

การทดสอบพันธุ์ต้านทานโรคเหี่ยวของมะเขือเทศ ที่เกิดจากแบคทีเรีย

Screening for Bacterial Wilt Resistant of Tomato

ศศิธร วุฒิวณิชย์ และ ศักดิ์ สุนทรสิงห์¹

Sasitorn Vudhivanich and Sug Soontarasing

ABSTRACT

Four artificial inoculation methods (Clipping, Stem inoculation, Micropipette and Root inoculation technique) were used for screening bacterial wilt resistance of tomato caused by *Pseudomonas solanacearum*. Two experiments were conducted. The first experiment, nine tomato varieties were inoculated with 1×10^8 cfu/ml of *P. solanacearum* Nakorn Pathom isolate. No significant differences among the four inoculate methods were found. CI5915-233D₄-2-1-0 shows resistance, CI 184 and CI 5915-206D₄-2-5-0 moderately resistance and Seedathip 2, CI 153, Mishou, Seeda, P 502 and VF 134-1-2 moderately susceptible. The second experiment, ten tomato varieties were inoculated with *P. solanacearum* Nongkai isolate of 1×10^8 cfu/ml, the same concentration as used in the first experiment. No significant differences between Clipping technique and Stem inoculation technique, Stem inoculation technique and Micropipette technique, Micropipette technique and Root inoculation technique were found. There were significant differences between Clipping technique and Root inoculation technique. No tomato varieties showed any resistance. CI5915-233D₄-2-1-0 showed only moderately resistance, CI 80 moderately susceptible and CI 110, CI 115, CI 116, CI 159, CI 162, P 502, Early Pink and 3-31A-B₂ susceptible.

Key words : tomato, bacterial wilt, *Pseudomonas solanacearum*, resistant variety

บทคัดย่อ

ในการทดสอบพันธุ์ต้านทานโรคเหี่ยวของมะเขือเทศที่เกิดจาก *Pseudomonas solanacearum* ได้ใช้

วิธีการปลูกเชื้อในสภาพเรือนทดลอง 4 วิธี คือ Clipping, Stem inoculation, Micropipette และ Root inoculation technique และแบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุด ชุดแรกจำนวน 9 สายพันธุ์ ใช้เชื้อ *P. solanacearum*

¹ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ไอโซเลท จ.นครปฐม ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^8 cfu/ml พบว่าไม่มีความแตกต่างในวิธีการปลูกเชื้อ พันธุ์ที่แสดงลักษณะต้านทานได้แก่พันธุ์ CI 5915-233D₄-2-1-0 ก่อนข้างต้านทานได้แก่ พันธุ์ CI 184 และ CI 5915-206D₄-2-5-0 ก่อนข้างอ่อนแอ ได้แก่ สีดาทิพย์ 2, CI 153, Mishou, สีดา, P 502 และ VF 134-1-2 ชุดที่ 2 จำนวน 10 สายพันธุ์ ใช้เชื้อ *P. solanacearum* ไอโซเลท จ.หนองคาย ที่ระดับความเข้มข้น 1×10^8 cfu/ml เท่ากัน พบว่าไม่มีความแตกต่างในวิธีการปลูกเชื้อระหว่างวิธี Clipping technique กับ Stem inoculation technique, Stem inoculation technique กับ Micropipette technique และ Micropipette technique กับ Root inoculation technique แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างวิธี Clipping technique กับ Root inoculation technique และไม่มีพันธุ์ใดเลยที่แสดงลักษณะต้านทานต่อเชื้อไอโซเลทนี้ พันธุ์ก่อนข้างต้านทานได้แก่พันธุ์ CI 5915-233D₄-2-1-0 ก่อนข้างอ่อนแอได้แก่พันธุ์ CI 80 ส่วนนอกนั้นแสดงลักษณะอ่อนแอซึ่งได้แก่พันธุ์ CI 110, CI 115, CI 116, CI 159, CI 162, Early Pink และ 3-31A-B₂

คำนำ

มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum*) เป็นพืชผักในตระกูล Solanaceaeที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจพืชหนึ่ง สามารถผลิตจำหน่ายในรูปผลสดและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น น้ำมะเขือเทศ ซอสมะเขือเทศ ฯลฯ เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในและต่างประเทศแหล่งปลูกที่สำคัญได้แก่จังหวัดหนองคาย เชียงใหม่ ลำปาง นครราชสีมา ขอนแก่น นครปฐม (สุรบุญญา, 2527) ปัญหาสำคัญในการปลูกมะเขือเทศอย่างหนึ่งคือ โรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย (bacterial wilt) เป็นโรคที่พบระบาดรุนแรงในเขตร้อนชื้น เมื่อพืชเป็นโรคลแล้วมักตายหรือแคระ

แกรนทำให้ต้องสูญเสียผลผลิตไปปีละมากๆ ลักษณะอาการที่เด่นชัดของมะเขือเทศที่เป็นโรคคือ ใบจะเหี่ยวลู่ลงมาทั้งต้น ในขณะที่ใบยังคงเขียวอยู่ เมื่อตัดขวางบริเวณโคนต้น นำมาแช่ในน้ำสะอาดสักครู่จะพบของเหลวสีขาวขุ่นคล้ายน้ำนม (bacterial exudate) ไหลออกมาจากรอยตัดเป็นสาย ซึ่งเต็มไปด้วยเซลล์ที่เรียจำนวนมาก เชื้อกระจายตัวและแพร่ระบาดได้ดีโดยน้ำเชื้อแบคทีเรียสาเหตุโรคนี้นี้คือ *Pseudomonas solanacearum* E. F. Smith การปลูกพืชหมุนเวียนและการใช้สารเคมีเพื่อควบคุมโรคนี้นี้กระทำได้ยากและไม่ให้ผลดีเท่าที่ควร เนื่องจากแบคทีเรียสาเหตุโรคมียืดอายุกว้างขวางตั้งแต่พืชเศรษฐกิจจนถึงวัชพืช (Atabug and San Juan, 1981) สามารถมีชีวิตอยู่ในดินได้นาน (Smith, 1944; Kelman, 1953) และก่อนข้างต้านทานต่อสารเคมีและปฏิชีวนะสารหลายชนิด (Garner *et al.*, 1917; Well and Roldan, 1922; Miller and Harvey, 1932) นอกจากนี้ เชื้อยังมีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมอยู่เสมอ ทำให้เกิด strain หรือ race ต่างๆ มากมาย (AVRDC, 1974) แนวทางในการควบคุมโรคในปัจจุบันคือ พยายามปรับปรุงคัดเลือกพันธุ์ต้านทานโรคซึ่งในการคัดเลือกพันธุ์ต้านทานจำเป็นต้องมีวิธีการทดสอบ และประเมินระดับความต้านทานโรคที่มีประสิทธิภาพ ให้ผลที่เชื่อถือได้สะดวกในการปฏิบัติ และเหมาะสมกับสภาพแวดล้อมและปัจจัยที่มีอยู่ งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้น การศึกษาเปรียบเทียบวิธีการปลูกเชื้อ เพื่อประเมินระดับความต้านทานโรคในมะเขือเทศพันธุ์ต่างๆ

อุปกรณ์และวิธีการ

พืชทดลอง

การทดลองที่ 1 : ใช้มะเขือเทศ 9 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์สีดาทิพย์ 2, CI 153, Mishou, Seeda, CI 184, CI 5915-223D₄-2-1-0, P502, CI 5915-206 D₄-

2-5-0 และ VF 134-1-2

การทดลองที่ 2 : ใช้มะเขือเทศ 10 สายพันธุ์ ได้แก่พันธุ์ CI 80, CI 110, CI 115, CI 116, CI 159, CI 162, CI 5915-223D₄-2-1-0, P 502, Early Pink และ 3-31A-B₂

ทั้ง 2 การทดลอง ใช้กลั่มมะเขือเทศอายุ 5 สัปดาห์ ซึ่งเป็นระยะที่ขนาดต้นเหมาะสมในการทำ Artificial inoculation ทุกวิธี และง่ายต่อการติดเชื้อ

การเตรียมเชื้อ

นำต้นมะเขือเทศที่เป็นโรคเหี่ยวมาล้างบริเวณโคนต้นและรากให้สะอาด ทำความสะอาดผิวด้วย alcohol 70% ตัดโคนต้นตามขวางเป็นท่อนสั้นๆ ใส่ในหลอดน้ำกลั่นหนึ่ง 5 ml ตั้งทิ้งไว้สักครู่จะเห็น bacterial exudate เป็นของเหลวสีขาวขุ่นไหลออกมาจากชิ้นส่วนพืชเป็นสาย เขย่าเชื้อให้กระจายตัวดีด้วย Vortex mixer ใช้ลูบแตะ suspension เชื้อ streak บน TZC medium (Kelman, 1954) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30°C 48 ชั่วโมง เลือก virulent colony ที่มีลักษณะเล็ก ไม่กลม สีขาวขุ่น มีจุดสีชมพูอ่อนอยู่กลางโคโลนี นำไปเพิ่มปริมาณบน TZC-X (TZC medium ที่ไม่เติม 2, 3, 5 triphenyl tetrazolium chloride) บ่มเชื้อที่ 30°C 36 ชั่วโมง ทำ suspension ในน้ำกลั่นหนึ่ง ปรับความเข้มข้นให้ได้ประมาณ 10⁸ เซลล์/มล. (O.D. = 0.2 = 0.19 × 10⁸ cfu/ml)

การทดลองที่ 1 : ใช้เชื้อ isolate วัคน้ำหนุ่ยข้าง อ.กำแพงแสน จ. นครปฐม

การทดลองที่ 2 : ใช้เชื้อ isolate อ.ศรีเชียงใหม่ จ.หนองคาย

วิธีการปลูกเชื้อ

ทั้ง 2 การทดลอง ใช้วิธีการปลูกเชื้อ 4 วิธี คือ Clipping technique: ใช้กรรไกรจุ่ม suspension เชื้อ ตัดก้านใบที่ 3 นับจากยอด (Mc.Carter, 1973)

Stem inoculation technique : ใช้เข็มฉีดยาจุ่ม

ทำแผลที่เหนือชอกตาของใบที่ 3 นับจากยอด 5 แผล แล้วหยด suspension เชื้อลงบนแผลทันที ใช้เชื้อ 10 µl ต่อต้น หยด suspension เชื้อจะค้างอยู่ที่ชอกใบ บริเวณแผลพอดี

Micropipette technique: ใช้ Micropipette ขนาด 10 µl จุ่ม suspension เชื้อแล้วปักลงในดิน ที่ตำแหน่งเหนือชอกตาของใบที่ 3 เล็กน้อย ปลาย Micropipette tip ที่มี suspension เชื้อเสียดกับใบปล่อยให้พืชดูดซึมเข้าไปเองจนหมดซึ่งจะใช้เวลาไม่เกิน 4 ชม. จากนั้นจึงดึง plastic tip ออก (AVRDC, 1974)

Root inoculation technique: ใช้มีดคมๆ ตัดปลายรากแถบใดแถบหนึ่งเพื่อทำแผล ราด suspension เชื้อลงบนรากที่ถูกตัดทันที ใช้เชื้อ 20 ml ต่อต้น (ปริมาตรดินประมาณ 300-400 ลบ.ซม.ต่อต้น) Modified from Winstead and Kelman, 1952)

ปลูกเชื้อวิธีละ 10 ต้น เก็บพืชไว้ในเรือนทดลอง รดน้ำสม่ำเสมอ สังเกตอาการเหี่ยวบันทึกค่า LT₁₀ และเปอร์เซ็นต์การเป็นโรคทั้งหมดเป็นเวลา 3 สัปดาห์

ผลและวิจารณ์

วิธีการปลูกเชื้อในสภาพเรือนทดลอง 4 วิธี ในการทดลองที่ 1 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ส่วนในการทดลองที่ 2 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างวิธี Clipping กับ Stem inoculation, Stem inoculation กับ Micropipette และ Micropipette กับ Root inoculation แต่พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ระหว่างวิธี Clipping กับ Root inoculation สำหรับในด้านการปฏิบัติ แต่ละวิธีมีความแตกต่างกัน Clipping technique เป็นวิธีที่ทำได้ง่าย รวดเร็ว แต่การใช้กรรไกรจุ่มเชื้อตัดก้านใบอาจทำให้เชื้อเข้าสู่พืชมากขึ้นไม่สม่ำเสมอ จาก Table 1 จะเห็นว่า % wilt ไม่สม่ำเสมอ และโดยเฉลี่ยต่ำกว่าวิธีอื่น แต่อาจใช้ได้ในกรณีที่ต้องปลูกเชื้อเป็นจำนวนมาก แต่ควรเปลี่ยนจาก

กรรมไกรมาเป็นมีดคมๆและตัดก้านใบให้ชิดกับลำต้น ซึ่งได้ผ่านการทดลองแล้วว่าให้ผลที่สม่ำเสมอกว่าส่วน Root inoculation technique เป็นวิธีที่เลียนแบบการติดเชื้อในธรรมชาติ ปกติเชื้อนี้เข้าสู่พืชทางรอยเปิดที่ ราก (root rupture) และแผลที่รากที่เกิดจากแมลงกัด หรือ การไถพรวน วิธีนี้เหมาะสำหรับการปลูกเชื้อใน กระบะหรือในแปลง ให้ % เชี่ยวที่สม่ำเสมอและ ค่อนข้างสูง แต่ใช้เชื้อปริมาณค่อนข้างมาก และการ ปลูกเชื้อควรคำนึงถึงทรงรากของมะเขือเทศแต่ละ พันธุ์ด้วย เพราะ การใช้มีดแทงลงในดินเพื่อตัดปลาย ราก ถ้าตัดโดนรากจำนวนมากเกิดแผลมาก เชื้อมี โอกาสเข้าสู่พืชได้มาก โอกาสที่มะเขือเทศจะแสดง อาการเหี่ยวก็จะมากและเร็วตามไปด้วย แต่ถ้าเป็น พันธุ์ที่ทรงรากหยั่งลึกไม่ค่อยแผ่ออก ถ้าใช้มีดแทง ดินในตำแหน่งเดียวกันอาจไม่ค่อยถูกรากเกิดแผลน้อย เชื้อเข้าสู่พืชได้น้อย อาจทำให้มะเขือเทศแสดงอาการ

เหี่ยวน้อยหรือช้ากว่าปกติ สำหรับ Micropipette technique เป็นการจงใจใส่เชื้อในปริมาณ และความเข้มข้นที่ต้องการเข้าไปภายในต้นพืชโดยให้พืชดูดซับเชื้อ เข้าไปเองซ้ำๆ ข้อดีของวิธีนี้คือ พืช แต่ละต้นจะได้รับเชื้อสม่ำเสมอ เปอร์เซ็นต์การเป็นโรคเหี่ยวจะผันแปรเป็นสัดส่วนตรงกับปริมาณ และความเข้มข้นของ เชื้อ ทำให้สามารถประเมินระดับความต้านทานโรค ของมะเขือเทศพันธุ์ต่างๆ ได้ละเอียดกว่าวิธีอื่น โดย การผันแปรใช้ความเข้มข้นของเชื้อหลายระดับ แต่ข้อ จำกัดของวิธีนี้คือเสียเวลาในการปลูก เชื้อมาก และผู้ ปฏิบัติต้องมีความชำนาญพอสมควรในการปัก tip วิธี นี้เหมาะสำหรับงานในเรือนทดลองที่ต้องการความ ละเอียดมาก ส่วน Stem inoculation technique คล้าย กับ Micropipette technique แต่ใช้เวลาในการปลูก เชื้อน้อยกว่าเวลา drop หยอดเชื้อต้องมือเบา มิฉะนั้น drop เชื้อจะกลิ้งหล่นก่อนที่จะพืชจะดูดซับ เชื้อเข้าไป

Table 1 Wilt percentage, disease reaction and LT₁₀ of the first experiment.

No.	Tomato variety	Clipping			Stem inoc.			Micropipette			Root inoc.		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
1.	Seedathip 2	40	MR	10	60	MS	10	40	MR	4	50	MS	7
2.	Cl 153	40	MR	9	40	MR	7	60	MS	5	30	MR	7
3.	Mishou	70	S	6	30	MR	4	30	MR	5	30	MR	8
4.	Seeda	30	MR	7	60	MS	5	50	MS	4	30	MR	5
5.	Cl 184	20	R	6	50	MS	6	70	S	9	20	R	7
6.	Cl 5915-223D ₄ -2-1-0	0	R	-	20	R	9	30	MR	10	10	R	8
7.	P 502	20	R	5	50	MS	5	60	MS	5	80	S	5
8.	Cl 5915-206D ₄ -2-5-0	30	MR	11	20	R	11	40	MR	9	30	MR	10
9.	VF 134-1-2	40	MR	9	40	MR	9	50	MS	9	50	MS	9

I % wilt

II disease reaction 0-20% wilt = Resistance (R)
 21-40% wilt = Moderately resistance (MR)
 41-60% wilt = Moderately susceptible (MS)
 61-100% wilt = Susceptible (S)

III LT₁₀ = no. day for ten percent infection

Table 2 Analysis of variance.

Source	Degree of freedom	Sum of squares	Mean squares	F value	Prob.
Rep	9	49.50	5.500	69.31	.000
A	8	4.50	0.563	7.09**	.000
B	3	1.12	0.373	4.70**	.003
AB	24	6.86	0.286	3.60**	.000
Error	315	25.00	0.079		

Coefficient of variation = 68.99%

** Significant difference at 0.05 level

Table 3 Relative resistance of tomato lines to TBW.

No.	Variety	Mean value	Significant symbol	Relative resistance
1.	Seedathip 2	0.47	A	Moderately susceptible (MS)
2.	Cl 153	0.43	A	"
3.	Mishou	0.52	A	"
4.	Seeda	0.43	A	"
5.	Cl 184	0.40	A	Moderately resistance (MR)
6.	Cl 5915-223D ₄ -2-1-0	0.15	B	Resistance (R)
7.	P 502	0.52	A	Moderately susceptible (MS)
8.	Cl 5915-206D ₄ -2-5-0	0.30	AB	Moderately resistance (MR)
9.	VF 134-1-2	0.45	A	Moderately susceptible (MS)

LSD 0.05 = 0.2473143

CV (%) = 68.99%

Table 4 Significant difference of method.

Method	Mean value	Significant symbol
Clipping	0.32	A
Stem inoc.	0.41	A
Micropipette	0.48	A
Root inoc.	0.42	A

LSD 0.05 = 0.2473143

Table 5 Wilt percentage, disease reaction and LT₁₀ of the second experiment.

No.	Tomato variety	Clipping			Stem inoc.			Micropipette			Root inoc.		
		I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III
1.	Cl 80	20	R	4	80	S	4	80	S	3	60	MS	4
2.	Cl 110	30	MR	8	70	S	3	100	S	3	80	S	3
3.	Cl 115	50	MS	4	60	MS	3	100	S	3	100	S	4
4.	Cl 116	50	MS	6	100	S	4	100	S	3	80	S	3
5.	Cl 159	50	MS	5	50	MS	4	100	S	3	100	S	3
6.	Cl 162	60	MS	5	40	MR	3	100	S	4	100	S	3
7.	Cl 5915-223D ₄ -2-1-0	10	R	6	30	MR	5	20	R	5	40	MR	4
8.	P 502	50	MS	3	50	MS	3	90	S	3	100	S	3
9.	Early Pink	60	MS	5	60	MS	3	80	S	3	100	S	3
10.	3-31A-B ₂	60	MS	4	50	MS	3	80	S	3	100	S	3

I % wilt

II disease reaction 0-20% wilt = Resistance (R)
 21-40% wilt = Moderately resistance (MR)
 41-60% wilt = Moderately susceptible (MS)
 61-100% wilt = Susceptible (S)

III LT₁₀ = no. day for ten percent infection**Table 6** Analysis of variance.

Source	Degree of freedom	Sum of squares	Mean squares	F value	Prob.
Rep	9	26.16	2.907	32.45**	.000
A	9	9.61	1.068	11.92**	.000
B	3	12.69	4.230	47.00**	.000
AB	27	6.41	0.237	2.65**	.000
Error	315	31.44	0.090		

Coefficient of variation = 43.69%

** Significant difference at 0.05 level

พันธุ์ที่แสดงลักษณะต้านทาน (Resistance) ต่อเชื้อ *P. solanacearum* ไอโซเลท นครปฐม ได้แก่ พันธุ์ Cl 5915-233D₄-2-1-0 ก่อนข้างต้านทาน (Moderately resistance) ได้แก่ พันธุ์ Cl 184 และ Cl 5915-206D₄-2-5-0 ก่อนข้างอ่อนแอ (Moderately suscepti-

ble) ได้แก่ สีดาทิพย์ 2, Cl 153, Mishou, สีดา, P 502 และ VF 134-1-2 ไม่มีพันธุ์ใดเลยที่แสดงลักษณะต้านทานเชื้อ *P. solanacearum* ไอโซเลทหนองคาย พันธุ์ที่ก่อนข้างต้านทาน ได้แก่ พันธุ์ Cl 5915-233D₄-2-1-0 ก่อนข้างอ่อนแอ ได้แก่ พันธุ์ Cl 80 นอกนั้น

Table 7 Relative resistance of tomato lines to TBW.

No.	Variety	Mean value	Significant symbol	Relative resistance
1.	CI 80	0.60	A	Moderately susceptible (MS)
2.	CI 110	0.70	A	Susceptible (S)
3.	CI 115	0.77	A	"
4.	CI 116	0.82	A	"
5.	CI 159	0.75	A	"
6.	CI 162	0.75	A	"
7.	CI 5915-223D ₄ -2-1-0	0.25	B	Moderately resistance (MR)
8.	P 502	0.73	A	Susceptible (S)
9.	Early Pink	0.75	A	"
10.	3-31A-B ₂	0.73	A	"

LSD 0.05 = 0.2638665

CV (%) = 43.69%

Table 8 Significant difference of method.

Method	Mean value	Significant symbol
Clipping	0.44	C
Stem inoc.	0.59	BC
Micropipette	0.85	AB
Root inoc.	0.86	A

LSD 0.05 = 0.2638665

แสดงลักษณะอ่อนแอ (Susceptible) ได้แก่พันธุ์ CI 110, CI 115, CI116, CI 159, CI 162, P502 Early Pink และ 3-31A-B₂

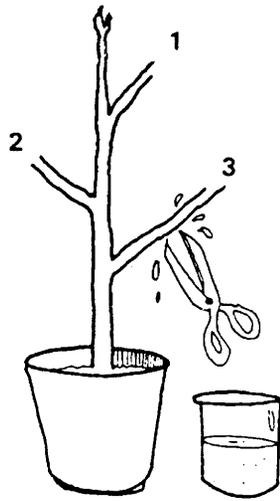
ผลการทดลองที่ 1 แสดงใน Table 1-4

ผลการทดลองที่ 2 แสดงใน Table 5-8

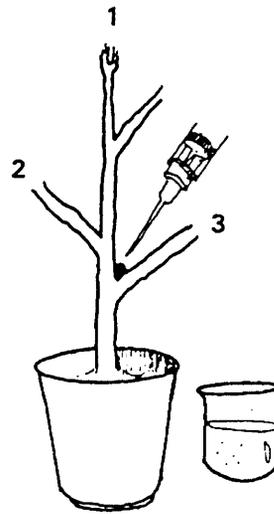
เอกสารอ้างอิง

สุรัชัญญา ฉายาขวลิต 2527. การศึกษาโรคเหี่ยวของ

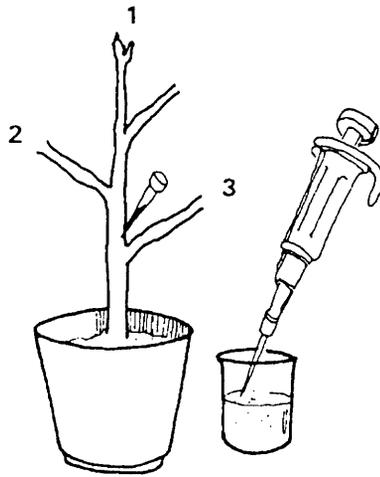
มะเขือเทศที่เกิดจากเชื้อแบคทีเรีย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ Asian Vegetable Research and Development Center. 1974. The Tomato, pp 63-67 *In Annual Report for 1974*. Shanhua, Taiwan.
 _____. 1983. Tomato pathology, pp. 5-6. *In Progress Report Summaries*, Shanhua, Taiwan.
 Atabug, R.G. and San Juan. 1981. Screening of tomato accessions for Bacterial wilt resistance.



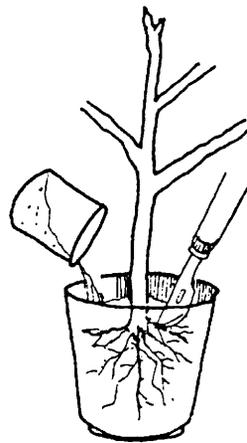
Clipping technique



Stem inoculation technique



Micropipette technique



Root inoculation technique

Figure 1 Four artificial inoculation methods.

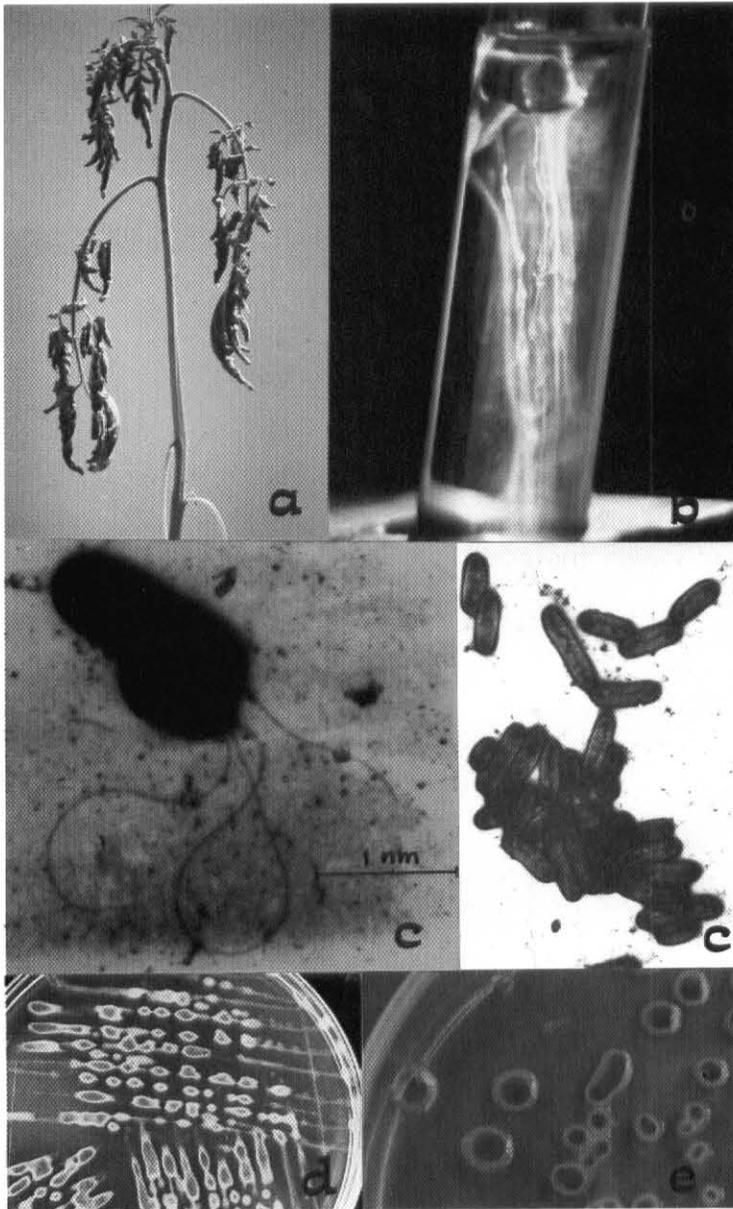


Figure 2 Bacterial Wilt of Tomato.

- a. Diseased tomato show leaf epinasty and wilting symptom while leave still green
- b. Bacterial exudate from diseased plant
- c. Sylender short rod with 1-4 polarflagella of *P. solanacearum*
- d. Virulent colony of *P. solanacearum* on TZC medium fromed an irregularly-round, fluidal, white colony with a pink center
- e. Non - virulent colony (mutant type) of *P. solanacearum* on TZC medium formed a round, butyrous, deep red colony with a narrow bluish border

- Phil. Pathology 17 : 63-66.
- Garner, W.W., F.A. Wolf, and E.G. Moss. 1917. The control of tobacco wilt in the flue-cured district. U.S. Dept. Agr. Bur. Plant. Ind. Bul. 526 : 1-20.
- Kelman, A. 1953. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. N. Carolina Agr. Expt. Sta. Tech. Bul. 99:5-194.
- . 1954. The relationship of pathogenicity of *Pseudomonas solanacearum* to colony appearance in a tetrazolium medium. Phytopathology. 44 : 693-695.
- Miller, J.H. and H.W. Harvey. 1932. Peanut wilt in Georgia. Phytopathology. 22 : 371-383.
- Smith, E.F. 1944. Control of bacterial wilt of tobacco as influenced by crop rotation and chemical treatment of the soil. U.S. Dept. Agr. Cir. 692 : 1-16. cited in Kelman, A. 1953. The bacterial wilt caused by *Pseudomonas solanacearum*. N. Carolina Agr. Expt. Sta. Tech. Bul. 99 : 5-194.
- Well, C.G. and E.F. Roldan. 1922. Solanaceous wilt in the Philippine Island. Philippine Agr. 10 : 393-398.
- Winstead, N.N. and Kelman, A. 1952. Inoculation techniques for evaluation resistance to *Pseudomonas solanacearum*. Phytopathology 42 : 628-634.