



การประเมินประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียในการควบคุมเชื้อรา *Nalanthamala psidii* สาเหตุโรคเหี่ยวของฝรั่ง

Evaluation of Fungicide and Actinomycete Efficiency in Controlling *Nalanthamala psidii*, Causal agent of Guava Wilt Disease

นิสากอร์ สุวรรณ^{1,2}, สุทธิชัย ถาวรวงศ์¹, สรัญญา ณ ลำปาง^{1,2*}

Nisakorn Suwan^{1,2}, Suthichai Thavornwong¹ and Sarunya Nalumpang^{1,2*}

¹ สาขาวิชาโรคพืช ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

² ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร (AG-BIO/PERDO-CHE) สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัยด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กรุงเทพฯ

* Correspondent author: sarunya@chiangmai.ac.th

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Nalanthamala psidii* สาเหตุโรคเหี่ยวของฝรั่ง เพื่อหาอัตราการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราที่เหมาะสมบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และบนผลฝรั่ง พบว่าเมื่อทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อสารป้องกันกำจัดเชื้อรา carbendazim และ benomyl ความเข้มข้น 8 ppm และ 10 ppm ตามลำดับ สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 100% ในขณะที่ Bordeaux mixture และ captan ความเข้มข้น 1500 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 42.74% และ 38.37% ตามลำดับ เมื่อทดสอบการควบคุมเชื้อราบนผลฝรั่ง พบว่าการพ่นผิวผลฝรั่งด้วย carbendazim และ benomyl สามารถยับยั้งการเกิดโรคได้ดีกว่า Bordeaux mixture และ captan อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$) สำหรับการทดสอบประสิทธิภาพความสามารถของ actinomycetes ที่แยกจากดินจำนวน 6 ไอโซเลตเลต ในการยับยั้งเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYM (glucose-yeast-malt) พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 100% เมื่อวางเชื้อ actinomycetes ก่อนเชื้อสาเหตุเป็นเวลา 7 วัน และเมื่อทดสอบโดยวาง actinomycetes ไอโซเลตเลต SEA120-28 และ OMA60-1 ก่อนวางเชื้อสาเหตุ 3 วัน และวางพร้อมกัน พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้เท่ากับ 90.41, 89.16, 65.85 และ 63.33% ตามลำดับ

Abstract

The efficiency of fungicides in controlling *Nalanthamala psidii*, a causal agent of guava wilt disease, was evaluated *in vitro* and *in vivo* bioassays on guava fruits conditions. Plate method assay experiment revealed that the amendment of the tested systemic fungicides on agar affected fungal mycelial growth, i.e. carbendazim and benomyl showed 100% inhibition at concentration of 8 ppm and 10 ppm, respectively, whereas Bordeaux mixture and captan at concentration of 1500 ppm showed 42.74% and 38.37% inhibition, respectively. *In vivo* bioassays on guava fruits indicated that sprayed benomyl and carbendazim on fruits caused significant decrement ($p \leq 0.01$) of diseases incidences than Bordeaux mixture and captan treatments. *In vitro* antifungal activities by bioassays of the six isolated soil actinomycetes were evaluated. The antagonistic potencial of the actinomycetes on GYM (glucose-yeast-malt) agar inhibited 100% fungal mycelial growth when incubated for seven-day prior to the pathogen inoculated. The selected actinomycetes strains, SEA120-28 and OMA60-1, were re-examined for their effective activities. The both actinomycetes were incubated on GYM agar for three days before or simultaneously inoculation of the pathogen. It showed that both strains inhibited mycelial growth of 90.41, 89.16, 65.85 and 63.33%, respectively.

คำสำคัญ: *Nalanthamala psidii*, แอคติโนมัยซีส, สารกำจัดเชื้อรา, โรคเหี่ยวของฝรั่ง

Keywords: *Nalanthamala psidii*, actinomycetes, fungicides, guava wilt disease

1. บทนำ

ฝรั่ง (*Psidium guajava* Linn.) เป็นพืชพื้นเมืองที่นิยมปลูกเพื่อการบริโภคทั้งผลสดและคั้นน้ำ แต่พบว่ามักเกิดความเสียหายจากโรคอย่างรุนแรงทำให้ผลผลิตลดลง โดยเฉพาะโรคเหี่ยวที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Nalanthamala psidii* (Sawada & Kurosawa) (Syn. *Myxosporium psidii* หรือ *Acremonium* sp.) (1-3) โดยเชื้อราชนิดนี้เป็นเชื้อสาเหตุโรคในดิน (soil borne pathogen) ที่เพาะปลูก (4) เชื้อราเมื่อเข้าทำลายจะทำให้ต้นฝรั่งเกิดความเสียหายอย่างรุนแรง และเชื้อจะอาศัยในกิ่งหรือลำต้นที่เป็นโรคภายในแปลงปลูก และเข้าทำลายฝรั่งต้นใหม่ในฤดูกาลเพาะปลูกถัดไปได้ (3) แต่ยังไม่มียารักษาการเข้าทำลายของเชื้อราชนิดนี้ที่ผลหรือดอก โดยพบว่าโรครุนแรงของฝรั่งในหลายประเทศที่มีการเพาะปลูก เช่น ได้หวัน อเมริกาใต้ และ มาเลเซีย (3) สำหรับประเทศไทยนั้นพบว่าเชื้อรา *N. psidii* จัดเป็นสาเหตุหลักของโรคเหี่ยวของฝรั่งซึ่งมีการเพาะปลูกใน จังหวัดนครปฐม จันทบุรี

และเชียงราย นอกจากนี้แล้วยังพบว่า 100% ของเชื้อราที่แยกจากเนื้อเยื่อส่วนลำต้นของพืชเป็นโรคนั้นมีสาเหตุมาจากเชื้อดังกล่าว (5) โดยลักษณะอาการของโรค เมื่อแรกเริ่มกิ่งด้านบนของต้นฝรั่งจะเริ่มเหี่ยวจากนั้นใบจะซีดเหลือง ร่วง ต้นมีลักษณะไหม้ดำ ต่อมาจะยืนต้นตาย (2-5) มักพบ sporodochia และ conidial mass ของเชื้อราที่กิ่ง หรือก้าน และในเนื้อเยื่อส่วน cortex (3)

ในการควบคุมโรคเหี่ยวของฝรั่งที่เกิดจากเชื้อรา *Nalanthamala psidii* ที่สามารถเข้าทำลายราก ลำต้น กิ่ง และผล ได้ การป้องกันกำจัดโรค สามารถทำได้โดยพ่นสารป้องกันกำจัดเชื้อรา เช่น benomyl (6), carbendazim, mancozeb (7) และ prochloraz (2) แต่ยังไม่มีการศึกษาถึงการใช้สารเคมีป้องกันกำจัดในอัตราที่เหมาะสม (8) ซึ่งการใช้สารเคมีชนิดเดิมติดต่อกันอย่างต่อเนื่องอาจส่งผลให้เชื้อราเกิดการกลายพันธุ์ (mutant) และต้านทานต่อสารเคมี (9) สำหรับการควบคุมโรคเหี่ยวของฝรั่งโดยชีววิธี (biological control) พบว่าการใช้ *Trichoderma harzianum* (10) และ *Penicillium* spp. สามารถยับยั้งการเจริญเติบโต

เชื้อรา *Botryodiplodia theobromae* และ *Pestalotiopsis psidii* สาเหตุโรคเหี่ยวของฝรั่งได้ (11) เช่นเดียวกับการใช้ยีสต์ *Pichia anomala* Moh 93, *P. anomala* Moh 104, *P. guilliermondii* Moh 10, *Lipomyces tetrasporus* Y-115 และ *Metschnikowia lunata* Y-1209 (12)

ทั้งนี้ในปัจจุบันการควบคุมโรคพืชโดยชีววิธีมีการศึกษาเพิ่มมากขึ้น เพื่อลดปัญหาที่เป็นอันตรายจากการใช้สารเคมี ซึ่งการใช้ actinomycetes ที่มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคพืชจึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการลดการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช เนื่องจากสามารถผลิตสารปฏิชีวนะ ตลอดจนเอนไซม์ย่อยสลาย และสารยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้หลายชนิด (13-16) ดังนั้นในการศึกษานี้จึงได้ทำการศึกษาดังประสิทธิภาพและความเข้มข้นของสารป้องกันกำจัดเชื้อราที่เหมาะสมในการควบคุมเชื้อราทั้งบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และบนผลฝรั่ง เนื่องจากยังไม่มีรายงานเข้าทำลายของเชื้อราชนิดนี้ที่ผล (17) ตลอดจนการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ actinomycetes ในการควบคุมการเจริญของเชื้อรา *N. psidii* สาเหตุโรคเหี่ยวของฝรั่งในห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาเป็น bio-fungicide ในอนาคต

2. วิธีวิจัย

1. การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Nalanthamala psidii* สาเหตุโรคเหี่ยวของฝรั่ง

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Nalanthamala psidii* สาเหตุโรคเหี่ยวของฝรั่งสายพันธุ์รุนแรง ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากสำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืชกรมวิชาการเกษตร ที่เจริญบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) โดยตรวจดูลักษณะสปอร์ ก้านชูสปอร์ และการเจริญของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบ

2. การพิสูจน์ความสามารถในการก่อโรค

2.1 การพิสูจน์โรคบนผลฝรั่ง

ใช้ cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร ตัดปลายเส้นใยของเชื้อรา *N. psidii* ที่เจริญ

บนอาหาร PDA และนำ culture disc ของเชื้อสาเหตุมาปลูกเชื้อบนผิวผลฝรั่งพันธุ์กลมสาละที่ไข่เข็มเขียวทำผลบนผลจำนวน 3 ผล แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้อง ทำการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 3 ผล โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomize design: CRD) สังเกตและบันทึกผลจากการเกิดโรคบนผลฝรั่ง แล้วแยกเชื้อที่เจริญบนผลฝรั่งมาตรวจดูลักษณะการเจริญของเชื้อรา ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิดเลนส์ประกอบ

2.2 การพิสูจน์โรคบนต้นฝรั่ง

ปลูกเชื้อราสาเหตุ *N. psidii* บนกิ่งตอนฝรั่งพันธุ์กลมสาละอายุ 3 เดือน บริเวณโคนต้นสูงจากพื้น 5 เซนติเมตร โดยการใช้มีดผ่าตัดทำแผลเป็นทางยาว 2 เซนติเมตร ที่ลำต้น จำนวนต้นละ 3 แผล โดยกรรมวิธีต่างๆ ได้แก่ ไม่ทำแผลที่โคนต้น (ชุดควบคุม; T1), ไม่ทำแผลที่โคนต้น วางวุ้น PDA (ชุดควบคุม; T2), ทำแผลที่โคนต้น และวางวุ้น PDA (ชุดควบคุม; T3), ไม่ทำแผลที่โคนต้น และวางชิ้นเชื้อราสาเหตุ (T4) และทำแผลที่โคนต้น และวางชิ้นเชื้อราสาเหตุ (T5) คลุมต้นด้วยถุงพลาสติก บ่มที่อุณหภูมิห้อง ทำการทดลอง 4 ซ้ำ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomize design: CRD) และสังเกต บันทึกผลจากการเหี่ยวที่ปรากฏของต้นฝรั่ง คัดแปลงจาก Pandey และคณะ (18) ดังนี้คือ ระดับ 0=ไม่แสดงอาการ, 1=ต้นฝรั่งแสดงอาการเหี่ยว $\leq 20\%$, 2= ต้นฝรั่งแสดงอาการเหี่ยว 21 - 40%, 3= ต้นฝรั่งแสดงอาการเหี่ยว 41 - 60%, 4=ต้นฝรั่งแสดงอาการเหี่ยว 61 - 80% และ 5= ต้นฝรั่งแสดงอาการเหี่ยว 81 - 100%

3. การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราในการควบคุมเชื้อรา *Nalanthamala psidii*

3.1 ประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราในการยับยั้งการเจริญเส้นใยบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

เลี้ยงเชื้อรา *N. psidii* บนอาหาร PDA ที่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อรากลุ่ม systemic fungicide ได้แก่ benomyl 50%WP, carbendazim 50%WP และ carboxin 75%WP และสารป้องกันกำจัดเชื้อรากลุ่ม contact fungicide ได้แก่ Bordeaux mixture 75%WP, captan 50%WP และ mancozeb 80%WP เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสม

ที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุในระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ 100, 500, 1000 และ 1500 µg/ml ตามลำดับ ทำการทดลองละ 4 ซ้ำ บันทึกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งเป็นอาหาร PDA ที่ไม่ได้ผสมสารกำจัดเชื้อราและนำสารป้องกันกำจัดเชื้อราที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการควบคุมการเจริญเส้นใยเชื้อราในการทดลองข้างต้นมาศึกษาต่อโดยลดระดับความเข้มข้นของสารป้องกันกำจัดเชื้อราลงได้แก่ 20, 40, 60 และ 80 µg/ml จากนั้นลดระดับความเข้มข้นลงอีก ได้แก่ 2, 4, 6 และ 10 µg/ml ตามลำดับทำการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 3 ผล โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomize design: CRD) บันทึกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของเชื้อราเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

3.2 ประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราในการควบคุมโรคบนผลฝรั่ง

นำผลฝรั่งพันธุ์กลมสาธิตมาพ่นด้วยสารป้องกันกำจัดเชื้อรา 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นต่างกันสองระดับ คือ ความเข้มข้นที่ให้ผลดีที่สุดจากการทดลองข้างต้นและความเข้มข้นตามอัตราแนะนำ เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการควบคุมโรคบนผลฝรั่ง ได้แก่ benomyl ความเข้มข้น 10 และ 750 µg/ml (อัตราแนะนำ), carbendazim ความเข้มข้น 8 และ 500 µg/ml (อัตราแนะนำ), Bordeaux mixture ความเข้มข้น 1500 และ 1065 (อัตราแนะนำ) µg/ml และ captan ความเข้มข้น 1500 และ 1250 (อัตราแนะนำ) µg/ml ส่วนชุดควบคุมพ่นด้วยน้ำกลั่น ทิ้งไว้ให้แห้ง ก่อนนำชิ้นไม้ที่มีเชื้อรา *N. psidii* เจริญอยู่ (culture disc) วางบนผิวผลฝรั่งที่แบ่งเป็นส่วนต่างๆ ได้แก่ วางชิ้นเชื้อราสาเหตุโดยไม่ทำแผล, ทำแผลที่ผลและวางชิ้นเชื้อราสาเหตุ, และวางวุ้น PDA (ชุดควบคุม) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 7 วัน สังเกต และบันทึกผลโดยประเมินระดับการเกิดโรคบนผลฝรั่ง โดยดัดแปลงจาก Pandey และคณะ (18) ดังนี้ คือ ระดับ 0=ไม่ปรากฏแผล, 1=≤ 20%, 2=21 - 40%, 3=41 - 60%, 4= 61 - 80% และ 5= 81 - 100%

4. การทดสอบประสิทธิภาพของ actinomycetes ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *Nalanthamala psidii* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

นำ actinomycetes ที่แยกได้จากดินบริเวณอุทยานแห่งชาติคอกยสุเทพ-ปุย จำนวน 6 ไอโซเลต ได้แก่ OMA60-1, OMA60-7, SEA60-34, SEA120-4, SEA120-28 และ SEA120-38 ซึ่งเป็นเชื้อที่มีประสิทธิภาพสูงในการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคพืชหลายชนิดที่ได้ทำการศึกษามาเบื้องต้นแล้ว เช่น *Fusarium oxysporum* (19), *Cercospora* spp. (20) เป็นต้น ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จาก อ.ดร. สรัญยาณ ลำปาง มาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *N. psidii* สาเหตุโรคเหี่ยวของฝรั่งบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยวิธี dual culture บนอาหาร glucose-yeast-malt agar (GYM) (21) บันทึกรัศมีโคโลนีของเชื้อรา คำนวณเปอร์เซ็นต์ยับยั้งการเจริญ (percent inhibition of radial growth; PIRG = $(R_1 - R_2) / R_1 \times 100$; เมื่อ R_1 = รัศมีของเชื้อราสาเหตุในชุดควบคุม และ R_2 = รัศมีของเชื้อราสาเหตุในชุดทดสอบ) ของเชื้อราสาเหตุเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ตามเกณฑ์ของ Soyong (22) ดังนี้; > 75% = มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูงมาก, 51-75% = มีประสิทธิภาพในการยับยั้งสูง, 26-50% = มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปานกลาง และ < 25% = มีประสิทธิภาพในการยับยั้งปานกลาง ทดสอบไอโซเลตละ 3 ซ้ำ

3. ผลการวิจัยและและอภิปราย

1. ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา *Nalanthamala psidii*

การเพาะเลี้ยงเชื้อรา *N. psidii* บนอาหาร PDA เชื้อราเจริญเต็มจานอาหารเลี้ยงเชื้อในเวลา 7 วัน โคโลนีเชื้อรามีลักษณะของเส้นใยบาง และฟู มีสีขาวนวล (Fig. 1A) ต่อมาพบกลุ่มสปอร์สีขาว รูปไข่ ใสไม่มีสี ต่อเป็นสายโซ่ยาวหรือสั้น สปอร์เกิดบนก้านชูสปอร์แบบกึ่งก้าน (penicillium-like conidiophores) (17) และมีผนังกั้นภายในเส้นใย (Fig. 1B) (1-3)

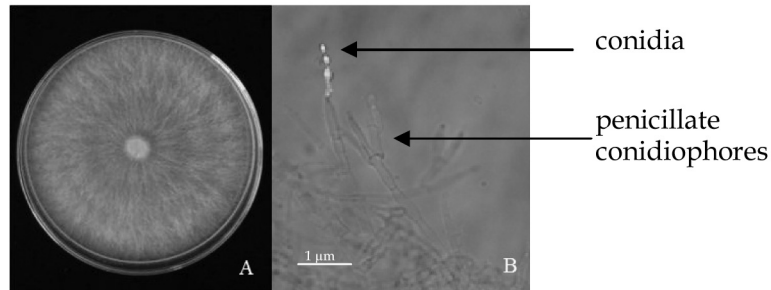


Figure 1. Pure culture of *Nalanthamala psidii* grown on potato dextrose agar; colony growth on PDA for 7 days (A) and penicillate conidiophores forming chains of ovoidal conidia (B)

2. การพิสูจน์ความสามารถในการก่อโรค

2.1 การพิสูจน์โรคบนผลฝรั่ง

เมื่อปลูกเชื้อรา *N. psidii* บนผลฝรั่ง พบเชื้อราสามารถเจริญได้ดีบนผลฝรั่ง และในช่วงแรกมีจุดสีน้ำตาลปรากฏบนผลภายหลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นแผลขยายออกเป็นขนาดใหญ่ ต่อมาแผลจะเปลี่ยนเป็นสีดำ มีขอบแผลสีน้ำตาล (ภาพ 2) และยังพบ

ว่ามีการสร้างเส้นใย มีกลุ่มสปอร์สีขาวเกิดขึ้นภายหลังการปลูกเชื้อเป็นเวลา 7 วัน และเมื่อตรวจดูลักษณะของเชื้อภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า มีลักษณะเหมือนกับเชื้อ *N. psidii* ที่เจริญบนอาหาร PDA คือ พบกลุ่มสปอร์สีขาว รูปไข่ ใสไม่มีสี ต่อเป็นสายโซ่ยาวหรือสั้น สปอร์เกิดบนก้านชูสปอร์แบบกิ่งก้าน (3)

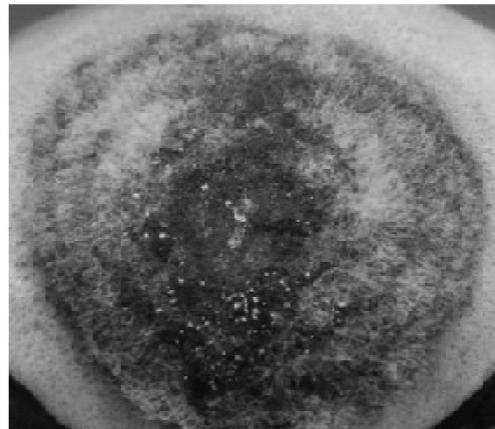


Figure 2. Pathogenicity testing of *Nalanthamala psidii* on guava fruit showing white mycelia

2.2 การพิสูจน์โรคบนต้นฝรั่ง

เมื่อปลูกเชื้อ *N. psidii* บนต้นฝรั่ง พบว่าการทำแผลที่โคนต้น และวางชิ้นเชื้อราสาเหตุ (T5) ต้นฝรั่งเริ่มแสดงอาการในสัปดาห์ที่ 5 ภายหลังการปลูกเชื้อ โดยจะเหี่ยวทันทีจากส่วนยอดในช่วงแรก ต่อมาจะแพร่กระจายไปทั่วทั้งต้น ใบเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ต้นทรุดโทรม ใบแห้งเหี่ยวซีดแต่ไม่ร่วง จากนั้นแสดงอาการไหม้เกรียมเหมือน

ไฟไหม้ (Fig.3) ซึ่งอาการดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานของ Athipunyakom and Luangsa-ard (2) ซึ่งเมื่อเชื้อเข้าสู่ต้นพืชแล้วจะทำให้ต้นฝรั่งแสดงอาการโทรมอย่างรวดเร็ว จากนั้นแล้วใบจะร่วงจนหมดต้น และในกรณีที่เชื้อเข้าทำลายพืชในระยะการพัฒนาของผลนั้นทำให้ผลฝรั่งแสดงอาการ mummified อีก

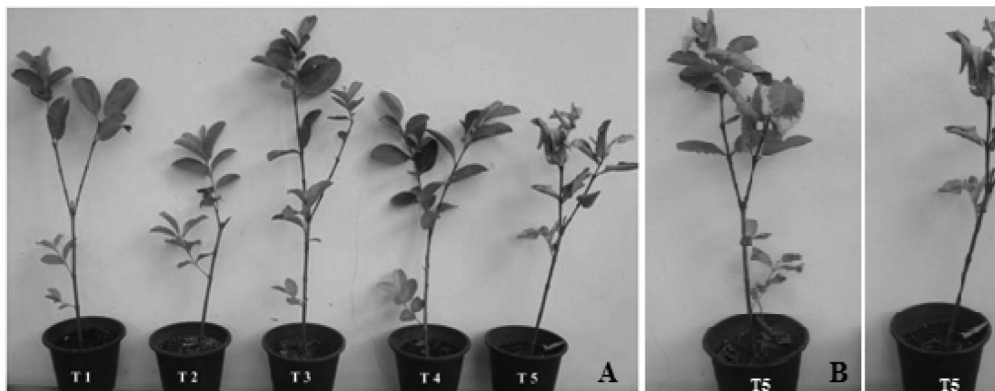


Figure 3. Pathogenicity testing on shoots grafting of guava (A). *Nalanthamala psidii* were inoculated for five weeks (B) and seven weeks (C); T1= unwound, T2= unwound + PDA, T3= wound + PDA, T4= unwound + *N. psidii* and T5= wound + *N. psidii*

3. การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราในการควบคุมเชื้อรา *Nalanthamala psidii*

3.1 ประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราในการยับยั้งการเจริญเส้นใยบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

การทดสอบขั้นต้นพบว่าสารป้องกันกำจัดเชื้อราในกลุ่ม systemic fungicides ได้แก่ carbendazim, benomyl และ carboxin สามารถควบคุมการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 100% ทุกระดับความเข้มข้น ซึ่งสอดคล้องกับ

งานวิจัยของ Visarathanon และคณะ (7) และ Stassen และคณะ (6) ในขณะที่สารป้องกันกำจัดเชื้อรากลุ่ม contact fungicides ได้แก่ captan, mancozeb และ Bordeaux mixture นั้นสามารถควบคุมการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ต่ำกว่าสารป้องกันกำจัดเชื้อรากลุ่ม systemic fungicide ทุกชนิด และทุกระดับความเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$) (Table 1)

Table 1. Inhibitory effects of various fungicides amended in agar on mycelial growth of *Nalanthamala psidii* after seven days of cultivation.

Concentration of the active ingredient ($\mu\text{g/ml}$)	Mycelial growth inhibition (%) ^{1/}					
	Carbendazim	Benomyl	Carboxin	Captan	Mancozeb	Bordeaux mixture
100	100.00 a ^{2/}	100.00 a	100.00 a	53.87 f	41.32 h	32.20 i
500	100.00 a	100.00 a	100.00 a	59.84 e	46.90 g	53.17 f
1000	100.00 a	100.00 a	100.00 a	62.05 e	53.84 f	91.90 c
1500	100.00 a	100.00 a	100.00 a	80.73 d	55.72 f	95.88 b

^{1/} Average from 4 replications

^{2/} Means within the same column followed by different character () show significant difference between treatments by DMRT ($p \leq 0.01$)

เมื่อลดความเข้มข้นของสารป้องกันกำจัดเชื้อราในกลุ่ม systemic fungicides ลงอยู่ที่ระดับความเข้มข้น 20-100 ppm พบว่าสารป้องกันกำจัดเชื้อราในกลุ่ม systemic fungicide ทุกชนิดที่ทำการศึกษา สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *N. psidii* ได้ 100% ซึ่งเป็นระดับความเข้มข้นต่ำกว่าอัตราแนะนำในแปลงปลูก และเมื่อลดความเข้มข้นลงไปอยู่ในระดับ 2-10 ppm พบว่าสารป้องกันกำจัดเชื้อราในกลุ่ม systemic fungicide ได้แก่ carbendazim และ benomyl ยังคงสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 100% ที่ความเข้มข้น 8 ppm และ 10 ppm ตามลำดับ ซึ่งสามารถนำไปใช้ในการฉีดพ่นบน

ผลผลิตเพื่อเป็นการลดระดับความเข้มข้นของสารเคมีที่จะตกค้างบนผลผลิตได้ส่วนหนึ่ง และจากการทดลองพบว่า carboxin ความเข้มข้น 10 ppm สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้สูงสุดเท่ากับ 36.90% (Table 2) ซึ่งสอดคล้องกับ Athipunyakom และ Likhitekaraj (23) รายงานว่า benomyl และ carbendazim ความเข้มข้น 5 ppm ขึ้นไป สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา *N. psidii* สาเหตุโรคเหี่ยวของฝรั่ง ได้ 100% ในขณะที่การใช้ metalaxyl ความเข้มข้น 10 ppm สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้เพียง 31.5%

Table 2. Inhibitory effects of various fungicides amended in agar on mycelial growth of *Nalanthamala psidii* after four days of cultivation.

Concentration of the active ingredient (µg/ml)	Mycelial growth inhibition (%) ^{1/}		
	Carbendazim	Benomyl	Carboxin
2	0.00 f ^{2/}	0.00f	0.00f
4	0.00 f	0.00f	0.00f
6	29.95 d	27.93 e	0.00f
8	100.00 a	79.55 b	0.58 f
10	100.00 a	100.00 a	36.90 c

^{1/} Average from 4 replications

^{2/} Means within the same column followed by different character (s) show significant difference between treatments by DMRT ($p \leq 0.01$)

ในขณะที่การใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราในกลุ่ม contact fungicide ได้แก่ Bordeaux mixture, captan และ mancozeb ความเข้มข้น 1500 ppm จึงสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้สูงสุดเท่ากับ 42.74%, 38.37% และ 24.40% ตามลำดับ (Table 3) ซึ่งต่ำกว่าการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราในกลุ่ม systemic

fungicides นอกจากนี้ยังพบว่าเป็นความเข้มข้นที่สูงกว่าอัตราแนะนำที่ใช้ในแปลงปลูก ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าวจึงได้นำเอาสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อราดังกล่าวมาทดสอบโดยใช้ความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยได้สูงที่สุดกับผลฝรั่ง

Table 3. Inhibitory effects of various fungicides amended in agar on mycelial growth of *Nalanthamala psidii* after four days of cultivation.

Concentration of the active ingredient (µg/ml)	Mycelial growth inhibition (%) ^{1/}		
	Captan	Mancozeb	Bordeaux mixture
100	21.76 de ^{2/}	11.46 f	1.91h
500	25.73 c	14.40 f	7.20 g
1000	36.31 b	18.67 e	20.87de
1500	38.37 b	24.40 cd	42.74 a

^{1/} Average from 4 replications^{2/} Means within the same column followed by different character (s) show significant difference between treatments by DMRT ($p \leq 0.01$)

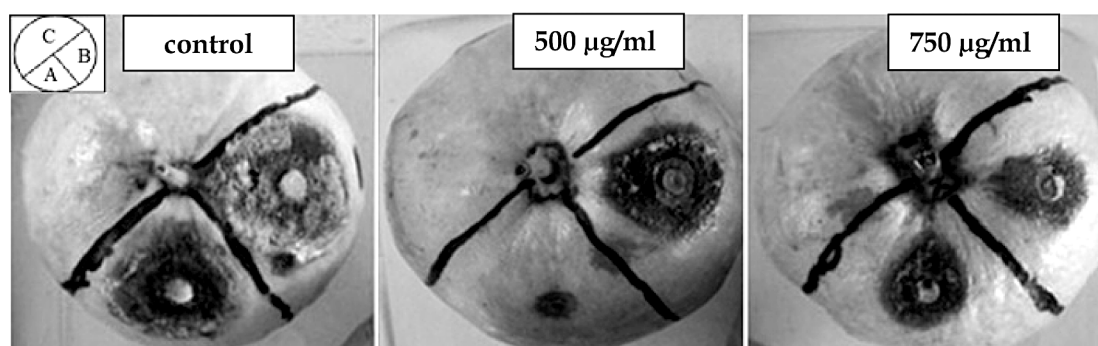
3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันและกำจัดเชื้อราในการควบคุมโรคบนผล

จากการศึกษาการเกิดโรคบนผลฝรั่งในกรณีที่ไม่มีการทำแผลก่อนการวางเชื้อ *N. psidii* พบว่า การพ่นผิวผลฝรั่งด้วย benomyl ความเข้มข้น 750 µg/ml มี disease incidence ต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ 500 ($p \leq 0.01$) รองลงมาคือการใช้ carbendazim ความเข้มข้น 500 µg/ml และ captan และ 1250 ppm ตามลำดับ (Table 4 and Fig 4) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการพ่นสารเคมี ในขณะที่การพ่นผลฝรั่งด้วยสารป้องกันกำจัดเชื้อราทั้ง 4 ชนิดที่ระดับความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อได้สูงสุดนั้น กลับพบว่าไม่สามารถลดการเกิดโรคบนผลได้เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม และการพ่นด้วย carbendazim ความเข้มข้น 8 ppm มีการเกิดโรคสูงกว่าทุกชุดการทดลอง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการออกฤทธิ์ของสารเคมีบนผลผลิตที่แตกต่างจากสภาพในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งสามารถควบคุมปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อได้ (2) จากการศึกษาเมื่อทำแผลที่ผลฝรั่งก่อนวางเชื้อสาเหตุ พบว่าการพ่นผิวผลฝรั่งด้วย benomyl ความเข้มข้น 750 µg/ml และ carbendazim ความเข้มข้น 500 µg/ml มี disease incidence ต่ำที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.01$) (Table 4) เมื่อเปรียบ

เทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการพ่นสารเคมี และการพ่นผิวผลฝรั่งด้วย Bordeaux mixture และ captan ความเข้มข้น 1500 µg/ml ไม่สามารถลดระดับการเกิดโรคได้แตกต่างจากความเข้มข้นในอัตราแนะนำ คือ 1065 และ 1250 µg/ml ตามลำดับ (Table 4) สอดคล้องกับการทดลองในงานอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งการพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชนั้นสามารถลดการงอกของสปอร์เชื้อรา หรือทำลายสปอร์ขณะงอกได้โดยเฉพาะสารป้องกันกำจัดเชื้อราในกลุ่ม systemic fungicide ที่จำเพาะต่อเชื้อสูง (24) และจากการทดลองยังพบว่า การวางเชื้อสาเหตุบนผิวผลฝรั่งที่ไม่ได้ทำบาดแผลก่อน สามารถก่อโรคแก่ผลฝรั่งได้ไม่แตกต่างจากการทำแผลก่อนวางเชื้อสาเหตุ และจากการศึกษาของ Stassen และคณะ (6) พบว่า benomyl สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *N. psidii* ในระดับห้องปฏิบัติการและในสภาพแปลงปลูกได้ และ โดยในการทดลองครั้งนี้ต้องการที่จะลดการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคเหี่ยวของฝรั่งซึ่งโดยปกติจะเข้าทำลายที่กิ่งและลำต้นของฝรั่ง แต่จากผลการทดลองในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อรา *N. psidii* สามารถเข้าทำลายผลฝรั่งได้เช่นกัน ซึ่งเพื่อเป็นการลดการสะสมของเชื้อราสาเหตุโรคบนผลฝรั่ง การฉีดพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรานี้ในอัตราที่เหมาะสมก็สามารถลดการเกิดโรคในผลผลิตได้อีกทางหนึ่งด้วย

Table 4. Disease incidences assessment of various fungicides applied to guava fruits seven days after pathogen inoculation.

Treatment	Concentration of the active ingredient ($\mu\text{g/ml}$)	Disease incidences assessment level ^{1/}		
		Unwound + pathogen (A)	Wound + pathogen (B)	Unwound + PDA (C)
Control		4.30 ab ^{2/}	4.30 ab	0.00 f
Benomyl	10	3.30 bcd	4.30 ab	0.00 f
	750 ^{3/}	1.00 ef	2.30 cde	0.00 f
Carbendazim	8	5.00 a	3.70 abc	0.00 f
	500 ^{3/}	1.70 e	2.30 cde	0.00 f
Bordeaux mixture	1500	3.30 bcd	4.30 ab	0.00 f
	1065 ^{3/}	4.30 ab	4.30 ab	0.00 f
Captan	1500	3.70 abc	3.70 abc	0.00 f
	1250 ^{3/}	2.00 de	4.30 ab	0.00 f

^{1/} Average from 4 replications^{2/} Means within the same column followed by different character (s) show significant difference between treatments by DMRT ($p \leq 0.01$)^{3/} Field recommended rate**Figure 4.** Effect of carbendazim 500 $\mu\text{g/ml}$ (center) and benomyl 750 $\mu\text{g/ml}$ (right) on disease incidences of guava fruits, seven days after inoculation with *Nalanthamala psidii*; Unwound + *N. psidii* (A), Wound + *N. psidii* (B), Unwound + PDA (C)

4. การทดสอบประสิทธิภาพของ actinomycetes ในการยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา *Nalanthamala psidii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ

จากการทดสอบประสิทธิภาพของ actinomycetes ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *N. psidii*

สาเหตุโรคเหี่ยวของฝรั่งจำนวน 6 ไอโซเลตจากการทดลองในเบื้องต้นโดย streak actinomycetes ได้แก่ ไอโซเลต OMA60-1, OMA60-7, SEA60-34, SEA120-4, SEA120-28 และ SEA120-38 ก่อนวางเชื้อราสาเหตุ 7 วัน พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 100% (Fig 5)

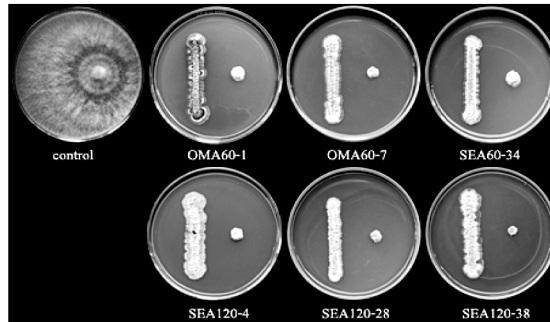


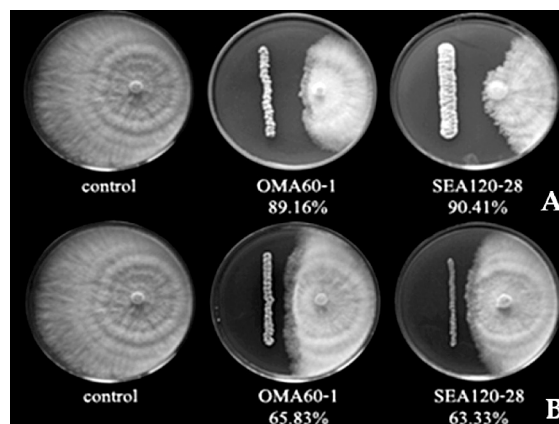
Figure 5. Antagonistic activities of six isolates actinomycetes against *Nalanthamala psidii*. The antagonists were incubated on GYM agar for seven days before inoculation of the pathogen

จากนั้นเลือก actinomycetes จำนวน 2 ไอโซเลต ได้แก่ OMA60-1 และ SEA120-28 มาทดสอบเพื่อยืนยันประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อรา โดย streak actinomycetes ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนวางเชื้อสาเหตุเป็นเวลา 3 วัน พบว่า actinomycetes ทั้ง 2 ไอโซเลต สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 89.16% และ 90.14% ตามลำดับ และเมื่อ streak เชื้อ actinomycetes ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อพร้อมกับวางเชื้อสาเหตุ พบว่า actinomycetes ทั้ง 2 ไอโซเลต สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 65.83% และ 63.33% ตามลำดับ (Table 5 and Fig 6) ซึ่งการ streak actinomycetes พร้อมกับวางเชื้อสาเหตุสามารถยับยั้งเส้นใยเชื้อราได้น้อยกว่าเมื่อ streak actinomycetes ก่อน ซึ่งจากผลการทดสอบนี้เป็นไปได้

ว่าเนื่องมาจากช่วงแรกในการเจริญ actinomycetes ยังไม่มีการผลิตสารทุติยภูมิออกมา แต่เมื่อเวลาผ่านไประยะหนึ่ง actinomycetes จะเริ่มผลิตสารทุติยภูมินั้นขึ้นมาได้ (25) นอกจากนี้แล้วการผลิตสารทุติยภูมียังต้องอาศัยผลผลิตจากการสร้างสารปฐมภูมิอีกด้วย (26) แต่ทั้งนี้ การใช้ actinomycetes กับผลฝรั่งโดยตรงนั้นอาจเกิดอันตรายแก่ผู้บริโภคได้จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาถึงการนำไปใช้ประโยชน์ในรูปของสารทุติยภูมิ เช่น น้ำกรองเลี้ยง actinomycetes เป็นต้น เพื่อลดการสัมผัสระหว่างเชื้อกับผู้บริโภค และจากผลการทดลองดังกล่าวนี้ยังสามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาถึงผลของ actinomycetes ในการควบคุมโรคทางดินกับต้นฝรั่งในอนาคตได้

Table 5. Antagonistic activities of the actinomycetes toward mycelial growth of *Nalanthamala psidii* after seven days incubation

Treatments	Isolate	Mycelial growth inhibition (%) ^{1/}
Three days incubated before pathogen inoculated	OMA60-1	89.16 a ^{2/}
	SEA120-28	90.41 a
On the same day incubation of the pathogen inoculated	OMA60-1	65.83 b
	SEA120-28	63.33 b

^{1/} Average from 3 replications^{2/} Means within the same column followed by different character (s) show significant difference between treatments by DMRT ($p \leq 0.01$)**Figure 6.** The Inhibition of *Nalanthamala psidii* mycelial growth after actinomycetes were incubated on GYM agar for three days before inoculation of the pathogen (A) and on the same day (B) of the pathogen inoculation

4. สรุป

เชื้อรา *Nalanthamala psidii* ก่อโรคเหี่ยวแก่ต้นฝรั่งเมื่อปลูกเชื้อลงบนกิ่งตอนเป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบอาการเหี่ยวโดยเริ่มจากส่วนยอดก่อนลามไปทั่วทั้งต้น จากนั้นใบเหลือง ตู่ลง เหี่ยวเหี่ยว และแสดงอาการไหม้เกรียมเหมือนไฟไหม้ ภายใน 7 สัปดาห์ นอกจากนี้ยังสามารถก่อให้เกิดความเสียหายแก่ผลฝรั่งได้ภายใน 2 วัน หลังการปลูกเชื้อ โดยผลฝรั่งปรากฏจุดแผลสีน้ำตาล และขยายออกไปเรื่อยๆ ต่อมาแผลมีสีดำ ขอบสีน้ำตาล และ

พบเส้นใย รวมถึงกลุ่มสปอร์สีขาวที่เชื้อสร้างขึ้น ทั้งนี้เมื่อทดสอบความสามารถในการก่อโรคพบว่าเชื้อรา *N. psidii* สามารถก่อให้เกิดโรคเหี่ยวแก่ต้น และยังสามารถก่อให้เกิดอาการเน่าบนผลฝรั่งได้อีกด้วย

จากการประเมินประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อรา *N. psidii* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมสารป้องกันกำจัดเชื้อราพบว่าสาร carbendazim และ benomyl สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเส้นใยของเชื้อราได้ 100% ที่ระดับความเข้มข้นสูงกว่า 8 และ 10 $\mu\text{g/ml}$ ตาม

ลำดับ และ carboxin ความเข้มข้น 10 ppm สามารถยับยั้ง (2) การเจริญเติบโตของเชื้อราได้ 36.90% สำหรับ Bordeaux mixture, captan และ mancozeb ความเข้มข้น 1500 µg/ml สามารถยับยั้งเส้นใยของเชื้อราได้เพียง 42.7%, 38.3% และ 24.4% ตามลำดับ และจากการพ่นผิวผลฝรั่งด้วยสารป้องกันกำจัดเชื้อราดูดซึมได้แก่ carbendazim และ (3) benomyl สามารถลดระดับการเกิดโรคที่ผิวผลฝรั่งได้ดีกว่าการพ่นด้วย Bordeaux mixture และ captan ในทุกชุดการทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพของ actinomycetes ไอโซเลต OMA60-1 และ SEA120-28 ในการยับยั้ง (4) การเจริญของเชื้อรา *N. psidii* บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าการวาง actinomycetes ก่อนวางเชื้อสาเหตุ 3 วัน สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *N. psidii* ได้ดีกว่าการวาง (5) พร้อมกับเชื้อสาเหตุอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่การวาง actinomycetes ก่อนวางเชื้อสาเหตุเป็นเวลา 7 วัน สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราได้ 100% ในทุกไอโซเลต จากการทดลองนี้สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางเพื่อ (6) การพัฒนาศักยภาพของการใช้ actinomycetes เป็นสารฆ่าเชื้อราชนิดชีวภาพในอนาคตต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนส่วนหนึ่งจาก (7) ศูนย์ความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร (AG-BIO/PERDO-CHE) สำนักพัฒนาบัณฑิตศึกษาและวิจัย (8) ด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานคณะกรรมการ (9) อุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ กรุงเทพฯ 10900

6. เอกสารอ้างอิง

- (1) Athipunyakom P, Likhitekaraj S. Fruit rot diseases of guava fruit. In: Proceedings of the 21st congress on science and technology of Thailand; 1995 Oct 25-27; Chonburi, Thailand. 1995. P 600-1. Thai.
- (2) Athipunyakom P, Luangsa-ard JJ. *Nalanthamala psidii* causing of wilt disease of guava in Thailand. In: Proceedings of the 46th Kasetsart university academic conferences; 2008 Jan 29- Feb 1; Bangkok, Thailand. 2008. P 504-14. Thai.
- (3) Schroers HJ, Geldenhuis MM, Wingfield MJ, Schoeman MH, Yen YF, Shen WC and et al. Classification of the guava wilt fungus *Myxosporium psidii*, the palm pathogen *Gliocladium vermoesenii* and the persimmon wilt fungus *Acremonium diospyri* in *Nalanthamala*. Mycologia. 2005;97(2): 375-95.
- (4) Summerbell RC., Gueidan C, Schroers HJ, de Hoog GS, Starink M, Rosete Y.A and et al. *Acremonium* phylogenetic overview and revision of *Gliomastix*, *Sarocladium*, and *Trichothecium*. Mycology. 2011;68: 139-62.
- (5) Athipunyakom P, Manoch L. Wilt disease of guava. In: Proceedings of the 36th Kasetsart university academic conferences; 1998 Feb 3-5; Bangkok, Thailand. 1997. P 41. Thai.
- (6) Stassen PJ, Vos CJE, Schoemen MH, Preez RJD, Welgemoed CP, Fouries CJ and et al. Research strategies and preliminary cultivation guidelines against guava wilt disease. ITSC Info. Bull. 1994;258: 27-32.
- (7) Visarathanon N, Chevasupakorn K, Rakvidhasastra V. Stem wilt disease of guava and efficiency test of some chemical control that affecting to pathogen. . In: Proceedings of the 3rd National plant protection conferences; 1997 Nov 18-20; Bangkok, Thailand. 1997. P 504-12. Thai.
- (8) Pavakul K, Athipunyakom P. Wilt disease of guava. Phytopathology J. 2004; 18 (1-2): 65-75. Thai.
- (9) Sommataya T. Chemical control of plant diseases. Bangkok: Roua-Khew press; 2000. 371 p. Thai.
- (10) Pandey RR, Arora DK, Dubey RC. Antagonis-

- tic interactions between fungal pathogens and phylloplane fungi of guava. *Mycopathologia*. 1993; 124(1): 31-9.
- (11) Bokhari AA. Studies on guava decline and disease management. [PhD. Thesis]. Faisalabad: University of Agriculture; 2009.
 - (12) Mohamed H, Saada A. The biocontrol of postharvest disease (*Botryodiplodia theobromae*) of guava (*Psidium guajava* L.) by the application of yeast strains. *Postharvest Biol Tech*. 2009;53: 123-30.
 - (13) Goodfellow M, Williams ST. Ecology of actinomycetes. *Ann Rev of Microbiology*. 1983;37: 189-216.
 - (14) Rothrock CS, Gottlieb D. Importance of antibiotic production in antagonism of selected *Streptomyces* species to two soil-borne plant pathogens. *J Antibiot*. 1981;34(7): 830 -35.
 - (15) Xiao K, Kinkell LL, Sammac DA. Biological control of *Phytophthora* root rots on alfalfa and soybean with *Streptomyces*. *Biol Control*. 2002;23(3): 285–95.
 - (16) El-Tarabily KA, Sivasithamparam K. Non-streptomycete actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Soil Biol Biochem*. 2006;38: 1505–20.
 - (17) Schoeman MH, Benade E, Wingfield MJ. The symptoms and cause of guava wilt in South Africa. *J Phytopathol*. 1997;145: 37-41.
 - (18) Pandey RR, Arora DK, Dubey RC. Effect of environmental conditions and inoculum density on infection of guava fruits by *Colletotrichum gloeosporioides*. *Mycopathologia*. 1997;137: 165-72.
 - (19) Suwan N, Nuandee N, Boonying W, Visopha O, To-anun C, Nalumpang S. The Potential of Isolated Soil Actinomycetes on Controlling of Phytopathogenic Fungi. In: The Annual Meeting of Thai Phytopathological Society (TPS) Conference on Plant Pathology in Thailand; 2010 May 15; Convention Center, Kasetsart University, Bangkok, Thailand. 2010. P 6. Thai.
 - (20) Nuandee N. Genetic characterization and control of carbendazim-resistant *Cercospora* spp. using actinomycetes. [Ms Thesis]. Chiang Mai: Chiang Mai University ; 2010. Thai.
 - (21) Hua LX, Ren LQ, Lin JG. Diversity of soil actinomycetes in Yunnan, China. *Appl. Environ. Microbiol*. 1996.;62(1): 244–48.
 - (22) Soyong K. Biological control of plant diseases. Bangkok: KMITL; 1989. 326 p. Thai.
 - (23) Athipunyakom P, Likhitekaraj S. Wilt disease of guava: symptom, causal agent, physiology and disease management. In: the 1998 research reports. Dept. of Agriculture. Bangkok; Thailand. 1998. P 1-14. Thai.
 - (24) Agrios GN. Organic compounds: Systemic fungicides. In: *Plant pathology* 5th ed. London: Elsevier Academic Press; 2005. p. 210-11.
 - (25) Jensen P, Philip R, Williams G, Oh D, Ziegler L, Fenical W. Species-specific secondary metabolite production in marine actinomycetes of the genus *Salinispora*. *Appl. Environ. Microbiol*. 2007;73(4): 1146–52.
 - (26) Drew SW, Demain AL. Effect of primary metabolites on secondary metabolism. *Ann Rev Microbiol*. 1977;31: 343-56.