

การใช้พืชตระกูลกะหล่ำเป็นสารรมทางชีวภาพเพื่อควบคุมแบคทีเรียสาเหตุโรครึ้นของขิง
ในสภาพโรงเรือนและแปลงปลูก

Using of Cruciferous plants as Biofumigant to Control Ginger Bacterial Wilt
in Greenhouse and in the Field.

สุรชาติ คูอาริยะกุล^{1/} ปฏิพัทธ์ ใจปิ่น^{1/} อภิชัย วิชัยกุล^{2/} นภาพร ไชยยศ^{1/}

บทคัดย่อ

พืชตระกูลกะหล่ำที่ปลูกเป็นพืชหมุนเวียน และใช้เป็นปุ๋ยพืชสดในขบวนการรมทางชีวภาพ (biofumigation) การสลายตัวของเนื้อเยื่อพืชให้สารประกอบระเหยได้ที่มีธาตุซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ และสามารถลดประชากรของเชื้อโรครึ้นและแมลงศัตรูพืชที่อาศัยอยู่ในดิน พืชตระกูลกะหล่ำในกลุ่ม *Brassica juncea* (L.) Czernj&Coss. นับว่ามีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีของแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (Rso) สาเหตุโรครึ้นของขิงในห้องปฏิบัติการ การศึกษาในสภาพโรงเรือน โดยการคลุมเคล้าใบแห้งอบด้วยความร้อนจากแสงอาทิตย์ในระยะช่อดอกบาน 50% ของพืชตระกูลกะหล่ำในกลุ่ม *B. juncea* จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ Indian mustard (IM) #52 และ #80 เขียวใบ#71 ชุนฉ่าย#77 และข้าว#91 ในดินอัตรา 2.0% โดยน้ำหนักที่ปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยแบคทีเรียกลายพันธุ์ (rifampicin-resistant) Rso isolate 5003-2 โดยดิน 1 กรัม มีปริมาณแบคทีเรียประมาณ 3.4×10^7 โคโลนี และรักษาให้ดินมีความจุความชื้นในสนาม (Field capacity, FC) เท่ากับ 57% เปรียบเทียบกับการใช้ใบขิงและใบข้าวโพดอบแห้งด้วยความร้อนจากแสงอาทิตย์ และการไม่ผสมวัตถุใดๆ ในดินเป็นชุดควบคุม ผลปรากฏว่า เขียวใบ#71 สามารถลดปริมาณของแบคทีเรียกลายพันธุ์ดังกล่าวในดินได้ดีที่สุดภายหลังการทดลอง 2 สัปดาห์ รองลงมาได้แก่ IM #52 และ #80 กับ ข้าว#91 ยกเว้น ชุนฉ่าย#77 ที่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีแบคทีเรียกลายพันธุ์ดังกล่าว ภายหลังการทดลอง 6 สัปดาห์ การคลุมเคล้าใบสดผักกาดเขียวใบ#71 ในระยะช่อดอกบาน 50% ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงสุดในอัตรา 5.0, 10.0 และ 20.0 กรัม ต่อดินแห้ง 100 กรัม ที่ปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยแบคทีเรียกลายพันธุ์ Rso isolate 5003-2 โดยดิน 1 กรัม มีแบคทีเรียประมาณ 1.7×10^7 หน่วยโคโลนีเปรียบเทียบกับ การคลุมเคล้าดินด้วยใบยาสูบอัตรา 20.0 กรัมต่อดินแห้ง 100 กรัม และการไม่ใส่วัตถุใดๆ ในดินเป็นชุดควบคุม พบว่า เขียวใบ#71 อัตรา 10.0 และ 20.0 กรัมต่อดินแห้ง 100 กรัม สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีของแบคทีเรียกลายพันธุ์ Rso isolate 5003-2 ดังกล่าวได้ภายหลังการทดลอง 4 สัปดาห์ ส่วนเขียวใบ#71 อัตรา 5.0 กรัมต่อดินแห้ง 100 กรัม มีผลค่อยๆ ลดประชากรของแบคทีเรียกลายพันธุ์ดังกล่าวได้เป็นลำดับ ภายหลังการทดลอง 2-6 สัปดาห์ และการคลุมเคล้าใบสดผักกาดเขียวใบ#71 ในระยะช่อดอกบาน 50% อัตรา 50 กรัมต่อดินแห้ง 1,000 กรัม ที่ปลูกเชื้อด้วยสาร

รหัสโครงการวิจัย 01 16 49 06 01 01 05 51

^{1/}ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย อ.เมือง จ.เชียงราย 57000 โทร 053-170100

^{2/}สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 1 เชียงใหม่ อ.หางดง จ.เชียงใหม่ 50200 โทร 053-114121-5

แขวนลอยแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ (wild strain) *Rso* isolate 5003-2 โดยดิน 1 กรัม มีปริมาณแบคทีเรียประมาณ 1.5×10^6 หน่วยโคโลนี เปรียบเทียบกับการไม่ใส่วัตถุใดๆ เป็นชุดควบคุม เมื่อครบ 30 วัน ปลูกต้นกล้าขิงเป็นพืชบ่งชี้ (indexing plant) พบว่าการปรับปรุงดินด้วยปุ๋ยพืชสดจากผักกาดเขียวใบ#71 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของขิงได้ 100% ส่วนการศึกษาในสภาพแปลงปลูก โดยการคลุกเคล้าใบสดผักกาดเขียวใบ #71 ในระยะช่อดอกนาน 50% อัตรา 5 กก.ต่อดินพื้นที่ 1 ตร.เมตร ในท่อโลหะฝังดินในแปลงปลูกที่ปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* isolate 5003-2 ความเข้มข้นประมาณ 1.0×10^7 หน่วยโคโลนี/มล. จำนวน 7 ลิตรต่อดินในท่อโลหะพื้นที่ 0.44 ตร.เมตร เปรียบเทียบกับการไม่ใส่วัตถุใดๆ เป็นชุดควบคุม เมื่อครบ 30 วัน ปลูกต้นกล้าขิงและปทุมมาสีขาวย เป็นพืชบ่งชี้ ปรากฏว่าการปรับปรุงดินด้วยปุ๋ยพืชสดจากผักกาดเขียวใบ#71 ไม่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ เนื่องจากในระหว่างการทดลองเป็นช่วงกลางฤดูฝนมีฝนตกชุกและหนัก ก่อให้เกิดการปนเปื้อนของแบคทีเรีย *Rso* ที่เป็นสาเหตุของโรคในดินจากชุดควบคุม

คำนำ

โรคเหี่ยวหรือโรคเนื่อแก้ว (Bacterial wilt) ของขิง (*Zingiber officinale* Roscoe) มีสาเหตุเกิดจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (Smith) Yabuuchi *et al.*, 1995 เดิมชื่อ *Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith พบระบาดในทุกพื้นที่ที่มีการปลูกขิง เป็นเชื้อที่อาศัยอยู่ในดิน (soil inhabitat) ที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคเหี่ยวกับพืชเศรษฐกิจ และวัชพืชหลายชนิดอย่างกว้างขวางทั้งในเขตร้อนเขตกึ่งร้อน และเขตอบอุ่น (Kelman, 1953) สามารถทำลายพืชได้มากกว่า 44 วงศ์ (Hayward, 1991, 1995) ทั้งที่เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและพืชใบเลี้ยงคู่ เช่น พืชวงศ์มะเขือ (Solanaceae) พืชวงศ์ทานตะวัน (Compositae) พืชวงศ์ถั่ว (Leguminosae) และพืชวงศ์ขิงข่า (Zingiberaceae) เป็นต้น การป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวกระทำยาก เนื่องจากเชื้อมีพืชอาศัยหลายชนิด สามารถดำรงชีวิตอยู่ในดินได้ดี และมีความแปรปรวนทางชีววิทยา การป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวจึงเน้นวิธีการผสมผสาน ซึ่ง French (1994) ได้ให้ความสำคัญของมาตรการอบฆ่าเชื้อในดินและการปลูกพืชในดินปลอดเชื้อไว้ในอันดับต้นๆ การอบฆ่าเชื้อในดินด้วยวิธีชีวภาพ (biofumigation) จึงเป็นทางเลือกของการป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูพืชในดิน ซึ่งเป็นการอบดินด้วยสารระเหยที่ได้จากการสลายตัวของสาร glucosinolate (GSL) ที่พบในพืชใบเลี้ยงคู่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอันดับ Capparales และในจำนวนนั้นประกอบด้วยวงศ์ Cruciferae (Brassicaceae) (Fenwick *et al.*, 1983; Rosa *et al.*, 1997) ซึ่งเป็นพืชผักที่มีความสำคัญชนิดหนึ่ง isothiocyanate (ITC) เป็นสารประกอบระเหยได้ที่มีธาตุซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ จากการสลายตัวของสาร GSL โดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (Chew, 1988; Larsen, 1981; Poulton and Moller, 1993) ชนิดของสาร ITCs ที่ปลดปล่อยออกมาขึ้นกับชนิดของสาร GSLs ที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อพืช สามารถควบคุมศัตรูและโรคพืชได้หลายชนิด เช่นโรคที่เกิดจากแบคทีเรีย เชื้อรา ไส้เดือนฝอย และวัชพืช เป็นต้น (Brown and Morra, 1995; Fahey *et al.*, 2001; Mojtahedi *et al.*, 1993) รวมทั้งโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรีย *R. solanacearum* (Akiew *et al.*, 1996, Arthy *et al.*, 2005; อุดมศักดิ์ และคณะ, 2553)

พืชตระกูลกะหล่ำในกลุ่ม *B. juncea* นับว่ามีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีของแบคทีเรีย *Rso* สาเหตุโรคเหี่ยวของขิงในห้องปฏิบัติการ (สุรชาติ และคณะ, 2553) จึงได้นำพืชตระกูลกะหล่ำในกลุ่ม *B.*

juncea ดังกล่าวมาศึกษาเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของชิงในสภาพโรงเรือนและแปลงปลูกสำหรับเป็นข้อมูลการศึกษา และแนะนำแก่ผู้สนใจกับเกษตรกรในขั้นตอนต่อไป

วิธีดำเนินการ

อุปกรณ์

1. แบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (*Rso*) isolate 5003-2 race 1 biovar 3 ซึ่งแยกได้จากชิง เก็บตัวอย่างจาก จ.พะเยา
2. เชื้อแบคทีเรียกลายพันธุ์ (mutant) *Rso* isolate 5003-2 คัดเลือกจากการต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ตามวิธีการของ Kloepper *et al.* (1980)
3. อาหารเลี้ยงเชื้อคัดแปลง Kelman's medium พัฒนาโดย J. Eephistone (ไม่ได้ตีพิมพ์) ตามรายงานของ Englebrecht (1994) (1 ลิตรประกอบด้วย bactopectone 10.0 กรัม glycerol 5 มล. casamino acids 1.0 กรัม วุ้นผง 15.0 กรัม น้ำกลั่น 1,000 มล. ینگฆ่าเชื้อที่ 121°C นาน 15 นาที) ที่เติมสารปฏิชีวนะ rifampicin 90 มก./ลิตร สารป้องกันกำจัดเชื้อรา benomyl 100 มก./ลิตร chlorothalonil 100 มก./ลิตร กับ procymidone 25 มก./ลิตร และสาร tetrazolium chloride (TZC) 50 มก./ลิตร คัดแปลงวิธีการของ Bayot *et al.* (2004)
4. อุปกรณ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการโรคพืช
5. ถ้วยพลาสติกชนิด polystyrene (PS) ขนาดจุ 200 มล. ฝาปิดเจาะรูขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. จำนวน 5 รู
6. ดิน silty clay (ชุดเชียงราย) เก็บตัวอย่างจากแปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงรายที่ความลึก ระดับ 0-20 ซม. นำมาร่อนให้มีขนาด 8.6 mesh (ขนาดตะแกรง 2 มม.) ฝั่งให้แห้งในที่ร่ม (มีน้ำประมาณ 2.5 กรัม/ดิน 1 กรัม)
ใส่ถุงเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อรอการศึกษา
7. แผ่นพลาสติกใสชนิด polypropylene (PP)
8. ปุ๋ยคอก ฟางข้าว และปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 กับสูตร 21-0-0
9. ภาชนะเมล็ด polystyrene (PS) ขนาดเซลล์ลึก 5.0 ซม. ปริมาตร 45 ลบ.ซม. จำนวน 84 เซลล์ต่อ
ถาด
10. เมล็ดพันธุ์ผักตระกูลกะหล่ำในกลุ่ม *B. juncea* ได้แก่ IM #52 และ#80, เขียวใบ #71, ชุนฉ่าย#77 และเขียว #91

11. ท่อนพันธุ์ชิงปลอดโรคเหี่ยว
12. สังกะสีแผ่นเรียบ ขนาด 200x90 ซม.
13. 10mM phosphate buffer pH 6.8

วิธีการ

1. การเตรียมต้นผักตระกูลกะหล่ำในกลุ่ม *B. jumcea*

เพาะเมล็ดผักตระกูลกะหล่ำในกลุ่ม *B. jumcea* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย *Rso* สาเหตุโรคเหี่ยวของชิงในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ IM#52 และ80, เขียวใบ#71, ชุนฉาย#77 และเขียว#91 ในเดือนพฤศจิกายน ในเซลล์ลาดเพาะเมล็ด เมื่อต้นกล้าอายุ 4 สัปดาห์ ย้ายปลูกในแปลงปลูกขนาด 90x250 ซม. ต้นกล้าผักตระกูลกะหล่ำ IM#52, 80 เขียวใบ#71 และเขียว#91 มีระยะปลูก 25x30 ซม. ส่วนชุนฉาย#77 มีระยะปลูก 40x60 ซม. ลักษณะดิน silty clay (ชุดเชิงทราย) pH 6.5 (พิกัด altitude 407 เมตร 19° 52' เหนือ และ 90° 46' ตะวันออก) เมื่อต้นผักเจริญเติบโตจนถึงระยะดอกบานจำนวน 50% ของช่อดอก (ต้นผักมีการสะสมอาหารสูงที่สุด) สุ่มเก็บตัวอย่างต้นผักตระกูลกะหล่ำจำนวน 5 ชนิด ที่มีศักยภาพดังกล่าวในช่วงเช้าตรู่ใส่ถุงพลาสติก นำมาที่ห้องปฏิบัติการ คัดเลือกใบบริเวณกลางลำต้นขึ้นไปถึงปลายยอด และช่อดอก นำมาหั่นเป็นชิ้นขนาด 0.5-1.0 ซม. จากนั้นนำไปอบให้แห้งด้วยเตาอบพลังแสงอาทิตย์ เมื่อแห้งเก็บใส่ถุงพลาสติกปิดปากถุงสนิทเก็บรักษาไว้ใน dessicator ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อการศึกษาในขั้นตอนต่อไป ส่วนการเตรียมตัวอย่างพืชตระกูลกะหล่ำสดเพื่อใช้ยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีแบคทีเรีย ปฏิบัติเช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างผักตระกูลกะหล่ำอบแห้งด้วยพลังแสงอาทิตย์ แต่นำตัวอย่างใส่ถุงพลาสติกพักรอการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

2. การเตรียมแบคทีเรีย *Rso* สาเหตุโรคเหี่ยวของชิง

เตรียมแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ (wild strain) และกลายพันธุ์ (mutant) *Rso* isolate 5003-2 สาเหตุโรคเหี่ยวของชิง โดยการย้ายเชื้อที่เก็บรักษาไว้ในน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อแล้วผสม glycerine 50% ในหลอด cryogenic vial ขนาดบรรจุ 2.0 มล. ที่อุณหภูมิ -20 °C ไปขีดบนอาหารเลี้ยงเชื้อดัดแปลง Kelman's medium เต็ม TZC เพื่อตรวจสอบลักษณะเบื้องต้น บ่มจานเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 28±0.5 °C นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นย้ายโคโลนีแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติและกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 ที่มีลักษณะตามแบบฉบับไปเลี้ยงบน slant อาหารเลี้ยงเชื้อดัดแปลง Kelman's medium ในหลอดเลี้ยงเชื้อบ่มหลอดเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 28±0.5 °C นาน 48 ชั่วโมง และย้าย culture แบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติและกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 ไปใส่ในหลอดเลี้ยงเชื้อใหม่ที่มีน้ำกลั่นนิ่งฆ่าเชื้อแล้ว ซึ่งจะใช้เป็นแหล่งของเชื้อตลอดการศึกษาทดลอง

3. การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* สาเหตุโรคเหี่ยวของชิงด้วยผักตระกูลกะหล่ำ

3.1 ประสิทธิภาพของผักตระกูลกะหล่ำชนิดต่างๆ ในการควบคุมแบคทีเรีย *Rso* สาเหตุโรคเหี่ยวของชิงในดิน การทดสอบดัดแปลงจากวิธีการของ Akiew *et al.*(1996) และ Olivier *et al.*(2006) โดยการนำตัวอย่างผักตระกูลกะหล่ำที่อบแห้งด้วยความร้อนจากแสงอาทิตย์ จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ IM#52 และ#80 เขียวใบ #77 และเขียว#71 ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีของแบคทีเรีย *Rso* สาเหตุโรคเหี่ยวของ

ซิงในห้องปฏิบัติการดังกล่าวหั่นเป็นชิ้นขนาด 0.5-1.0 ซม. จำนวน 2.0 กรัม ผสมคลุกเคล้ากับดินแห้ง (silty clay) ชุดเชียงราย จำนวน 100.0 กรัม บรรจุในถ้วยพลาสติกที่หดยดสารแขวนลอยแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso isolate* 5003-2 จำนวน 17.0 มล. ลงไปในดินแห้งก่อน ซึ่งในดิน 1 กรัม จะมีปริมาณแบคทีเรีย *Rso* เท่ากับ 3.4×10^7 หน่วยโคโลนี และมีความจุความชื้นในสนามของดิน (field capacity, FC) เท่ากับ 57% ก่อนนำไปบ่มในที่มืด สภาพอุณหภูมิห้อง และปิดฝาพลาสติกที่มีรูขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. จำนวน 5 รู ปิดปากถ้วยพลาสติกด้วยแผ่นพลาสติกใสชนิด PP ซึ่งมีคุณสมบัติให้ก๊าซออกซิเจนซึมผ่านได้ สารแขวนลอยแบคทีเรีย เตรียมจากแบคทีเรีย กลายพันธุ์ *Rso isolate* 5003-2 บ่มที่อุณหภูมิ $28 \pm 0.5^\circ\text{C}$ นาน 48 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้น 2×10^8 หน่วยโคโลนี/มล. (วัดด้วย spectrophotometer ค่า OD=0.1 ช่วงคลื่น 620 นม.) วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 8 กรรมวิธี มี 3 ซ้ำ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้ใบซิงและใบข้าวโพด หั่นเป็นชิ้นขนาด 0.5-1.0 ซม. อบแห้งด้วยความร้อนจากแสงอาทิตย์ จำนวน 2.0 กรัม และกรรมวิธีการไม่ผสมวัสดุใดๆ ในดินเป็นชุดควบคุม บันทึกการเจริญเติบโตของโคโลนีแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso isolate* 5003-2 สาเหตุโรคเหี่ยวของซิงในดินในสภาพโรงเรือนภายหลังการทดลอง 1, 14, 28, 35 และ 42 วัน โดยการละลายตัวอย่างดินของแต่ละกรรมวิธี จำนวน 5 กรัม ใน 10 mM phosphate buffer จำนวน 45 มล. ใน flask รูปชมพู่ขนาด 12.5 มล. นำไปเขย่าที่ 100 รอบ/นาที่ นาน 30 นาที จากนั้นนำสารแขวนลอยดินไปกรองผ่านกระดาษกรอง จำนวน 2 ชั้น เพื่อกรองอนุภาคดิน ออก แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อดัดแปลง Kelman's medium ที่เติม rifampicin 90 มก./ลิตร benomyl 100 มก./ลิตร chlorothalonil 100 มก./ลิตร procymidone 25 มก./ลิตร และ T2C 50 มก./ลิตร ดังกล่าว ขณะเดียวกันนำตัวอย่างดินของแต่ละกรรมวิธี จำนวน 5 กรัม บรรจุในกระป๋องอลูมิเนียมมีฝาปิดไปอบที่อุณหภูมิ 105°C นาน 24 ชั่วโมง เพื่อซ่งหาน้ำหนักดินแห้งในแต่ละช่วงเวลาของการทดลอง

นับจำนวนประชากรแบคทีเรียด้วยวิธี serial dilution pour plate จากการนับจำนวน 2 จาน เลี้ยงเชื้อ เพื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3.2 ประสิทธิภาพของผักกาดเขียวใบอัตรต่างๆ ในการควบคุมเชื้อแบคทีเรีย *Rso* สาเหตุโรคเหี่ยวของซิงในดิน

การทดลองดำเนินวิธีการเดียวกับการศึกษาประสิทธิภาพของผักตระกูลกะหล่ำชนิดต่างๆ ในการควบคุมแบคทีเรีย *Rso* สาเหตุโรคเหี่ยวของซิงในดิน โดยการนำตัวอย่างสดผักกาดเขียวใบ#71 ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงสุดจากการศึกษาในข้อ 3.1 หั่นเป็นชิ้นขนาด 0.5-1.0 ซม. จำนวน 5.0, 10.0 และ 20.0 กรัม ผสมคลุกเคล้ากับดินแห้งชุดเชียงราย จำนวน 100.0 กรัม บรรจุในถ้วยพลาสติกที่หดยดสารแขวนลอยแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso isolate* 5003-2 จำนวน 17.0 มล. ซึ่งดิน 1 กรัม จะมีเชื้อประมาณ 1.7×10^7 หน่วยโคโลนี ลงไปในดินแห้งก่อน เช่นเดียวกับการศึกษาในข้อ 3.1 วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 กรรมวิธีมี 4 ซ้ำ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้ใบยาสูบสดหั่นเป็นชิ้นขนาด 0.5-1.0 ซม. จำนวน 20.0 กรัม และกรรมวิธีการไม่ผสมวัสดุใดๆ ในดินเป็นชุดควบคุม บันทึกการเจริญเติบโตของโคโลนีแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso isolate* 5003-2 สาเหตุโรคเหี่ยวของซิงในดิน ภายหลังการทดลอง 2, 4, 5, 6, 7 และ 8 สัปดาห์ การละลายตัวอย่างดิน การเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย และการนับจำนวนประชากรแบคทีเรีย ดำเนินวิธีการเดียวกับข้อ 3.1

3.3 ประสิทธิภาพของปุ๋ยพืชสดจากผักกาดเขียวใบในการควบคุมโรคเหี่ยวของซิงในดิน

นำตัวอย่างผักกาดเขียวใบ#71 ในระยะช่อดอกบาน 50% หั่นเป็นชิ้นประมาณ 1 ซม. จำนวน 50 กรัม ผสมแอลกอฮอล์ 40% จำนวน 10 มล. ปั่นในถุงพลาสติกพอลิเอทิลีน จากนั้นนำไปผสมคลุกเคล้ากับดินแห้งชุด เชียงราย จำนวน 1,000 กรัม ในถุงพลาสติกใสชนิด PP ที่ปลูกเชื้อล่วงหน้า 1 วัน ด้วยสารแขวนลอยแบคทีเรีย สายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso isolate 5003-2* จำนวน 150.0 มล. ซึ่งในดินจะมีปริมาณแบคทีเรีย *Rso* เท่ากับ 1.5×10^6 หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม จากนั้นปิดปากถุงพลาสติกให้สนิท ก่อนนำไปบ่มในที่มืดสภาพอุณหภูมิห้อง นาน 30 วัน วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 2 กรรมวิธีมี จำนวน 15 ซ้ำ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการปลูกเชื้อ แบคทีเรียแต่ไม่ใส่ผักกาดเขียวใบเป็นชุดควบคุม เมื่อครบกำหนดเปิดปากถุงพลาสติกออกนำดินบรรจุใน ถุงพลาสติกดำขนาด 5x8 นิ้ว แล้วปลูกต้นกล้าขิงในดินดังกล่าวเป็นพืชบังชี้ ตรวจสอบผลการเกิดโรคเกี่ยวกับพืช บังชี้ช่วงทุก 10 วันติดต่อกัน นาน 90 วัน

4. การควบคุมโรคเหี่ยวของขิงด้วยปุ๋ยพืชสดจากผักกาดเขียวใบในแปลงปลูก

นำตัวอย่างผักกาดเขียวใบ#71 ในระยะช่อดอกบาน 50% หั่นเป็นชิ้นขนาด 3-5 ซม. จำนวน 2.2 กก. (อัตรา 5 กก.ต่อพท. 1 ตร.เมตร) ผสมแอลกอฮอล์ 40% จำนวน 440 มล. ขยำหรือบดพอลิเอทิลีนในถุงพลาสติก จากนั้นนำไปผสมคลุกเคล้ากับดินในท่อโลหะขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 75 ซม. ที่ฝังลงไปดินลึก 70 ซม. และ โฟล်พื้นระดับผิวดิน 20 ซม. ที่ระดับความลึก 15-30 ซม. โดยการปลูกเชื้อล่วงหน้า 1 วัน ด้วยสารแขวนลอย แบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso isolate 5003-2* ที่ความเข้มข้นประมาณ 1.0×10^7 หน่วยโคโลนี/มล. จำนวน 7 ลิตร ต่อดินในท่อโลหะพื้นที่ 0.44 ตร.เมตร จากนั้นรดน้ำตามให้ชุ่ม วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 2 กรรมวิธี มี 12 ซ้ำ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการปลูกเชื้อ แต่ไม่ใส่ผักกาดเขียวใบ เป็นชุดควบคุม หลังจากปล่อยให้ ไร่ตามธรรมชาติ นาน 1 เดือน ปลูกต้นกล้าขิงและปทุมมาสีขาวยิ่งอ่อนแอต่อโรคเหี่ยว จำนวน 1 และ 4 ต้น ตามลำดับ ระยะห่างกัน 30 ซม. ในดินในท่อโลหะดังกล่าว ตรวจสอบผลการเกิดโรคเกี่ยวกับพืชบังชี้ช่วงทุก 10 วัน ติดต่อกันนาน 90 วัน

เวลาและสถานที่

ระยะเวลา	เริ่มต้นตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2554
สถานที่	ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย อ.เมือง จ.เชียงราย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Rso* สาเหตุโรคเหี่ยวของขิง ด้วยผักตระกูลกะหล่ำในสภาพโรงเรือน

1.1 ประสิทธิภาพของผักตระกูลกะหล่ำชนิดต่างๆ ในการควบคุมแบคทีเรีย *Rso* สาเหตุโรคเหี่ยวของขิงในดิน

ผลการสลายตัวของใบผักตระกูลกะหล่ำในระยะช่อดอกบาน 50% อบแห้งด้วยความร้อนจากแสงอาทิตย์ จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ IM#52 และ#80 เชียวใบ#71 ชุนฉ่าย#77 และชีว#91 ในดิน silty clay (ชุดเชียงราย) ในที่มีสภาพอุณหภูมิห้อง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้ใบขิง และใบข้าวโพดอบแห้งด้วยความร้อนจากแสงอาทิตย์ และการไม่ใส่วัตถุใดๆ ในชนิดเป็นชุดควบคุม พบว่า (ตารางที่ 1) เชียวใบ#71 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญโคโลนีของแบคทีเรียสายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 ได้ตั้งแต่ 14 วันภายหลังการทดลอง โดยประชากรเชื้อลดลงจนตรวจไม่พบในดิน รองลงมาได้แก่ IM#52 และ #80 กับชีว #91 สามารถยับยั้งการเจริญของโคโลนีแบคทีเรียได้ตั้งแต่ 42 วันภายหลังการทดลอง ส่วนชุนฉ่าย#77 ไม่สามารถควบคุมแบคทีเรียสายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 ในดิน ภายหลังการทดลอง 42 วัน

ตารางที่ 1 ผลของใบผักตระกูลกะหล่ำจำนวน 5 สายพันธุ์ ใบขิง และใบข้าวโพดอบแห้งด้วยความร้อนจากแสงอาทิตย์ต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียสายพันธุ์ *R. solanacearum* 5003-2 สาเหตุโรคเหี่ยวของขิงในดินในสภาพโรงเรือนภายหลังการศึกษา 1, 14, 28, 35 และ 42 วัน

Code/สายพันธุ์	ค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อ (หน่วยโคโลนี/ดินแห้ง 1 กรัม)				
	1 วัน	14 วัน	28 วัน	35 วัน	42 วัน
52/Indian mustard	4.50×10^6	-	9.81×10^2	3.88×10^5	-
71/เชียวใบ	4.90×10^6	-	-	-	-
77/ชุนฉ่าย	1.37×10^7	1.07×10^7	1.21×10^7	1.01×10^6	2.40×10^5
80/Indian mustard	9.51×10^5	4.67×10^5	6.31×10^5	4.13×10^5	-
91/ชีว	4.41×10^6	5.07×10^6	5.61×10^5	6.38×10^5	-
ใบขิง	4.58×10^7	6.41×10^7	4.84×10^7	1.61×10^7	8.87×10^6
ใบข้าวโพด	1.45×10^7	1.32×10^7	1.23×10^7	6.13×10^6	3.20×10^6
ไม่ใส่วัตถุใดๆ (ชุดควบคุม)	3.48×10^7	3.21×10^7	1.91×10^7	2.06×10^7	6.81×10^6

1.2 ประสิทธิภาพของผักกาดเขียวใบอัตรส่วนต่างๆ กันในการควบคุมแบคทีเรีย *Rao* สาเหตุโรคเหี่ยวของขิงในดิน

ผลการสลายตัวของใบสดผักกาดเขียวใบ#71 ระยะช่อดอกบาน 50% อัตราส่วน 5.0, 10.0 และ 20.0 กรัมต่อดินแห้ง 100 กรัม ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีของแบคทีเรียสายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 ในดินในถ้วยพลาสติกชนิด PS บ่มในที่มีสภาพอุณหภูมิห้อง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้ใบยาสูบสด 20.0 กรัม และการไม่ใส่วัตถุใดๆ ในดินเป็นชุดควบคุม พบว่า (ตารางที่ 2) ภายหลังการทดลอง 2 และ 3 สัปดาห์ การใช้ใบสดผักกาดเขียวใบ#71 อัตรา 5.0, 10.0 และ 20.0 กรัม มีผลทำให้ประชากรของแบคทีเรียสายพันธุ์ *Rso*

isolate 5003-2 ลดลงจากน้อยไปหามากขึ้นเป็นลำดับ สัมพันธ์กับปริมาณอัตราการใช้ไบสดผักกาดเขียวใบ#71 ในอัตราที่เพิ่มขึ้น ภายหลังจากทดลอง 4 สัปดาห์ เป็นต้น ปรากฏว่า การคลุกเคล้าดินด้วยไบสดผักกาดเขียวใบ#71 ในอัตรา 10.0 และ 20.0 กรัมต่อดินแห้ง 100 กรัม มีผลในการยับยั้งการเจริญโคโลนีแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 โดยสมบูรณ์และไม่สามารถตรวจหาเชื้อในดินได้ ส่วนการคลุกเคล้าดินด้วยไบสดผักกาดเขียวใบ#70 อัตรา 5.0 กรัมต่อดินแห้ง 100 กรัม มีผลค่อยๆ ยับยั้งการเจริญโคโลนีของแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 เพิ่มขึ้นเป็นลำดับเมื่อระยะเวลาภายหลังจากทดลองเพิ่มขึ้น เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการคลุกเคล้าดินด้วยไวยาสูบ อัตรา 20.0 กรัมต่อดิน 100 กรัม และการไม่ใส่วัตถุใดๆ เป็นชุดควบคุมที่ตรวจพบประชากรแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 ดังกล่าว ภายหลังจากทดลอง 2-6 สัปดาห์ แปรปรวนอยู่ในช่วง 1.88×10^6 - 1.72×10^5 และ 5.04×10^5 หน่วยโคโลนี/ดินแห้ง 1 กรัม ตามลำดับ

ตารางที่ 2 ผลการสลายตัวของไบสดผักกาดเขียวใบ#71 อัตราส่วนต่างๆ กันต่อดินแห้ง 100 กรัมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 สาเหตุโรคเหี่ยวของขิงในดินสภาพโรงเรือน ภายหลังจากการศึกษา 2, 3, 4, 5, 6 และ 7 สัปดาห์

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อ (หน่วยโคโลนี/ดินแห้ง 1 กรัม)					
	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์	4 สัปดาห์	5 สัปดาห์	6 สัปดาห์	7 สัปดาห์
เขียวใบ#71 5.0 กรัม	1.61×10^6	3.91×10^5	2.29×10^5	3.14×10^4	7.56×10^3	
เขียวใบ#71 10.0 กรัม	1.01×10^6	1.66×10^5	-			
เขียวใบ#71 20.0 กรัม	2.11×10^5	4.38×10^3	-			
ไวยาสูบ 5.0 กรัม	1.88×10^6	3.54×10^5	3.41×10^5	1.72×10^5	2.71×10^5	
ไม่ใส่วัตถุใดๆ(ชุดควบคุม)	5.04×10^5	2.95×10^5	3.54×10^5	2.45×10^5	3.42×10^5	

หมายเหตุ - = ตรวจไม่พบเชื้อ

1.3 ประสิทธิภาพของปุ๋ยพืชสดจากผักกาดเขียวใบในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในดิน

ผลการสลายตัวของไบสดผักกาดเขียวใบ#71 ระยะช่อดอกบาน 50% อัตรา 50 กรัมต่อดินแห้ง 1,000 กรัม ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีของแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* isolate 5003-2 ในดินที่บรรจุในถุงพลาสติกใสชนิด PP ปิดปากถุงให้สนิท บ่มไว้ในที่มีอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 วัน พบว่า (ตารางที่ 3) ปุ๋ยพืชสดจากผักกาดเขียวใบ#71 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของขิงได้ ต้นขิงมีเปอร์เซ็นต์การรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังจากย้ายปลูกในถุงพลาสติกดำ 90 วัน ในสภาพโรงเรือน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* isolate 5003-2 แต่ไม่ใส่วัตถุใดๆ ที่พบต้นกล้าขิงแสดงอาการเป็นโรคเหี่ยวจำนวน 13.33 -33.33 เปอร์เซ็นต์ในช่วง40-44 วัน ภายหลังจากการย้ายปลูกในถุงพลาสติกดำ และต้นกล้าขิงแสดงอาการโรคเหี่ยว จำนวน 100 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังจากการย้ายปลูกในถุงพลาสติกดำ 48 วัน

ตารางที่ 3 จำนวนต้นกล้าซิงที่อยู่รอดภายหลังการปลูกเป็นพืชทดสอบเป็นเวลา 90 วัน จากการปรับปรุงดินด้วยปุ๋ยพืชสดจากผักกาดเขียวใบ #71 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของซิงในดินสภาพโรงเรือน

กรรมวิธี	เวลาภายหลังการย้ายปลูก (วัน)						
	0	40	41	44	48	70	90
ผสมผักกาดเขียวใบ #71	15	15	15	15	15	15	15
ควบคุม	15	13	11	10	0	0	0

2. ผลการควบคุมโรคเหี่ยวของซิงด้วยปุ๋ยพืชสดจากผักกาดเขียวใบในแปลงปลูก

ผลการปรับปรุงด้วยปุ๋ยในสดผักกาดเขียวใบ#71 ระยะช่อดอกบาน 50% อัตรา 2.2 กก.ต่อพืชที่ดิน 0.44 ตร.ม. ในท่อโลหะขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 75 ซม. เพื่อควบคุมแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso isolate 5003-2* พบว่า (ตารางที่ 4) ปุ๋ยพืชสดจากผักกาดเขียวใบ#71 ไม่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของซิงในสภาพแปลงปลูก โดยต้นกล้าซิงและปทุมมาสีขาวย้ายปลูกลงในดินในท่อโลหะภายหลังการคลุกเคล้าดินด้วยผักกาดเขียวใบ#71 นาน 30 วัน แสดงอาการเป็นโรคเหี่ยวภายหลังการย้ายปลูก 53 วัน จำนวน 16.67 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นต้นกล้าซิงและปทุมมาสีขาวยมีการติดเชื้อเพื่อขึ้นเป็นลำต้น จนเป็นโรคเหี่ยว จำนวน 100 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการย้ายปลูก 60 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso isolate 5003-2* แต่ไม่ใส่วัสดุใดๆ พบ ต้นกล้าซิงและปทุมมาสีขาวย ภายหลังการย้ายปลูกนาน 46 และ 48 วัน แสดงการเป็นโรคเหี่ยวจำนวน 8.33 และ 66.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และแสดงการเป็นโรคเหี่ยว 100 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการย้ายพืชบ่งชี้ปลูกในดินในท่อโลหะ นาน 53 วัน

ตารางที่ 4 จำนวนต้นกล้าซิงและปทุมมาสีขาวยที่อยู่รอดภายหลังการปลูกเป็นพืชทดสอบเป็นเวลา 90 วัน จากการปรับปรุงดินด้วยปุ๋ยพืชสดจากผักกาดเขียวใบ #71 ในการควบคุมโรคเหี่ยวของซิงในดินสภาพแปลงปลูก

กรรมวิธี	เวลาภายหลังการย้ายปลูก (วัน)							
	0	46	48	53	55	57	60	90
ผสมผักกาดเขียวใบ #71	60	60	60	50	10	5	0	0
ควบคุม	60	55	20	0	0	0	0	0

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

การทดสอบผลของการสลายตัวของพืชตระกูลกะหล่ำในกลุ่ม *B. juncea* ในระยะช่อดอกบาน 50% จำนวน 5 สายพันธุ์ได้แก่ IM#52 และ#80 เชียวใบ#71 ชุนฉ่าย#77 และชีว#91 ในขบวนการรวมทางชีวภาพ เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลายพันธุ์ (rifampicin-resistant) *Rso* isolate 5003-2 สาเหตุโรคเหี่ยวของชิงในดินในสภาพโรงเรือน ปรากฏว่า ใบแห้งอบด้วยความร้อนจากแสงอาทิตย์ของผักกาดเขียวใบ#71 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของชิงได้ดีที่สุด ภายหลังการทดลอง 2 สัปดาห์ รองลงมาได้แก่ IM#52 และ#80 เชียวใบ#71 กับชีว#91 ยกเว้นชุนฉ่าย#77 ที่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลายพันธุ์ดังกล่าว ภายหลังการทดลอง 6 สัปดาห์ การคลุกเคล้าใบสดเขียว#71 ในระยะช่อดอกบาน 50% อัตรา 5.0, 10.0 และ 20.0 กรัมต่อดินแห้ง 100 กรัม และดินมีเชื้อแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 ผลการสลายภายหลังการทดลอง 4 สัปดาห์ พบว่า เชียวใบ#71 อัตรา 10.0 และ 20.0 กรัมต่อดินแห้ง 100 กรัม สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของชิงได้ ส่วนเขียวใบ#71 อัตรา 5.0 กรัมต่อดินแห้ง 100 กรัม มีผลค่อยๆ ลดประชากรแบคทีเรียกลายพันธุ์ดังกล่าวลงได้ ภายหลังการทดลอง 2-6 สัปดาห์ การคลุกเคล้าใบสด เชียวใบ#71 ในระยะดอกบาน 50% อัตรา 50 กรัมต่อดินแห้ง 1,000 กรัม ที่มีเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* isolate 5003-2 จากนั้นปลูกต้นกล้าชิงเป็นพืชบังชี ภายหลังการทดลอง 30 วัน พบว่าการปรับปรุงดินด้วยปุ๋ยพืชสดจากผักกาดเขียวใบ #71 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของชิงได้ 100%

การศึกษาในสภาพแปลงปลูก โดยการคลุกเคล้าใบสดผักกาดเขียวใบ#71 ในระยะช่อดอกบาน 50% อัตรา 5 กก.ต่อดินพื้นที่ 1 ตร.เมตร ในท่อโลหะขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 75 ซม. ที่ฝังอยู่ในแปลงปลูก ที่มีเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* isolate 5003-2 จากนั้นปลูกต้นกล้าชิงและปทุมมาสีขาเป็นพืชบังชี ภายหลังการทดลอง 30 วัน พบว่า การปรับปรุงดินด้วยปุ๋ยพืชสดจากผักกาดเขียวใบ#71 ไม่สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ เนื่องจากในระหว่างการทดลองเป็นช่วงกลางฤดูฝนมีฝนตกชุกและหนัก ทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจากดินชุดควบคุม

การนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. เป็นข้อมูลการศึกษาการอบดินด้วยแสงอาทิตย์และการคลุกเคล้าดินด้วยผักกาดเขียว เพื่อกำจัดโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียของชิงในแปลงปลูก
2. เป็นวิธีการเลือกในระบบเกษตรอินทรีย์และเกษตรแบบดั้งเดิมที่ต้องการลดความเสี่ยงจากการใช้สารเคมี
3. เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับนักวิจัยนำผลการศึกษาไปพัฒนาต่อสำหรับใช้ศึกษาทดสอบเพื่อป้องกันกำจัดโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราที่อาศัยอยู่ในดิน ไส้เดือนฝอยแมลงศัตรูพืช และวัชพืช

เอกสารอ้างอิง

สุรชาติ คูอาริยะกุล อภิชัย วิชัยกุล นภาพร ไชยยศ และอุดมศักดิ์ เลิศสุชาตวินิช. 2553. การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของชิงด้วยสาร isothiocyanate ที่กำเนิดจากสาร glucosinolate ในพืชตระกูลกะหล่ำในห้วงปฏิบัติการ. หน้า 278-291. ใน: รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2553 ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงใหม่ กรมวิชาการเกษตร.

อุดมศักดิ์ เลิศสุชาตวินิช ไก่แก้ว สุธรรมมา และนิพนธ์ ทวีชัย. 2553. อิทธิพลจากการสลายตัวของพืชตระกูลกะหล่ำต่อการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* สาเหตุโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ. หน้า 372-379. ใน: การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48 เล่มที่ 1 สาขาพืช. 633 หน้า.

Akiew, S., P.R. Trevorrow and J. Kirkegaard. 1996. Mustard green manure reduces bacterial wilt. ACIAR Bacterial Wilt Newsletter 13:5-6.

Arthy, J.R., E.B. Akiew, J.A. Kirkegaard and P.R. Trevorrow. 2005. Using Brassica spp. as biofumigants to reduce the population of *Ralstonia solanacearum*. Pages 159-163. In: Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex. C, Allen, P. Prior and A.C. Hayward, eds. APS Press.

Bayot, R.G., V.P. Justo and J.P. Dangan. 2004. Evaluation of crucifer wastes as biofumigants

- for bacterial wilt control. *Journal of Tropical Plant Pathology (Philippines)* 40(1-2):73-74.
- Brown, P.D. and M.J. Morra. 1995. Glucosinolate-containing plant tissues as bioherbicides. *J. Agric. Food Chem.* 43:3070-3074.
- Chew, F.S. 1988. Biological effects of glucosinolates. Pages 155-181. In: *Biologically active products: Potential use in agriculture*. Amer. Chem. Soc., Wash., D.C.
- Engelbrecht, M.C. 1994. Modification of a semi-defective medium for the isolation and quantification of *Pseudomonas solanacearum*. *ACIAR Bacterial Wilt Newsletter* 10:3-5.
- Fahey, J.D., A.T. Zalcmann and P. Talalay. 2001. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. *Phytochemistry*. 56:5-51.
- Fenwick, G.R., R.K. Heaney and W.J. Mullin. 1983. Glucosinolates and their breakdown products in food and food plants. *Crit. Rev. Food Sci Nutr.* 18:123-201.
- French, E.R. 1994. Strategies for integrated control of bacterial wilt of potatoes. Pages 199-207. In: *Bacterial Wilt: The Disease and Its Causative Agent, Pseudomonas solanacearum*. A.C. Heyward and G.L. Hartman, eds. CAB International.
- Hayward, A.C. 1991. Biology and epidemiology of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. *Ann. Rev. of Phytopathology* 29:65-87.
- Hayward, A.C. 1995. *Pseudomonas solanacearum*. Pages 139-151. In: *Pathogenesis and Host Specificity in Plant Diseases; Histopathological, Genetic and Molecular basis*. Vol.1: Prokaryotes. U.S. Singh, R.P. Singh and K. Kohmoto, eds. Pergamon, Great Britain.
- Heaney, R.K. and G.R. Fenwick. 1980. Glucosinolates in Brassica vegetables, analysis of 22 varieties of Brussels sprouts (*Brassica oleracea* L. var. *Gemmifera*). *J. Sci. Food agric.* 31:785-793.
- Josefsson, E. 1970. Glucosinolate content and amino acid composition of rapeseed (*Brassica napus*) meal as affected by sulfur and nitrogen nutrition. *J. Sci. Food Agric.* 21:98-103
- Kelman, A. 1953. The Bacterial Wilt Caused by *Pseudomonas solanacearum*. North Carolina Agricultural Experiment Station Technical Bulletin No. 99.
- Kelman, A. 1954. The relationship of pathogenicity in *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance on a tetrazolium medium. *Phytopathology* 44:693-695.
- Kloepper, J.W., M.N. Schroth and T.D. Miller. 1980. Effect of rhizosphere colonization by

plant growth-promoting rhizobacteria on potato plant development and yield.

Phytopathology 70:1078-1082.

Larsen, P.O. 1981. Glucosinolates. Pages 501-525. In: The Biochemistry of Plants. E.E. Conn, ed. Academic Press, Toronto.

Milford, G.F.J. and E.J. Evans. 1991. Factors causing variation in glucosinolate in oilseed rape. Outlook Agri. 20:131-137

Mojtahedi, H., G.S. Santo, J.H. Wilson and A.N. Hang. 1993. Managing Meloidogyne chitwoodi on potato with rapeseed as green manure. Plant Dis. 17:42-46.

Olivier, A.R., Y. Uda, W.B. Sang, H. Honjo, M. Fukami and R. Fukui. 2006. Dried residues of specific cruciferous plants incorporated into soil can suppress the growth of Ralstonia solanacearum, independently of glucosinolate content of the residues. Microbs Environ. 21(4):216-226.

Poulton, J.E. and B. Moller. 1993. Glucosinolates. Pages 209-237. In: Methods in Plant Biochemistry vol. 9. P.J. Lea, ed. Academic Press, Toronto.

Rosa, E.A.S. and A.S. Rodrigues. 2001. Total and individual glucosinolate content in 11 broccoli cultivars grown in early and late seasons. HortScience 36(1):56-59.

Rosa, E.A.S., R.K. Heaney, G.R. Fenwick and C. Portas. 1997. Glucosinolates in crop plants. Pages 99-215. In: Horticultural Review, Vol. 9, Jules Janick, ed. John Wiley&Sons, Inc.

Shep, B.J., L.Liu and D. McLellan. 1993. Glucosinolate composition of broccoli (Brassica oleracea var Italica) grown under various boron treatments at three Ontario sites. Can. J. Plant Sci. 73:885-888.

Sultana, T., D.L. McNeil, N.G. Porter and G.P. Savage. 2003. Investigation of isothiocyanate yield from flowering and non-flowering tissues of wasabi grown in a flooded system. J. of Food Composition and Analysis 16:637-646.

Velasco, P., M.E. Cartea, C. Gonzalez, M.Vilar and A. Ordas. 2007. Factors affecting the glucosinolate content of kale (Brassica oleracea acephala Group). J. Agri. Food Chem. 55(3):955-962.

Yabuuchi, E., Y. Kosako, I. Yano, H. Hotta and Y. Nishiuchi. 1995. Transfer of two Burkholderia and an Alcaligenes species to Ralstonia gen. nov., proposal of Ralstonia pickettii (Ralston. Pelleroni and Doudoroff 1973) comb. Nov., Ralstonia solanacearum (Smith 1896) comb. Nov. and Ralstonia eutropha (Davis 1969) comb. nov. Microbiol. Immunol. 39:897-904.

