

ฤทธิ์ต้านเชื้อราของแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces hygroscopicus* NR8-2 ต่อเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดของผักสลัด

Antifungal activity of *Streptomyces hygroscopicus* NR8-2 against fungal pathogen causing leaf spot disease of lettuce

บุรฮานะฮ์ ไบยี่¹, ชนินันท์ พรสุริยา¹ และ อนูรักษ์ สันป่าเป้า¹

Burhanah Baiyee¹, Chaninun Pornsuriya¹ and Anurak Sunpapao¹

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อราของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อรา *Curvularia aeria* สาเหตุโรคใบจุดของผักสลัด โดยการนำเชื้อปฏิปักษ์ *Streptomyces hygroscopicus* NR8-2 นำมาทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อก่อโรคโดยวิธี dual culture จากนั้นทดสอบประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อ (cell-free CF) ที่มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเชื้อก่อโรคด้วยวิธี agar diffusion และนำน้ำเลี้ยงเชื้อมาวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ β -1,3-glucanase และ chitinase จากการทดลองด้วยวิธี dual culture พบว่าเชื้อ *S. hygroscopicus* NR8-2 ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรคได้ 65.03% และเมื่อทดสอบการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อก่อโรคด้วยน้ำเลี้ยงเชื้อ โดยวิธี agar diffusion พบว่า สามารถยับยั้งเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรคได้ 58.08% และจากการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ของน้ำเลี้ยงเชื้อ พบว่ามีค่ากิจกรรมเอนไซม์ β -1,3-glucanase และ chitinase เท่ากับ 7.83 และ 0.09 U/mL⁻¹ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเชื้อ *S. hygroscopicus* NR8-2 มีประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรคใบจุดของผักสลัดด้วยกลไกการยับยั้งและทำลาย (antibiosis) เนื่องจากมีการสร้างสาร antifungal metabolite และเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์ (cell wall degrading enzyme) กลไกดังกล่าวเป็นกลไกที่สำคัญในการคัดเลือกเชื้อ *Streptomyces* sp. ที่มีประสิทธิภาพ เพื่อนำไปควบคุมโรคได้ในอนาคต

คำสำคัญ: ใบจุด, ผักสลัด, *Curvularia aeria*, cell-free CF, *Streptomyces*

ABSTRACT: This research aimed to test the antifungal activity of antagonistic microorganism in controlling leaf spot disease pathogen, *Curvularia aeria*. *Streptomyces hygroscopicus* NR8-2 was tested to inhibit mycelial growth of disease pathogen by dual culture assay. Effect of cell free culture filtrate (CF) on fungal growth was conducted by agar diffusion assay, and enzyme activity of β -1, 3-glucanase and chitinase was analyzed. The results showed *S. hygroscopicus* NR8-2 inhibited mycelial growth of *C. aeria* with 65.03%, by dual culture assay. Cell free CF of *S. hygroscopicus* NR8-2 inhibited *C. aeria* with 58.08%, by agar diffusion method. Activity of β -1, 3-glucanase and chitinase were 7.83 and 0.09 U/mL⁻¹, respectively higher than that of control. Based on our result, *S. hygroscopicus* NR8-2 displays antifungal activity by antibiosis mechanism with production of antifungal metabolites and cell wall degrading enzymes. These mechanism is important for selection of *Streptomyces* sp. to control the plant disease in near future.

Keywords: leaf spot, lettuce, *Curvularia aeria*, cell-free CF, *Streptomyces*

¹ ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จ.สงขลา 90112

Department of Pest Management, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hatyai, Songkhla 90112

* Corresponding author:

บทนำ

ผักสลัด (*Lactuca sativa* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญชนิดหนึ่งในประเทศไทย (ดิเรก, 2547) โดยนิยมนำใบมาบริโภคและประกอบอาหารได้หลายชนิด แต่การผลิตผักสลัดมักประสบปัญหาเรื่องโรคระบาดต่าง ๆ เช่น โรครากเน่าจากเชื้อ *Pythium* spp. (พรหมมาศ, 2548) และโรคใบจุด (leaf spot) ที่มีเชื้อสาเหตุหลายชนิด เช่น แบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* pv. *vitiens* (Bull and Koike (2005) เชื้อรา *Alternaria* spp., *Corynespora casicola* และ *Curvularia aerea* (Chairin et al., 2017; Pornsuriya et al. 2018) โดยเฉพาะโรคใบจุด มีสาเหตุจากเชื้อรา *C. aerea* ซึ่งเป็นเชื้อที่พบว่าระบาดครั้งแรกในแปลงของเกษตรกรในจังหวัดสงขลา พบการระบาดอย่างหนักในช่วงฤดูฝน เนื่องจากสภาพอากาศมีความเหมาะสมในการเจริญและการแพร่ขยายของเชื้อ แผลที่พบบนใบผักสลัดมีลักษณะเป็นจุดขนาดเล็กสีน้ำตาลเข้ม เส้นผ่านศูนย์กลางของแผลประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร เมื่อมีอาหารรุนแรงแผลจะเชื่อมกันและขยายเป็นวงกว้าง (Pornsuriya et al. (2018) ส่งผลให้ผักสลัดสูญเสียทั้งปริมาณและคุณภาพ

ในการควบคุมและกำจัดเชื้อสาเหตุโรคส่วนใหญ่เกษตรกรนิยมใช้สารเคมี แต่การใช้สารเคมีมีข้อจำกัดหลาย ๆ อย่าง เช่น สารเคมีราคาสูง ไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภคเนื่องจากการตกค้างของสารเคมีในผลผลิต ดังนั้นการควบคุมโดยชีววิธีจึงเป็นทางเลือกที่ได้รับความสนใจและเหมาะสมในการผลิตผักสลัดเพื่อให้อปลอดภัยต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม โดยมีรายงานเกี่ยวกับการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะการใช้เชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Streptomyces* sp. ซึ่งเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ถูกใช้ในการควบคุมโรคได้อย่างหลากหลาย เนื่องจากมีคุณสมบัติการสร้างสารต้านเชื้อราและสร้างเอนไซม์ที่มีคุณสมบัติในการย่อยสลายผนังเซลล์ของเส้นใยเชื้อรา (ปวีณาและคณะ, 2555) ซึ่งเคยมีรายงานว่า เชื้อ *Streptomyces* sp. A6 สามารถยับยั้งและควบคุมโรค *Fusarium wilt* ที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา *F. udum* (Singh and Chatpar, 2011) นอกจากนี้ยังพบว่าเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราก่อโรคพืชได้หลายชนิด โดยการสร้างเอนไซม์ β -1, 3-glucanase และ chitinase เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Colletotrichum gloeosporioides*

และ *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรคแอนแทรคโนสและโรคโคนเน่าของพริก ตามลำดับ โดยเอนไซม์ดังกล่าวส่งผลให้เซลล์ของเชื้อราก่อโรคถูกทำลายและของเหลวภายในเซลล์ไหลออกสู่ภายนอก (Prapagdee et al., 2008)

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำเชื้อ *S. hygroscopicus* NR8-2 ที่ได้ถูกศึกษาก่อนหน้านี้ว่ามีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Ganoderma boninense* สาเหตุโรคลำต้นเน่า (สุภาภรณ์, 2557) และเชื้อรา *C. oryzae* สาเหตุโรคใบจุดในต้นกล้าปาล์มน้ำมัน (อรณิชา และคณะ 2559) มาทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *C. aerea* สาเหตุโรคใบจุดผักสลัดในห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้เป็นแนวทางในการนำมาใช้ประโยชน์เพื่อควบคุมโรคใบจุดของผักสลัดในสภาพแปลงต่อไป

วิธีการศึกษา

การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ปฏิปักษ์และเชื้อราก่อโรค

เชื้อปฏิปักษ์ *S. hygroscopicus* NR8-2 (Pithakkit et al., 2015) ได้รับความอนุเคราะห์จากคลังเก็บการรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์ Culture Collection of Pest Management Department ภาควิชาการจัดการศัตรูพืช คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จากที่เก็บรักษาในอาหารเลี้ยงเชื้อ *S. hygroscopicus* NR8-2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ glucose yeast malt agar (GYMA) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน ก่อนนำไปทำการ และเลี้ยงเชื้อรา *C. aerea* บนอาหาร potato dextrose agar (PDA) เป็นเวลา 7 วัน ก่อนนำไปทดลอง

การทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *S. hygroscopicus* NR8-2 ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุโรคพืช

ทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งโดยการขีด *S. hygroscopicus* NR8-2 บนอาหาร PDA โดยให้ห่างจากขอบจานเลี้ยงเชื้อ 2 เซนติเมตร โดยขีดทิ้งไว้ประมาณ 7 วัน หรือจนเชื้อสร้างสปอร์ จากนั้นใช้ cork borer ตัดชิ้นส่วนของเชื้อราก่อโรคความบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ในทิศตรงข้ามกับเชื้อปฏิปักษ์ และห่างจากขอบจานเลี้ยงเชื้อ 2 ซม. เช่นเดียวกัน สำหรับชุดควบคุมวางเพียงชิ้นส่วนของเชื้อราก่อโรคบนอาหาร

PDA ทำการทดลองจำนวน 5 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิห้อง (28–30°C) จากนั้นวัดรัศมีโคโลนีของเชื้อราก่อโรค และคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญ (Vincent, 1927) ดังสมการ

Percent of Growth Inhibition (GI) = $[(R1 - R2)/R1] \times 100$

R1 = รัศมีของโคโลนีราสาเหตุโรคที่เจริญบนอาหารชุดควบคุม

R2 = รัศมีของโคโลนีราสาเหตุโรคที่เจริญบนอาหารชุดทดสอบ

การทดสอบประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญของเชื้อราสาเหตุโรค

เลี้ยงเชื้อ *S. hygroscopicus* NR8-2 ในอาหาร glucose yeast malt broth (GYMB) เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองรูพรุนขนาด 0.45 µm เพื่อแยกเซลล์ออก และนำน้ำเลี้ยงเชื้อที่ได้มาทดสอบด้วยวิธี agar diffusion บนอาหาร PDA ใช้ cork borer ขนาด 0.5 เซนติเมตร เจาะรู 3 จุด โดยในแต่ละจุดหยอดสารดังนี้ อาหาร GYMB น้ำกลั่น นิ่งฆ่าเชื้อ และน้ำเลี้ยงเชื้อ นำชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยของเชื้อราก่อโรควางตรงกลางของจานเลี้ยงเชื้อ บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (28–30°C) เป็นเวลา 5 วัน และวัดรัศมีของเชื้อก่อโรค คำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งโดยใช้สูตรของ (Mostapha, 2004) ดังสมการ

Growth inhibition (GI) = $[(C-T)/C] \times 100$

C = รัศมีของโคโลนีเชื้อราก่อโรคที่เจริญจากจุดกึ่งกลางไปทางหลุมที่หยอด GYMB

T = รัศมีของโคโลนีเชื้อราก่อโรคที่เจริญจากจุดกึ่งกลางไปทางหลุมที่หยอดน้ำเลี้ยงเชื้อ

การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ β -1,3-glucanase และ chitinase ในน้ำเลี้ยงเชื้อ

เอนไซม์ β -1,3-glucanase ทำการทดลองตามวิธีการของ Miller (1959) โดยนำน้ำเลี้ยงเชื้อปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ผสม laminarin 0.5% ละลายใน 50 mM sodium acetate buffer pH 5.0 บ่มทิ้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และเติมสารละลาย DNS ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นหยุดปฏิกิริยาโดยการต้มในน้ำเดือดนาน 15 นาที และเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น และนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร โดยใช้น้ำตาล glucose เป็น standard โดย β -1,3-glucanase activity หนึ่ง

หน่วยเทียบกับปริมาณของน้ำตาลกลูโคสที่เพิ่มขึ้น 1 µmol

เอนไซม์ chitinase ทำการทดลองตามวิธีการของ Miller (1959) โดยนำน้ำเลี้ยงเชื้อปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร ผสม colloidal chitin 1% ละลายใน 50 mM potassium phosphate buffer (KPB) pH 7.5 บ่มทิ้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และเติมสารละลาย DNS ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นหยุดปฏิกิริยาโดยการต้มในน้ำเดือดนาน 15 นาที และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 4 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น และนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 575 นาโนเมตร โดยใช้ N-acetyl-D-glucosamine เป็น standard และ chitinase activity หนึ่งหน่วยเทียบกับปริมาณของน้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine ที่เพิ่มขึ้น 1 µmol

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

นำค่าเฉลี่ยแต่ละการทดลองมาวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ความเชื่อมั่น 95% ($P \leq 0.05$) โดยใช้โปรแกรม SPSS 16.0

ผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

จากการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *C. aeria* สาเหตุโรคใบจุดผักสลัด โดยใช้เชื้อ *S. hygroscopicus* NR8-2 ด้วยวิธี dual culture บนอาหาร PDA พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 65.03% (Fig.1) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Pithakkit et al. (2015) ที่พบว่าเชื้อ *Streptomyces* sp. ที่แยกได้จากบริเวณรอบรากปาล์มมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *C. oryzae*, *G. boninense* และ *Schizophyllum commune* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

เมื่อทดสอบประสิทธิภาพของน้ำเลี้ยงเชื้อ (cell-free CF) ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรคด้วยวิธี agar diffusion พบว่าสามารถยับยั้งได้ถึง 50.58% (Fig. 2) ซึ่งเคยมีรายงานว่าน้ำเลี้ยงเชื้อของ *Streptomyces* sp. ที่ได้จากดินในพื้นที่ทำการเกษตรของประเทศอินเดีย สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคพืช เช่น *Stemphylium* sp., *Botrytis cinerea*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Colletotrichum* spp., *Curvularia* spp., *C. cassicola* และ *Thielavia basicola* ได้อย่างมี

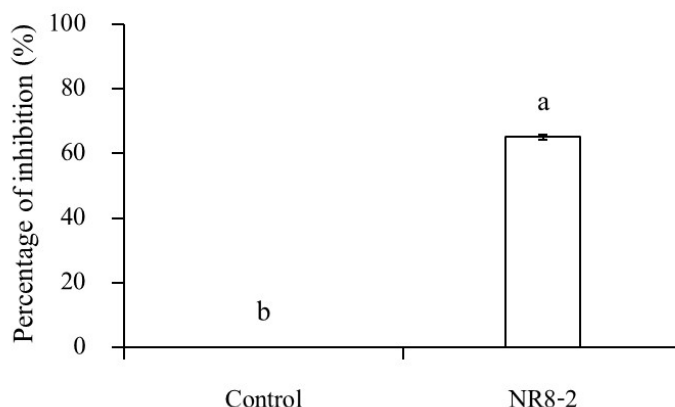


Fig.1 Percentage of inhibition of *S. hygroscopicus* NR8-2 against *C. aeria* by dual culture assay.

ประสิทธิภาพ (Alam et al., 2012) โดยลักษณะการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อราก่อโรคของเชื้อ *Streptomyces* สร้างสารต้านเชื้อรา และเอนไซม์ย่อยสลายผนังเซลล์ จากนั้นปลดปล่อยออกมานอกเซลล์เพื่อทำลายเชื้อราเป้าหมาย (Haggag et al., 2011)

จากการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ในน้ำเลี้ยงเชื้อที่สร้างโดย *S. hygroscopicus* NR8-2 และปล่อยออกมานอกเซลล์เพื่อใช้ยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อราก่อโรค พบว่ามีค่ากิจกรรมเอนไซม์ β -1,3-glucanase และ chitinase เท่ากับ 7.83 และ 0.09 U/mL⁻¹ ตามลำดับ

ซึ่งมีค่าสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (Fig. 3) เชื้อ *Streptomyces* spp. เคยมีรายงานว่า สามารถสร้างเอนไซม์ในกลุ่มย่อยสลายผนังเซลล์ของเชื้อรา (cell wall degrading enzymes) β -1,3-glucanase และ chitinase เพื่อย่อยสลายผนังเซลล์เส้นใยของเชื้อราก่อโรคพืช ทำให้เซลล์ยุบตัว จนไม่สามารถเจริญต่อได้ (Prapagdee et al., 2008) เนื่องจาก โครงสร้างที่สำคัญของผนังเซลล์เชื้อราส่วนเป็น chitins และ glucans ซึ่งเป็นโครงสร้างที่มีความสำคัญต่อเชื้อรา (Georgopapadakou and Tkacz, 1995)

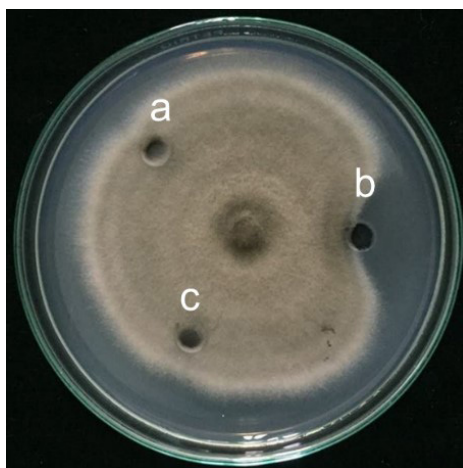


Fig.2 Antifungal activity against *C. aeria* by agar diffusion assay, where a= distilled water, b= cell-free CF and c= GYMB.

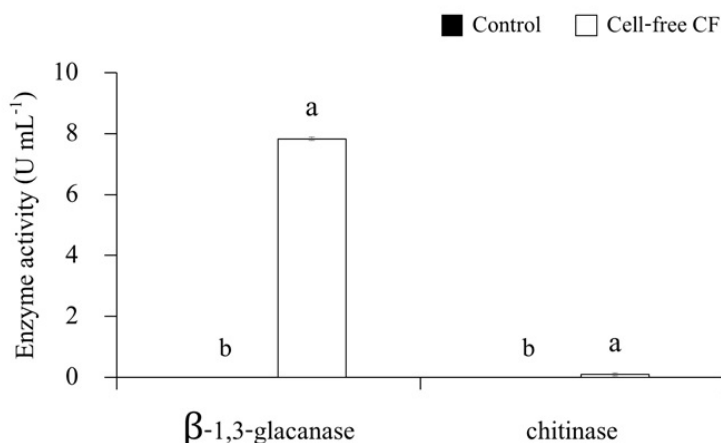


Fig. 3 β-1, 3-glucanase and chitinase activity of cell-free CF of *S. hygroscopicus* NR8-2.

สรุป

จากการศึกษาประสิทธิภาพของเชื้อ *S. hygroscopicus* NR8-2 แสดงให้เห็นว่ามีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อก่อโรคได้ดีด้วยกลไกการยับยั้งและทำลาย (antibiosis) เนื่องจากเชื้อปฏิภักษ์ชนิดนี้สามารถผลิตสารต้านเชื้อรา (antifungal metabolite) และเอนไซม์ β-1,3-glucanase และ chitinase ที่สามารถทำลายเซลล์ของเชื้อราก่อโรคได้ ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญของเชื้อจุลินทรีย์ปฏิภักษ์ในการควบคุมเชื้อราก่อโรคพืช

คำขอบคุณ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม รหัสโครงการ 59-2-2024 และบริษัท ไทย แอ๊ดวานซ์ อะกรี เทคโนโลยี จำกัด และสถานวิจัยความเป็นเลิศด้านเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ระยะที่ 2 มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

เอกสารอ้างอิง

ดิเรก ทองอร่าม. 2547. ปลูกโดยไม่ใช้ดิน หลักการจัดการผลิตและเทคโนโลยีการผลิตเชิงธุรกิจในประเทศไทย. สำนักพิมพ์ ดิการพิมพ์ กรุงเทพมหานคร

ปวีณา สังข์แก้ว, เสมอใจ ชื่นจิตต์ และ วสันต์ เพชรรัตน์. 2555. การคัดเลือกและเตรียมสูตรสำเร็จเชื้อ *Streptomyces griseus* subsp. *Formicus* เพื่อควบคุมเชื้อรา *Rigidoporus microporus* สาเหตุโรครากขาวของยางพารา. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 43: 21-24.

พรหมมาศ คูหากาญจน์. 2548. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการ ใช้จุลินทรีย์ในการควบคุมโรคโคนเน่า รากเน่าที่เกิดจากเชื้อ *Pythium* sp. ในการปลูกโดยไม่ใช้ดิน. คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพมหานคร

สุภาภรณ์ พิทักษ์กิจ วสันต์ เพชรรัตน์ และเสมอใจ ชื่นจิตต์. 2557. การคัดเลือกเชื้อ *Streptomyces* spp. จากดินรอบโคนต้นปาล์มน้ำมันในภาคใต้ของประเทศไทยสำหรับควบคุมเชื้อราก่อโรคปาล์มน้ำมันโดยชีววิธี. วารสารพืชศาสตร์ สงขลานครินทร์ 1: 77-81.

อรณิชา ดันติพลานนท์ และ ชนินันท์ พรสุริยา. 2559. การคัดเลือกจุลินทรีย์ปฏิภักษ์ที่แยกจากใบปาล์มน้ำมันเพื่อควบคุมรา *Curvularia oryzae* Bugnic. สาเหตุโรคใบจุดของต้นกล้าปาล์มน้ำมัน. เกษตร. เกษตร 44 ฉบับพิเศษ 1: 937-941.

Alam, M., Dharni, S., Khaliq, A., Srivastava, S. K., Samad, A. and Gupta, M. K. 2012. A promising strain of *Streptomyces* sp. with agricultural traits for growth promotion and disease management. Indian J. Exp. Biol. 50: 559-568.

- Bull, C. T., and Koike, S. T. 2005. Evaluating the efficacy of commercial products for management of bacterial leaf spot on lettuce. Online. Plant Health Progress DOI: 10.1094/PHP-2005-1121-01-RS.
- Chairin, T., Pomsuriya, C., Thaochan, N. and Sunpapao, A. 2017. *Corynespora cassiicola* causes leaf spot disease on lettuce (*Lactuca sativa* L.) cultivated in hydroponic systems in Thailand. Australasian Plant Dis. Notes 12: 1-3.
- Georgopapadakou, N. H., Tkacz, J. S. 1995. The fungal cell wall as a drug target. Trends Microbiol. 3(3): 98-104.
- Haggag, W. M., Mohamed, E. M. and Azzazy, A. M. E. 2011. Optimization and production of antifungal hydrolysis enzymes by *Streptomyces aureofaciens* against *Colletotrichum gloeosporioides* of mango. Agri. Sci. 2(2): 146-157.
- Miller, G. L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem. 31: 426-428.
- Mostapha, N. K. 2004. Biological control of *Rhizoctonia solani*, the causal agent of rice sheath blight by antagonistic bacteria in greenhouse and field conditions. Plant Pathology J. 3: 88-96.
- Nayab, M. and Akhtar, N. 2016. First report of *Curvularia aeria* causing Leaf spot of *Ficus religiosa* in Pakistan. Plant Dis. 100: 2530.
- Pithakkit, S., Petcharat, V., Chuenchit, S., Pomsuriya, C. and Sunpapao, A. 2015. Isolation of antagonistic actinomyces species from rhizospheres as effective biocontrol against oil palm fungal disease. Walailak J. Sci. & Tech. 12: 481-490.
- Pomsuriya, C., Shin-Ishi, I. and Sunpapao, A. 2018. First report of leaf spot on lettuce caused by *Curvularia aeria*. J. Gen. Plant. Pathol. 84: 296-299.
- Prapagdee, B., Kuekulvong, C. and Monkolsuk, S. 2008. Antifungal potential of extracellular metabolites produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi. J. Biol Sci 4:330-337.
- Singh, A. K. and Chhatpar, H. s. 2011. Combined use of *Streptomyces* sp. A6 and chemical fungicides against *Fusarium* Wilt of *Cajanas cajan* may reduce the dosage of fungicides required in the field. Crop Prot. 30(7): 770-775.
- Velázquez-del Valle, M. G., Poudel, B. and Zhang, S. 2017. First report of *Curvularia* blight on sunflower caused by *Curvularia aeria* in Mexico. Plant Dis. 101: 1955.
- Vincent, T. M. 1927. Distortion of fungal hyphae in the presence of certain inhibitors. Nature 159: 850-856.