุดสำเร็จ (Kit) ทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวในแปลงเกษตรกรพื้นที่ 300 ไร่ ระหว่าง ตค. 2550 ถึง กย. 2551 ทำการทดลองการควบคุมโรคเหี่ยวแปลงเกษตรกรโดย คลุกเชื้อปฏิปักษ์กับหัวพันธุ์มันฝรั่งใช้เชื้อ 10^9 cfu ปริมาตร 50 ลิตร แล้วจึงนำไปปลูกในแปลงหรือพื้นที่ที่ตรวจพบเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวหรือเคยมีโรคนี้ระบาดมาก่อน แล้วรดเชื้อปฏิปักษ์โดยใช้เชื้อ 10^6 cfu ปริมาตรหลุมละ 5 ม.ล. จำนวน 2 ครั้ง เมื่อต้นมันฝรั่งอายุ 10 และ 25 วัน ตามลำดับ เปรียบเทียบการเกิดโรคกับแปลงของเกษตรกรแต่ละรายที่ไม่ได้ใช้เชื้อปฏิปักษ์ พบว่าการใช้ชุดสำเร็จควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งเชื้อ DOA-WB4 ในแปลงเกษตรกร 50 ราย พื้นที่ 300 ไร่ ใน 6 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ ตาก เชียงราย ลำปาง ลำพูนและพระเยา พบว่าเชื้อ DOA-WB4 สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวของมันฝรั่งได้ผลดีลดการเกิดโรคเหี่ยวได้ 0- 80 % ปี2552 พบว่าการใช้ชุดสำเร็จควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งเชื้อ DOA-WB4 ในแปลงเกษตรกร 85 ราย พื้นที่ 1,200 ไร่ ใน 7 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ ตาก เชียงราย ลำปาง ลำพูน พะเยา และหนองคาย พบว่าเชื้อ DOA-WB4 สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวของมันฝรั่งได้ผลดีลดการเกิดโรคเหี่ยวได้ 0- 80 % มีเกษตรกร 22 ราย ที่พบว่าการควบคุมโรคโดยใช้สำเร็จดังกล่าวไม่แตกต่างจากการไม่ใช้ซึ่งจากการได้ติดตามประเมินผลและสัมภาษณ์เกษตรกรพบว่าไม่พบว่ามีการระบาดของโรคเหี่ยวจึงไม่พบความแตกต่าง มีเกษตรกร 21 ราย ที่เห็นว่าเชื้อใช้เชื้อปฏิปักษ์ดังกล่าวไม่สามารถควบคุมการระบาดของโรคได้ เนื่องจากเกษตรกรใช้หัวพันธุ์ที่เป็นโรคและการเชื้อในอาหารนมได้ไเชื้อปฏิปักษ์ไม่มากพอที่จะนำไปใช้ควบคุมโรคเหี่ยวได้ ซึ่งจะได้ศึกษาหาวิธีแก้ไขต่อไป

รหัสการทดลอง 01-16-49-05-

คำนำ

Ralstonia solanacearum (Yabuuchi *et al*., 1995) เป็นแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยว (bacterial wilt) ที่ทำความเสียหายกับพืชเศรษฐกิจที่สำคัญหลายชนิดตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบันและถูกจัดให้เป็นโรคที่สำคัญที่สุดโรคหนึ่งของโลกเพราะเชื้อสาเหตุโรคพบระบาดไปทั่วโลกสามารถเข้าทำลายพืชเศรษฐกิจได้มากกว่า 200 ชนิด มากกว่า 40 ตระกูล เชื้อนี้มีชีวิตอยู่รอดในดินได้นาน อยู่ข้ามฤดูในวัชพืชหลายชนิด สามารถถ่ายทอดโรคทางส่วนขยายพันธุ์ เช่น หัวพันธุ์-มันฝรั่ง ท่อนพันธุ์ขิง เป็นต้น ปนเปื้อนและติดไปกับเครื่องมือทางการเกษตรได้ง่ายรวมถึงติดไปกับสัตว์แมลงและมนุษย์ สามารถแพร่ระบาดได้ดีกับระบบให้น้ำทางการเกษตร ที่สำคัญปัจจุบันยังไม่พบวิธีการใดวิธีการหนึ่งที่สามารถควบคุมโรคนี้ให้ได้ผลดีควรแก่การแนะนำ โดยเฉพาะการใช้สารเคมีพบว่าไม่สามารถควบคุมโรคนี้ได้และไม่แนะนำให้ใช้ (Hayward and Hartman, 1994 *in* Hayward , 1995) ขณะที่การใช้พันธุ์ต้านทานค่อนข้างทำได้จำกัดทั้งแบบ horizontal และ vertical เนื่องจากความผันแปรของอุณหภูมิและลักษณะดิน อีกทั้งเชื้อนี้มีความหลากหลายทางพันธุกรรมสูงมาก มีการจัดแบ่งเชื้อนี้หลายระบบเช่น ชนิดเรส (race) ชนิดไบโอวา (biovar) และจัดเป็นกลุ่มตามลักษณะรายพิมพ์ดีเอ็นเอ ขณะที่เมื่อเร็ว ๆ นี้ มีรายงานว่าเชื้อนี้มีระยะที่เรียกว่า VBNC stage (viable but not culture) ซึ่งไม่สามารถเพาะเลี้ยงได้จากดิน แต่ดินนั้นสามารถทำให้เกิดโรคได้ เมื่อเป็นเช่นนี้กลยุทธ์ในการควบคุมโรคจึงต้องใช้วิธีป้องกัน ด้วยการผสมผสาน (integrated control) วิธีการต่าง ๆ เข้าด้วยกัน เช่น การปลูกพืชหมุนเวียน การไถตากดินให้นานกว่าปกติ (French *et al*.,1997) และการใช้สารสมุนไพรเท่าที่จำเป็น (วงศ์, 2546)

Tans-Kersten *et al.,* (2001) พบว่าความสามารถในการเคลื่อนที่ของเชื้อนี้มีผลโดยตรงกับการเข้าทำลายและการเกิดระบาดของโรค Richardson *et al*., (1998) ประสบความสำเร็จจำแนกเชื้อในสกุล *Pseudomonas cepacia* ที่เป็นเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ของเชื้อโรคนี้ โดยอาศัยการจัดกลุ่มตามคุณสมบัติของ fatty acid profiling, REP PCR, BOX PCR และ ERIC PCR Nesmith and Jenkins (1985) พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ มักพบในดินที่มีอินทรีย์หมักตามธรรมชาติ (suppressive and conducive composed soil) Guo *et al*., (2002) รายงานว่าเชื้อแบคทีเรียที่อยู่บริเวณรากพืช (rhizosphere bacteria) ได้แก่ *Pseudomonas* sp. J3, *Bacillus* spp. BB11 and FH 17 มีคุณสมบัติส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและผลิตสารปฏิชีวนะที่สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของพริกได้ Frey *et al*., (1994) ใช้เทคนิคทางพันธุวิศวกรรมสร้างเชื้อกลายพันธุ์ของเชื้อโรคนี้ (Hrp$^-$ mutant of *R. solanacearum* by ω-Km interposon used genetically engineered) ช่วยลดการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ Aino *et al.,* (1998) รายงานว่า endophytic pseudomonads, FPT and FPH มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ Shiomi *et al.* (1999) พบว่าการใช้ suppressive soil จากเมือง Mutsumi ช่วยลดความรุนแรง

ของโรคดังกล่าวในมะเขือเทศ Ciampi *et al.,* (1999) ใช้สารสกัดจากเชื้อ *Bacillus subtilis* ไอโซเลท A47 และ *Pseudomonas fluorescens* BC8 ที่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อโรคเหี่ยว สามารถควบคุมการเกิดโรคเหี่ยวของมันฝรั่งในสภาพไร่ Sanaina *et al*., (1998) ใช้เชื้อแบคทีเรียบริเวณรากควบคุมโรคเหี่ยวในมันฝรั่งได้ 24-83 % และใช้ควบคุมได้ดีกว่าเชื้อโรคนี้ที่กลายพันธุ์เป็นเชื้อที่ไม่เกิดโรครุนแรง (avirulent mutant of *R. solanacearum*) ซึ่งจำแนกเป็น *Bacillus subtilis, B. cereus* และ *Enterobacter cloacae* Karuna *et al*., (1998) พบว่าเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis* สามารถควบคุมโรคนี้ได้ดีกว่า *Pseudomonas aeroginosa* Kelaniyangoda (1998) พบว่าการปรับปรุงดิน (soil amendment) ด้วยการผสม sun hemp seed (*Crotalaria juncea* L.) 10 t/ha + Calcium Oxide 2 t/ha + Urea 200 kg N/ha สามารถควบคุมโรคนี้ทั้งในมะเขือเทศและมันฝรั่ง Suthaya (1984) รายงานว่า *Bacillus cereus* และ *Pseudomonas fluorescens* ที่แยกเชื้อได้จากปุ๋ยหมักและปุ๋ยพืชสดสามารถยับยั้งการเจริญและการทำให้เกิดโรคของเชื้อสาเหตุโรคดังกล่าวได้ แต่ไม่สามารถควบคุมโรคในสภาพไร่ Urutchata (1991) พบว่า *P. fluorescens* NA1 และ *Serratia marcescens* NA25 สามารถควบคุมโรคดังกล่าวในมะเขือเทศได้โดยการแช่รากของกล้ามะเขือเทศก่อนปลูก

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ต่อสาเหตุโรคเหี่ยว *R. solanacearum* ที่เก็บรักษาอยู่ที่กลุ่มงานบักเตรีวิทยา

2. สารเคมีสำหรับเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดต่าง ๆ อุปกรณ์และเครื่องมือปฏิบัติการทางโรคพืชวิทยา เช่น ห้องเขี่ยเชื้อ (clean room) ตู้เขี่ยเชื้อ ตู้เพาะเชื้อ เครื่องเขย่าตั้งอุณหภูมิและความเร็วรอบได้ เครื่องผสมเชื้อ หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ตู้อบฆ่าเชื้อ สารเคมีที่ใช้เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ จานเลี้ยงเชื้อ เครื่อง นับโคโลนี เครื่องวัด-ปรับค่าความเป็นกรด/ด่าง ภาชนะแก้วต่าง ๆ เครื่องคอมพิวเตอร์พร้อมอุปกรณ์ ชุดตรวจ ELISA และ กระดาษ
เป็นต้น

3. วัสดุวิทยาศาสตร์ที่ใช้เตรียมชุดสำเร็จ เช่น หลอดพลาสติก ลวดอลูมิเนียม กระดาษทนความร้อนใช้นึ่งฆ่าเชื้อได้ ขวดน้ำขนาด 10 มล. ฝาปิดขวดอลูมิเนียม อื่น ๆ

4. แปลงเกษตรกรผู้ปลูกมันฝรั่ง รถยนต์ อุปกรณ์การและวัสดุต่าง ๆ เช่น จอบ เสียม พลั่ว กระดาษ ถุงพลาสติกขนาดต่าง ๆ กาวทนความชื้น ปากกาหมึกเคมีชนิดถาวร สมุดบันทึก ถังโฟม blue Ice pack ฯลฯ หัวพันธุ์มันฝรั่งปลอดเชื้อ *R. solanacearum* อื่น ๆ

วิธีการ

ใช้เชื้อ DOA-WB4 ที่พัฒนาเป็นชุดสำเร็จ (Kit) ทดสอบการควบคุมโรคเหี่ยวในแปลงเกษตรกรพื้นที่ มากกว่า 1,000 ไร่ (2551-2553) ตรวจดินหาเชื้อสาเหตุโรค ตรวจหัวพันธุ์ของเกษตรกรที่เข้าร่วมการทดลอง ด้วยชุดตรวจ NCM ELISA Rs Kit แล้ว ทำการทดลองการควบคุมโรคเหี่ยวแปลงเกษตรกรโดย คลุกเชื้อปฏิปักษ์กับหัวพันธุ์มันฝรั่งใช้เชื้อ 10^9 cfu ปริมาตร 50 ลิตร แล้วจึงนำไปปลูก ในแปลงหรือพื้นที่ที่ตรวจพบเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวหรือเคยมีโรคนี้ระบาดมาก่อน แล้วรดเชื้อปฏิปักษ์โดยใช้เชื้อ 10^6 cfu ปริมาตรหลุมละ 5 ม.ล. จำนวน 2 ครั้ง เมื่อต้นมันฝรั่งอายุ 10 และ 25 วัน ตามลำดับ เปรียบเทียบการเกิดโรคกับแปลงของเกษตรกรแต่ละรายที่ไม่ได้ใช้เชื้อปฏิปักษ์

เวลาและสถานที่ เริ่ม ต.ค. 2550 ถึง ก.ย..2553 ทำการทดลองในแห่งปลูกมันฝรั่งของเกษตรกร เช่น จังหวัดเชียงใหม่ ตาก เชียงราย ลำปาง ลำพูน พระเยาและอื่น ๆ

ผลการทดลองและวิจารณ์

ได้วิธีการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งโดยการใช้เชื้อปฏิปักษ์ที่พัฒนาเป็นชุดสำเร็จ กับพื้นที่เกษตรกรที่ประสบปัญหาโรคเหี่ยว จำนวนประมาณ 300 ไร่ ในปี 2550-2551 การผลิตและใช้ชุดสำเร็จควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งเชื้อ DOA-WB4 ในแปลงเกษตรกร 50 ราย พื้นที่ 300 ไร่ ใน 6 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ ตาก เชียงราย ลำปาง ลำพูนและพระเยา พบว่าเชื้อ DOA-WB4 สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวของมันฝรั่งได้ผลดีลดการเกิดโรคเหี่ยวได้

0- 80 % มีเกษตรกร 1 ราย ที่พบว่าการควบคุมโรคโดยใช้สำเร็จดังกล่าวไม่แตกต่างจากการไม่ใช้ เนื่องจากหัวพันธุ์ที่เกษตรกรใช้ไม่เหมาะที่จะใช้เป็นหัวพันธุ์เพราะเป็นหัวมันฝรั่งที่เกษตรกรไม่สามารถจำหน่ายได้แต่จะทิ้งก็เสียดายจึงนำมาใช้ปลูกทำพันธุ์ซึ่งเป็นความคิดและวิธีที่ผิด เพราะเชื้อปฏิปักษ์ไม่สามารถควบคุมโรคได้ถ้าหัวพันธุ์ถูกเชื้อเข้าทำลายแล้ว และเกษตรกรอีกรายหนึ่งพบว่าหลังจากผสมเชื้อในอาหารนมแล้วได้นำไปเลี้ยงในตู้เย็นซึ่งไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของเชื้อปฏิปักษ์ทำให้ปริมาณเชื้อปฏิปักษ์มีไม่มากพอที่จะยับยั้งการเพิ่มปริมาณของเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวได้และเกิดโรคระบาดต่อมา

ปี2552 พบว่าการใช้ชุดสำเร็จควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่งเชื้อ DOA-WB4 ในแปลงเกษตรกร 85 ราย พื้นที่ 1,200 ไร่ ใน 7 จังหวัด ได้แก่ เชียงใหม่ ตาก เชียงราย ลำปาง ลำพูน พะเยา และหนองคาย พบว่าเชื้อ DOA-WB4 สามารถป้องกันการเกิดโรคเหี่ยวของมันฝรั่งได้ผลดีลดการเกิดโรคเหี่ยวได้ 0- 80 % มีเกษตรกร 22 ราย ที่พบว่าการควบคุมโรคโดยใช้สำเร็จดังกล่าวไม่แตกต่างจากการไม่ใช้ซึ่งจากการได้ติดตามประเมินผลและสัมภาษณ์เกษตรกรพบว่าไม่พบว่ามี

การระบาดของโรคเหี่ยวจึงไม่พบความแตกต่าง มีเกษตรกร 21 ราย ที่เห็นว่าเชื้อใช้เชื้อปฏิปักษ์ดังกล่าวไม่สามารถควบคุมการระบาดของโรคได้ เนื่องจากเกษตรกรใช้หัวพันธุ์ที่เป็นโรคและการเชื้อในอาหารนมได้ไเชื้อปฏิปักษ์ไม่มากพอที่จะนำไปใช้ควบคุมโรคเหี่ยวได้ ซึ่งจะได้ศึกษาหาวิธีแก้ไขต่อไป

เอกสารอ้างอิง

วงศ์ บุญสืบสกุล, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, วนิดา ฐิตะฐานและสุเนตตรา เอี่ยมวิจิตร 2540. การศึกษาสารสกัดจากพืชสมุนไพรต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง รายงานผลการวิจัยประจำปี 2540 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กทม. 11 หน้า.

วงศ์ บุญสืบสกุล, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, รุ่งนภา คงสุวรรณ์และวนิดา ฐิตะฐาน 2543. การพัฒนาชุดตรวจเชื้อ *Ralstonia solanacearum* ในขบวนการผลิตหัวพันธุ์มันฝรั่ง รายงานผลการวิจัยประจำปี 2543 กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร กทม. 17 หน้า.

วงศ์ บุญสืบสกุล, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุลและรุ่งนภา คงสุวรรณ์ 2546. การพัฒนาชุดตรวจเชื้อ *Ralstonia solanacearum* จากน้ำและดินในเขตชลประทานพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง รายงานผลการวิจัยประจำปี 2546 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กทม. 22 หน้า.

วงศ์ บุญสืบสกุล, วิวัฒน์ ภานุอำไพ, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, รุ่งนภา คงสุวรรณ์และปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์ 2548. การใช้ประโยชน์จากเชื้อ *Bacillus subtillis* ต่อการควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง รายงานผลการวิจัยประจำปี 2548 สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กทม. 22 หน้า.

วงศ์ บุญสืบสกุล, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล, ปิยรัตน์ รรมกิจวัฒน์ รุ่งนภา คงสุวรรณ์และวิวัฒน์ ภานุอำไพ 2549. การควบคุมเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.* สาเหตุโรคเหี่ยวของมันฝรั่งโดยเชื้อ *Bacillus subtilis* Ehrenberg *วารสารวิชาการเกษตร* ปีที่ 24 ฉบับที่ 2 หน้า 178-197.

วงศ์ บุญสืบสกุล 2550 การควบคุมโรคเหี่ยวของมันฝรั่ง น.ส.พ. กสิกร (ISSN 0125-3697) ปีที่ 80 ฉบับที่4 หน้า 68-92.

Aino, M., Maekawa, Y., Mayama, S and Kato, H. 1998. The use of endophytic bacteria in biocontrol. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number 2.10.5s.

Ciampi, L., Fuentes, R., Schobitz, R., Bernal, G. and Oyarzun, J. 1998. Biological control of *Ralstonia solanacearum* : Alginate beads as carriers for antagonistic cells. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number B2.

French, E.R., Anguiz, R. and Aley, P. 1997. The usefulness of potato resistance to *Ralstonia solanacearum* for the integrated control of bacterial wilt. *In*. Bacterial wilt : Molecular and Ecology aspects. Prior, P., Allen, C. and Elphinestone, J. (eds.) INRA edn., Springer Verlag, Berlin, Germany. pp. 381 – 385.

Frey, P., Prior, P., Marie, C., Kotoujansky, A., Trigalet, D.D. and Trigalet, 1994. Hrp-(sup) mutants of *Pseudomonas solanacearum* as potential biocontrol agents of tomato bacterial wilt. *Appl. Environ.Microbiol*. 60 (9) 3175-3181.

Guo, J., Qi, H. and Li, S. 2002. Biocontrol efficiency of three PGPR strains admixture to pepper bacteria wilt. Bacterial wilt newsletter. 17: 3.

Hayward, A.C. 1995. Symtematics and phylogeny of *Pseudomonas solanacearum* and related bacteria. *In*: Bacterial Wilt: The Disease and Its Causative agent, *Pseudomonas solanacearum.* Hayward, A.C. and Hartman, G.L. (eds.) CABI, Wallingford. pp.123 – 135.

Karuna, K., Khan, A.N.A. and Ravikumar, M.R. 1998. Potential of biocontrol agents in the management of bacterial wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum*. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number B3.

Kelaniyangoda, D.B. 1998. Bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) management in potato and tomato using botanicals and chemicals. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number B13.

Nesmith, W.C. and Jenkins, J.S.F. 1985. Influence of antagonists and controlled matrix potential on the survival of *Pseudomonas solanacearum* in four North Carolina soils. Phytopathology 75 : 1182-1187.

Richardson, J., Elephinstone, J, Stead, D. and Coutts, R. 1998. Differentiation of *Burkholderia cepacia* isolates by fatty acid profiling and PCR for biocontrol of

Ralstonia solanacearum. In : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number 3.5.16

Sanaina, V., Kishore, V. and Shekhawat, G.S. 1998. Biocontrol of bacterial wilt of potato by avirulent mutants of *Ralstonia solanacearum* and other bacteria. *In* : The proceeding of second bacterial wilt international symposium. 22-27 June 1997. Quadeloupe, French West Indies. paper number B5.

Shiomi, Y., Nishiyama, M., Onizuka, T. and Marumoto, T. 1999. Comparison of bacterial community structures in the rhizoplane of tomato plants grown in soils suppressive and conducive towards bacterial wilt. *Appl. Environ. Microbiol*. 65 (9) 3996-4001.

Suthaya, C. 1984. Study on bacterial wilt of tomato. M.Sc. Thesis, Kasetsart university, Bangkok, Thailand 234 Pp

Tans-Kersten, J., Huang, H. and Allen, C. 2001. *Ralstonia solanacearum* needs motility for invasive virulence on tomato. *Journal of Bacteriology*. 183 (12) 3597-3605.

Urutchata, K. 1991. Biological control of tomato bacterial wilt by *Pseudomonas solanacearum*. M.Sc. Thesis, Kasetsart university, Bangkok, Thailand. 199 Pp.

Yabuuchi, E., Kosako, Y., Yano, I., Hotta, H., and Nishiuchi, Y. 1995.Transfer of 2 *Burkholderia* and an *Alcaligenes* species to *Ralstonia* gen. Nov.: Proposal of *Ralstonia picketti* (Ralston, Palleroni and Doudoroff 1973) comb. Nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb. Nov. and *Ralstonia Eutropha* (Davis 1969) comb. Nov. *Micr*