ผลของการอบดินด้วยวิธีชีวภาพจากการสลายตัวของพืชตระกูลกะหล่ำต่อการควบคุมแบคทีเรียโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ

Effect of Biofumigants from Brassica Degradation on Controlling of Tomato Wilt Bacterium, *Ralstonia solanacearum*.

อุดมศักดิ์ เลิศสุชาตวนิช[1] จุฑารัตน์ บุตกิจ[2] และ นิพนธ์ ทวีชัย[1]

Abstract

Bacterial wilt of tomato caused by *Ralstonia solanacearum* (Rs) is one of the most destructive diseases worldwide. Isothiocyanate (ITCs) compounds released from degradation of Brassicaceous tissues are reported to suppress many soil-borne pathogens. The experiments were conducted in a laboratory and a greenhouse to determine the effect of degraded tissues of *Brassica juncea* (Keaw Noi, Chun Chay and Keaw Plee), *B. oleracea* (Ka Na Bai and Kha Lam Plee) and *B. campestris* (Kwang Tung Dok and Keaw Kwang Tung) on bacterial wilt disease control. In the laboratory test, degraded tissues of Chun Chay was highly effective on inhibiting 100.0 % and 97.0% Rs growth and Rs population, respectively. In the greenhouse experiment, 10% (w/w) soil amendment of 60-day-old Keaw Plee tissues effectively reduced the disease incidence of bacterial wilt by 100%. Isothiocyanate compounds were identified by gas chromatography using allyl ITC (AITC), benzyl ITC (BITC) and phenylethyl ITC (PeITC) as standard controls. Keaw Plee gave the highest total of ITCs concentration of 30.97 ppm. ITC compounds were accumulated in root tissues more than in leaf tissues. PeITC was the major ITC of brassica that can be detected from the tissue extract of all samples tested.

Keywords: Biofumigation, Bacterial wilt disease, Brassica species

---

[1] ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กรุงเทพฯ 10900

[1] Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkhen, Bangkok 10900, Thailand.

[2] สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กทม. 10900

[2] Kasetsart Agricultural and Agro-Industrial Product Improvement Institute (KAPI), Kasetsart University, Bangkhen, Bangkok 10900, Thailand

รับเรื่อง : ตุลาคม 2554

Corresponding author : agrusl@ku.ac.th

บทคัดย่อ

โรคเหี่ยวจากแบคทีเรียของมะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (Rs) เป็นโรคที่ทำให้เกิดความเสียหายรุนแรงทั่วโลกรวมทั้งประเทศไทย สาร Isothiocyanate (ITCs) เป็นสารที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากการสลายตัวของพืชตระกูลกะหล่ำซึ่งมีรายงานว่าสามารถควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชที่อยู่ในดินได้หลายชนิดรวมทั้งเชื้อแบคทีเรีย Rs สาเหตุโรคเหี่ยวด้วย การศึกษานี้ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของการสลายตัวของพืชตระกูลกะหล่ำต่าง ๆ ได้แก่ *Brassica juncea* (เขียวน้อย ชุนฉ่าย และเขียวปลี) *B. oleracea* (คะน้าใบ และกะหล่ำปลี) และ *B. campestris* (กวางตุ้งดอก และ เขียวกวางตุ้ง) ในการควบคุมโรคเหี่ยวจากเชื้อ Rs ในห้องปฏิบัติการและโรงเรือนปลูกพืชทดลอง การทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่าการสลายตัวของชุนฉ่ายมีประสิทธิภาพดีที่สุดโดยสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ Rs ได้ถึง 100% และสามารถลดประชากรของเชื้อ Rs ได้ถึง 97.0% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม การทดลองในโรงเรือนปลูกพืช พบว่าเขียวปลีอายุ 60 วัน ที่ 10% ของน้ำหนักดินมีประสิทธิภาพในการลดการเกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศได้ 100% การนำเขียวน้อย ชุนฉ่าย, เขียวปลี, คะน้าใบ, กะหล่ำปลี, กวางตุ้งดอก และเขียวกวางตุ้ง อายุ 60 วันมาทำการสกัดและวิเคราะห์ชนิดของสาร isothiocyanates (ITCs) ด้วยเทคนิค gas chromatography โดยมีสาร allyl ITC (AITC), benzyl ITC (BITC) และ phenylethyl ITC (PeITC) เป็นสารมาตรฐาน พบว่าเขียวปลีมีความเข้มข้นของสาร ITCs รวมสูงสุดเท่ากับ 30.97 ppm โดยส่วนรากจะมีสาร ITCs รวมมากกว่าส่วนยอด และสาร PeITC เป็นสารหลักที่วิเคราะห์ได้ทั้งส่วนยอดและรากของพืชตระกูลกะหล่ำทุกชนิดในการทดลอง

คำนำ

โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย (Bacterial Wilt) เป็นโรคที่มีความสำคัญมากโรคหนึ่งของมะเขือเทศ ในประเทศไทย (Thaveechai *et al*., 1996) พบระบาดในทุกพื้นที่ที่ปลูกมะเขือเทศ มีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรีย *Ralstonia solanacearum* (Yabuuchi *et al*., 1995) (ชื่อเดิม *Pseudomonas solanacearum* E.F. Smith) เชื้อนี้ส่วนมากจัดอยู่ใน race 1 biovar 3 และ 4 โดยพบว่าเชื้อ Rs ที่ทำให้เกิดโรคเหี่ยวของมะเขือเทศเป็น biovar 3 มากกว่า 4 เชื้อนี้สามารถเข้าทำลายพืชได้มากกว่า 44 ตระกูล (Hayward, 1995) และเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ เช่น มะเขือเทศ มันฝรั่ง ขิง งา ยาสูบ พริก กล้วย ถั่วลิสง ถั่วเหลือง และวัชพืชต่าง ๆ หรือแม้กระทั่งไม้ยืนต้นในป่า เนื่องจากเชื้อมีพืชอาศัยหลายชนิดและสามารถอยู่อาศัยในดินได้นานจึงทำให้ยากแก่การป้องกันกำจัด มีรายงานการศึกษาการควบคุมโรคเหี่ยวด้วยวิธีการต่าง ๆ เช่น การใช้พันธุ์ต้านทาน การอบดินด้วยแสงอาทิตย์ (soil solarization)การอบดินด้วยด้วยสารเคมี (soil fumigation) (Momol *et al*., 2007; Thaveechai *et al*., 1996) การใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ (Suthumma *et al*., 2009) และการใช้สารสกัดจากพืช (Jarujit *et al*., 2009) เป็นต้น นอกจากการควบคุมโรคด้วยวิธีการต่าง ๆ ดังกล่าวข้างต้นยังมีรายงานการศึกษาการควบคุมโรคโดยการอบดินด้วยวิธีชีวภาพ (biofumigation) จากพืชตระกูลกะหล่ำมีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อโรคต่าง ๆ ในดินและโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียได้ (Angus *et al*.,1994; Fahey *et al*., 2001; Kirkegaard and Matthiessen, 2004)

พืชตระกูลกะหล่ำ (Brassicaceae) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย ที่มีการปลูกเพื่อการบริโภค และปลูกเป็นการค้าอย่างแพร่หลาย นอกเหนือจากการนำพืชตระกูลกะหล่ำไปใช้บริโภคแล้วยังสามารถนำมาใช้ควบคุมศัตรูพืชในดินหลายชนิดด้วยวิธีที่เรียกว่า การอบดินโดยวิธีชีวภาพ (biofumigation) ซึ่งมีรายงานว่าพืชตระกูลกะหล่ำ ได้แก่ *B. oleracea* var. *capitata*, *B. oleracea* var. *acephala*, *B. juncea*, *B. hirta*, *B. nigra*, *B. kaber* และ *B. napus* สามารถยับยั้งหรือควบคุมวัชพืช เชื้อสาเหตุโรค และแมลงศัตรู ที่อยู่ในดินได้หลายชนิด(Vaughn,1999) ในการอบดินโดยวิธีชีวภาพ

ด้วยพืชตระกูลกะหล่ำนั้น จะมีความสัมพันธ์กับสาร Glucosinolates (GSLs) ซึ่งสาร GSLs เป็น secondary compounds ที่พบในพืชตระกูลกะหล่ำ สารนี้จะอยู่ในเซลล์ต่าง ๆ ของพืช เมื่อพืชถูกรบกวนหรือทำให้เสียหายจะทำปฏิกิริยา hydrolysis กับเอนไซม์ thioglucosidase (myrosinase) ซึ่งโดยปกติสารทั้ง 2 นี้จะแยกกันอยู่ในเซลล์พืช (Luthy and Matile, 1984) ได้ผลิตภัณฑ์เป็น isothiocyanates(ITCs)nitriles epithionitrile oxazolidine thione และ thiocyanates แต่ผลิตภัณฑ์ที่สำคัญคือสารในกลุ่ม ITCs เช่น สาร allyl ITC benzyl ITC methyl ITC หรือ phenylethyl ITC เป็นต้น ซึ่งเป็นสารระเหยที่เป็นพิษต่อศัตรูพืชต่าง ๆ การควบคุมศัตรูพืชด้วยพืชตระกูลกะหล่ำจึงเป็นวิธีการหนึ่งที่จะช่วยลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช นอกจากนี้ผลจากการอบดินด้วยวิธีชีวภาพด้วยพืชตระกูลกะหล่ำจะทำให้ได้ปุ๋ยพืชสด ช่วยปรับโครงสร้างของดินให้ดีขึ้น และเป็นแหล่งของธาตุอาหาร ซึ่งเป็นแนวทางให้เกษตรกร นำไปปฏิบัติเพื่อการทำการเกษตรที่มีความยั่งยืนต่อไป งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาศักยภาพพืชตระกูลกะหล่ำของประเทศไทยสำหรับนำมาควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacerum*

อุปกรณ์และวิธีการ

1. อิทธิพลของสารที่ได้จากการสลายตัวของพืชตระกูลกะหล่ำต่อการยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (Rs)ในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบดัดแปลงมาจากวิธีการทดลอง ของ Angus *et al*.(1994) โดยเตรียมอาหาร nutrient agar (NA) (Schaad *et al*., 2001) ใส่จานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร นำเชื้อ Rs สายพันธุ์ To-SP1 ซึ่งแยกได้จากมะเขือเทศ จ.สุพรรณบุรี ปรับค่าความขุ่นให้ได้เท่ากับ 0.2 OD_{600nm} หยดสารละลายเชื้อลงบนอาหาร 10 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้ง กลับจานเลี้ยงเชื้อให้ด้านมีอาหารและเชื้อ Rs อยู่ด้านบน นำต้นกล้าอายุ 2 วันและใบอายุ 30 วัน ของพืชตระกูลกะหล่ำ 7 ชนิด ได้แก่ เขียวน้อย คะน้าใบ ชุนฉ่าย กวางตุ้งดอก เขียวกวางตุ้ง กะหล่ำปลี และเขียวปลี ชนิดละ 1 กรัม บดให้ละเอียดด้วยโกร่งแล้วใส่ที่จานเลี้ยงเชื้อด้านตรงข้ามที่ไม่มีอาหาร เติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาณ 200 ไมโครลิตร เพื่อใช้ในปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสของ glucosinolate ในพืชตระกูลกะหล่ำ แล้วพันรอบจานเลี้ยงเชื้อด้วยผ้าเทปโพลีไวนิลคลอไรด์ให้สนิทก่อนนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30 C^{o} ทำเช่นนี้ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ โดยมีสาร phenylethyl isothiocyanate (PeITC) และ benzyl isothiocyanate (BITC) ที่ความเข้มข้น 1 M ปริมาณ 100 ไมโครลิตร หยดลงบนกระดาษกรองที่ฆ่าเชื้อแล้วที่วางอยู่จานเลี้ยงเชื้อด้านตรงข้ามที่ไม่มีอาหาร บันทึกการเจริญเติบโตของเชื้อ Rs ที่ 1 วันหลังการทำการทดลอง โดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีและนับจำนวนประชากรของเชื้อ และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งคำนวณได้จาก

$$\frac{[\text{เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีเชื้อชุดควบคุม-เส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อของแต่ละการทดลอง}] \times 100}{\text{เส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อชุดควบคุม}}$$

2. การสกัดและวิเคราะห์สาร Isothiocyanates (ITCs) ที่เกิดจากการสลายตัวของพืชตระกูลกะหล่ำ

2.1 การทดลองสกัดสาร ITCs จากพืชตระกูลกะหล่ำ

ทำการทดสอบหาตัวทำละลายที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ในการสกัด ITCs โดยเลือกตัวทำละลายต่าง ๆ มาทดสอบได้แก่ diethyl ether (Merck ®), ethyl acetate (BioLab®) และ dichloromethane (J.T.Beker®) วิธีการสกัดสาร ITCs จากพืชตระกูลกะหล่ำดัดแปลงมาจาก Krikegaard and Sarwar (1999) ตัวอย่างพืชที่จะสกัดนั้นถูกแช่ไว้ที่อุณหภูมิ -20 ^{o}C นำตัวอย่างพืชมา 10 กรัม มาบดให้ละเอียดด้วยโกร่งสะอาด นำไปใส่ในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วเติม 0.1M $CaCl_2$ ปริมาณ 10 มิลลิลิตร กับตัวทำละลายต่าง ๆ ที่จะนำมาใช้สกัด 10 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอดให้สนิทแล้วนำไปเขย่าที่ความเร็ว 100 rpm เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปปั่นตกตะกอนที่ความเร็ว 1500 rpm เป็นเวลา 5 นาที ทำการเก็บสารละลายส่วนบนไปวิเคราะห์ด้วย gas chromato graphy ต่อไป

2.2 การวิเคราะห์สาร ITCs จากพืชตระกูลกะหล่ำ

นำส่วนใบและรากของพืชตระกูลกะหล่ำต่าง ๆ ที่อายุ 60 วัน ได้แก่ กวางตุ้งดอก เขียวกวางตุ้ง เขียวน้อย เขียวปลี ชุนฉ่าย กะหล่ำปลี และคะน้า ทำการสกัดตามขั้นตอนข้างต้นโดยเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดมาทำการสกัด สารละลายที่สกัดได้ 1 ไมโครลิตร นำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่อง Thermo® gas chromatograph มี helium เป็น carrier gas โดยใช้ตัวตรวจชนิด flame ionization detector (FID) และ column TR-5ms ของ Thermo® (30m x 0.25mm x 0.25 um 5% phenyl substituted methylpolysiloxane) ขั้นตอนในการวิเคราะห์ด้วย gas chromatography นั้นทำตามรายงานของ Brown *et al.* (1994) โดยใช้อุณหภูมิของส่วนฉีดสาร (injector) ที่ 200 °C อุณหภูมิส่วนตรวจสอบ(detector) ที่ 260 °C อุณหภูมิเริ่มต้นของ oven ที่ 35 °C เป็นเวลา 3 นาที ต่อมาเพิ่มอุณหภูมิขึ้นในอัตรา 12 °C ต่อนาที จนถึง 96 °C แล้วเพิ่มอุณหภูมิขึ้นในอัตรา 18 °C ต่อนาที จนถึง 240 °C เป็นเวลา 6 นาที สาร ITCs มาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ ได้แก่ allyl isothiocyanate (AITC) benzyl isothiocyanate (BITC) และ phenylethyl isothiocyanate (PeITC) ของ Aldrich Chemical Co.

3. การทดสอบประสิทธิภาพของพืชตระกูลกะหล่ำในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวในโรงเรือนทดลอง

3.1 การทดลองการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียโดยการอบดินฆ่าเชื้อด้วยพืชตระกูลกะหล่ำ

นำสารแขวนลอยเชื้อ Rs ที่เลี้ยงไว้ในอาหาร nutrient broth (NB) ข้ามคืน ปรับความขุ่นให้ได้เท่ากับ 0.2 OD_{600nm} ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในถุงพลาสติก polypropylene ที่มีดินผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วปริมาณ 500 กรัม บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 1 คืน หลังจากนั้นใส่กล้าพืชอายุ 2 วันของตระกูลกล่ำชนิดต่าง ๆ ได้แก่ เขียวน้อย คะน้าใบ กวางตุ้งดอก และเขียวปลี ที่บดละเอียดปริมาณ 5 กรัม แล้วผสมให้เข้ากันพร้อมทั้งเติมน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อใส่ปริมาณ 50 มิลลิลิตร แล้วปิดให้สนิท บ่มไว้เป็นเวลา 2 วันที่อุณหภูมิห้อง แล้วเปิดถุงทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วัน แล้วย้ายต้นกล้ามะเขือเทศอายุ 1 เดือนปลูกลงในแต่ละกรรมวิธี ทำการบันทึกการเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคของมะเขือเทศและนับจำนวนประชากรของเชื้อ Rs ภายหลังการย้ายปลูก โดยนำดิน 1 กรัมมาละลายในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 9 มิลลิลิตร ทำการเจือจางที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม นำสารละลายดิน 100 ไมโครลิตร เกลี่ยบนอาหาร mSM-1(Schaad *et al.*, 2001) ตัวอย่างละ 3 จาน เปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีการใส่เชื้อ Rs (positive control) และไม่ใส่เชื้อ Rs (negative control)

3.2 การศึกษาปริมาณของพืชตระกูลกะหล่ำสำหรับการอบดินฆ่าเชื้อต่อประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

ทำการทดลองเหมือนในข้อ 3.1 โดยใช้ใบเขียวปลีอายุ 60 วัน อบดินที่อัตรา 1 3 5 และ 10 % ของน้ำหนักดิน โดยมี Basamid G® (BASF, Germany) อัตรา 1 กรัมต่อดิน 1 กิโลกรัม (เป็นสารเคมีในกลุ่ม isothiocyanate ที่สังเคราะห์ขึ้นจำหน่ายเป็นการค้า ใช้ในการอบดินฆ่าเชื้อ) เป็นวิธีอบดินเปรียบเทียบ

3.3 การศึกษาชนิดของพืชตระกูลกะหล่ำในการอบดินฆ่าเชื้อควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

ทำการทดลองเหมือนในข้อ 3.1 โดยใช้ใบกะหล่ำปลี กวางตุ้ง คะน้า ชุนฉ่าย และเขียวปลีอายุ 60 วัน อบดินที่อัตรา 10 % ของน้ำหนักดิน และ Basamid G® อัตรา 1 กรัม ต่อดิน 1 กิโลกรัม เป็นวิธีเปรียบเทียบ

ผลและวิจารณ์

1. อิทธิพลของสารที่ได้จากการสลายตัวของพืชตระกูลกะหล่ำต่อการยับยั้งเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (Rs) ในห้องปฏิบัติการ

การทดสอบอิทธิพลของสารที่ได้จากการสลายตัวของพืชตระกูลกะหล่ำในห้องปฏิบัติการของ *B. juncea* *B. oleracea* และ *B. campestris* พบว่า การสลายตัวของต้นกล้าอายุ 2 วัน ของชุนฉ่ายและกะหล่ำปลีมีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ Rs โดยสามารถลดการเจริญของเชื้อได้ถึง 100% ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับชุดการทดลองควบคุม ส่วนกวางตุ้งดอก เขียวกวางตุ้ง คะน้าใบ เขียวน้อย ขณะที่เขียวปลี

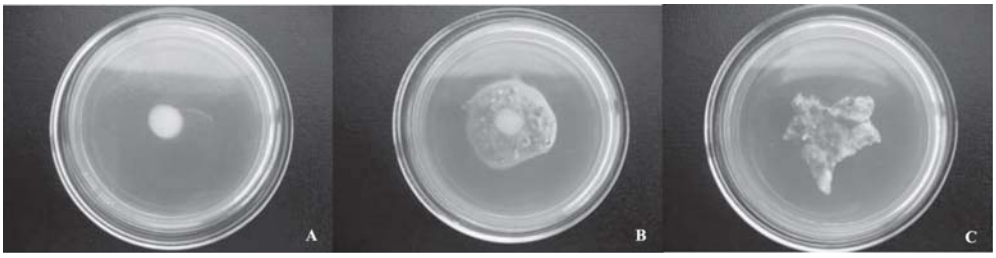
สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ Rs ได้12.50 8.75 8.75 8.75% และ 2.50% ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

จากการผลทดลองข้างต้น ได้ทำการทดลองโดยใช้ส่วนของใบอายุ 30 วัน พบว่า เขียวกวางตุ้งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ Rs ได้สูงสุด โดยมีค่าการยับยั้งเท่ากับ 12.50% รองลงมาได้แก่ เขียวน้อย เขียวปลี และชุนฉ่าย มีค่าการยับยั้งเท่ากับ 9.10% ส่วนกะหล่ำปลีและกวางตุ้งดอกมีค่าการยับยั้งเท่ากับ 7.90% เท่ากัน คะน้าใบมีค่าการยับยั้งเท่ากับ 2.30% แต่เมื่อทำการพิจารณาจากจำนวนประชากรของเชื้อ Rs ที่สามารถแยกได้ พบว่า เขียวปลีมีประสิทธิภาพสูงที่สุด โดยสามารถลดประชากรของเชื้อ Rs ได้ 97% รองลงมาได้แก่ ชุนฉ่ายและเขียวน้อย ที่สามารถลดได้ 81.0% และ 23.0% ส่วนกะหล่ำปลี กวางตุ้งดอก คะน้าใบ และเขียวกวางตุ้งนั้นทำให้ประชากรของเชื้อเพิ่มขึ้น 9 32 137 และ 191% ตามลำดับ และในการทดลองยังได้ทดสอบสาร PeITC และ BITC ที่ความเข้มข้น 1 M ซึ่งพบว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญและจำนวนประชากรของ Rs ได้ 100% (ตารางที่ 2)

จากข้อมูลข้างต้นผลการทดลองประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ Rs จากการสลายตัวของพืชตระกูลกะหล่ำอายุ 2 วันกับใบที่มีอายุ 30 วันมีผลแตกต่างกัน เนื่องมาจากส่วนของพืชและอายุที่ต่างกันจะมีผลต่อคุณภาพและปริมาณของสาร glucosinolates ที่ได้มีรายงานโดย Bellostas *et al.* (2004) ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า *B. juncea* ได้แก่ เขียวน้อย เขียวปลี และชุนฉ่าย จะมีประสิทธิภาพดีกว่า *B. oleracea* และ *B. campestris* ในการควบคุมการเจริญและจำนวนประชากรของเชื้อ Rs

2. การสกัดและวิเคราะห์สาร Isothiocyanates (ITCs) ที่เกิดจากการสลายตัวของพืชตระกูลกะหล่ำ

จากการวิเคราะห์ชนิดของสาร ITCs ด้วยเทคนิค gas chromatography โดยมีสาร ITCs มาตรฐาน 3 สาร ได้แก่ AITC BITC และ PeITC ซึ่งจะปรากฏออกมาในเวลาประมาณ 8.10 13.30 และ 14.00 นาทีตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ชนิดของสาร ITCs จากตัวอย่างสารสกัดจากพืชตระกูลกะหล่ำต่าง ๆ ที่อายุ 60 วัน ได้แก่ กวางตุ้งดอก เขียวกวางตุ้ง เขียวน้อย เขียวปลี ชุนฉ่าย กะหล่ำปลี และคะน้าใบ พบว่า สาร PeITC เป็นสารที่สามารถตรวจพบได้ในตัวอย่างพืชตระกูลกะหล่ำทุกชนิด ในการทดลองโดยจะพบมากที่สุดในส่วนรากของเขียวน้อย มีค่าเท่ากับ 19.17 ppm รองลงมาได้แก่ เขียวปลีมีค่าเท่ากับ 10.35 ppm ส่วนสาร AITC เป็นสารที่พบเฉพาะในรากของ *B. juncea* เท่านั้น ไม่พบใน *B. campestris* และ *B. oleracea* และจะพบสาร AITC พบมากที่สุดในรากเขียวปลีมีค่าเท่ากับ 19.23 ppm ส่วนสาร BITC เป็นสารที่ตรวจพบในใบและรากของ *B. campestris* *B. oleracea* และ *B. juncea* เพียงเล็กน้อย ซึ่งปริมาณสูงที่สุดที่ตรวจพบมีค่าเท่ากับ 0.23 ppm (ตารางที่ 3)



ภาพที่ 1 อิทธิพลของสารที่ได้จากการสลายตัวของพืชตระกูลกะหล่ำต่อการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (Rs) ในห้องปฏิบัติการ (A) ชุดควบคุม (B) เขียวน้อย (*B. juncea* var. *multiceps*) และ (C) ชุนฉ่าย (*B. juncea*) หลังจากการบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน

ตารางที่ 1 อิทธิพลของสารที่ได้จากการสลายตัวของต้นกล้าพืชตระกูลกะหล่ำอายุ 2 วัน ชนิดต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (Rs) ในห้องปฏิบัติการ

กรรมวิธี	เส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อ Rs (cm)	%การยับยั้ง **
ชุดควบคุม	0.80c*	0.00
เขียวน้อย (*B. juncea* var *multiceps*)	0.73b	8.75
ชุนฉ่าย (*B. juncea*)	0.00a	100.00
เขียวปลี (*B. juncea*)	0.78c	2.50
คะน้าใบ (*B. oleracea* var. *alboglaba*)	0.73b	8.75
กะหล่ำปลี (*B. oleracea* var. *cabitata*)	0.00a	100.00
กวางตุ้งดอก (*B. campestris* var. *chinensis*)	0.70b	12.50
เขียวกวางตุ้ง (*B. campestris* var. *chinensis*)	0.73b	8.75

*ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่เหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Least Significance Difference test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

**เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง = $\frac{A-B}{A} \times 100$

A = เส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อ *R. solanacearum* ในชุดควบคุม

B = เส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อ *R. solanacearum* ในกรรมวิธีต่างๆ

ตารางที่ 2 อิทธิพลของสารที่ได้จากการสลายตัวของใบพืชตระกูลกะหล่ำอายุ 30 วัน ชนิดต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อ *Ralstonia solanacearum* (Rs) ในห้องปฏิบัติการ

กรรมวิธี	เส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อ Rs (cm)	% การยับยั้ง **	เส้นผ่าศูนย์กลางของเชื้อ Rs (cm)	% การยับยั้ง **
ชุดควบคุม	0.89c*	0.00	1.03×10^2	0.00
Phenylethyl isothiocyanate (1 M)	0.00a	100.00	0.00	100.00
Benzyl isothiocyanate (1 M)	0.00a	100.00	0.00	100.00
เขียวน้อย (*B. juncea* var *multiceps*)	0.80b	9.10	0.80×10^2	23.00
ชุนฉ่าย (*B. juncea*)	0.80b	9.10	0.22×10^2	81.00
เขียวปลี (*B. juncea*)	0.80b	9.10	0.06×10^2	97.00
คะน้าใบ (*B. oleracea* var. *alboglaba*)	0.86c	2.30	2.40×10^2	-137.00
กะหล่ำปลี (*B. oleracea* var. *cabitata*)	0.81b	7.90	1.12×10^2	-9.00
กวางตุ้งดอก (*B. campestris* var. *chinensis*)	0.81b	7.90	1.35×10^2	-32.00
เขียวกวางตุ้ง (*B. campestris* var. *chinensis*)	0.78b	12.50	2.94×10^2	-191.00

*ค่าเฉลี่ยตามแนวตั้งที่เหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติ จากการเปรียบเทียบด้วยวิธี Least Significance Difference test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

**เปอร์เซ็นการยับยั้ง = $\frac{A-B}{A} \times 100$

A = เส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อ *R. solanacearum* ในชุดควบคุม

B = เส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อ *R. solanacearum* ในกรรมวิธีต่างๆ

พืชตระกูลกะหล่ำที่มีปริมาณสาร ITCs รวมจากส่วนใบและรากสูงที่สุดได้แก่ เขียวปลี เท่ากับ 30.97 ppm รองลงมา ได้แก่ เขียวน้อย กะหล่ำปลี ชุนฉ่าย คะน้าใบ กวางตุ้งดอก และเขียวกวางตุ้ง ซึ่งมีสาร ITCs รวมเท่ากับ 26.56 7.51 5.62 3.59 3.26 และ 1.22 ppm ตามลำดับ (ตารางที่ 3)

3. การทดสอบประสิทธิภาพของพืชตระกูลกะหล่ำในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคเหี่ยวในโรงเรือนทดลอง

3.1 การทดลองการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียโดยการอบดินฆ่าเชื้อด้วยพืชตระกูลกะหล่ำ

ทำการทดสอบได้ทดลองใช้เขียวน้อย เขียวปลี คะน้าใบ กวางตุ้งดอก อายุ 2 วันมาเป็นตัวแทนในการศึกษา ทำการอบดินโดยใช้พืชข้างต้นบดละเอียดผสมใส่ดินในอัตรา 1% ของน้ำหนักดิน พบว่าภายหลังจากการย้ายมะเขือเทศอายุ 1 เดือนลงปลูกในดินที่อบด้วยเขียวปลีมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคต่ำที่สุดเท่ากับ 25% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ในขณะที่ดินที่อบด้วยกวางตุ้งดอก คะน้าใบ และเขียวกวางตุ้งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคเท่ากับ 50 50 และ 75% ตามลำดับ โดยในดินที่อบด้วยเขียวปลีและกวางตุ้งดอกตรวจไม่พบประชากรของเชื้อ Rs ส่วนดินที่อบด้วยคะน้าใบและเขียวน้อยตรวจพบประชากรของเชื้อ Rs เท่ากับ $3.7x10^4$ และ $4.9x10^3$ CFU ต่อดิน 1 กรัม ตามลำดับ ส่วนในดินชุดควบคุมตรวจพบจำนวนประชากรของเชื้อ Rs เท่ากับ $0.8x10^3$ CFU ต่อดิน 1 กรัม (ตารางที่ 4)

3.2 การศึกษาปริมาณของพืชตระกูลกะหล่ำสำหรับการอบดินฆ่าเชื้อต่อประสิทธิภาพ ในการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

การศึกษาอัตราของพืชตระกูลกะหล่ำที่เหมาะสมเมื่อทำการอบดินด้วยส่วนใบของเขียวปลีที่อายุ 60 วัน โดยเลือกเขียวปลีซึ่งมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการทดลอง 3.1 มาใช้ทดลอง โดยนำมาอบดินที่อัตรา 1 3 5 และ 10% ต่อน้ำหนักดิน เปรียบเทียบกับ Basamid G® อัตรา 1 กรัม/ดิน 1 กิโลกรัม

ตารางที่ 3 การวิเคราะห์ความเข้มข้นของสาร isothiocyanates(ITCs)ในพืชตระกูลกะหล่ำ Brassica speciesที่อายุ 60 วัน

ชนิดของพืชตระกูลกะหล่ำ	ความเข้มข้นของสาร ITCs ในใบ (ppm)			ความเข้มข้น ITCs รวม	ความเข้มข้นของสาร ITCs ในราก(ppm)			ความเข้มข้น ITCs รวม	ความเข้มข้น ITCs รวมทั้งหมด
	AITC*	BITC	PeITC		AITC	BITC	PeITC		
กวางตุ้งดอก (*B. campestris* var. *chinensis*)	0	0	0.51	0.51	0	0.20	2.55	2.75	3.26
เขียวกวางตุ้ง (*B. campestris* var. *chinensis*)	0	0.16	0.63	0.79	0	0	0.43	0.43	1.22
เขียวน้อย (*B. juncea* var *multiceps*)	0	0	0.65	0.65	6.74	0	19.17	25.91	26.56
เขียวปลี (*B. juncea*)	0	0.20	1.19	1.39	19.23	0	10.35	29.58	30.97
ชุนฉ่าย (*B. juncea*)	0	0	0.55	0.55	2.05	0	3.02	5.07	5.62
กะหล่ำปลี (*B. oleracea* var. *cabitata*)	0	0	5.53	5.53	0	0.23	1.75	1.98	7.51
คะน้าใบ (*B. oleracea* var. *alboglaba*)	0	0.22	1.25	1.47	0	0	2.12	2.12	3.59

*AITC = Allyl isothiocyanate, BITC = Benzyl isothiocyanate, PeITC = Phenylethyl isothiocyanate

พบว่าการอบดินด้วยเขียวปลีที่อัตรา 1 3 5 และ 10% ต่อน้ำหนักดิน มีอัตราการเกิดโรคเท่ากับ 66.67 50.00 16.67 และ 0% ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีอัตราการเกิดโรคเท่ากับ 83.34% คิดเป็นประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้เท่ากับ 20.00 40.00 79.99 และ 100.00% ตามลำดับ เมื่อนำดินในแต่ละกรรมวิธีมาตรวจสอบพบจำนวนประชากรของเชื้อ Rs เท่ากับ 2.60×10^4 6.90×10^3 และ 6.50×10^2 CFU ในดินที่อบด้วยเขียวปลีอัตรา 1 3 และ 5% ตามลำดับ และไม่พบเชื้อ Rs ในดินที่อบด้วยเขียวปลีที่อัตรา 10% ส่วนกรรมวิธีที่อบดินด้วย Basamid G® และกรรมวิธีควบคุมมีจำนวนประชากรของเชื้อ Rs เท่ากับ 1.10×10^3 และ 3.92×10^4 CFU ตามลำดับ (ตารางที่ 5)

3.3 การศึกษาชนิดของพืชตระกูลกะหล่ำในการอบดินฆ่าเชื้อควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย

จากผลการทดลองในข้อ 3.1 และ 3.2 ได้ทำการทดลองใช้ส่วนใบของ กะหล่ำปลี กวางตุ้ง คะน้า ชุนฉ่าย และ เขียวปลี อายุ 60 วันมาอบดินฆ่าเชื้อควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ Rs ที่อัตรา 10% ของน้ำหนักดิน ผลการทดลองที่ได้ พบว่ากรรมวิธีที่อบดินด้วยกวางตุ้งและเขียวปลีมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้ 100% ส่วนกะหล่ำปลี ชุนฉ่าย และคะน้า มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคได้รองลงมาเท่ากับ 83.34 83.34 และ 50.00% ตามลำดับ และเมื่อทำการตรวจประชากรของเชื้อ Rs ในดิน พบว่า ดินที่อบด้วยเขียวปลี ชุนฉ่ายและคะน้าใบตรวจไม่พบประชากรของเชื้อ Rs ส่วนดินที่อบด้วยกะหล่ำปลี และเขียวกวางตุ้ง ตรวจพบประชากรของเชื้อ Rs เท่ากับ 2.75×10^3 และ 3.25×10^3 CFU ต่อดิน 1 กรัม ตามลำดับ ส่วนในดินชุดควบคุมตรวจพบจำนวนประชากรของเชื้อ Rs เท่ากับ 3.0×10^5 CFU ต่อดิน 1 กรัม (ตารางที่ 6, ภาพที่ 2)

ซึ่งจากการทดสอบการอบดิน โดยวิธีชีวภาพในโรงเรือนพบว่า *B. juncea* โดยเฉพาะ เขียวปลีมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยว ที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรียได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งการใช้กล้าอายุ 2 วันที่ 1% ของน้ำหนักดินสามารถลดการเกิดโรคและประชากรของเชื้อ Rs ได้ดี ซึ่งในการปฏิบัตินั้นจะใช้ต้นทุนสูงเพราะต้องใช้เมล็ดพันธุ์เป็นจำนวนมาก จึงนำส่วนของใบเขียวปลีที่อายุ 60 วันมาทำการทดลอง พบว่า มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวได้ดีเช่นกันแต่ต้องใช้ในอัตรา 10% ของน้ำหนักดินจึงจะมีประสิทธิภาพดีที่สุด และในการทดลองนี้ยังขาดการทดสอบในระดับแปลงปลูกทดลองและแปลงปลูกของเกษตรกร ซึ่งจะได้ทำการศึกษาวิจัยต่อไป

ตารางที่ 4 ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* โดยการอบดินด้วยพืชตระกูลกะหล่ำชนิดต่าง ๆ

กรรมวิธี	อัตราการเกิดโรค (%)	ประสิทธิภาพในการควบคุมโรค* (%)	ประชากรของเชื้อ Rs(CFU)
กวางตุ้งดอก (*B. campestris* var. *chinensis*)	75.00	25.00	3.7×10^4
เขียวปลี (*B. juncea*)	25.00	75.00	0.00
เขียวน้อย (*B. juncea* var *multiceps*)	50.00	50.00	4.9×10^3
คะน้าใบ (*B. oleracea* var. *alboglaba*)	50.00	50.00	0.00
ชุดควบคุม	100.00	0.00	0.8×10^3

*ประสิทธิภาพในการควบคุมโรค = $\frac{A-B}{A} \times 100$

A = อัตราการเกิดโรคของชุดควบคุม

B = อัตราการเกิดโรคของกรรมวิธีต่าง ๆ

ตารางที่ 5 ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* โดยการอบดินด้วยเขียวปลี (*Brassica juncea*) ที่อัตราส่วน 1% 3% 5% และ 10% ต่อน้ำหนักดิน

กรรมวิธี	อัตราการเกิดโรค (%)	ประสิทธิภาพในการควบคุมโรค*(%)	ประชากรของเชื้อ Rs (CFU)
เขียวปลี (*B. juncea*) 1%	66.67	20.00	2.60×10^{4}
เขียวปลี (*B. juncea*) 3%	50.00	40.00	6.90×10^{3}
เขียวปลี (*B. juncea*) 5%	16.67	79.99	6.50×10^{2}
เขียวปลี (*B. juncea*) 10%	0.00	100.00	0.00
Basamid G®	0.00	100.00	1.10×10^{3}
ชุดควบคุม	83.34	-	3.92×10^{4}

*ประสิทธิภาพในการควบคุมโรค = $\frac{A-B}{A} \times 100$

A = อัตราการเกิดโรคของชุดควบคุม

B = อัตราการเกิดโรคของกรรมวิธีต่าง ๆ

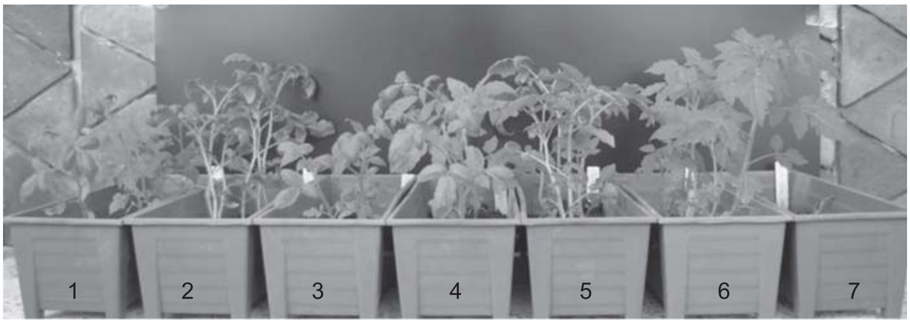
ตารางที่ 6 ประสิทธิภาพในการควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* โดยการอบดินด้วยพืชตระกูลกะหล่ำชนิดต่าง ๆที่อัตราส่วน 10% ต่อน้ำหนักดิน

กรรมวิธี	อัตราการเกิดโรค (%)	ประสิทธิภาพในการควบคุมโรค*(%)	ประชากรของเชื้อ Rs (CFU)
กะหล่ำปลี (*B. oleracea* var. *cabitata*)	16.66	83.34	2.75×10^{3}
เขียวกวางตุ้ง (*B. campestris* var. *chinensis*)	0.00	100.00	3.25×10^{3}
คะน้าใบ (*B. oleracea* var. *alboglaba*)	50.00	50.00	0.00
ชุนฉ่าย (*B. juncea*)	16.66	83.34	0.00
เขียวปลี (*B. juncea*)	0.00	100.00	0.00
Basamid G®	0.00	100.00	0.00
ชุดควบคุม	100.00	0.00	3.00×10^{5}

*ประสิทธิภาพในการควบคุมโรค = $\frac{A-B}{A} \times 100$

A = อัตราการเกิดโรคของชุดควบคุม

B = อัตราการเกิดโรคของกรรมวิธีต่าง ๆ



ภาพที่ 2 การควบคุมโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อ *Ralstonia solanacearum* โดยการอบดินด้วยพืชตระกูลกะหล่ำชนิดต่างๆที่อัตราส่วน 10% ต่อน้ำหนักดิน 1. กะหล่ำปลี (B. *oleracea* var. *cabitata*) 2. เขียวกวางตุ้ง (*B. campestris* var. *chinensis*) 3. คะน้าใบ (*B. oleracea* var. *alboglaba*) 4. ชุนฉ่าย (B. *juncea*) 5. เขียวปลี (*B. juncea*) 6. สาร Basamid G® และ 7.ชุดควบคุม (Positive control)

สรุป

พืชตระกูลกะหล่ำ เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย ที่มีการปลูกกันเป็นการค้าอย่างแพร่หลาย เช่น คะน้า กวางตุ้ง กะหล่ำปลี และเขียวปลี เป็นต้น งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นประโยชน์จากพืชตระกูลกะหล่ำที่นอกเหนือไปจากการส่วนต่างๆ ที่นำไปบริโภคแล้วยังคงมีส่วนต่างๆ ของพืชตระกูลกะหล่ำที่เหลืออยู่ในแปลงปลูกเป็นจำนวนมาก ซึ่งสามารถนำเศษเหลือต่างๆ (plant residues) มาใช้ในการอบดินโดยวิธีชีวภาพ (biofumigation) หรือการปลูกพืชตระกูลกะหล่ำเพื่อเป็นปุ๋ยพืชสด (green manure)และอบดิน นอกจากนี้ยังอาจใช้ร่วมกับการควบคุมโรคด้วยวิธีอื่นๆ เช่น การอบดินฆ่าเชื้อ การใช้พันธุ์ต้านทาน และการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เป็นต้น เพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรคให้ดียิ่งขึ้น

การทดลองนี้ได้ทดสอบพืชตระกูลกะหล่ำต่างๆที่มีการปลูกจำหน่ายเป็นการค้าในประเทศไทย ได้แก่ *Brassica juncea* (เขียวน้อย ชุนฉ่าย และเขียวปลี) *B. oleracea* (คะน้าใบ และกะหล่ำปลี) และ *B. campestris* (กวางตุ้งดอก และเขียวกวางตุ้ง) ในการควบคุมโรคเหี่ยวในระดับห้องปฏิบัติการและโรงเรือนปลูกพืชทดลอง พบว่า *B. juncea* จะมีประสิทธิภาพดีกว่า *B. oleracea* และ *B. campestris* ในการควบคุมเชื้อ Rs โดยเฉพาะเขียวปลี เนื่องด้วย *B. juncea* มีสาร ITCs มากที่สุดเมื่อเทียบกับ *B. oleracea* และ *B. campestris* (Table 3) ซึ่งสาร PeITC เป็นสาร ITC ที่พบได้ปริมาณมากใน *B. juncea* และมีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อ Rs จากการทดลองแล้ว ยังเป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อราและแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชอื่นๆ อีกด้วย ตามรายงานของ Smith and Kirkegaard (2002) เช่น *Phytophthora* spp. *Pythium* spp. *Lasiodiplodia theobromae Sclerotium rolfsii Rhizoctonia solani* และ *Agrobacterium tumefaciens* เป็นต้น

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่สนับสนุนทุนในการทำวิจัย ศูนย์วิทยาการขั้นสูงเพื่อเกษตรและอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้บริการเครื่อง Gas chromatograph ในการทำวิจัย ขอขอบคุณ ดร.พักตร์เพ็ญ ภูมิพันธ์ และคุณสุรชาติ คูอาริยะกุล ที่ให้ความอนุเคราะห์สารมาตรฐาน AITC PeITC และ BITC

เอกสารอ้างอิง

Angus, J.F., P.A. Gardner, J.A. Kirkegaard and J.M. Desmarchelier. 1994. Biofumigation: Isothio cyanates released from *Brassica* roots inhibit growth of the take-all fungus. Plant and Soil. 162: 107-112.

Bellostas, N., J.C. Sorensen and H, Sorensen. 2004. Qualitative and quantitative evaluation of glucosinolates in cruciferous plants during their life cycles. Agroindustria. 3:5-10.

Brown, P.D., M.J. Morra, and V. Borek. 1994. Gas chromatography of allelochemicals produced during glucosinolate degradation in soil. J. Agric. Food Chem. 42:2029-2034.

Fahey, J.W., A.T. Zalcmann and P. Talalay. 2001. The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants. Phytochemistry. 56:5-51.

Hayward, A.C. 1995. *Pseudomonas solanacearum*. U. S. Singh, R. P. Singh and K. Kohmoto (eds.). Pathogenesis and Host Specificity in Plant Diseases: Histopathological, Genetic and Molecular basis. Vol. I: Prokaryotes. Pergamon, Great Britain. pp. 139-151.

Jarujit, J., W. Kositratana, S. Vajrodaya and N. Thaveechai.2009. Efficacy of Soil Amendment with Plant Extract and Silicon for Controlling Tomato Bacterial Wilt in Greenhouse. J. Agricultural Sci. 40(2): 283-292.

Kirkegaard, J.A. and J. Matthiessen.2004. Developing and refining the biofumigation concept. Agoindustria. 3(3):233-239.

Kirkegaard, J.A. and Sarwar, M. 1999. Glucosinolate profiles of Australian canola (*Brassica napus annua* L.) and Indian mustard (*Brassica juncea* L.) cultivars: implications for biofumigation. Aust. J. Agric. Res. 50:315-324.

Luthy, B. and P. Matile. 1984. The mustard oil bomb rectified analysis of the sub-cellular organization of the myrosinase system. Biochem Physiol Pfl.179 (1-2): 5-12.

Momol, J.P., M.T. Rich, J.R. Olson S.M. and J.B. Jones. 2007. Development of an Integrated Approach for Managing Bacterial Wilt and Root-knot on Tomato under Field Conditions. Plant Dis. 91:1321-1326.

Schaad, N.W., J.B. Jones and W. Chun. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria, 3rd ed. American Phytopathological Society, St. Paul, MN 373 pp.

Smith, B.J. and J.A. Kirkegaard. 2002. In vitro inhibition of soil microorganisms by 2-phenylethly isothiocyanate. Plant Pathology. 51:585-593.

Suthumma, K., K. Sajjaphan,J. Chamsawang, K. Suyama and N. Thaveechai. 2009. Control of Bacterial Wilt of Tomato by Antagonistic Bacteria and Silicon in Greenhouse. J. Agricultural Sci. 40(2): 293-300.

Thaveechai, N., W. Kositratana, V. Phuntumart, C. Leksomboon and P. Khongpleam. 1996. Management of Bacterial Wilt of Tomato. Proceeding of The AVNET-II Final Workshop, Bangkok, Thailand 1-6 September 1996.

Vaughn, S.F. 1999. Glucosinolates As Natural Pesticides. *In*: Biologically Active Natural Products: Agrochemicals. CRC Press, Boca Raton, London, New York Washington, D.C. pp.81-91.

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. Palleroni and Doudoroff 1973) comb. Nov., *Ralstonia solanacearum* (Smith 1896) comb. Nov. and Ralstonia eutropha (Davis 1969) comb. nov. Microbril. Immunol. 39:897-904.