รายงานผลงานเรื่องเต็มการทดลองสิ้นสุดปี 2557

แผนงานวิจัย	วิจัยและพัฒนากลุ่มพืชผักและเห็ด
โครงการวิจัย	เทคโนโลยีการผลิตขิงที่ได้คุณภาพ
กิจกรรม	เทคโนโลยีการผลิตขิงที่ได้คุณภาพ
กิจกรรมย่อย	การเขตกรรมและการจัดการการผลิตขิงอย่างยั่งยืน
ชื่อการทดลอง	การใช้พืชตระกูลกะหล่ำเป็นสารรมทางชีวภาพ เพื่อควบคุมแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของขิงในสภาพโรงเรือนและแปลงปลูก Using of Cruciferous plants as Biofumigant to Control Ginger Bacterial Wilt in Greenhouse and in the Field.
คณะผู้ดำเนินงาน	สุรชาติ คูอาริยะกุล วิมล แก้วสีดา ปฏิพัทธ์ ใจปิน อภิชัย วิชัยกุล สุธามาศ ณ น่าน นภาพร ไชยยศ

บทคัดย่อ

ปุ๋ยพืชสดในขบวนการรมทางชีวภาพ (Biofumigation, BF) จากพืชตระกูลกะหล่ำสามารถลดประชากรของเชื้อโรคพืช และแมลงศัตรูพืชที่อาศัยอยู่ในดิน พืชตระกูลกะหล่ำในกลุ่ม *Brassica juncea* (L.) Czernj&Coss. นับว่ามีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีของแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (*Rso*) สาเหตุโรคเหี่ยวของขิงในห้องปฏิบัติการ การศึกษาในสภาพโรงเรือน โดยการคลุมเคล้าใบแห้งอบด้วยความร้อนจากแสงอาทิตย์ในระยะผสมเกสร (ช่อดอกบาน 50%) ของพืชตระกูลกะหล่ำในกลุ่ม *B. juncea* จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ Indian mustard (IM) #52 และ #80 เขียวใบ#71 ชุนฉ่าย#77 และขิ่ว#91 ในดินอัตรา 2.0% โดยน้ำหนัก ที่ปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยแบคทีเรียกลายพันธุ์ (rifampicin-resistant) *Rso* isolate 5003-2 และรักษาให้ดินมีความจุความชื้นในสนาม (Field capacity, FC) ประมาณ 57% เปรียบเทียบกับการใช้ใบขิงและใบข้าวโพดอบแห้งด้วยความร้อนจากแสงอาทิตย์ และการไม่ผสมวัตถุใดๆ ในดินเป็นชุดควบคุม ผลปรากฏว่า เขียวใบ#71 สามารถลดปริมาณของแบคทีเรียกลายพันธุ์ดังกล่าวในดินได้ดีที่สุดภายหลังการทดลอง 2 สัปดาห์ รองลงมาได้แก่ IM #52 และ #80 กับ ขิ่ว#91 ยกเว้นชุนฉ่าย#77 ที่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของโคโลนีแบคทีเรียกลายพันธุ์ดังกล่าว ภายหลังการทดลอง 6 สัปดาห์ ส่วนการคลุกเคล้าใบสดผักกาดเขียวใบ#71 ในระยะผสมเกสร ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงสุดในอัตรา 5.0, 10.0 และ 20.0 กรัม ต่อดินแห้ง 100 กรัม ที่ปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 เปรียบเทียบกับการคลุกเคล้าดินด้วยใบสดผักบุ้งจีนอัตรา 20.0 กรัมต่อดินแห้ง 100 กรัม และการไม่ใส่วัตถุใดๆ ในดินเป็นชุดควบคุม พบว่าภายหลังการทดลองผักกาดเขียวใบ#71 มีผลทำให้ปริมาณประชากรของแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso*

isolate 5003-2 ลดลงเป็นลำดับ เมื่อเวลานานขึ้น สัมพันธ์กับอัตราปริมาณของใบสดผักกาดเขียวใบ#71 ที่เพิ่มขึ้น และไม่สามารถตรวจหาประชากรของเชื้อได้ภายหลังการทดลอง 8, 7 และ 6 สัปดาห์ ตามลำดับ

รหัสโครงการวิจัย 01 16 49 06 01 01 05 51

และการคลุกเคล้าใบสดผักกาดเขียวใบ#71 ในระยะผสมเกสร อัตรา 100 กรัมต่อดินแห้ง 2,000 กรัม ที่ปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ (wild strain) *Rso* isolate 5003-2 เปรียบเทียบกับการไม่ใส่วัตถุใดๆ เป็นชุดควบคุม พบว่าตรวจไม่พบแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* ดังกล่าว ภายหลังการทดลอง 9 สัปดาห์ เมื่อปลูกต้นกล้าขิงเป็นพืชบ่งชี้ (indexing plant) ภายหลังการทดลอง 4 เดือน พบว่าการปรับปรุงดินด้วยปุ๋ยพืชสดจากผักกาดเขียวใบ#71 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของขิงได้ 100% ภายหลังการทดลอง 90 วัน สำหรับการศึกษาในสภาพแปลงปลูก โดยการคลุกเคล้าใบสดผักกาดเขียวใบ #71 ในระยะ อัตรา 5 กก.ต่อดินพื้นที่ 1 ตร.เมตร ในวงท่อโลหะฝังดินในแปลงปลูกที่ปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* isolate 5003-2 เปรียบเทียบกับการไม่ใส่วัตถุใดๆ เป็นชุดควบคุม ภายหลังการทดลอง 4 เดือน ปลูกต้นกล้าขิงเป็นพืชบ่งชี้ ปรากฏว่าการปรับปรุงดินด้วยปุ๋ยพืชสดจากผักกาดเขียวใบ#71 สามารถยับยั้งการเจริญของโคโลนีแบคทีเรีย *Rso* ในสภาพแปลงปลูกได้ โดยไปชะลอเวลาการติดเชื้อทำให้ต้นกล้าขิงเป็นโรคเหี่ยวช้าลง โดยต้นกล้าขิงแสดงอาการปกติ จำนวน 86.1% ภายหลังปลูกนาน 24 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เป็นโรคเหี่ยว จำนวน 100% แต่เมื่อเวลานานขึ้นต้นกล้าขิงจะค่อยๆ เป็นโรคเหี่ยวเพิ่มมากขึ้น เป็นลำดับ

คำนำ

โรคเหี่ยวหรือโรคเนื้อแก้ว (Bacterial wilt) นับว่าเป็นปัญหาสำคัญของการปลูกขิง (*Zingiber officinale* R.) พบทุกพื้นที่ในเขตร้อนและเขตกึ่งร้อนทั่วโลก รวมทั้งในประเทศไทย (พัน และคณะ, 2522) มีสาเหตุเกิดจากแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (*Rso*) (Smith) Yabuuchi *et al.*, 1995 เดิมชื่อ *Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith ซึ่งเป็นเชื้อที่อาศัยอยู่ในดิน (soil inhabitat) ที่มีความสำคัญมากชนิดหนึ่งที่ก่อให้เกิดโรคเหี่ยวกับพืชเศรษฐกิจและวัชพืชหลายชนิดทั่วโลก อย่างกว้างขวางมากกว่า 200 พันธุ์ชนิด (species) ในจำนวน 53 วงศ์ (Family) (Buddenhagen and Kelman, 1964; Elphinstone, 2005; Hayward, 1994; Kelman, 1953) โรคเหี่ยวของขิงมีรายงานว่าเกิดจากแบคทีเรีย *Rso* race 4 (Alvarez *et al.*, 2010; Buddenhagen and Kelman, 1964) แต่ในประเทศไทยมีรายงานเกิดจาก race 1 biovar 3 และ 4 (Uematsu *et al.*, 1983) ซึ่ง Alvarez *et al.* (2010) กล่าวว่าแบคทีเรีย *Rso* race 1 นับได้ว่ามีพืชอาศัยมากที่สุดประกอบด้วยพืชวงศ์มะเขือ (Solanaceae) พืชวงศ์ทานตะวัน (Compositae) พืชวงศ์ถั่ว (Leguminosae) ไม้ดอกไม้ประดับ ไม้ยืนต้น ไม้ผล และพืชอื่นๆ อีกหลายชนิด ดังนั้นการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวของขิงจึงกระทำได้ค่อนข้างยาก เนื่องจากเชื้อมีพืชอาศัยหลายชนิดดังกล่าว สามารถดำรงชีพอยู่ในดินได้ดี และมีความแปรปรวนทางชีววิทยา การป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวมักใช้

วิธีการผสมผสาน ซึ่ง French (1994) รายงานวิธีการอบฆ่าเชื้อในดินและการปลูกพืชในดินปลอดเชื้อเป็นมาตรการที่มีความสำคัญในอันดับต้นๆ การอบฆ่าเชื้อในดินมักใช้สารรมเมธิลโบรไมด์ (methyl bromide) ร่วมกับคลอโรพิคลิน (chloropicrin) เพื่อลดปริมาณของแบคทีเรีย *Rso* และไส้เดือนฝอย (Ishii and Aragaki, 1963; Sato, 1999) อย่างไรก็ตามเมธิลโบรไมด์ที่เป็นสารรมทางการเกษตรมีผลไปทำลายชั้นโอโซนในบรรยากาศ จึงถูกห้ามใช้ในปี ค.ศ. 2005 ในประเทศที่พัฒนาแล้ว และภายในปี ค.ศ. 2015 สำหรับประเทศที่กำลังพัฒนา (Montreal Protocal, UNEP, 1987) (Ibekwe, 2004)

การรมโดยวิธีชีวภาพ จึงเป็นทางเลือกของการป้องกันกำจัดโรคพืช และแมลงศัตรูพืชในดิน ซึ่งเป็นการอบดินด้วยสารประกอบระเหยได้ isothiocyanates (ITCs) ที่ได้จากการสลายตัวของสาร glucosinolates (GSL) โดยปฏิกิริยาไฮโดรไลซีส (Chew, 1988; Larsen, 1981; Poulton and Moller, 1993) ที่พบในพืชใบเลี้ยงคู่อันดับ Capparales ได้แก่วงศ์ Brassicaceae (Cruciferae) วงศ์ Capparaceae และวงศ์ Caricaceae (Fahey *et al*., 2001) โดยเฉพาะพืชในวงศ์ Brassicaceae จะให้สารประกอบระเหยได้ ITCs หลากหลายชนิดมากที่สุด ประสิทธิภาพในการควบคุมศัตรูพืช และโรคพืชชนิดต่างๆ ในดินขึ้นกับชนิดของสารประกอบ ITC ที่เกิดจากสาร GSL ต่างชนิดกันไป ซึ่ง Matthiessen and Shackleton (2005) แสดงให้เห็นว่าผักกาดเขียวที่มี propenyl-GSL ในประมาณสูง จะมีประสิทธิภาพสูงสุดในการชะลอและลดปริมาณความรุนแรงของโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรีย *Rso* ในสภาพแปลงปลูก

การศึกษาคัดเลือกพืชตระกูลกะหล่ำเป็นสารรมทางชีวภาพ เพื่อยับยั้งการเจริญของแบคที่เรีย *Rso* สาเหตุโรคเหี่ยวของยาสูบ เริ่มเป็นครั้งแรกในประเทศออสเตรเลีย (Akiew *et al*., 1996) โดยใช้ Indian mustard (*B. juncea*) เป็นปุ๋ยพืชสด เพื่อควบคุมโรคเหี่ยวในดิน ส่วนในประเทศไทย สุรชาติ และคณะ (2553) กับอุดมศักดิ์ และคณะ (2553) รายงานว่า พืชตระกูลกะหล่ำในกลุ่ม *B. jumcea* (ผักกาดเขียวปลี ผักชุนฉ่าย และผักกาดเขียวใบ) มีศักยภาพสูงในการยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีของแบคทีเรีย *Rso*

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกพืชตระกูลกะหล่ำในกลุ่ม *B. juncea* ที่มีศักยภาพสูงในการยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีของแบคทีเรีย *Rso* สาเหตุโรคเหี่ยวของขิงในห้องปฏิบัติการ (สุรชาติ และคณะ, 2553) เพื่อคัดเลือกชนิดที่มีศักยภาพทั้งในปริมาณและการใช้เวลาที่เหมาะสมในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวของขิงในดินในสภาพโรงเรือนและแปลงปลูก เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับนำไปศึกษาและพัฒนาการใช้เป็นปุ๋ยพืชสดในการรมทางชีวภาพของขิงในสภาพแปลงปลูกต่อไป

วิธีดำเนินการและอุปกรณ์

อุปกรณ์

1. แบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ (wild strain) *Rso* isolate 5003-2 race 1 biovar 3 ซึ่งแยกได้จากขิง เก็บตัวอย่างจาก จ.พะเยา
2. แบคทีเรียกลายพันธุ์ (mutant) *Rso* isolate 5003-2 คัดเลือกจากการต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ rifampicin ตามวิธีการของ Kloepper *et al.* (1980)

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Semiselective South Africa agar (SMSA) medium พัฒนาโดย J. Elphinstone (ไม่ได้ตีพิมพ์) ตามรายงานของ Englebrecht (1994) (1 ลิตรประกอบด้วย bactopeptone 10.0 กรัม glycerol 5 มล. casamino acids 1.0 กรัม วุ้นผง 15.0 กรัม น้ำกลั่น 1,000 มล. นึ่งฆ่าเชื้อที่ 21^{o}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 (T2C) 50 มก./ลิตร ดัดแปลงวิธีการของ Bayot *et al.* (2004)
4. อาหารเลี้ยงเชื้อ Selective Medium Design Algorithm Restricted by Two Constraints (SMART) (1 ลิตรประกอบด้วย D-manitol 1 กรัม Na_2HPO_4 3 กรัม KH_2PO_4 3 กรัม NH_4Cl 1 กรัม $MgSO_4$ 0.25 กรัม $FeSO_4$ 0.005 กรัม วุ้นผง 15.0 กรัม น้ำกลั่น 1,000 มล. นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121^{o}C นาน 20 นาที) ที่เติม crystal violet 0.003 กรัม สารป้องกันกำจัดเชื้อรา procymedone 0.05 กรัม สารปฏิชีวนะ chloramphenical 0.01 กรัม และ polymixin 0.01 กรัม ฆ่าเชื้อโดยวิธีกรองผ่าน membrane ดัดแปลงวิธีการของ Kawanishi *et al.* (2011)
5. อุปกรณ์ต่างๆ ในห้องปฏิบัติการโรคพืช
6. ถ้วยพลาสติกชนิด polystyrene (PS) ขนาดจุ 200 มล. ฝาปิดเจาะรูขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. จำนวน 5 รู
7. ถุงพลาสติกใสชนิด polypropylene (PP) ขนาด 8x12 นิ้ว ที่เจาะรูข้างถุง ขนาด 12 มม. จำนวน 4 รู แล้วปิดทับด้วยแผ่นพาราฟิล์มเพื่อให้อากาศถ่ายเท
8. ดิน silty clay (ชุดเชียงราย) เก็บตัวอย่างจากแปลงทดลองของศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงรายที่ความลึกระดับ 0-20 ซม. นำมาร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2.0 มม. (ก้อนดินมีขนาด 8.6 mesh) ผึ่งให้แห้งในที่ร่ม (ซึ่งจะมีน้ำประมาณ 2.5 กรัม/ดิน 100 กรัม) เก็บใส่ถุงไว้ที่อุณหภูมิห้องเพื่อรอการศึกษา
9. แผ่นพลาสติกใสชนิด PP
10. ปุ๋ยคอก ฟางข้าว และปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 กับสูตร 21-0-0
11. ถาดเพาะเมล็ด PS ขนาดเซลล์ลึก 5.0 ซม. ปริมาตร 45 ลบ.ซม. จำนวน 84 เซลล์ต่อถาด
12. เมล็ดพันธุ์ผักตระกูลกะหล่ำในกลุ่ม *B. juncea* ได้แก่ IM #52 และ#80, เขียวใบ #71, ชุนฉ่าย#77 และขิ่ว #91
13. ท่อนพันธุ์ขิงปลอดโรคเหี่ยว ขนาดน้ำหนัก 50-75 กรัมต่อท่อน
14. สังกะสีแผ่นเรียบ ขนาด 200x90 ซม.
15. 10mM phosphate buffer pH 6.8
16. แผ่นพลาสติกใสชนิด polyethylene (PE) ขนาดกว้าง 1.40 เมตร หนา 0.04 มม.

วิธีดำเนินการ

1. การเตรียมต้นผักตระกูลกะหล่ำในกลุ่ม *B. jumcea* สำหรับการศึกษา

การศึกษาในสภาพโรงเรือนเพาะเมล็ดผักตระกูลกะหล่ำในกลุ่ม *B. jumcea* ที่มีศักยภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย *Rso* สาเหตุโรคเหี่ยวของขิงในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ IM#52 และ80, เขียวใบ#71,

ชุนฉ่าย#77 และขิ่ว#91 ในเดือนพฤศจิกายน ในเซลล์ถาดเพาะเมล็ด เมื่อต้นกล้าอายุ 4 สัปดาห์ ย้ายปลูกในแปลงปลูกขนาด 90x250 ซม.ต้นกล้าผักตระกูลกะหล่ำ IM#52, 80 เขียวใบ#71 และขิ่ว#91 มีระยะปลูก 25x30 ซม. ส่วนชุนฉ่าย#77 มีระยะปลูก 40x60 ซม. ลักษณะดิน silty clay (ชุดเชียงราย) pH 6.5 (พิกัด altitude 407 เมตร 19° 52′เหนือ และ90° 46′ ตะวันออก) เมื่อต้นผักเจริญเติบโตจนถึงระยะผสมเกสร (ต้นผักมีการสะสมอาหารสูงที่สุด) สุ่มเก็บตัวอย่างต้นผักตระกูลกะหล่ำจำนวน 5 ชนิด ที่มีศักยภาพดังกล่าวในช่วงเช้าตรู่ใส่ถุงพลาสติก นำมาที่ห้องปฏิบัติการ คัดเลือกใบบริเวณกลางลำต้นขึ้นไปถึงปลายยอด และช่อดอก นำมาหั่นเป็นชิ้นขนาด 0.5-1.0 ซม. จากนั้นนำไปอบให้แห้งด้วยเตาอบพลังแสงอาทิตย์ เมื่อแห้งเก็บใส่ถุงพลาสติกปิดปากถุงสนิทเก็บรักษาไว้ใน dessicator ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อการศึกษาในขั้นตอนต่อไป ส่วนการเตรียมตัวอย่างผักกาดเขียวใบ#71 เพื่อใช้เป็นปุ๋ยพืชสดสำหรับควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในดิน โดยวิธีเตรียมแปลงปลูกแล้วหว่านเมล็ดผักกาดเขียวใบ#71 ดูแลรักษาให้เจริญเติบโตจนถึงระยะผสมเกสร จากนั้นเก็บเกี่ยวนำมาหั่นเป็นชิ้น ขนาด 0.5-1.0 ซม. ที่ห้องปฏิบัติการปฏิบัติเช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างผักตระกูลกะหล่ำ จำนวน 5 ชนิด ดังกล่าว นำตัวอย่างใส่ถุงพลาสติกพักไว้รอการศึกษาต่อไป สำหรับการศึกษาในสภาพแปลงปลูก เตรียมแปลงปลูกแล้วหว่านเมล็ดผักกาดเขียวใบ#71 ดูแลรักษาให้เจริญเติบโตจนถึงระยะผสมเกสร จากนั้นเก็บเกี่ยวนำมาหั่นเป็นชิ้น ขนาด 3-5 ซม. ที่ห้องปฏิบัติการ นำตัวอย่างใส่ถุงพลาสติกพักไว้รอการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

2. การเตรียมแบคทีเรีย *Rso* สาเหตุโรคเหี่ยวของขิง

เตรียมแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ (wild strain) และกลายพันธุ์ (mutant) *Rso* isolate 5003-2 สาเหตุโรคเหี่ยวของขิง โดยการย้ายเชื้อที่เก็บรักษาไว้ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้วผสม glycerine 50% ในหลอด cryogenic vial ขนาดบรรจุ 2.0 มล. ที่อุณหภูมิ -20°C (Sly, 1983) ไปขีดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SMSA medium เติม TZC เพื่อตรวจสอบลักษณะเบื้องต้น บ่มจานเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 28$\pm$0.5°C นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นย้ายโคโลนีแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติและกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 ที่มีลักษณะตามแบบฉบับไปเลี้ยงบน slant อาหารเลี้ยงเชื้อ SMSA medium ในหลอดเลี้ยงเชื้อบ่มหลอดเลี้ยงเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 28$\pm$0.5 °C นาน 48 ชั่วโมง และย้าย culture แบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ และกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 ไปใส่ในหลอดเลี้ยงเชื้อใหม่ที่มีน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ซึ่งจะใช้เป็นแหล่งของเชื้อตลอดการศึกษาทดลอง

3. การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* สาเหตุโรคเหี่ยวของขิงด้วยผักตระกูลกะหล่ำในสภาพโรงเรือน

3.1 ประสิทธิภาพของผักตระกูลกะหล่ำชนิดต่างๆ ในการควบคุมแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* ในดิน

การทดสอบดัดแปลงจากวิธีการของ Akiew *et al.*(1996) และ Olivier *et al.* (2006) โดยการนำตัวอย่างผักตระกูลกะหล่ำที่หั่นเป็นชิ้นขนาด 0.5-1.0 ซม. อบแห้งด้วยความร้อนจากแสงอาทิตย์ จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ IM#52 และ#80 เขียวใบ #77 ชุ่ยฉ่าย#77 และขิ่ว#91 ที่มีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีของแบคทีเรีย *Rso* สาเหตุโรคเหี่ยวของขิงในห้องปฏิบัติการดังกล่าว จำนวน 2.0 กรัม ผสมคลุกเคล้ากับดินแห้ง (silty clay) ชุดเชียงราย จำนวน 100.0 กรัม บรรจุในถ้วยพลาสติกที่หยดสาร

แขวนลอยแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 จำนวน 15.0 มล. ลงไปในดินแห้งก่อน ซึ่งในดิน 1 กรัม จะมีปริมาณแบคทีเรีย *Rso* ประมาณ 3.0x10^7 หน่วยโคโลนี และมีความจุความชื้นในสนามของดิน (field capacity, FC) ประมาณ 57% ก่อนนำไปบ่มในที่มืดสภาพอุณหภูมิห้อง และปิดฝาพลาสติกที่มีรูขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. จำนวน 5 รู ปิดปากถ้วยพลาสติกด้วยแผ่นพลาสติกใสชนิด PP ซึ่งมีคุณสมบัติให้ก๊าซออกซิเจนซึมผ่านได้ สารแขวนลอยแบคทีเรีย เตรียมจากแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 บ่มที่อุณหภูม 28$\pm$0.5°C นาน 48 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นประมาณ 2x10^8 หน่วยโคโลนี/มล. (วัดด้วย spectrophotometer ค่า OD=0.1 ช่วงคลื่น 620 นม.) วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 8 กรรมวิธี มี 3 ซ้ำ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้ใบขิงและใบข้าวโพด หั่นเป็นชิ้นขนาด 0.5-1.0 ซม. อบแห้งด้วยความร้อนจากแสงอาทิตย์ จำนวน 2.0 กรัม และกรรมวิธีการไม่ผสมวัตถุใดๆ ในดินเป็นชุดควบคุม บันทึกการเจริญเติบโตของโคโลนีแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 สาเหตุโรคเหี่ยวของขิงในดินในสภาพโรงเรือนภายหลังการทดลอง 1, 14, 28, 35 และ 42 วัน โดยการละลายตัวอย่างดินของแต่ละกรรมวิธี จำนวน 5 กรัมใน 10 mM phosphate buffer จำนวน 45 มล. ใน flask รูปชมพู่ขนาด 125 มล. นำไปเขย่าที่ 100 รอบ/นาที นาน 30 นาที จากนั้นนำสารแขวนลอยดินไปกรองผ่านกระดาษกรอง จำนวน 2 ชั้น เพื่อกรองอนุภาคดินออก แล้วนำไปเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SMSA medium ขณะเดียวกันนำตัวอย่างดินของแต่ละกรรมวิธี จำนวน 5 กรัม บรรจุในกระป๋องอลูมิเนียมมีฝาปิดไปอบที่อุณหภูมิ 105°C นาน 24 ชั่วโมง เพื่อชั่งหาน้ำหนักดินแห้งในแต่ละช่วงเวลาของการทดลอง

นับจำนวนประชากรแบคทีเรียด้วยวิธี serial dilution pour plate จากการนับจำนวน 2 จานเลี้ยงเชื้อเพื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติ

3.2 ประสิทธิภาพของผักกาดเขียวใบอัตราส่วนต่างๆ ในการควบคุมแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* ในดิน

การทดลองดำเนินวิธีการเดียวกับการศึกษาประสิทธิภาพของผักตระกูลกะหล่ำชนิดต่างๆ ในการควบคุมแบคทีเรีย *Rso* สาเหตุโรคเหี่ยวของขิงในดิน โดยการนำตัวอย่างสดผักกาดเขียวใบ#71 ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงสุดจากการศึกษาในข้อ 3.1 ที่หั่นเป็นชิ้นขนาด 0.5-1.0 ซม. จำนวน 5.0, 10.0 และ20.0 กรัม ผสมคลุกเคล้ากับดินแห้งชุดเชียงราย จำนวน 100.0 กรัม บรรจุในถ้วยพลาสติกที่หยดสารแขวนลอยแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 ที่เจือจาง ความเข้มข้น 1 เท่า (มีประชากรเชื้อประมาณ 1.0x10^8 หน่วยโคโลนี/มล.) จำนวน 15.0 มล. ซึ่งดิน 1 กรัม จะมีเชื้อประมาณ 1.5x10^7 หน่วยโคโลนี ลงไปในดินแห้งก่อนเช่นเดียวกับการศึกษาในข้อ 3.1 วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 5 กรรมวิธีมี 4 ซ้ำ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้ใบผักบุ้งจีนสดหั่นเป็นชิ้นขนาด 0.5-1.0 ซม. จำนวน 20.0 กรัม และกรรมวิธีการไม่ผสมวัตถุใดๆ ในดินเป็นชุดควบคุม บันทึกการเจริญเติบโตของโคโลนีแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 ภายหลังการทดลอง 2, 4, 5, 6, 7 และ 8 สัปดาห์ การละลายตัวอย่างดิน การเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย และการนับจำนวนประชากรแบคทีเรีย ดำเนินวิธีการเดียวกับข้อ 3.1

3.3 ประสิทธิภาพของปุ๋ยพืชสดจากผักกาดเขียวใบในการควบคุมแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* ในดิน

นำตัวอย่างผักกาดเขียวใบ#71 ในระยะผสมเกสรที่หั่นเป็นชิ้นประมาณ1 ซม. จำนวน 100 กรัม ผสมแอลกอฮอล์40% จำนวน 20 มล. บี้ในถุงพลาสติกพอแหลก จากนั้นนำไปผสมคลุกเคล้ากับดินแห้งชุด

เชียงราย จำนวน 2,000 กรัม (5.0% น้ำหนัก/น้ำหนัก) ในถุงพลาสติกใสชนิด PP โดยการปลูกเชื้อล่วงหน้า 1 วัน ด้วยสารแขวนลอยแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* isolate 5003-2 ที่ความเข้มข้นประมาณ $1.0x10^7$ หน่วยโคโลนี/มล. จำนวน 300 มล. ซึ่งในดินจะมีปริมาณแบคทีเรีย *Rso* ประมาณ $1.5x10^6$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม จากนั้นปิดปากถุงพลาสติกให้สนิท ก่อนนำไปบ่มในที่มืดสภาพอุณหภูมิห้อง วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 2 กรรมวิธีมี จำนวน 15 ซ้ำ ใช้ผักกาดเขียวใบ#71 รวมทั้งสิ้น จำนวน 1,500 กรัม เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการปลูกเชื้อแบคทีเรียแต่ไม่ใส่ผักกาดเขียวใบเป็นชุดควบคุม ภายหลังการบ่มนาน 6 สัปดาห์ ตรวจการมีชีวิตรอดของแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* isolate 5003-2 ในดิน และตรวจทุกๆ สัปดาห์ต่อเนื่องเมื่อตรวจไม่พบจึงหยุดโดยการนำตัวอย่างดินในถุงพลาสติกจากกรรมวิธีการใช้ผักกาดเขียวเป็นปุ๋ยพืชสด และการไม่ใส่วัตถุใดๆ เป็นชุดควบคุม จำนวน 1.0 กรัม ที่ระดับความลึกจากผิวดิน ประมาณ 10 ซม. ผสมกับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จำนวน 100 มล. เมื่อเขย่าหรือปั่น นาน 10 นาที ปล่อยทิ้งไว้ให้ดินตกตะกอน จากนั้นดูดสารแขวนลอย จำนวน 0.10 มล. ไปหยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SMART ในจานเลี้ยงเชื้อ เกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยแท่งแก้วสามเหลี่ยม ภายหลังบ่มไว้ในอุณหภูมิห้อง (21-32^{o}C) นาน 3-5 วัน ตรวจโคโลนีของแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* isolate 5003-2 ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SMART ดังกล่าว ภายหลังการทดลอง 12 สัปดาห์ เปิดปากถุงพลาสติกล่วงหน้า 1 วัน จากนั้นนำดินไปใส่ถุงพลาสติกดำ ขนาด 5x10 นิ้ว แล้วจึงปลูกต้นกล้าขิงเป็นพืชบ่งชี้การเกิดโรคเหี่ยว จำนวนถุงละ 1 ต้น ในดินกรรมวิธีการใช้ผักกาดเขียวเป็นปุ๋ยพืชสด และการไม่ใส่วัตถุใดๆ เป็นชุดควบคุม โดยการทำแผลที่รากต้นกล้าขิง จำนวน 2 ด้านในทิศทางตรงกันข้ามด้านละ 2-3 ราก จากนั้นนำถุงพลาสติกดำบรรจุดิน และปลูกต้นกล้าขิงเป็นพืชบ่งชี้การเกิดโรคเหี่ยวดังกล่าวไปวางเรียงบนชั้น สูงจากระดับพื้นดิน จำนวน 20 ซม. ระยะห่างระหว่างกรรมวิธี จำนวน 160 ซม. ระหว่างต้นจำนวน 40 ซม. และระยะแถวคู่ในกรรมวิธีเดียวกันจำนวน 80 ซม. ตรวจผลการเกิดโรคเหี่ยวกับต้นกล้าขิงภายหลังการปลูกนาน 8 วัน ช่วงการตรวจทุกๆ 2 วัน ติดต่อกันนาน 90 วัน

4. การควบคุมโรคเหี่ยวของขิงด้วยปุ๋ยพืชสดจากผักกาดเขียวใบในแปลงปลูก

นำตัวอย่างผักกาดเขียวใบ#71 ในระยะผสมเกสรที่หั่นเป็นชิ้นขนาด 3-5 ซม. รวมทั้งหมด 26.4 กก. เพื่อคลุกเคล้ากับดินที่มีแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* isolate 5003-2 โดยใช้สารแขวนลอยแบคทีเรีย อายุ 48 ซม. ที่ความเข้มข้นประมาณ $1x10^7$ หน่วยโคโลนี/มล. จำนวน 2 ลิตร ในดินแต่ละวงท่อโลหะ พื้นที่ 0.44 ตร.เมตร (ปริมาณแบคทีเรียในดินประมาณ $0.23x10^6$ หน่วยโคโลนี/ดิน 1 กรัม) จำนวน 12 ท่อ นำผักกาดเขียวใบ#71 ที่หั่นแล้ว จำนวน 2.2 กก. (อัตรา 5 กก./ดินพื้นที่ 1 ตร.เมตร) ใส่ภาชนะปากกว้าง แล้วเติมอัลกอฮอล์ 40% จำนวน 440 มล. (20%w/w) นวดคลุกเคล้าพอแหลก แบ่งเป็น 3 ส่วนเท่าๆ กัน จากนั้นนำไปใส่ในดินในวงท่อโลหะที่ติดเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของขิง ที่ความลึกจากระดับผิวดิน 25, 15 และ 5 ซม. รดน้ำให้ชุ่มแล้วคลุมปากวงท่อโลหะดังกล่าวด้วยแผ่นพลาสติกใส PE ความหนา 0.04 มม. ตรึงและกลบทับขอบแผ่นพลาสติกด้วยดินเพื่อไม่ให้อากาศเข้าออก วางแผนการทดลองแบบ CRD มี 2 กรรมวิธี จำนวน 12 ซ้ำ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ราดแบคทีเรีย *Rso* แต่ไม่ใส่ผักกาดเขียวใบ#71 จากนั้นปล่อยทิ้งไว้ตามธรรมชาติ เมื่อครบ 4 เดือนปลูกต้นกล้าขิงเป็นพืชบ่งชี้การเกิดโรคเหี่ยวในดินในวงท่อโลหะดังกล่าว จำนวนวงละ 3 ต้น ที่ทำแผลที่รากโดยวิธีตัดราก 2 ด้าน

ในทิศตรงกันข้ามด้านละ 2-3 ราก จากนั้นรดน้ำตามให้ชุ่ม ตรวจผลการเกิดโรคเหี่ยวกับพืชบ่งชี้ภายหลังปลูก 8 วัน และช่วงทุก 2 วัน ติดต่อกันจนกระทั่งต้นขิงในชุดควบคุมเป็นโรค 100%

เวลาและสถานที่

เริ่มต้นตุลาคม 2553 สิ้นสุด กันยายน 2557

ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย อ.เมือง จ.เชียงราย

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Rso* สาเหตุโรคเหี่ยวของขิง ด้วยผักตระกูลกะหล่ำในสภาพโรงเรือน

   1.1 ประสิทธิภาพของผักตระกูลกะหล่ำชนิดต่างๆ ในการควบคุมแบคทีเรีย *Rso* สาเหตุโรคเหี่ยวของขิงในดิน

ผลการสลายตัวของใบผักตระกูลกะหล่ำในระยะผสมเกสร อบแห้งด้วยความร้อนจากแสงอาทิตย์ จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ IM#52 และ#80 เขียวใบ#71 ชุนฉ่าย#77 และขิ่ว#91 ในดิน silty clay (ชุดเชียงราย) ในที่มีดสภาพอุณหภูมิห้อง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้ใบขิง และใบข้าวโพดอบแห้งด้วยความร้อนจากแสงอาทิตย์ และการไม่ใส่วัตถุใดๆ เป็นชุดควบคุม พบว่า (ตารางที่ 1) เขียวใบ #71 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้งการเจริญโคโลนีของแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 ได้ตั้งแต่ 14 วันภายหลังการทดลอง โดยประชากรเชื้อลดลงจนตรวจไม่พบในดิน รองลงมาได้แก่ IM#52 และ #80 กับขิ่ว #91 สามารถยับยั้งการเจริญของโคโลนีแบคทีเรียได้ตั้งแต่ 42 วันภายหลังการทดลอง ส่วนชุนฉ่าย#77 ไม่สามารถควบคุมแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 ในดิน ภายหลังการทดลอง 42 วัน

ตารางที่ 1 ผลการสลายตัวของใบผักตระกูลกะหล่ำจำนวน 5 สายพันธุ์ ใบขิง และใบข้าวโพดอบแห้งด้วยความร้อนจากแสงอาทิตย์ต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* isolate 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	$4.50x10^{6}$	-	$9.81x10^{2}$	$3.88x10^{5}$	-
71/เขียวใบ	$4.90x10^{6}$	-	-	-	-
77/ชุนฉ่าย	$1.37x10^{7}$	$1.07x10^{7}$	$1.21x10^{7}$	$1.01x10^{6}$	$2.40x10^{5}$
80/Indian mustard	$9.51x10^{5}$	$4.67x10^{5}$	$6.31x10^{5}$	$4.13x10^{5}$	-
91/ขิ่ว	$4.41x10^{6}$	$5.07x10^{6}$	$5.61x10^{5}$	$6.38x10^{5}$	-
ใบขิง	$4.58x10^{7}$	$6.41x10^{7}$	$4.84x10^{7}$	$1.61x10^{7}$	$8.87x10^{6}$
ใบข้าวโพด	$1.45x10^{7}$	$1.32x10^{7}$	$1.23x10^{7}$	$6.13x10^{6}$	$3.20x10^{6}$
ไม่ใส่วัตถุใดๆ (ชุดควบคุม)	$3.48x10^{7}$	$3.21x10^{7}$	$1.91x10^{7}$	$2.06x10^{7}$	$6.81x10^{6}$

1.2 ประสิทธิภาพของผักกาดเขียวใบ#71 อัตราส่วนต่างๆ ในการควบคุมแบคทีเรีย*Rao* สาเหตุโรคเหี่ยวของขิงในดิน

ผลการสลายตัวของใบสดผักกาดเขียวใบ#71 ระยะผสมเกสร อัตราส่วน 5.0, 10.0 และ 20.0 กรัมต่อดินแห้ง 100 กรัม ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีของแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 ในดิน silty clay บ่มในที่มืดสภาพอุณหภูมิห้อง เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการใช้ใบผักบุ้งสด จำนวน 20.0 กรัม และการไม่ใส่วัตถุใดๆ ในดินเป็นชุดควบคุม พบว่า (ตารางที่ 2) ภายหลังทดลองการใช้ใบสดผักกาดเขียวใบ อัตรา 5.0, 10.0 และ 20.0 กรัม มีผลทำให้ปริมาณประชากรของแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* ในดินลดลงเป็นลำดับ เมื่อเวลานานขึ้น สัมพันธ์กับอัตราปริมาณของใบสดผักกาดเขียวใบ#71 ที่เพิ่มขึ้น โดยพบว่า การคลุกเคล้าดินด้วยใบสดผักกาดเขียวใบ#71 อัตรา 5.0, 10.0 และ20.0 กรัม/ดินแห้ง 100 กรัม มีผลในการยับยั้งการเจริญโคโลนีของแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* ในดินโดยสมบูรณ์ และไม่สามารถตรวจหาประชากรเชื้อได้ภายหลังการทดลอง 8, 7 และ 6 สัปดาห์ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการคลุกเคล้าดินด้วยใบสดผักบุ้งจีน อัตรา 20.0 กรัม/ดินแห้ง 100 กรัม และการไม่ใส่วัตถุใดๆ เป็นชุดควบคุม ซึ่งการคลุกเคล้าดินด้วยใบผักบุ้งจีนสด มีผลในการยับยั้งการเจริญโคโลนีของแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* ในดินโดยสมบูรณ์ และไม่สามารถตรวจหาประชากรเชื้อได้ภายหลังการทดลอง 3 สัปดาห์ ส่วนการไม่ใส่วัตถุใดๆ เป็นชุดควบคุมที่ตรวจพบประชากรของแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 ดังกล่าว แปรปรวนอยู่ในช่วง $3.72x10^5$ – $8.67x10^3$ หน่วยโคโลนี/ดินแห้ง 1 กรัม ภายหลังการทดลอง 2-8 สัปดาห์

ตารางที่ 2 ผลการสลายตัวของใบสดผักกาดเขียวใบ#71 อัตราส่วน 5.0, 10.0 และ 20.0 กรัมต่อดินแห้ง 100 กรัมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 สาเหตุโรคเหี่ยวของขิงในดินสภาพโรงเรือน ภายหลังการศึกษา 2, 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 สัปดาห์

กรรมวิธี	ค่าเฉลี่ยปริมาณเชื้อ (หน่วยโคโลนี/ดินแห้ง 1 กรัม)						
	2 สัปดาห์	3 สัปดาห์	4 สัปดาห์	5 สัปดาห์	6 สัปดาห์	7 สัปดาห์	8 สัปดาห์
เขียวใบ#71 5.0 กรัม	$5.90x10^5$	$2.67x10^5$	$4.99x10^4$	$5.14x10^4$	$5.54x10^3$	$2.38x10^2$	0
เขียวใบ#71 10.0 กรัม	$1.01x10^6$	$2.54x10^5$	$1.90x10^4$	$5.14x10^3$	$2.44x10^3$	0	0
เขียวใบ#71 20.0 กรัม	$1.37x10^5$	$1.76x10^4$	$3.88x10^3$	$9.36x10^2$	0	0	0
ผักบุ้งจีน 20.0 กรัม	$5.46x10^4$	0	0	0	0	0	0
ไม่ใส่วัตถุใดๆ (ชุดควบคุม)	$3.72x10^5$	$2.92x10^5$	$1.76x10^5$	$5.43x10^4$	$7.41x10^4$	$9.26x10^3$	$8.67x10^3$

<u>หมายเหตุ</u> 0 = ตรวจไม่พบประชากรเชื้อ

1.3 ประสิทธิภาพของปุ๋ยพืชสดจากผักกาดเขียวใบในการควบคุมแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* ในดิน

ผลการสลายตัวของใบสดผักกาดเขียว#71 ระยะผสมเกสร อัตรา 100 กรัมต่อดินแห้ง 2,000 กรัม ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตโคโลนีของแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* isolate 5003-2 ในดินที่บรรจุในถุงพลาสติกใสชนิด PP บ่มไว้ในสภาพอุณหภูมิห้อง และการไม่ใส่วัตถุใดๆ ในดินที่มีเชื้อเป็นชุดควบคุม

พบว่า (ตารางที่ 3) การคลุกเคล้าดินด้วยผักกาดเขียวใบ#71 แบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* ยังคงมีชีวิตอยู่รอดภายหลังการทดลอง 6, 7 และ 8 สัปดาห์ แต่ภายหลังการทดลอง 9 สัปดาห์ ปรากฏว่าตรวจไม่พบแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* ดังกล่าวบนอาหารเลี้ยงเชื้อ SMART

การศึกษาใช้ต้นกล้าขิงเป็นพืชบ่งชี้การเกิดโรคเหี่ยว พบว่า (ตารางที่ 4) การใช้ใบสดผักกาดเขียว#71 เป็นสารรมทางชีวภาพ สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของขิงได้ 100% ภายหลังการปลูกต้นกล้าขิงในดินนาน 90 วัน โดยต้นขิงมีการเจริญเติบโตปกติ จำนวน 15 ต้น เปรียบเทียบกับชุดควบคุมเป็นดินที่ติดเชื้อแบคทีเรีย *Rso* พบต้นกล้าขิงแสดงอาการเป็นโรคเหี่ยวเพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ เมื่อเวลานานขึ้น โดยต้นกล้าขิงแสดงอาการเป็นโรคเหี่ยว จำนวน 15 ต้น (100%) ภายหลังการปลูกต้นกล้าขิง นาน 90 วัน

ตารางที่ 3 การมีชีวิตอยู่รอดของแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* isolate 5003-2 สาเหตุโรคเหี่ยวของขิงในดิน ภายหลังการใช้พืชตระกูลกะหล่ำเป็นสารรมทางชีวภาพ อัตรา 100 กรัมต่อดินแห้ง 2,000 กรัม เป็นเวลา 6, 7, 8 และ 9 สัปดาห์ ในสภาพโรงเรือน

กรรมวิธี	เวลาภายหลังการคลุกเคล้าดินด้วยผักกาดเขียว (สัปดาห์)			
	6	7	8	9
คลุกเคล้าดินด้วยผักกาดเขียว *x*	+ *y*	+	+	-
ชุดควบคุม	+	+	+	+

x จากการทดลอง จำนวน 15 ซ้ำ

y + เท่ากับตรวจพบเชื้อในดิน, - เท่ากับตรวจไม่พบเชื้อในดิน

ตารางที่ 4 จำนวนต้นกล้าขิงที่อยู่รอดของแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* isolate 5003-2 สาเหตุโรคเหี่ยวของขิงในดิน ภายหลังการใช้พืชตระกูลกะหล่ำเป็นสารรมทางชีวภาพ อัตรา 100 กรัมต่อดินแห้ง 2,000 กรัม เป็นเวลา 90 วัน ในสภาพโรงเรือน

กรรมวิธี	เวลาภายหลังการปลูกพืชบ่งชี้ (วัน)					
	0	10	30	50	70	90
คลุกเคล้าดินด้วยผักกาดเขียว	15	15	15	15	15	15
ชุดควบคุม	15	14	11	8	2	0

2. ผลการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงด้วยปุ๋ยพืชสดจากผักกาดเขียวใบในแปลงปลูก

ผลการใช้ใบผักกาดเขียวใบ#71 ในระยะผสมเกสรเป็นปุ๋ยพืชสดเพื่อรมดินโดยวิธีชีวภาพ อัตรา 5 กก./ดิน พท. 1.0 ตร.เมตร ในวงท่อโลหะ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 75 ซม. ในการควบคุมแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* isolate 5003-2 พบว่า (ตารางที่ 5) การใช้ผักกาดเขียวใบ#71 เป็นปุ๋ยพืชสดสามารถควบคุมโรคเหี่ยวของขิงได้ ต้นขิงมีการรอดตาย จำนวน 100 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการย้ายปลูก 8 วัน ในดินในวงท่อโลหะในสภาพแปลงปลูก เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* isolate 5003-2 แต่ไม่ใส่วัตถุใดๆ ที่พบต้นขิงมีการรอดตาย จำนวน 91.7 เปอร์เซ็นต์

(เป็นโรคเหี่ยว จำนวน 8.3 เปอร์เซ็นต์) การตรวจการเกิดโรคเหี่ยวของต้นขิงภายหลังการย้ายปลูก 16 วัน พบว่า การใช้ผักกาดเขียวใบ#71 เป็นปุ๋ยพืชสด ต้นขิงมีการรอดตาย จำนวน 94.4 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่พบต้นขิงมีการรอดตาย จำนวน 5.55 เปอร์เซ็นต์ (เป็นโรคเหี่ยว จำนวน 94.45 เปอร์เซ็นต์) ส่วนการตรวจการเกิดโรคเหี่ยวของต้นขิงภายหลังการปลูกช่วง 24-76 วัน ปรากฏว่า การใช้ผัดกาดเขียวใบ#71 เป็นปุ๋ยพืชสด ต้นขิงมีการรอดตายลดลงเป็นลำดับ เป็นจำนวน 86.1 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังปลูก 24 วัน และเหลือจำนวน 0 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังปลูก 76 วัน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่พบว่าต้นขิงแสดงการเป็นโรคเหี่ยว จำนวน 100 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการย้ายปลูก 24 วัน

ตารางที่ 5 จำนวนต้นกล้าขิงที่อยู่รอดภายหลังการปลูกเป็นพืชทดสอบเป็นเวลา 76 วัน จากการใช้ผักกาดเขียวใบ#71 เป็นปุ๋ยพืชสดเพื่อรมดินโดยวิธีชีวภาพ (BF) ในการควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในสภาพแปลงปลูก

กรรมวิธี	เวลาภายหลังการย้ายปลูก (วัน)										
	0	8	16	24	32	40	48	56	64	74	76
คลุกเคล้าด้วยผักกาดเขียวใบ#71	36	36	34	31	28	25	17	11	5	1	0
ชุดควบคุม	36	33	2	0	0	0	0	0	0	0	0

การใช้สารเมธิลโบรไมด์ เป็นสารรม (biofumigant) ส่วนใหญ่ในประเทศไทยมักมีการรมเพื่อกำจัดเชื้อโรคพืชหรือแมลงศัตรูพืชกับผลิตผลทางการเกษตรในสภาพโรงเก็บ ส่วนในสภาพแปลงปลูกมีการปฏิบัติบ้างแต่ไม่มากนัก ได้แก่ การรมฆ่าเชื้อในดินก่อนการหว่านเมล็ดพันธุ์พืชตระกูลมะเขือ เช่น ยาสูบ มะเขือเทศ เป็นต้น หรือการอบวัสดุปลูกที่อาจมีการปนเปื้อนของเชื้อโรคพืชก่อนการปลูกเมล็ดพันธุ์พืชที่มีราคาแพง หรือที่อ่อนแอต่อโรคที่ถ่ายทอดทางดินโดยเฉพาะโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรีย *Rso* ระยะหลังการรมฆ่าเชื้อในดินเกษตรกรนิยมใช้สาร metham sodium (Vapam) อย่างไรก็ตามสารเคมีมักมีราคาแพงมีผลกระทบต่อสุขภาพ และสิ่งแวดล้อม ดังนั้นเกษตรกรจึงไม่นิยมใช้สารเคมีดังกล่าวเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวในสภาพแปลงปลูก สาร metham sodium เมื่อสลายตัวจะให้สารประกอบระเหยได้ ITCs เช่นเดียวกับการสลายตัวของสาร GSLs ที่พบในพืชตระกูลกะหล่ำ สารประกอบระเหยได้ ITCs ในพืชตระกูลกะหล่ำจึงจัดเป็น organic ITCs ที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม กอร์ปกับกระแสทั่วโลกที่จะมีการยกเลิกการใช้สารรมฆ่าเชื้อในดินที่เป็นสารเคมีชนิดต่างๆ จึงทำให้เกิดความสนใจเพิ่มมากขึ้น เพื่อหาวิธีทางเลือกในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยว (Akiew *et al*., 1996; Arnault *et al*., 2004; Arthy *et al*., 2005; Paret *et al*., 2010; Terblanche and De Villiers; 1998)

การศึกษาประสิทธิภาพของผักตระกูลกะหล่ำจำนวน 5 ชนิด ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 ในดินในสภาพโรงเรือนครั้งนี้ปรากฏว่าสอดคล้องกับการศึกษาการยับยั้งแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของขิงด้วยพืชตระกูลกะหล่ำในห้องปฏิบัติการ (สุรชาติ และคณะ, 2553) ยกเว้นชุนฉ่าย#77 ที่ไม่สามารถควบคุมแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 ได้ภายหลังการบ่มนาน 42 วัน อย่างไรก็ตามระยะเวลาในการรมทางชีวภาพของใบสดของผักกาดเขียวใบ#71 ปรากฏว่าใช้เวลานานกว่าการใช้ใบแห้งที่อบด้วยพลังแสงอาทิตย์ ทั้งนี้อาจมีปัจจัยเรื่องความชื้นของดินเข้ามาเกี่ยวข้อง ซึ่งดินที่คลุกเคล้าด้วยใบแห้งอาจมีความชื้นน้อยกว่าการคลุกเคล้าด้วยใบสด จึงทำให้แบคทีเรียกลายพันธุ์บางส่วนตายไป

สำหรับการตรวจผลการมีชีวิตอยู่รอดของแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* isolate 5003-2 ภายหลังการใช้ใบสดผักกาดเขียวใบ#71 เป็นสารรมทางชีวภาพ ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ SMART ยังพบว่าใช้ระยะเวลานานขึ้นกว่าการใช้ใบสดผักกาดเขียวใบ#71 ในอัตราเดียวกันเพื่อยับยั้งการเจริญโคโลนีของแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ดังนั้นการใช้ใบสดผักกาดเขียวใบในระยะผสมเกสรเป็นปุ๋ยพืชสดเพื่อรมดินโดยวิธีชีวภาพ อัตรา 5% น้ำหนัก/น้ำหนัก ในดิน silty clay จึงถือว่าใช้

เวลาในการรมไม่น้อยกว่า 9 สัปดาห์ จึงจะมีประสิทธิภาพสูงสามารถควบคุมได้สำเร็จ จึงทำให้ผลการใช้ใบสดผักกาดเขียวใบ#71 อัตรา 5% น้ำหนัก/น้ำหนัก ประสบผลสำเร็จ ทำให้ต้นกล้าขิงที่ปลูกเป็นพืชบ่งชี้การมีชีวิตอยู่รอดของแบคทีเรีย *Rso* อยู่รอดครบ 100% อย่างไรก็ตามภายหลังการทดลองนาน 4 เดือน จึงจะปลูกต้นกล้าขิงเป็นพืชบ่งชี้ ทั้งนี้เพราะการจะได้ต้นกล้าขิงสำหรับการทดลองต้องใช้เวลาบ่มเพื่อกระตุ้นความงอก และบำรุงรักษาให้เจริญเติบโตและมีอายุประมาณ 3 เดือน จึงจะเหมาะสม

สำหรับการศึกษาการใช้ใบสดผักกาดเขียวใบ#71 อัตรา 5 กก.ต่อดินพื้นที่ 1.0 ตร.เมตร ในวงท่อโลหะเพื่อควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในสภาพแปลงปลูก จากการปลูกต้นกล้าขิงเป็นพืชบ่งชี้ พบว่า การรมดินโดยวิธีชีวภาพแปลงปลูกครั้งนี้สามารถชะลอการเกิดโรคเหี่ยวได้ ทั้งนี้การี่ที่ต้นกล้าขิงเป็นโรคเหี่ยวในกรรมวิธีที่คลุกเคล้าดินด้วยผักกาดเขียวใบ#71 อาจเป็นผลมาจากการไม่ได้เพิ่มความชื้นให้กับดินภายในวงท่อโลหะภายหลังการคลุมด้วยแผ่นพลาสติก PE ซึ่งความชื้นในดินมีผลอย่างมากต่อปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสในการสลายตัวของสาร GSL เป็นสารระเหยประกอบได้ ITC และอีกประการหนึ่ง พบว่า แผ่นโลหะที่ทำเป็นวงฝังลงไปในดินเริ่มผุมีรอยรั่ว ทำให้แบคทีเรีย *Rso* ที่อยู่ในดินที่ติดเชื้อที่อยู่ข้างนอกวงท่อโลหะดังกล่าวเมื่อมีการขุดดินออกจากวงท่อโลหะเพื่อนำเอาใบสดผักกาดเขียวใบ#71 คลุกเคล้ากับดินในระดับความลึกต่างๆ กันปนเปื้อนเข้ามาตามรอยรั่วของวงโลหะดังกล่าวกับน้ำฝน นอกจากนี้เนื้อดิน (texture) ยังมีผลต่อประสิทธิภาพในการรมโดยวิธีชีวภาพ โดยดินร่วน/ดินร่วนปนทราย จะให้ผลดีกว่าดินเหนียว (Kirkegaard, 2000)

การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าปุ๋ยพืชสดจากผักกาดเขียวใบ#71 มีศักยภาพสูงที่สามารถลดการเกิดโรคเหี่ยวของขิง รวมทั้งโรคพืชที่ถ่ายทอดทางดินชนิดอื่นๆ ภายใต้สภาพแวดล้อมของพื้นที่เพาะปลูกจังหวัดเชียงราย ดังนั้นการใช้ปุ๋ยพืชสดนับว่ามีประโยชน์สามารถทดแทนการใช้สารเคมี เช่น metham sosium ได้ การปลูกพืชหมุนเวียนที่มีประสิทธิภาพจึงมีความสำคัญในการชะลอหรือลดปัญหาโรคพืชที่อยู่ในดิน โดยการปฏิบัติร่วมกับการใช้พืชชนิดอื่น ดิน รวมทั้งการบริหารจัดการโรคพืช การปลูกขิงอย่างยั่งยืนจึงจะประสบผลสำเร็จ

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

การทดสอบผลของการสลายตัวของใบแห้งอบด้วยความร้อนจากแสงอาทิตย์ พืชตระกูลกะหล่ำในกลุ่ม *B. juncea* จำนวน 5 สายพันธุ์ได้แก่ IM#52 และ#80 เขียวใบ#71 ชุนฉ่าย#77 และขิ่ว#91 อัตรา 2.0 กรัมต่อดินแห้ง 100.0 กรัม ในขบวนการรมทางชีวภาพ เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลายพันธุ์ (rifampicin-resistant) *Rso* isolate 5003-2 ในดินในสภาพโรงเรือน ปรากฏว่าผักกาดเขียวใบ#71 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวของขิงได้ดีที่สุด ภายหลังการทดลอง 2 สัปดาห์ รองลงมาได้แก่ IM#52 และ#80 กับขิ่ว#91 ยกเว้นชุนฉ่าย#77 ที่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลายพันธุ์ดังกล่าว ส่วนการคลุกเคล้าใบสดผักกาดเขียวใบ#71 อัตรา 5.0, 10.0 และ 20.0 กรัมต่อดินแห้ง 100 กรัม ในดินที่ติดเชื้อแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* isolate 5003-2 ดังกล่าว มีผลทำให้ประชากรของแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* ในดินลดลงเป็นลำดับ เมื่อเวลานานขึ้น สัมพันธ์กับอัตราปริมาณของใบสด

ผักกาดเขียวใบ#71 ที่เพิ่มขึ้น โดยมีผลในการยับยั้งการเจริญโคโลนีของแบคทีเรียกลายพันธุ์ *Rso* ในดินอย่างสมบูรณ์ และไม่สามารถตรวจหาประชากรเชื้อได้ภายหลังการทดลอง นาน 6, 7 และ 8 สัปดาห์ ตามลำดับ ส่วนการทดสอบประสิทธิภาพของปุ๋ยพืชสดจากผักกาดเขียวใบ#71 ในการควบคุมแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ (wild strain) *Rso* isolate 5003-2 ในดิน โดยการคลุกเคล้าใบสดผักกาดเขียวใบ#71 อัตรา 100 กรัมต่อดินแห้ง 2,000 กรัม พบว่า ตรวจไม่พบแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* ดังกล่าว ภายหลังการทดลอง 9 สัปาดห์ เมื่อปลูกต้นกล้าขิงเป็นพืชบ่งชี้ภายหลังการทดลอง 4 เดือน การปรับปรุงดินด้วยผักกาดเขียวใบ#71 สามารถควบคุมโรคเหี่ยวได้ 100%

การควบคุมโรคเหี่ยวของขิงในสภาพแปลงปลูก ด้วยใบสดผักกาดเขียวใบ#71 อัตรา 5 กก.ต่อดินพื้นที่ 1.0 ตร.เมตร ที่ติดเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ธรรมชาติ *Rso* isolate 5003-2 ดังกล่าว ในวงท่อโลหะที่ฝังอยู่ในดินในแปลงปลูก ภายหลังการทดลอง 4 เดือน ปลูกต้นกล้าขิงเป็นพืชบ่งชี้ ผลปรากฏว่าการปรับปรุงดินด้วยปุ๋ยพืชสดจากใบสดผักกาดเขียวใบ#71 สามารถยับยั้งการเจริญของโคโลนีแบคทีเรีย *Rso* ในสภาพแปลงปลูกได้ โดยไปชะลอเวลาการติดเชื้อทำให้ต้นกล้าขิงเป็นโรคเหี่ยวช้าลง โดยเมื่อเวลานานขึ้นต้นกล้าขิงค่อยๆ เป็นโรคเหี่ยวเพิ่มมากขึ้นเป็นลำดับ การรมดินโดยวิธีชีวภาพมักได้ผลดีในดินทรายมากกว่าดินเหนียว ดังนั้นการบริหารจัดการโรคเหี่ยวให้ได้ผลดีในดินชนิดอื่นๆ จึงควรปลูกพืชตระกูลกะหล่ำเป็นพืชหมุนเวียนแล้วไถกลบเพื่อรมดินโดยวิธีชีวภาพ จำนวน 2-3 ครั้งก่อน

การนำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. สำหรับเป็นข้อมูลการศึกษาการอบดินด้วยแสงอาทิตย์และการคลุกเคล้าดินด้วยผักกาดเขียว เพื่อกำจัดโรคเหี่ยวที่เกิดจากแบคทีเรียของขิงในแปลงปลูก
2. เป็นทางเลือกหนึ่งในการป้องกันกำจัดโรคเหี่ยวของขิงแบบยั่งยืนที่เกษตรกรสามารถนำไปปฏิบัติตามได้ ทั้งในระบบเกษตรอินทรีย์ และเกษตรแบบดั้งเดิม ซึ่งการใช้สารเคมีมักไม่ได้ผล

เอกสารอ้างอิง

พัน อินทร์จันทร์ จุมพล สาระนาค และอนงค์ จันทร์ศรีกุล. 2533. โรคขิง: การสัมมนาทางวิชาการพืชผัก ครั้งที่ 6 ศูนย์วิจัยการยางหาดใหญ่ สงขลา (เอกสารโรเนียว).

สุรชาติ คูอาริยะกุล อภิชัย วิชัยกุล นภาพร ไชยยศ และอุดมศักดิ์ เลิศสุชาติวนิช. 2553. การยับยั้งเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคเหี่ยวของขิงด้วยสาร isothiocyanate ที่กำเนิดจากสาร glucosinolate ในพืชตระกูลกะหล่ำในห้องปฏิบัติการ. หน้า 278-291. ใน: รายงานผลงานวิจัยเรื่องเต็มประจำปี 2553 ศูนย์วิจัยพืชสวนเชียงราย กรมวิชาการเกษตร.

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

Akiews, S., P.R. Trevorrow and J. Kirkegaard. 1996. Mustard green manure rednces bactorial wilt. ACIAR Bacterial Wilt Newsletter 13:5-6.

Alvarez, B., E. G. Biosca and M.M. Lopez. 2010. On the Life of *Ralstonia solanacearum*, a destructive bacterial plant pathogen. Pages 267-279. *In* : Current Research, Technology and Education Topics in Applied Microbiology and Microbial Biotechnology. A. Mendez-Vilas, ed. (http://www.formatex info/microbiology 2/267-279.pdf. วันที่ 4 เมษายน 2555)

Arnault, I.N.,S. Mondy, W.O.Di and J. Auger. 2004. Soil behavior of sulphur natural fumigants used as metnyl bromide substitutes. International Journal of Environmental Analytical Chemistry 84:75-82.

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.

Buddenhagen, I.W. and A. Kelman. 1964. Biological and physiological aspects of bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum* Ann. Rev. Phytopathol. 2:203-230.

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.

Elphinstone, J.G. 2005. The current bacterial wilt situation: a global overview. Page 9. *In*:

Bacterial Wilt Disease and the *Ralstonia solanacearum* Species Complex. C, Allen, P. Prior and A.C. Haywards, eds. St. Paul, MN: APS Press.

Englebrecht, M.C. 1994. Modification of a semi-selective 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 plant. Phytochemistry. 56:5-51.

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. 1994. The hosts of *Pseudomonas solanacearum* Page 9. *In* : Bacterial wilt:the disease and its causative agent, *Pseudomonas solanacearum*. A.C. Hayward and G.L. Hartman, eds. Wallingford: CAB International.

Ibekwe, A.M. 2004. Effect of fumigants on non-targets organisms in soils. Advances in Agronomy 83: 1-35.

Ishii, M., and M. Aragaki. 1963. Ginger wilt caused by *Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith. Plant Dis. Rep. 47:710-713.

Kawanishi, T., T. Shiraishi, Y. Okano, K. Sygawara, M. Hashimoto, *et al*. 2011. New detection systems of bacteria using highly selective media designed by SMSRT : Selective medium design algorithm restricted by two constraints. PLOS ONE 6(1):e16512. Doi:10.1371/journal. pone.0016512 วันที่ 19 กุมภาพันธ์ 2555.

Kelman, A. 1953. The Bacterial Wilt Caused by Pseudomonas solanacearum. North Carolina Agricultural Experiment Station Technical Bullitin No. 99.

Kirkegaard, J. 2000. Evaluating biofumigation for soil-borne disease management in tropical vegetable production. ACIAR.
URL. (ที่มา http://aciar.gov.au/project/SMCN/2000/114 วันที่ 22 กุมภาพันธ์ 2555).

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.

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.

Paret, M.L., R. Cobos, B.A. Kratky and A.M. Alvarez. 2010. Effect of plant essential oils on *Ralstonia solanacearum* race 4 and bacterial wilt of edible ginger. Plant Dis. 94:521-527.

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.

Sato, D. 1999. Reducing methyl bromide in pre-plant soil treatment for ginger root. Annu. Int. Res. Conf. Methyl Bromide Alternatives Emissions Reductions. Sandiego, CA. Online publication.

Sly, L.I. 1983. Preservation of microbial cultures. Pages 275-298. *In*: Plant Bacterial Diseases A Diagrortic Guide. P.C. Fahy and G.J. parsley, eds. Academic Press.

Terblanche, J. and D.A. De Villiers. 1998. The suppression of *Ralstonia solanacearum* by marigolds. Pages 325-331. *In*: Bacterial wilt:Molecular and Ecological Aspects. P. Prior, C. Allen and J.G. Elphinstone, eds. Pairs:INRA Editions, Paris & springer Verlag, Germary.

Uematsu, T.,S. Chuenchitt, S. Karnjanarat, S. Vivithajinda, N. Nabheerong, S. Benjathikul, S. Nilmanee, W.Dhirabhava and D. Buangsuwon. 1983. The causal organism of wilt disease of some economic crops. Pages 30-41. *In*: Bacterial Diseases on Economic Crops in Thailand. Tropical Agriculture Research Center, Forestry and Fisheries, Japan and Department of Agriculture, Ministry of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperative, Thailand.

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.