

## การป้องกันโรคกิ่งแห้งของแก้วมังกรที่เกิดจากรา *Neoscytalidium dimidiatum* ด้วยราปฏิปักษ์ *Beauveria bassiana* และเกลือซิลิกอน

### Prevention of dragon fruit stem canker caused by *Neoscytalidium dimidiatum* using antagonistic fungus *Beauveria bassiana* and silicon salts

ณัฐวรรณ ทิรวม<sup>1,2</sup> และ นิวัธ เสนาะเมือง<sup>1,2\*</sup>

Nathawan Teeruum<sup>1,2</sup> and Niwat Sanoamuang<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup> ภาควิชากีฏวิทยาและโรคพืชวิทยา คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น 40002

<sup>1</sup> Department of Entomology and Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

<sup>2</sup> ศูนย์อนุกรมวิธานโบราณประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

<sup>2</sup> Applied Taxonomic Research Center, Faculty of Science, Khon Kean University, Khon Kean, 40002

**บทคัดย่อ:** โรคกิ่งแห้งของแก้วมังกรเกิดจากรา *Neoscytalidium dimidiatum* ทำความเสียหายอย่างมากในประเทศไทยและทั่วโลก การวิจัยนี้เกี่ยวข้องกับความสามารถการเป็นปฏิปักษ์ของรา *Beauveria bassiana* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ ประสิทธิภาพการปกป้องพืชในเรือนทดลอง และผลการใช้เกลือซิลิกอนต่อโรคกิ่งแห้ง วิธีการศึกษาโดยเพาะเลี้ยงราปฏิปักษ์ *B. bassiana* และรา *N. dimidiatum* ในจานเลี้ยงเชื้อเดียวกัน คำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง ตรวจสอบการระเหยได้ของสารยับยั้ง ฉีดพ่นสปอร์แขวนลอยเชื้อ *B. bassiana* ตรวจสอบการเป็นอีพิไฟต์ เอนโดไฟต์ ความสามารถป้องกันการเกิดโรคกิ่งแห้งในต้นกล้าและกิ่งพันธุ์แก้วมังกรรวมถึงผลการแช่หรือฉีดพ่นเกลือซิลิกอนต่อการเกิดโรคกิ่งแห้ง ผลการศึกษาพบว่าราปฏิปักษ์ *B. bassiana* ยับยั้งการเจริญของราสาเหตุโรคได้อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ( $P<0.01$ ) เพอร์เซ็นต์ยับยั้งเฉลี่ย  $65.22\pm 2.38$  % การยับยั้งเกิดจากสารเมตาโบไลต์ที่ปล่อยลงมาในอาหาร สปอร์แขวนลอยของรา *B. bassiana* มีชีวิตได้ทั้งแบบอีพิไฟต์บนผิวพืชและแบบเอนโดไฟต์ในเนื้อเยื่อพืช ได้เป็นเวลอย่างน้อย 30 วัน มีผลยับยั้งโรคกิ่งแห้งตั้งแต่ 1 วันแรกและส่งผลต่อเนื่องไปอีกอย่างน้อย 14 วัน อย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) การแช่กิ่งแก้วมังกรหรือการฉีดพ่นต้นแก้วมังกรด้วยเกลือซิลิกอน ความเข้มข้น 500, 1,000 และ 1,500 มิลลิกรัมต่อลิตร ป้องกันและลดโรคกิ่งแห้งได้ตามความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าการใช้ *B. bassiana* และเกลือซิลิกอน มีแนวโน้มใช้เป็นทางเลือกหนึ่งในกระบวนการป้องกันความเสียหายจากโรคกิ่งแห้งแก้วมังกร

**คำสำคัญ:** โรคกิ่งแห้ง; บิวเวอเรีย; อีพิไฟต์; เอนโดไฟต์; ซิลิกอน

**ABSTRACT:** Stem canker disease caused by *Neoscytalidium dimidiatum* is the most destructive disease of dragon fruit in Thailand and worldwide. In this study, we investigated antagonistic activities of *Beauveria bassiana* on *N. dimidiatum* both *in vitro* and *in vivo* including silicon applications on dragon fruit cladodes. *In vitro* investigation using dual culture method for inhibition ability and metabolites released from mycelium. Conidial suspension was applied on seedlings and cladodes for establishing epiphyte and endophyte and ability against stem canker. Application of silicon salts by submerging or spraying cladodes were conducted. Results showed that *B. bassiana* significantly ( $P<0.01$ ) inhibited mycelium growth of *N. dimidiatum* at the average of  $65.22\pm 2.38$  % by non-volatile substances released from mycelium of *B. bassiana* in to culture medium. *B. bassiana* survived on dragon fruit both as epiphyte and endophyte provided immediate protection to the plant for at least 14 days. Silicon salts at 500, 1,000 and 1,500 mg/L significantly reduced severity of stem canker disease. The results suggested that both *B. bassiana* and silicon salts are promising candidates for sustainable management of dragon fruit from canker disease.

**Keywords:** stem canker; beauveria; epiphyte; endophyte; silicon

\* Corresponding author: [niwatsanoa@gmail.com](mailto:niwatsanoa@gmail.com)

Received: date; November 17, 2021 Accepted: date; March 7, 2022 Published: date; June 30, 2022

## บทนำ

โรคกิ่งแห้ง (stem canker) ของแก้วมังกร เกิดจากรา *Neoscytalidium dimidiatum* (Penz.) Crous & Slippers ระบาดทำความเสียหายไปทั่วโลก เช่น เวียดนาม มาเลเซีย ไต้หวัน จีน อิสราเอล และสหรัฐอเมริกา (Hieu and Hoa, 2015; Chuang et al., 2012; Lan et al., 2012; Nontajak et al., 2018; Xu et al., 2018) รวมถึงประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2555-2557 พบการระบาดของโรคกิ่งแห้งมากที่สุดในพื้นที่ปลูกของจังหวัดจันทบุรี ระยอง ราชบุรี และนครราชสีมา (Athipunyakom et al., 2015) ปัจจุบันการแพร่ระบาดของโรคกระจายครอบคลุมไปทั่วพื้นที่ปลูกแก้วมังกร รวมถึงแหล่งปลูกที่ใหญ่ที่สุดใน อ.ภูเรือ และ อ.ด่านซ้าย จังหวัดเลย วิธีการควบคุมโรคโดยทั่วไปมีการใช้สารเคมีและการตัดแต่งชิ้นส่วนที่เป็นโรคออก โรคนี้ส่งผลทำความเสียหายทั้งในแปลงปลูก ผลผลิตมีตำหนิ มีผลต่อตลาดในประเทศและการส่งออกต่างประเทศ แนวทางใหม่เพื่อเป็นทางเลือกหรือใช้ร่วมในการควบคุมโรคและลดความเสียหายอย่างยั่งยืน โดยการควบคุมด้วยชีววิธี (biological control) ที่สามารถคุมครองพืชได้ในระยะยาว กระตุ้นการเจริญเติบโต กระตุ้นความต้านทานให้พืช ปลอดภัยต่อผู้บริโภค ผู้ผลิต และปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม ราปฏิปักษ์ *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill และสารละลายเกล็ดซิลิกอนสามารถเข้าสู่พืชทางรากหรือทางใบ (Greenfield et al., 2016) กระตุ้นให้พืชแข็งแรงมีภูมิคุ้มกันศัตรูพืชหลากหลายชนิดได้ (Liang et al., 2015) แต่ยังมีการศึกษาอย่างน้อยมากในแก้วมังกร รา *B. bassiana* เป็นราปฏิปักษ์ที่มีคุณสมบัติทำลายเชื้อสาเหตุโรคพืชและแมลงได้หลายชนิด มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ เช่น โคติเนส โลเปส อะมาเลส เซลลูเลส เคซีนเนสและโปรตีเอส และมีความสามารถสร้างสารพิษทุติยภูมิต่าง ๆ เช่น beauvericin, beauverolides, bassianolides, oosporein, cyclosporin A และ oxalic acid ที่มีฤทธิ์ต้านต่อเชื้อแบคทีเรียและราสาเหตุโรคพืช (Culebro-Ricaldi et al., 2017; Sung et al., 2007) สารอินทรีย์ที่รา *B. bassiana* สร้างขึ้นอาจมีทั้งที่ละลายอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อหรือสารที่ระเหยเป็นแก๊สได้ (Crespo et al., 2008) รา *B. bassiana* มีความสามารถเข้าสู่พืชทางเมล็ด ทางรากและทางผิวพืช ทางช่องเปิดธรรมชาติ สามารถปรับตัวอยู่อาศัยร่วมกับพืชในรูปเอนโดไฟต์ การครอบครองพื้นที่บริเวณรอบรากพืชส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช มีการชักนำให้พืชสร้างความต้านทาน การเป็นเอนโดไฟต์ที่กระจายในทุกส่วนของพืชมีโอกาสส่งผลยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืชได้หลายชนิดทั้งทางตรงและทางอ้อม (Deb et al., 2017) ส่วนธาตุอาหารเสริมเช่น ซิลิกอนที่อยู่ในรูปสารละลายที่สามารถดูดซับเข้าสู่พืชได้มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ทำให้ผนังเซลล์พืชแข็งแรงต้านทานต่อการเข้าสู่พืชของเชื้อสาเหตุโรค รวมไปถึงการกักกิน เจริญเติบโตของแมลง การมีซิลิกอนในปริมาณที่เพียงพอช่วยลดความเครียดของพืชที่เกิดจากทั้งสิ่งมีชีวิตและไม่ใช่วิต รวมถึงทำให้พืชเจริญเติบโตได้แม้อยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (Debona et al., 2017; Haynes, 2014; Liang et al., 2015; Ma and Yamaji, 2006; Rodrigues and Datnoff, 2005; Wang et al., 2017) ดังนั้นการทํารายการครั้งนี้ จึงมุ่งศึกษาความสามารถในการเป็นปฏิปักษ์ของรา *B. bassiana* กับรา *N. dimidiatum* สาเหตุโรคกิ่งแห้งแก้วมังกร ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและการลดความสามารถในการก่อโรคกิ่งแห้งในพืช รวมถึงการใช้เกล็ดซิลิกอนในการกระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรค เพื่อเป็นทางเลือกในการจัดการโรคกิ่งแห้งของแก้วมังกรต่อไปอย่างยั่งยืน

## วิธีการศึกษา

### ประสิทธิภาพของรา *Beauveria bassiana* ต่อการเป็นปฏิปักษ์กับรา *Neoscytalidium dimidiatum* ในสภาพห้องปฏิบัติ

การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ทดสอบ โดยนำรา *B. bassiana* ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์ชีววินทรีย์แห่งชาติ ประจำภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และรา *N. dimidiatum* สาเหตุโรคกิ่งแห้งของแก้วมังกร ซึ่งแยกได้จากแก้วมังกรที่แสดงอาการโรคจากแหล่งปลูกใน จ.ขอนแก่น และ จ.เลย จำนวน 4 ไosllet มาเพาะเลี้ยงบนจานอาหาร potato dextrose agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำไปทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ด้วยเทคนิค Dual culture (Morton and Stroube, 1955) โดยวางชิ้นเส้นใยขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. ของรา *B. bassiana* บนจานอาหาร PDA ให้ห่างจากขอบจาน 20 มม. บ่มที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 3 วัน แล้วจึงวางชิ้นเส้นใยของรา *N. dimidiatum* ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 5 มม. ในตำแหน่งตรงข้ามกันห่างจากขอบจาน 20 มม. บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  ต่อไปอีกเป็นเวลา 7 วัน วัดขนาดรัศมีการเจริญของเชื้อ เพื่อตรวจสอบความสามารถการเป็นปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคแต่ละไosllet ทำการคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของรา โดยดัดแปลงมาจาก

Lee et al. (2014) ดังนั้นคือ เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญเติบโตของรา (PIRG) =  $[(Rc-Rt)/Rc] \times 100$  โดย Rc คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญของราสาเหตุโรคพืชในกรรมวิธีควบคุม และ Rt คือ ค่าเฉลี่ยการเจริญของราสาเหตุโรคพืชในกรรมวิธีทดสอบ วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด completely randomized design (CRD) จำนวน 5 ซ้ำ

#### การตรวจสอบสถานะสารเมตาโบไลต์จาก *B. bassiana* ต่อการยับยั้งการเจริญของรา *N. dimidiatum*

เพื่อตรวจสอบกลไกของรา *B. bassiana* ยับยั้งการเจริญของรา *N. dimidiatum* ที่มาจากสารเมตาโบไลต์ที่ปลดปล่อยลงมาในอาหาร อาจอยู่ในสถานะของเหลวไม่ระเหย (non-volatile substances) หรือเป็นสารระเหยได้ (volatile substances) การตรวจสอบการปลดปล่อยสารลงในอาหารด้วยวิธี dialysis membrane technique ดัดแปลงมาจาก Simon et al. (1988) โดยการเลี้ยงรา *B. bassiana* บนกระดาษ cellophane ที่วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นนำแผ่นกระดาษ cellophane ออก แทนที่ด้วยชิ้นวัสดุสาเหตุโรคที่อายุ 7 วัน บ่มที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 3 วัน วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใยสาเหตุโรค ส่วนการตรวจสอบการผลิตรีบของรา *B. bassiana* ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของรา *N. dimidiatum* ทั้ง 4 ไอโซเลต โดยใช้วิธี sandwich method ดัดแปลงวิธีมาจาก Liarzi et al. (2016) ใช้จานเลี้ยงเชื้อ PDA ที่มีรา *B. bassiana* อายุ 5 วัน ประกบกับจานเลี้ยงเชื้อที่ปลูกเส้นใยเชื้อ *N. dimidiatum* จากขอบโคโลนีพร้อมชิ้นวัสดุ ปิดให้แน่นด้วยแผ่น Paraffin บ่มที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 3 วัน วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีของเส้นใยสาเหตุโรค แล้วทำการคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเส้นใย โดยดัดแปลงจาก Rai and Mamatha (2005) ดังนั้น เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (I) =  $[(C-T)/C] \times 100$  โดย C คือ เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีในกรรมวิธีควบคุม และ T คือ เส้นผ่าศูนย์กลางโคโลนีในกรรมวิธีทดสอบ

#### การครอบครองพื้นที่บนต้นแก้วมังกรของรา *B. bassiana* และการยับยั้งโรคกิ่งแห้งในสภาพเรือนทดลอง

เลี้ยงรา *B. bassiana* บนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ  $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำมาเตรียมสปอร์แขวนลอย โดยปรับให้มีความหนาแน่นที่  $10^8$  สปอร์/มล. จากนั้น ฉีดพ่นบนต้นกล้าแก้วมังกรที่ได้จากการเพาะเมล็ดอายุ 2 เดือน อัตรา 0.5 มล./ต้น และกิ่งของต้นแก้วมังกรที่แตกกิ่งใหม่เป็นเวลา 2-3 สัปดาห์ อัตรา 25 มล./ กิ่ง คลุมด้วยถุงพลาสติกเพื่อรักษาความชื้น หลังการฉีดพ่นเป็นเวลา 1, 7, 14 และ 30 วัน ทำการแยกราจากต้นและกิ่งแก้วมังกรเพื่อตรวจสอบความสามารถการเป็นอีพิไฟต์ (epiphyte) หรือเอนโดไฟต์ (endophyte) กับพืช การตรวจสอบการเป็นอีพิไฟต์โดยตัดชิ้นส่วนของแก้วมังกรขนาด 3-5 มม. หนา 2-3 มม. วางลงบนอาหาร PDA ที่ผสม streptomycin ความเข้มข้น 2 g/L ส่วนการตรวจสอบการเป็นเอนโดไฟต์ แยกเชื้อด้วยวิธี tissue transplanting โดยกำจัดเชื้อที่ผิวพืช ประยุกต์ตามวิธีของ Greenfield et al. (2016) ด้วยการแช่ชิ้นส่วนของพืชใน 70% เอทิลแอลกอฮอล์ เป็นเวลา 30 วินาที ตามด้วย 10% โซเดียมไฮโปคลอไรด์ เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 1 นาที แล้วจึงนำชิ้นส่วนพืชวางลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ผสมด้วย streptomycin ความเข้มข้น 2 กรัม/ลิตร พันรอบจานอาหารด้วยแผ่น Paraffin บ่มที่อุณหภูมิ  $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$  เป็นระยะเวลา 7-10 วัน หรือบ่มจนกระทั่งมีเชื้อเจริญมาจากชิ้นพืชทดสอบ

การตรวจสอบความสามารถของรา *B. bassiana* ในการยับยั้งโรคกิ่งแห้งของแก้วมังกร โดยเลี้ยงเชื้อสาเหตุโรคกิ่งแห้ง *N. dimidiatum* ไอโซเลตต่างๆ ร่วมกับไม้จิ้มฟันขนาดความยาว 10 มม. บนอาหาร PDA บ่มที่อุณหภูมิ  $27 \pm 2^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 7 วัน ปลูกเชื้อแต่ละไอโซเลตที่เจริญอยู่บนไม้จิ้มฟันด้วยวิธี tooth-pick inoculation technique (Hildebrand, 1953) โดยการเสียบไม้จิ้มฟันให้ติดอยู่กับกิ่งแก้วมังกรหลังจากการฉีดพ่นสปอร์แขวนลอยรา *B. bassiana* ดังกล่าวข้างต้น 1, 7 และ 14 วัน ตรวจวัดขนาดของแผลเปรียบเทียบความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้น

#### การศึกษาประสิทธิภาพของเกลียวซิลิกอน ในการควบคุมโรคกิ่งแห้งของแก้วมังกรในพืช

นำสารละลายโปแตสเซียมซิลิเกต (27.6 % SL) ความเข้มข้น 0, 500, 1,000 และ 1,500 มก./ล. แช่กิ่งพันธุ์ 2 ซม. หรือฉีดพ่นจนน้ำไหลหยดจากต้นพันธุ์แก้วมังกรที่อายุประมาณ 2 ปี ที่ปลูกในถุงดำขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 15 ซม. แล้วปลูกเชื้อ *N. dimidiatum* ที่เจริญอยู่บนไม้จิ้มฟันด้วยเทคนิค tooth-pick inoculation technique โดยปลูกเชื้อ 7 วัน หลังจากการแช่หรือการฉีดพ่น คลุมถุงพลาสติกเพื่อรักษาความชื้นในระยะแรก และทำการบันทึกผลการทดลองหลังจากการปลูกเชื้อ 28 วัน วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางแผลที่บริเวณกิ่ง เปรียบเทียบความรุนแรงของโรคที่เกิดขึ้น และทำการทดลองเช่นเดียวกันโดยใช้สารละลายเกลียวซิลิเกต (42% SL) แทนโปแตสเซียมซิลิเกต

## ผลการศึกษาและวิจารณ์

### ประสิทธิภาพของรา *Beauveria bassiana* ต่อการเป็นปฏิปักษ์กับรา *Neoscytalidium dimidiatum* ในสภาพห้องปฏิบัติการ

ผลการทดสอบการเป็นปฏิปักษ์ของรา *B. bassiana* ต่อรา *N. dimidiatum* โดยวิธี Dual culture (Table 1) พบว่ารา *B. bassiana* สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *N. dimidiatum* สาเหตุโรคกิ่งแห้งได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.01$ ) ที่ระดับเฉลี่ย  $65.22 \pm 2.38$  เปอร์เซ็นต์ ทุกไอโซเลตของรา *N. dimidiatum* ตอบสนองต่อรา *B. bassiana* เหมือนกัน โดยพบบริเวณใส (clear zone) ระหว่างเชื้อคู่ทดสอบ บริเวณขอบโคโลนีของเชื้อ *N. dimidiatum* เปลี่ยนเป็นสีดำและหยุดการเจริญแสดงให้เห็นว่า *B. bassiana* ปลั่งสารพิษบางชนิดออกมา

**Table 1** Antagonistic ability and metabolites of *Beauveria bassiana* on isolates of *Neoscytalidium dimidiatum*

| Fungal Isolates | Growth Inhibition (%)      |                            |                        |
|-----------------|----------------------------|----------------------------|------------------------|
|                 | Dual culture <sup>1/</sup> | Non-volatile <sup>2/</sup> | Volatile <sup>2/</sup> |
| Nd-NKK2         | 65.55±3.56                 | 67.07±6.29                 | 0.00 ±0.00             |
| Nd-NKK6         | 63.11±0.8                  | 60.00±1.72                 | 0.00 ±0.00             |
| Nd-L3           | 65.11±2.4                  | 65.89±4.36                 | 0.00 ±0.00             |
| Nd-L6           | 67.11±2.76                 | 65.14±4.17                 | 0.00 ±0.00             |
| Average         | 65.22±2.38                 | 64.52±4.13                 | no effect              |

<sup>1/</sup> % Growth Inhibition =  $[(Rc-Rt)/Rc] \times 100$  where Rc = average growth of pathogen, Rt = average growth of pathogen against *B. bassiana*

<sup>2/</sup> % Inhibition =  $(C-T)/Cx100$  where C= Colony diameter in control, T= Colony diameter in treatment

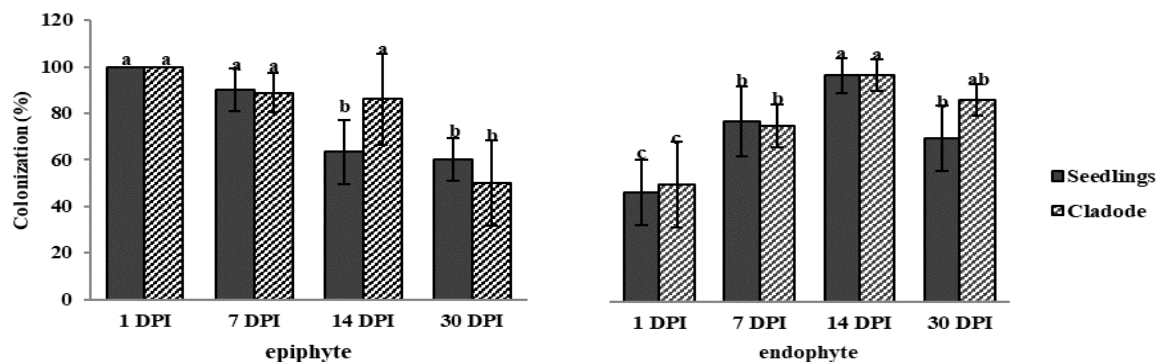
### สถานะของสารเมตาโบไลต์จาก *B. bassiana* ที่ยับยั้งการเจริญของรา *N. dimidiatum*

การยับยั้งการเจริญของรา *N. dimidiatum* ทั้งหมดเกิดจากสารเมตาโบไลต์ที่รา *B. bassiana* ปลดปล่อยลงในอาหาร และพบว่าสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *N. dimidiatum* ทั้งหมดมาจากสารไม่ระเหย (non-volatile substances) เส้นใยของเชื้อ *N. dimidiatum* ทุกไอโซเลตไม่ตอบสนองต่อสารระเหยที่อาจปล่อยมาจากเชื้อ *B. bassiana* ผลการศึกษเป็นไปในทำนองเดียวกับ Culebro-Ricaldi et al. (2017) และ Gothandapani et al. (2014) ที่พบว่ารา *B. bassiana* ปลั่งสารยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *Alternaria porri* และ รา *Fusarium oxysporum* ได้ รา *B. bassiana* ปลั่งสารปฏิชีวนะ ชนิดต่าง ๆ หรือเอนไซม์ย่อยผนังเซลล์ของรา เช่น โคติเนส ไลเปส โปรตีเอส อะมายเลส และเบตา-กลูคาเนส (Deb et al., 2017; Griffin, 2007; Petlamul et al., 2017) รวมถึงสามารถผลิตสารเมตาโบไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) เช่น beauvericin, beauverolides, bassianolides, oosporein, cyclosporine A และ oxalic acid ที่มีฤทธิ์ต้านทั้งราและแบคทีเรียออกมา (Deb et al., 2017)

### ความสามารถของรา *Beauveria bassiana* ในการอยู่ร่วมกับแก้วมังกรและประสิทธิภาพการป้องกันโรคกิ่งแห้ง

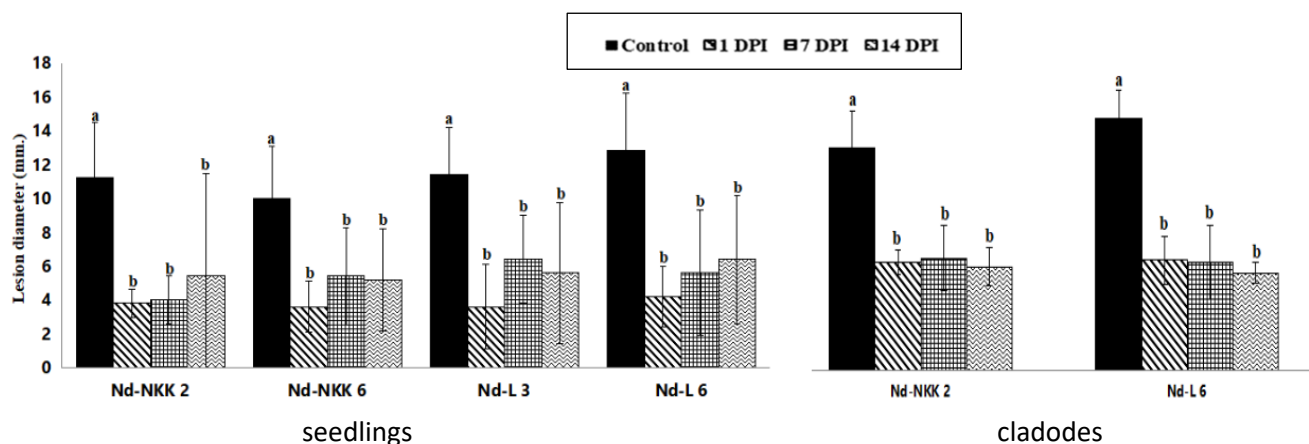
สปอร์แขวนลอยของรา *B. bassiana* คงความมีชีวิตอยู่บนผิวของแก้วมังกรหลังการฉีดพ่นได้ในรูปอิมัลชัน เป็นเวลาอย่างน้อย 30 วัน (Figure 1) เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดแบบอิมัลชันที่ลดลงตามเวลาผ่านไปทั้งบนต้นกล้าและกิ่งของแก้วมังกร ในทางตรงกันข้ามการครอบครองพื้นที่ภายในเนื้อเยื่อพืชแบบเอนโดไฟต์มีเปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้นตามจำนวนวันที่เพิ่มขึ้น โดยเชื้อ *B. bassiana* สามารถเข้าสู่พืชและเริ่มพัฒนาความสัมพันธ์การเป็นเอนโดไฟต์กับแก้วมังกรตั้งแต่วันแรกที่สัมผัสกัน ทุกส่วนของต้นกล้า และใบมีระดับการครอบครองพื้นที่การเป็นเอนโดไฟต์ในระดับ 100 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 14 วัน สอดคล้องกับ Nishi et al. (2020) ที่พบว่ารา *B. bassiana* สามารถเจริญบนใบมะเขือเทศได้ทั้งบนผิวใบ (epiphyte) โดยสร้างโครงสร้างที่คล้าย appressorium แหว่งผ่านชั้นคิวติเคิล (cuticle) ช่องเปิดตามธรรมชาติหรือบาดแผลที่ผิวพืชพัฒนาเป็นเอนโดไฟต์ ครอบครองพื้นที่ในเนื้อเยื่อพืช ความเร็วในการเข้าครอบครองพื้นที่ในเนื้อเยื่อพืชในรูป เอนโดไฟต์ ของรา *B. bassiana* ในแก้วมังกรใกล้เคียงกับการเข้าครอบครองใบกะหล่ำตั้งแต่เวลา 2, 4, 7, 10, 12 และ

14 วัน ด้วยเปอร์เซ็นต์การเพิ่ม 30.0, 44.4, 70.7, 71.4, 70.8 และ 70.2 % ตามลำดับ การคงความสัมพันธ์การเป็นเอนโดไฟต์ภายในพืชอาจเกี่ยวข้องกับอายุพืช ตำแหน่งที่ปลูกเชื้อ (Silva et al. 2020). และความสัมพันธ์ระหว่างชนิดพืชอาศัยและราเอนโดไฟต์ รวมไปถึงสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมกับการเจริญของราเอนโดไฟต์ (Gautam et al., 2016) ในการศึกษาการคงสภาพเอนโดไฟต์ในต้นกล้าลดลงแต่คงที่ในกิ่งพันธุ์แก้วมังกรเป็นไปในการทำงานเดียวกับที่พบในใบและลำต้นของมะเขือเทศโดย Silva et al. (2020)



**Figure 1** Colonization of *B. bassiana* as epiphyte and endophyte on seedlings and cladodes of dragon fruit after inoculation (DPI=day of post inoculation)

การฉีดพ่นสปอร์แขวนลอยของรา *B. bassiana* บนต้นกล้า และกิ่ง ของแก้วมังกร 1, 7 และ 14 วัน ก่อนการปลูกเชื้อ *N. dimidiatum* มีผลลดความรุนแรงของโรคได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ต้นกล้าตอบสนองต่อการเกิดโรคเช่นเดียวกับกิ่ง (Figure 2) โดยมีการตอบสนองต่อการเกิดโรคและการป้องกันโรคได้ทันทีหลังจากการฉีดพ่นสปอร์แขวนลอย ระดับความสามารถการป้องกันโรคไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อปล่อยเวลาให้ *B. bassiana* ปรับตัวอยู่ร่วมกับแก้วมังกร และการตอบสนองต่อรา *N. dimidiatum* ต่างไอโซเลตไม่มีความแตกต่างเช่นเดียวกัน Figure 2 แสดงผลการพ่นสปอร์แขวนลอยราปฏิปักษ์บนต้นกล้าแก้วมังกร ก่อนการปลูกรา *N. dimidiatum* ไอโซเลต Nd-NKK2, Nd-NKK6, Nd-L3 และ Nd-L6 เป็นเวลา 1 วัน มีขนาดแผล  $3.80 \pm 0.84$ ,  $3.60 \pm 1.52$ ,  $3.60 \pm 2.51$  และ  $4.20 \pm 1.79$  มม. ตามลำดับ การฉีดพ่นสปอร์แขวนลอยราปฏิปักษ์ก่อนการปลูกเชื้อก่อโรค 7 วัน มีขนาดแผล  $4.00 \pm 1.41$ ,  $5.40 \pm 2.89$ ,  $6.40 \pm 2.59$  และ  $5.60 \pm 3.71$  มม. ตามลำดับ การพ่นสปอร์แขวนลอยราปฏิปักษ์ก่อนการปลูกเชื้อ 14 วัน มีขนาดแผล  $5.40 \pm 6.06$ ,  $5.20 \pm 3.03$ ,  $5.60 \pm 4.16$  และ  $6.40 \pm 3.78$  มม. ตามลำดับ ส่วนผลการทดสอบบนกิ่งแก้วมังกรพบว่าการฉีดพ่นสปอร์แขวนลอยรา *B. bassiana* แต่ละระยะเวลาที่ทดสอบ มีความรุนแรงของเชื้อสาเหตุโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยการฉีดพ่นสปอร์แขวนลอยราปฏิปักษ์ก่อนการปลูกรา *N. dimidiatum* ไอโซเลต Nd-NKK2 และ Nd-L6 เป็นเวลา 1 วัน มีขนาดแผล  $6.37 \pm 0.75$  และ  $6.50 \pm 1.41$  มม. การพ่นสปอร์แขวนลอยราปฏิปักษ์ก่อนการปลูกเชื้อ 7 วัน มีขนาดแผล  $6.62 \pm 1.93$  และ  $6.37 \pm 2.17$  มม. และการพ่นสปอร์แขวนลอยราปฏิปักษ์ก่อนการปลูกเชื้อ 14 วัน มีขนาดแผล  $6.12 \pm 1.11$  และ  $5.75 \pm 0.64$  มม. ตามลำดับ

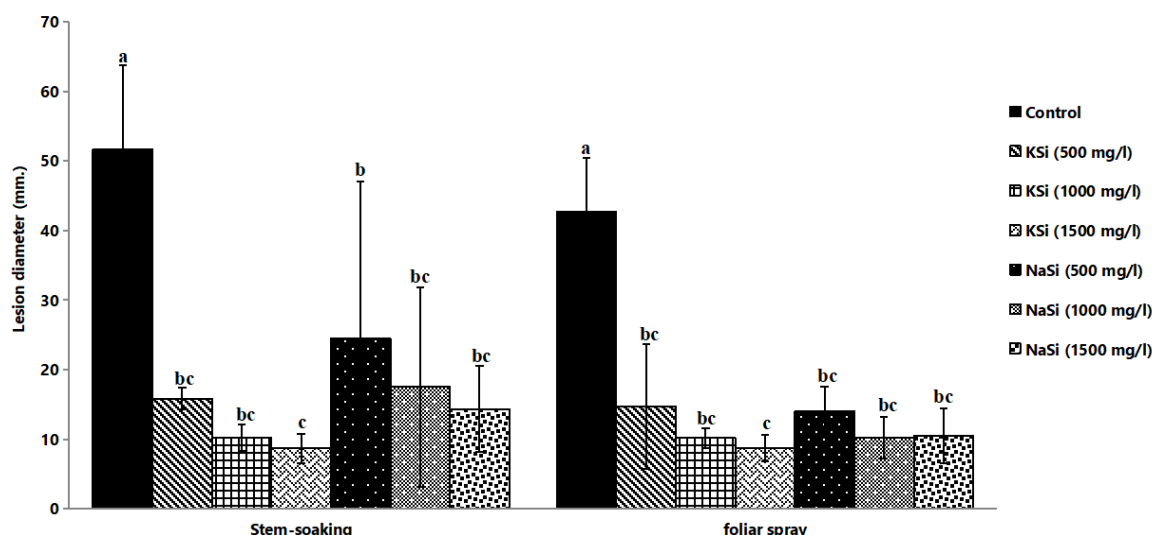


**Figure 2** Effect of *B. bassiana* on disease severity of *N. dimidiatum* isolates on seedlings and cladodes of dragon fruit after inoculation. (DPI=day of post inoculation)

การที่รา *B. bassiana* มีความสามารถในการควบคุมเชื้อสาเหตุโรคพืชได้นั้น อาจเกิดจากกลไกหลายๆ กลไก ไม่ว่าจะเป็นการที่ราปฏิปักษ์สามารถเป็นเอนโดไฟต์ภายในต้นพืชหรือการเป็นอิมโฟไฟต์อยู่บนผิวพืช การผลิตสารพิษออกมายับยั้งหรือควบคุมเชื้อสาเหตุโรค รวมไปถึงการกระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทานต่อโรค (Deb et al., 2017; Jaber, 2015) การศึกษาของ Culebro-Ricaldi et al. (2017) พบว่าการใช้รา *B. bassiana* ไอโซเลต 1215 ที่ความหนาแน่น  $1 \times 10^7$  สปอร์/มล. ฉีดพ่นทางใบ, ฉีดพ่นทางลำต้นและราดลงดิน 7 วัน ก่อนการปลูกรา *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* สาเหตุโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ พบว่าสามารถลดความรุนแรงของเชื้อสาเหตุโรคได้ เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ารา *B. bassiana* สามารถยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคได้หลายชนิด เช่น *Phytophthora megasperma* (Lozano-Tovar et al., 2017), *Plasmopara viticola* (Jaber, 2015; Rondot and Reineke., 2019), *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* และ *Pythium* sp. เป็นต้น (Kichaoui et al., 2017; Ownley et al., 2010; Prabhukarthikeyan et al., 2014)

### ประสิทธิภาพของเกลียวซิลิกอนในการควบคุมโรคกิ่งแห้งในโรงเรือน

การแช่และการพ่นโปแตสเซียมซิลิเกต และโซเดียมซิลิเกต ที่ระดับความเข้มข้น 500, 1,000 และ 1,500 มก./ล. บนท่อนพันธุ์แก้วมังกร เพื่อกระตุ้นความต้านทานในแก้วมังกร ก่อนการปลูกรา *N. dimidiatum* เป็นเวลา 7 วัน พบว่า หลังจากปลูกเชื้อสาเหตุโรคเป็นเวลา 28 วัน ทั้งสองการทดสอบในทุก ๆ วิธี สามารถลดความรุนแรงของโรคได้อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบกับพืชควบคุม (Figure 3) วิธีการแช่และการพ่นสารซิลิกอน มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน ในการป้องกันโรคกิ่งแห้งที่เกิดจากรา *N. dimidiatum* ได้ในทุกๆระดับความเข้มข้นและสารโปแตสเซียมซิลิเกต หรือ โซเดียมซิลิเกต มีประสิทธิภาพป้องกันโรคได้ไม่แตกต่างกัน



**Figure 3** Means lesion length of stem canker disease on cladodes of dragon fruit treated with potassium silicate (KSi) and sodium silicate (NaSi). Means followed by different letters in the same graph are significant ( $P < 0.05$ ) different based on least significant difference

ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าซิลิกอนสามารถกระตุ้นความต้านทานในพืชได้ภายใน 7 วัน อาจเกิดจาก 2 กลไกของซิลิกอน (Si) ที่ชักนำให้พืชเกิดความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรค คือ กลไกในการทำหน้าที่เป็นสิ่งขัดขวาง (physical barrier) โดยไปสะสมอยู่ที่เซลล์ผิว epidermal tissue หรือ ชั้น cuticle ของพืช ซึ่งชั้นเหล่านี้สามารถขัดขวางการเข้าทำลายหรือการแทงของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรคผ่านเซลล์พืช ทำให้หยุดกระบวนการเข้าทำลายหรือการติดเชื้อสาเหตุโรคได้ นอกจากนั้นยังมีกลไกในการชักนำให้พืชเกิดความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรค (Induced systemic resistance: ISR) โดยกระตุ้นให้พืชผลิตสารฟีนอลิก (phenolic) ไฟโตอเล็กซิน (phytoalexin) หรือเอนไซม์ chitinases peroxidases และ polyphenoloxdases ซึ่งสารเหล่านี้มีความสามารถในการยับยั้งการเจริญหรือกระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทานต่อทั้งโรคที่เกิดจากรา แบคทีเรีย ไวรัสและแมลงศัตรูพืชได้ (Datnoff et al., 2007; Liang et al., 2015) นอกจากนี้ยังพบรายงานที่ คลอโรซิลิกเกต โพแทสเซียมซิลิกเกต และโซเดียมซิลิกเกต สามารถทำให้พืชเกิดความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคต่างๆ ได้ เช่น มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรครากเน่าของกุหลาบ โรคน้ำค้างหรือโรคราแป้งทั้งในข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ แตงกวา และแตงโม (สุริยวัณ และ คณะ, 2559; Dallagnol et al., 2012; Elsharkawy et al., 2015; Fauteux et al., 2006) Nurul fazihah et al. (2019) ทำการทดสอบการใช้ซิลิกอนในต้นแก้วมังกร เพื่อควบคุมราสาเหตุโรคพืช โดยใช้วิธีการรดลงดิน ในระดับความเข้มข้น 1.5, 2.5 และ 5.0 มล./ล. หลังจากนั้นตรวจสอบเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคและระดับความรุนแรง ตั้งแต่เริ่มปลูกจนถึงระยะการเก็บเกี่ยวพบว่า ระดับความเข้มข้นที่ 5.0 มล./ล. พบการสะสมซิลิกอนในต้นแก้วมังกรมากที่สุดและยังทำให้ดัชนีการเกิดโรคลดลงมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม รองลงมาคือระดับความเข้มข้น 2.5 และ 1.5 มล./ล. ตามลำดับ และยังพบว่าผลแก้วมังกรสามารถสะสมซิลิกอนได้สูงกว่าลำต้น นอกจากนั้นซิลิกอนยังช่วยพัฒนาเรื่องความหวานในผล เพิ่มความแข็งแรงภายในเนื้อเยื่อพืชที่เป็นอุปสรรคต่อทั้งโรคและแมลง ส่งผลให้การใช้ซิลิกอนเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการป้องกันและควบคุมเชื้อสาเหตุโรคได้นอกจากการใช้สารเคมี รวมไปถึงลดสารตกค้างภายในผลผลิตและลดมลภาวะที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย (Epstein and Bloom, 2005)

## สรุป

รา *B. bassiana* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของรา *N. dimidiatum* ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและระดับเรือนทดลอง การเพาะเลี้ยงราปฏิปักษ์กับเชื้อสาเหตุโรคร่วมกันมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยเชื้อสาเหตุโรค ด้วยการปล่อยอินทรีย์สารชนิดไม่ระเหยลงมาในอาหารมีผลทำให้ราสาเหตุโรคเจริญช้าลงได้ ราปฏิปักษ์ *B. bassiana* สามารถคงมีชีวิตอยู่บนผิวพืช



(epiphyte) และในเนื้อเยื่อพืช (endophyte) ได้ กระตุ้นให้พืชเกิดความต้านทาน ส่งผลให้ลดความรุนแรงของเชื้อสาเหตุโรคได้อย่างน้อย 14 วันหลังการพ่นราปฏิปักษ์และแต่ละระยะเวลาที่ใช้ในการพ่นเชื้อสามารถลดความรุนแรงของโรคได้ไม่แตกต่างกัน ส่วนการทดสอบเชื้อซิลิกอนทั้งโปแตสเซียมซิลิเกต และโซเดียมซิลิเกต ลงบนผิวพืชหรือแช่ส่วนของกิ่งมีประสิทธิภาพในการป้องกันโรคที่เกิดจากรา *N. dimidiatum* ได้ในทุกความเข้มข้นและไม่มีความแตกต่างกัน ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าการดูแลรักษาแก้วมังกรให้คงสภาพแข็งแรงทนทานต่อโรคสำคัญต้องใช้หลักการวิธีผสมผสาน นอกเหนือจากการเช็ดกรรมและการตัดแต่งกิ่งเป็นประจำแล้ว การเสริมความแข็งแรงให้กับพืช ด้วยการฉีดพ่นรา *B. bassiana* ให้อาศัยอยู่ร่วมกับแก้วมังกรในรูปอิมโฟไฟต์และเอนโดไฟต์ หรือการให้เกลือซิลิกอนโดยวิธีการแช่หรือฉีดพ่นทางใบ มีแนวโน้มช่วยเสริมความต้านทานและความแข็งแรงให้กับพืชหรือมีการสลับกับการใช้สารเคมีควบคุมชั่วคราวในช่วงที่มีการสะสมของโรคมามากเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรค

### เอกสารอ้างอิง

- สุริย์วัลย์ เมฆมกล, กาญจนา วิจิตตระกูลถาวร, และเรณู สุวรรณพรสกุล. 2559. ผลของโพแทสเซียมซิลิเกตในการควบคุมโรคราแป้งและราน้ำค้างของแตงกวาญี่ปุ่นภายใต้สภาพโรงเรือนและแปลงปลูกของเกษตรกร. วารสารเกษตร 32(1): 51-59.
- Athipunyakom P., S. Seemadua, and C. Dongsard. 2015. Dragon fruit (pitaya) diseases in Thailand: Incidence and management strategies. pp. 95-106. In: Proc. Inter. Workshop on Improving Pitaya Production and Marketing, Fengshan, Kaohsiung, Taiwan.
- Chuang, M.F., H.F. Ni, H.R. Yang, S.L. Shu, and S.Y. Lai. 2012. First report of stem canker disease of pitaya (*Hylocereus undatus* and *H. polyrhizus*) caused by *Neoscytalidium dimidiatum* in Taiwan. Plant Disease. 96(6): 906-906.
- Crespo, R., N. Pedrini, M.P. Juarez, and G.M. Dal Bello. 2008. Volatile organic compounds released by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. Microbiological Research. 163: 148-151.
- Culebro-Ricaldi, J.M., V.M. Ruiz-Valdiviezo, M.A. Rodríguez-Mendiola, M.E. Ávila-Miranda, F.A. Gutiérrez Miceli, and R.I. Cruz-Rodríguez. 2017. Antifungal properties of *Beauveria bassiana* strains against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 in tomato crop. Journal of environmental biology. 38: 821-827.
- Dallagnol, L.J., Rodrigues, F.A.O. Tanaka, L. Amorim, and L.E.A. Camargo. 2012. Effect of potassium silicate on epidemic components of powdery mildew on melon. Plant Pathology. 61(2): 323-330.
- Datnoff, L.E., W.H. Elmer, and D.M. Huber. 2007. Mineral nutrition and plant disease. American Phytopathological Society (APS Press). St. Paul, M.A.
- Deb, L., T. Rajesha, R.K. Tombisana, and D. Majumdera. 2017. Antagonistic potential of *Beauveria* sp. against phytopathogens. Bulletin of environment, pharmacology and life sciences. 3: 207-212.
- Debona, D., F.A. Rodrigues, and L.E. Datnoff. 2017. Silicon's role in abiotic and biotic plant stresses. Annual review of phytopathology. 55: 85-107.
- Elsharkawy, M.M., T. Hase, M. Shimizu, and M. Hyakumachi. 2015. Suppressive effects of a polymer sodium silicate solution on powdery mildew and root rot diseases of miniature rose. African journal of biotechnology. 14(42): 2917-2927.
- Epstein, E., and A. J. Bloom. 2005. Mineral nutrition of plants: principles and perspectives, 2nd edn. Sinauer association. Inc. Sunderland. UK.
- Fauteux, F., F. Chain, F. Belzile, J.G. Menzies, and R.R. Bélanger. 2006. The protective role of silicon in the *Arabidopsis*-powdery mildew pathosystem. Proceedings of the national academy of sciences. 103(46): 17554-17559.



- Gautam, S., S. Mohankumar, and J.S. Kennedy. 2016. Induced host plant resistance in cauliflower by *Beauveria bassiana*. Journal of entomology and zoology studies. 4(2): 476-482.
- Gothandapani, S., G. Boopalakrishnan, N. Prabhakaran, B.S. Chethana, M. Aravindhana, M. Saravanakumar, and G. Ganeshan. 2014. Evaluation of entomopathogenic fungus against *Alternaria porri* (Ellis) causing purple blotch disease of onion. Arch phytopathol. Plant protect. 48: 135-144.
- Griffin, M. R. 2007. *Beauveria bassiana*: A Cotton Endophyte with Biocontrol Activity Against Seedling Disease. University of Tennessee, Knoxville.
- Greenfield, M., M. I. Gómez-Jiménez, V. Ortiz, F. E. Vega, M. Kramer, and S. Parsa. 2016. *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* endophytically colonize cassava roots following soil drench inoculation. Biological control. 95: 40-48.
- Haynes, R. J. 2014. A contemporary overview of silicon availability in agricultural soils. Journal of plant nutrition and soil science. 177(6): 831-844.
- Hildebrand, A.A. 1953. An elaboration of the toothpick method of inoculating plants. Canadian journal of agricultural science. 33: 506.
- Hieu, N.T., and N.V. Hoa. 2015. Management strategies of major pitaya diseases in Vietnam. Management of Pests and Diseases. FFTC 2015 Ann. Rep., Taiwan.
- Jaber, L.R. 2015. Grapevine leaf tissue colonization by the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* s.l. and its effect against downy mildew. BioControl. 60: 103-112.
- Kichaoui, A.E., K. Elnabris, A. Shafie, N. Fayyad, M. Arafa, and M.E. Hindi. 2017. Development of *Beauveria bassiana*-Based Bio-Fungicide Against Fusarium Wilt Pathogens for *Capsicum annuum*, a Promising Approach Toward Vital Biocontrol Industry in Gaza Strip. UG journal of natural studies. 183-190.
- Lan, G.B, Z.F. He, P.G. Xi, and Z D. Jiang. 2012. First report of brown spot disease caused by *Neoscytalidium dimidiatum* on *Hylocereus undatus* in Guangdong, Chinese Mainland. Plant disease. 96(11): 1702-1702.
- Lee, J.M., W.S. Tan, and A.S.Y. Ting. 2014. Revealing the antimicrobial and enzymatic potential of culturable fungal endophytes from tropical pitcher plants (*Nepenthes* spp.). Mycosphere. 5(2): 364-377.
- Liang, Y., M. Nikolic, R. Bélanger, H. Gong, and A. Song. 2015. Silicon in Agriculture. From Theory to Practice. Springer, Dordrecht.
- Liarzi, O., E. Bar, E. Lewinsohn, and D. Ezra. 2016. Use of the endophytic fungus *Daldinia cf. concentrica* and its volatiles as bio-control agents. Plos. One. 11(12): 1-18.
- Lozano-Tovar, M.D., I. Garrido-Jurado, E. Quesada-Morgan, M.C. Raya-Ortega, and A. Trapero-Casas. 2017. *Metarhizium brunneum* and *Beauveria bassiana* release secondary metabolites with antagonistic activity against *Verticillium dahliae* and *Phytophthora megasperma* olive pathogens. Crop Protection. 100: 186-195.
- Ma, J.F., and N. Yamaji. 2006. Silicon uptake and accumulation in higher plants. Trends in plant science. 11(8): 392-397.
- Morton, D.J., and W.H. Stroube. 1995. Antagonistic and stimulating effects of soil microorganism upon *Sclerotium rolfsii*. Phytopathology. 45: 417-420.

- Nishi, O., H. Sushida, Y. Higashi, and Y. Iida. 2020. Epiphytic and endophytic colonisation of tomato plants by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* strain GHA. *Mycology: An international journal on fungal biology*. 12(1): 39-47.
- Nontajak, S., O. Khamjoy, J. Janthima, and N. Jonglaekha. 2018. Pitaya disease management in northern Thailand. Dragon Fruit Regional Network Initiation Workshop. Taipei, Taiwan.
- Nurul Faziha, I., M.R. Muhammad Ariff, N.A. Fahim, P. Mohamad Naziem Ezzry, and L. Suhaizan. 2019. Potential of silicon nutrient in reducing fungal disease in red-dragon fruit. *Malaysian applied biology*. 48(1): 43-49.
- Ownley, B.H., K.D. Gwinn, and F.E. Vega. 2010. Endophytic fungal entomopathogens with activity against plant pathogens: ecology and evolution. *BioControl*. 55(1): 113-128.
- Petlamul, W., T. Sriporngam, N. Buakwan, S. Buakaew, and K. Mahamad. 2017. The capability of *Beauveria bassiana* for cellulase enzyme production. P. 62-66. Proceedings of 7th international conference on bioscience, biochemistry and bioinformatics.
- Prabhukarthikeyan, R., D. Saravanakumar, and T. Raguchander. 2014. Combination of endophytic *Bacillus* and *Beauveria* for the management of Fusarium wilt and fruit borer in tomato. *Pest management science*. 70: 1742-1750.
- Rai, R. V., and T. Mamatha. 2005. Seedling diseases of some important forest tree species and their management. In proceedings of the diseases and insects in forest nurseries. *Proc. IUFRO* 5: 6-8.
- Rodrigues, F.A., and L.E. Datnoff. 2005. Silicon and rice disease management. *Fitopatologia brasileira*. 30(5): 457-469.
- Rondot, Y., and A. Reineke. 2019. Endophytic *Beauveria bassiana* activates expression of defense genes in grapevines and prevents infections by grapevine downy mildew *Plasmopara viticola*. *Plant Pathology*. 69(8): 1719-1731.
- Silva, A.C.L., G.A. Silva, P.H.N. Abib, A. T. Carolino, and R. I. Samuels. 2020. Endophytic colonization of tomato plants by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for controlling the South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*. *CABI Agric Biosci*. 1: 3.
- Simon, A., R.W. Dunlop, E.L. Ghisalberti, and K. Sivasithamparam. 1988. *Trichoderma koningii* produce a pyrone compound with antibiotic properties. *Soil biology and biochemistry*. 20: 263-264.
- Sung, G.H., N.L. Hywel-Jones, J.M. Sung, J.J. Luangsa-ard, B. Shrestha, and J.W. Spatafora. 2007. Phylogenetic classification of *Cordyceps* and the clavicipitaceous fungi. *Studies in mycology*. 57: 5-59.
- Wang, J., Y. Zhou, X. Zhang, F. Liu, Y. Li, K. Li, Z. Liu, G. Wang, and W. Gao. 2017. Efficient generation of an array of single silicon-vacancy defects in silicon carbide. *Physical review applied*. 7(6): 064021.
- Xu, M., Y. Peng, Z. Qi, Z. Yan, L. Yang, M. D. He, Q.X. Li, C.L. Liu, Y.Z. Ruan, S.S. Wei, J. Xie, Y.Q. Xia, and H. Tang. 2018. Identification of *Neoscytalidium dimidiatum* causing canker disease of pitaya in Hainan, China. *Australasian plant pathology*. 47(5): 547-553.