

ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสับปะรดและมะละกอ ในการต่อต้านราก่อโรคแอนแทรกโนสในพริก

Efficiency of Pineapple and Papaya Crude Extracts Against Chilli Anthracnose Disease

ธารทิพย์ รัตน์ะ*

โปรแกรมวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา ตำบลในเมือง อำเภอเมืองนครราชสีมา จังหวัดนครราชสีมา 30000

Tarntip Rattana*

Environmental Science Program, Faculty of Science and Technology,
Nakhon Ratchasima Rajabhat University, Nai Muang, Muang, Nakhon Ratchasima, 30000

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบชีวภาพ 4 ชนิด จากมะละกอและสับปะรด โดยใช้ตัวทำละลายน้ำและน้ำหมักจาก EM และทดสอบการยับยั้งรา *Colletotricum capsici* และ *C. gloeosporioides* ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและแปลงทดลอง พบว่าสารสกัดหยาบจากใบสับปะรดที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำและน้ำหมัก EM ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของรา *C. gloeosporioides* ได้ 97.45 และ 97.40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และสามารถยับยั้งการเจริญเส้นใยของรา *C. capsici* ได้ 97.40 และ 98.14 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนผลการทดสอบในแปลงทดลองพบว่าสารสกัดหยาบจากมะละกอในน้ำหมัก EM 10 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดหยาบจากใบสับปะรดในน้ำหมัก EM 1 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับสารสกัดหยาบจากใบมะละกอในน้ำหมัก EM 1 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพสูงที่ 85 และ 92.5 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการยับยั้งรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ตามลำดับ ผลการวิจัยสารสกัดหยาบจากพืชทั้ง 2 ชนิด มีแนวโน้มในการใช้ทดแทนสารเคมีเพื่อควบคุมหรือยับยั้งราก่อโรคแอนแทรกโนสในแปลงปลูกพริกของเกษตรกรได้

คำสำคัญ : สารสกัดหยาบ; การต่อต้านรา; โรคแอนแทรกโนส

Abstract

Efficiency of the bioactivity of four bioactive crude extracts from papaya and pineapple by water and EM at different concentration was evaluated. Antifungal activities against *Colletotricum capsici* and *C. gloeosporioides* were tested *in vitro* and *in vivo*. The minimum concentration of 1

% (v/v) concentration of pineapple leaf extraction showed the highest reduction on the mycelium growth of *C. gloeosporioides* in the water and the EM at 97.45 and 97.40 %, while the best fungal growth inhibition of *C. capsici* was at 97.40 and 98.14 %, respectively. The field experiment showed that *C. gloeosporioides* and *C. capsici* could be strongly controlled by 10 % concentration of papaya pericarp extraction in EM and 1 % concentration of pineapple leaf extraction mixed with 10 % papaya leaf extraction in EM at 85 and 92.5 %, respectively. Overall, a promising bioactivities plants consortium was applied as an alternative choice for inhibition the anthracnose pathogen of chilli crop.

Keywords: crude extract; against fungus; chilli anthracnose disease

1. บทนำ

พริก (*Capsicum annum* L.) เป็นพืชผักที่ให้รสเผ็ดที่เจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่เขตร้อนในประเทศไทยและยังเป็นส่วนผสมที่สำคัญในอาหารไทยหลายชนิดอีกด้วย ในพริกมีสารสำคัญหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ เช่น น้ำมันหอมระเหย capsaicinoid แคโรทีนอยด์ วิตามิน โปรตีน เส้นใย และแร่ธาตุต่าง ๆ [1] โรคแอนแทรคโนสเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้ผลผลิตพริกในประเทศไทยเสียหาย ราก่อโรคแอนแทรคโนสเป็นราสกุล *Colletotrichum* ที่สามารถทำลายผลผลิตพริกได้มากถึง 10-80 เปอร์เซ็นต์ ในบางพื้นที่ของประเทศไทยที่มีการปลูกพริก [2] ยิ่งไปกว่านั้นแผลขนาดเล็กที่เกิดจากเชื้อแอนแทรคโนสยังทำความเสียหายด้านเศรษฐกิจให้กับเกษตรกรผู้ปลูกพริกด้วย [3] ซึ่งรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* เป็นเชื้อที่ทำลายผลพริกมากที่สุด โดยรา *C. capsici* ทำให้ผลพริกที่แก่จัดสีแดงเป็นแผลได้ ในส่วนของรา *C. gloeosporioides* ทำให้ผลพริกเกิดแผลทั้งในผลพริกดิบสีเขียวและผลพริกแก่สีแดง [4] โดยการใช้สารเคมีเป็นวิธีการที่นิยมใช้ในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส ซึ่งวิธีการนี้ส่งผลกระทบต่อเกษตรกรผู้ปลูกพริกทำให้เกิดปัญหาสุขภาพและยังทำให้สิ่งแวดล้อมปนเปื้อนไปด้วยสารเคมีที่เป็นพิษอีกด้วย ดังนั้นการควบคุมโรค

แอนแทรคโนสด้วยวิธีการทางชีวภาพเป็นวิธีการที่มีศักยภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนส จากรายงานการวิจัยของ Nwinyi และ Abikoya [5] พบว่าสารสกัดจากมะละกอมีฤทธิ์ในการยับยั้งราสาเหตุของโรคแอนแทรคโนสบนผลมะละกอ ในส่วนของสารสกัดจากสับปะรดนอกจากมีเอนไซม์ bromelain แล้วยังมีเอนไซม์ chitinase ที่ช่วยย่อยผนังเซลล์ของราซึ่งประกอบด้วยไคตินได้อีกด้วย [6] ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีความสนใจสารสกัดหยาบจากสับปะรดและมะละกอซึ่งมีเอนไซม์และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญหลายชนิดในการยับยั้งราก่อโรคแอนแทรคโนส โดยนำสารสกัดจากสับปะรดและมะละกามาศึกษาประสิทธิภาพในการป้องกันและยับยั้งเชื้อก่อโรคแอนแทรคโนสเนื่องจากพืชทั้ง 2 ชนิด สามารถหาได้ง่ายในพื้นที่ต่าง ๆ ของประเทศไทย และเพื่อเป็นแนวทางในการลดต้นทุนในการผลิตของเกษตรกร

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การเตรียมราก่อโรค

เก็บตัวอย่างผลพริกที่ปรากฏอาการโรคแอนแทรคโนส นำมาล้างด้วยน้ำสะอาดผึ่งให้แห้ง จากนั้นแยกราก่อโรคด้วยเทคนิค tissue transplanting [7] บนอาหารเลี้ยงรา potato dextrose agar

(PDA) นำไปบ่มเชื้อเป็นเวลา 5-7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง คัดเลือกโคโลนีของราก่อโรค นำไปเลี้ยงบนอาหาร PDA จนได้ราก่อโรคที่บริสุทธิ์ นำราก่อโรคที่ได้ไปทดสอบความสามารถในการทำให้เกิดโรคบนพืชอาศัย ด้วยเทคนิค Koch's postulate [7] และตรวจสอบลักษณะของราก่อโรคภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อพิสูจน์ว่าราที่แยกได้เป็น *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* นำราก่อโรคที่เลี้ยงให้บริสุทธิ์ไปเก็บรักษาไว้ในอาหารลาดเอียง PDA ที่อุณหภูมิ 4 °C

2.2 การเตรียมตัวอย่างสารสกัดหยาดจากพืช

นำมะละกอและสับปะรดมาสกัดสาร โดยนำส่วนของเปลือกมะละกอ ใบมะละกอ เปลือกสับปะรด และใบกับลูกของสับปะรดมาหั่นให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปชั่งน้ำหนัก แล้วนำไปแช่กับน้ำกลั่น และน้ำหมักจากหัวเชื้อ EM ในอัตราส่วน ดังนี้

- 100 กรัม ต่อน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร
- 100 กรัม ต่อน้ำหมักจากหัวเชื้อ EM 250

มิลลิลิตร

นำใบและเปลือกมะละกอ และใบและเปลือกสับปะรด แช่น้ำ และน้ำหมักหัวเชื้อ EM ทั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง อย่างน้อย 24-48 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งสารองค์ประกอบในตัวอย่างพืชแพร่ออกมาในน้ำที่ละลายแล้ว กรองแยกสารโดยใช้ผ้าขาวบางเพื่อจะได้ส่วนที่เป็นน้ำ

2.3 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาดจากสับปะรดและมะละกอต่อกการเจริญของราก่อโรค

ทดสอบด้วยวิธี poisoned food technique โดยเตรียมอาหาร PDA ปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วนำสารสกัดหยาดจากพืชผสมใส่ในอาหาร PDA ให้ได้ปริมาตร ดังนี้ 1:10, 1:25, 1:50, 1:100 (v/v) จากนั้นเทอาหารที่ผสมแล้วลงในจานเลี้ยง

เชื้อ ในส่วนของชุดเปรียบเทียบกับจะไม่ผสมสารสกัด หลังจากผิวหน้าของอาหารที่ผสมสารสกัดและชุดเปรียบเทียบกับแห้งสนิท นำชิ้นวุ้นที่ได้จากการใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3 เซนติเมตร เจาะเส้นใยรอบโคโลนีรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ที่มีอายุ 7 วัน วางลงบนผิวหน้าอาหารที่ผสมสารสกัดหยาดจากพืช นำเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ตรวจจับผลเมื่อราในชุดเปรียบเทียบกับเจริญเต็มจานเลี้ยงเชื้อ โดยการวัดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของรา หลังจากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญโดยใช้สูตร [8] ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง} = [(A - B) / A] \times 100$$

เมื่อ A คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงราชุดเปรียบเทียบกับ

B คือ ค่าเฉลี่ยของเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีราที่เจริญบนอาหารเลี้ยงราผสมสารสกัด

โดยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งจะถูกแปลงเป็น arcsine ก่อน และนำไปวิเคราะห์ทางสถิติด้วย LSD เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างชุดการทดลอง

2.4 การเตรียมราสำหรับการทดลองในการปลูกเชื้อในต้นพริกในแปลง

เตรียมสปอร์แขวนลอย (spore suspension) ของ *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* ด้วยการเลี้ยงเชื้อบนอาหาร PDA เป็นเวลา 7-10 วัน ให้เชื้อเจริญเต็มจานเลี้ยง เติมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้วลงในจานอาหารที่มีเชื้อเจริญเต็มจาน ใช้แท่งแก้วชุดกรองเส้นใยผ่านผ้าขาวบางที่ฆ่าเชื้อแล้ว และปรับให้มีความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร นำไปฉีดพ่นบนต้นพริกพันธุ์ซูเปอร์ฮอตที่มีอายุ 2 เดือน

2.5 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาดจากสับปะรดและมะละกอต่อกการควบคุมเจริญของราก่อโรคแอนแทรคโนสในแปลงปลูก

โดยทดสอบในแปลงปลูกพริกของเกษตรกร

ตำบลวัง อำเภอบึงนาราง จังหวัดนครราชสีมา ซึ่งปลูกต้นพริกพันธุ์ซูปเปอร์ฮอต จำนวน 680 ต้น ชุดการทดลองละ 20 ต้น นิฉินพริกทั้งหมด 640 ต้น แบ่งนิฉินพริก *C. gloeosporioides* 320 ต้น และนิฉินพริก *C. capsici* 320 ต้น โดยนิฉินพริกความเข้มข้นของ 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร บนต้นพริกที่มีอายุ 2 เดือน เพื่อให้ต้นพริกเกิดโรคแอนแทรกโนส และชุดควบคุม 40 ต้น แบ่งเป็น 2 ชุดการควบคุมสำหรับราแต่ละชนิด โดยนิฉินพริกด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากรา

ทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากสับปะรดและมะละกอในการควบคุมโรคแอนแทรกโนส ซึ่งเกิดจากการเข้าทำลายของรากโรคตามธรรมชาติ เปรียบเทียบกับชุดควบคุม (น้ำกลั่น) โดยนิฉินน้ำกลั่น สารสกัดหยาบจากสับปะรด และสารสกัดหยาบจากมะละกอ (คัดเลือกจากผลการทดลองการยับยั้งด้วยวิธี poisoned food technique ที่มีประสิทธิภาพยับยั้งราโรคแอนแทรกโนส) บนต้นพริก หลังจากนิฉินพริกบนต้นพริกเป็นเวลา 1 สัปดาห์ โดยนิฉินสารสกัดหยาบชนิดต่าง ๆ ทั้งหมดต้นในปริมาตร 6 มิลลิลิตร ต่อต้น สัปดาห์ละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ ซึ่งแบ่งออกเป็นกรรมวิธีต่าง ๆ ดังนี้

รา *C. gloeosporioides* แบ่งออกเป็น 17 กรรมวิธี โดยแบ่งต้นพริกออกเป็นกรรมวิธีละ 20 ต้น ได้แก่ (1) ชุดควบคุมไม่ใส่รา *C. gloeosporioides* (2) 1 เปอร์เซ็นต์ EM ชุดควบคุมปลูกรา *C. gloeosporioides* (3) ชุดควบคุมปลูกรา *C. gloeosporioides* (4) 2 เปอร์เซ็นต์ เปลือกสับปะรด (น้ำ) (5) 10 เปอร์เซ็นต์ เปลือกสับปะรด (EM) (6) 1 เปอร์เซ็นต์ ใบสับปะรด (น้ำ) (7) 1 เปอร์เซ็นต์ ใบสับปะรด (EM) (8) 1 เปอร์เซ็นต์ เปลือกมะละกอ (น้ำ) (9) 10 เปอร์เซ็นต์ เปลือกมะละกอ (EM) (10) 2 เปอร์เซ็นต์ ใบมะละกอ (น้ำ) (11) 1 เปอร์เซ็นต์ ใบมะละกอ (EM) (12) 1 เปอร์เซ็นต์ เปลือกสับปะรด

(น้ำ) + 1 เปอร์เซ็นต์ เปลือกมะละกอ (น้ำ) (13) 1 เปอร์เซ็นต์ เปลือกสับปะรด (EM) + 1 เปอร์เซ็นต์ เปลือกมะละกอ (EM) (14) 1 เปอร์เซ็นต์ ใบสับปะรด (น้ำ) + 1 เปอร์เซ็นต์ ใบมะละกอ (น้ำ) (15) 1 เปอร์เซ็นต์ ใบสับปะรด (EM) + 1 เปอร์เซ็นต์ ใบมะละกอ (EM) (16) 1 เปอร์เซ็นต์ เปลือกสับปะรด (น้ำ) + 1 เปอร์เซ็นต์ ใบมะละกอ (น้ำ) และ (17) 1 เปอร์เซ็นต์ เปลือกสับปะรด (EM) + 1 เปอร์เซ็นต์ ใบมะละกอ (EM)

รา *C. capsici* แบ่งออกเป็น 17 กรรมวิธี โดยแบ่งต้นพริกออกเป็นกรรมวิธีละ 20 ต้น ได้แก่ (1) ชุดควบคุมไม่ใส่รา *C. capsici* (2) 1 เปอร์เซ็นต์ EM ชุดควบคุม ปลูกรา *C. capsici* (3) ชุดควบคุมปลูกรา *C. capsici* (4) 1 เปอร์เซ็นต์ เปลือกสับปะรด (น้ำ) (5) 1 เปอร์เซ็นต์ เปลือกสับปะรด (EM) (6) 1 เปอร์เซ็นต์ ใบสับปะรด (น้ำ) (7) 1 เปอร์เซ็นต์ ใบสับปะรด (EM) (8) 4 เปอร์เซ็นต์ เปลือกมะละกอ (น้ำ) (9) 4 เปอร์เซ็นต์ เปลือกมะละกอ (EM) (10) 1 เปอร์เซ็นต์ ใบมะละกอ (น้ำ) (11) 1 เปอร์เซ็นต์ ใบมะละกอ (EM) (12) 1 เปอร์เซ็นต์ เปลือกสับปะรด (น้ำ) + 1 เปอร์เซ็นต์ เปลือกมะละกอ (น้ำ) (13) 1 เปอร์เซ็นต์ เปลือกสับปะรด (EM) + 1 เปอร์เซ็นต์ เปลือกมะละกอ (EM) (14) 1 เปอร์เซ็นต์ ใบสับปะรด (น้ำ) + 1 เปอร์เซ็นต์ ใบมะละกอ (น้ำ) (15) 1 เปอร์เซ็นต์ ใบสับปะรด (EM) + 1 เปอร์เซ็นต์ ใบมะละกอ (EM) (16) 1 เปอร์เซ็นต์ เปลือกสับปะรด (น้ำ) + 1 เปอร์เซ็นต์ ใบมะละกอ (น้ำ) และ (17) 1 เปอร์เซ็นต์ เปลือกสับปะรด (EM) + 1 เปอร์เซ็นต์ ใบมะละกอ (EM)

บันทึกผลความรุนแรงของโรค (disease severity) ซึ่งมีระดับความรุนแรงของโรคอยู่ที่ 0-4 โดยระดับ 0 = ไม่มีอาการของโรค 1 = มีอาการของโรค 25 เปอร์เซ็นต์ 2 = มีอาการของโรค 26-50 เปอร์เซ็นต์

3 = มีอาการของโรค 51-75 เปอร์เซ็นต์ 4 = มีอาการของโรค 76-100 เปอร์เซ็นต์ และนำค่าที่ได้ไปคำนวณดัชนีการเกิดโรค (disease severity index, DSI) ด้วยสูตรของ Khmel และคณะ [9] ดังนี้

$$DSI = \frac{\sum (n_i \times i)}{n \times 5} \times 100$$

โดย i = ระดับความรุนแรงของโรค (0, 1, 2, 3 หรือ 4)

n_i = จำนวนต้นที่มีอาการในระดับ i

n = จำนวนต้นทั้งหมดในชุดการทดลองแต่ละชุด

และคำนวณเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิด

โรค (percent inhibition, PI) โดยใช้สูตรดังนี้

$$PI (\%) = [(A-B)/A] \times 100$$

โดย A = พื้นที่ที่แสดงอาการของโรคบนต้นพริกในต้น

พริกชุดควบคุม

B = พื้นที่ที่แสดงอาการของโรคบนต้นพริกในต้น

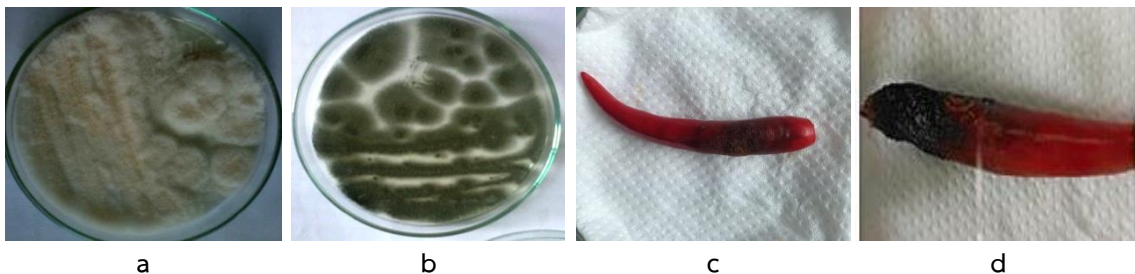
พริกชุดทดลอง

โดยการให้คะแนนระดับความรุนแรงของโรคให้ค่าดัชนีตั้งแต่ 0-5 ดูจากพื้นที่ใบที่ถูกเชื้อสาเหตุ

เข้าทำลาย โดยดัดแปลงจากเอกสารของ Plapung [10]

3. ผลการวิจัยและการวิจารณ์

การนำพริกที่เป็นผลหรือที่เป็นโรคมายกแรกก่อนโรคแอนแทรกโนส สามารถแยกโรคที่มีลักษณะเป็นเส้นใยสีขาว เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหาร PDA พบว่าเส้นใยเจริญฟูหนาแน่นบนผิวหน้าอาหาร เส้นใยมีสีขาวครีม (รูป 1a) เมื่อสร้างสปอร์เห็นเป็นหยดเมือกสีส้มเรียงเป็นวงแหวน เมื่อตรวจดูลักษณะสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ พบว่าสปอร์มีลักษณะรูปร่างเป็นท่อนสั้น หัวท้ายมน ไม่มีผนังกันภายใน ใสไม่มีสี จำแนกเป็นรา *C. gloeosporioides* [11] และอีกเชื้อที่แยกได้มีเส้นใยสีขาวบนเทา ต่อมาค่อย ๆ เปลี่ยนเป็นสีเทาดำ (รูปที่ 1b) เมื่อสร้างสปอร์มองเห็นเป็นหยดเมือกสีส้มบนโคโลนี ลักษณะสปอร์ใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่ามีรูปร่างเป็นรูปพระจันทร์เสี้ยว ไม่มีผนังกัน ใสไม่มีสี จำแนกเป็นรา *C. capsici* [12]



รูปที่ 1 เมื่อ steak เชื้อบนอาหาร PDA และบ่มไว้เป็นเวลา 10 วัน (a) ลักษณะของรา *C. gloeosporioides* และ (b) ลักษณะของรา *C. capsici* เมื่อใช้สปอร์แขวนลอยของราหยดลงบนผลพริกเป็นเวลา 7 วัน (c) อาการแผลบนผลพริกที่เกิดจากรา *C. gloeosporioides* และ (d) อาการแผลบนผลพริกที่เกิดจากรา *C. capsici*

การทดสอบอาการของโรคแอนแทรกโนสบนผลพริกตามวิธีของ Koch (Koch's postulation) พบว่าผลพริกเมื่อรา *C. gloeosporioides* เข้าทำลายผลพริกจะเกิดแผลลักษณะเป็นรูปยาวรี ยุบตัวลงบริเวณแผลมีสีเหลืองส้มซึ่งเป็นกลุ่ม acervuli ของเชื้อ

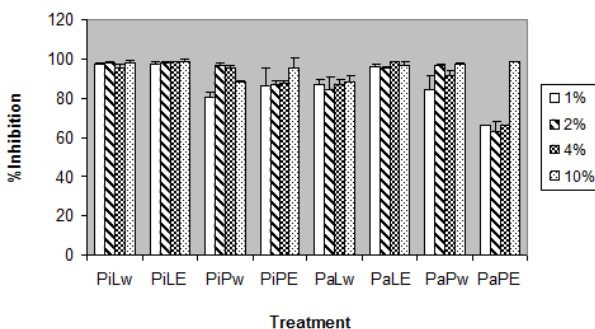
ที่ไม่มี setae ถ้าอายุมากสีจะคล้ำลงเล็กน้อยดังรูป 1c ส่วนรา *C. capsici* เมื่อเข้าทำลายผลพริกจะเกิดแผลที่มีลักษณะยุบตัวลง มีรูปร่างเป็นวงกลมหรือวงรี ขอบแผลสม่ำเสมอ มีจุดสีดำซึ่งเป็นกลุ่มของ acervuli กระจายอยู่บนแผล เช่นเดียวกับ จีรัสสา [13] รายงาน

ไว้ ดังรูปที่ 1d

3.1 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัด หยาบจากสับปะรดและมะละกอต่อกำการเจริญของรา ก่อโรค

การทดสอบประสิทธิภาพต่อการยับยั้งรา *C. gloeosporioides* ของสารสกัดหยาบจากใบสับปะรดโดยมีน้ำเป็นตัวทำละลายด้วยวิธี poisoned food technique พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของราได้ 95.55-98.14 เปอร์เซ็นต์ ดังรูปที่ 2 และ 3 ในส่วนของการวิเคราะห์ทางสถิติความเข้มข้นของสารสกัดหยาบที่ 1 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกับที่ความเข้มข้น 2, 4 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นสามารถจึงใช้ความเข้มข้นต่ำที่สุด เนื่องจากยับยั้งราก่อโรคแอน

แทรกโนสได้ไม่แตกต่างจากความเข้มข้นที่สูงกว่า และมีผลที่คล้ายคลึงกันในส่วนของการทดสอบประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจากใบสับปะรดโดยมีน้ำหมักจาก EM เป็นตัวทำละลาย ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของราได้ 97.03-98.88 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าสามารถใช้ที่ความเข้มข้นของสกัดที่ 1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งนับว่ามีประสิทธิภาพมากในการยับยั้งราก่อโรคแอนแทรกโนส เช่นเดียวกับ Taira และคณะ [6] ที่รายงานว่าในใบสับปะรดพบเอนไซม์ chitinase A, chitinase B และ chitinase C ซึ่งเอนไซม์ chitinase B เป็นเอนไซม์ที่เป็นด่างอ่อน ๆ สามารถยับยั้งราได้ดี และ chitinase C สามารถยับยั้งราได้เล็กน้อย



PiLw: สารสกัดหยาบจากใบสับปะรดในน้ำ

PiLE : สารสกัดหยาบจากใบสับปะรดในน้ำหมักจาก EM

PiPw : สารสกัดหยาบจากเปลือกสับปะรดในน้ำ

PiPE: สารสกัดหยาบจากเปลือกสับปะรดในน้ำหมักจาก EM

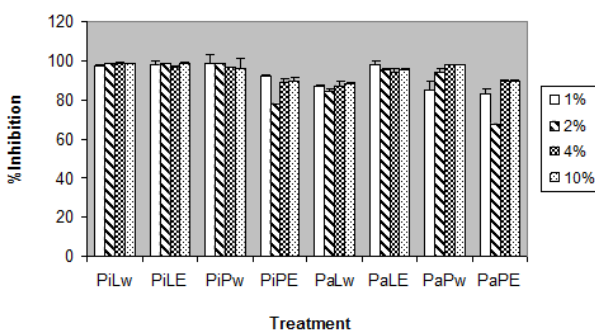
PaLw: สารสกัดหยาบจากใบมะละกอในน้ำ

PaLE: สารสกัดหยาบจากใบมะละกอในน้ำหมักจาก EM

PaPw: สารสกัดหยาบจากเปลือกมะละกอในน้ำ

PaPE: สารสกัดหยาบจากเปลือกมะละกอในน้ำหมักจาก EM

รูปที่ 2 ผลการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *Colletotrichum gloeosporioides* โดยสารสกัดหยาบจากสับปะรดและมะละกอในตัวทำละลายน้ำและน้ำหมักจาก EM



PiLw: สารสกัดหยาบจากใบสับปะรดในน้ำ

PiLE : สารสกัดหยาบจากใบสับปะรดในน้ำหมักจาก EM

PiPw : สารสกัดหยาบจากเปลือกสับปะรดในน้ำ

PiPE: สารสกัดหยาบจากเปลือกสับปะรดในน้ำหมักจาก EM

PaLw: สารสกัดหยาบจากใบมะละกอในน้ำ

PaLE: สารสกัดหยาบจากใบมะละกอในน้ำหมักจาก EM

PaPw: สารสกัดหยาบจากเปลือกมะละกอในน้ำ

PaPE: สารสกัดหยาบจากเปลือกมะละกอในน้ำหมักจาก EM

รูปที่ 3 ผลการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา *Colletotrichum capsici* โดยสารสกัดหยาบจากสับปะรดและมะละกอในตัวทำละลายน้ำและน้ำหมักจาก EM

ผลของสารสกัดหยาบจากเปลือกสับปะรด โดยมีน้ำเป็นตัวทำละลายนั้นสามารถยับยั้งการเจริญของราทั้ง 2 ชนิด ได้ 80.74-98.51 เปอร์เซ็นต์ และสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำหมัก EM มีเปอร์เซ็นต์ในการยับยั้งราได้ 77.77-95.55 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 2 และ 3) เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นที่ใช้ทดลองในทางสถิติ ทั้งที่มีน้ำและน้ำหมัก EM เป็นตัวทำละลาย พบว่าสามารถใช้ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบในปริมาณต่ำที่สุดที่ 1 % เนื่องจากไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติสำหรับรา *C. capsici* ส่วนรา *C. gloeosporioides* เลือกใช้ที่ความเข้มข้นของสารสกัดที่ 2 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ในตัวทำละลายน้ำและน้ำหมัก EM ตามลำดับ เนื่องจากมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งราสูงสุดในแต่ละชนิดของสารสกัดหยาบ ผลของสารสกัดจากเปลือกสับปะรดสามารถยับยั้งการเจริญได้เป็นไปตามที่ Taira และคณะ [6] รายงานไว้ว่าในเปลือกสับปะรดมี chitinase A ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่สามารถทำลายผนังเซลล์ของราที่มีองค์ประกอบของไคติน ดังนั้นจึงสามารถยับยั้งการเจริญของราได้

การศึกษาประสิทธิภาพสารสกัดหยาบจากใบมะละกอโดยมีน้ำเป็นตัวทำละลายนั้นสามารถยับยั้งการเจริญของราทั้ง 2 ชนิด ได้ 84.81-88.14 เปอร์เซ็นต์ และในตัวทำละลายที่เป็นน้ำหมักมีการยับยั้งได้ 95.18-98.51 เปอร์เซ็นต์ (รูปที่ 2 และ 3) ในส่วนของการวิเคราะห์ทางสถิติความเข้มข้นของสารสกัดหยาบจากตัวทำละลายทั้งสองชนิดพบว่าสามารถใช้ความเข้มข้นของสารสกัดที่ความเข้มข้นต่ำที่สุดได้ (1 เปอร์เซ็นต์) เนื่องจากผลในการยับยั้งราก่อโรคแอนแทรกโมนั้นไม่แตกต่างจากความเข้มข้นที่สูงกว่า การที่สารสกัดหยาบจากมะละกอสามารถยับยั้งการเจริญของราก่อโรคแอนแทรกโมนส์ได้อย่างมีประสิทธิภาพได้ สอดคล้องกับรายงานของ Chavez-Quintal และคณะ [14] ที่เสนอว่าสารเคมีที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่สกัดได้จากใบมะละกอ

ได้แก่ alkaloid flavonoid และ terpene สาร alkaloid ที่มีความสำคัญในการป้องกันเชื้อก่อโรคในพืช และในใบมะละกอยังมีเอนไซม์ proteolytic เช่น ปาเปน ไคโมปาเปน เป็นองค์ประกอบด้วย นอกจากนี้เอนไซม์ของใบมะละกอยังมีเอนไซม์ chitinase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งราในการทดสอบทางชีวเคมี ทำให้สารสกัดใบมะละกามีประสิทธิภาพดีกว่าในการยับยั้งการเจริญของ mycelial ของรา *C. gloeosporioides* และ *Fusarium* sp. เมื่อเปรียบเทียบสารสกัดจากเมล็ดมะละกอสุกและดิบ

ผลของสารสกัดหยาบจากเปลือกมะละกอ โดยมีน้ำเป็นตัวทำละลายนั้นสามารถยับยั้งการเจริญของราต่อการยับยั้งรา *C. gloeosporioides* ได้ 84.81-97.40 เปอร์เซ็นต์ ในส่วนของการสกัดสารที่มีน้ำหมักเป็นตัวทำละลายนั้นสามารถยับยั้งการเจริญของราได้ 62.96-98.51 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นที่ใช้ทดลองในทางสถิตินั้นพบว่าเลือกใช้ที่ความเข้มข้นที่ 1 และ 10 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งสารสกัดเปลือกมะละกอในน้ำและในน้ำหมัก EM ในส่วนของรา *C. capsici* พบว่าที่ความเข้มข้นของสารสกัดที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดอยู่ที่ 4 เปอร์เซ็นต์ ทั้งในตัวทำละลายที่เป็นน้ำและน้ำหมัก EM การที่สารสกัดที่ได้จากเปลือกมะละกอสามารถยับยั้งการเจริญของรานี้ได้ดี ซึ่งสอดคล้องตามรายงานของ Bandasak และคณะ [15] ที่ระบุว่าในยางดิบของมะละกอประกอบไปด้วยโปรตีนหลายชนิดโดยมีเอนไซม์ protease อยู่มากถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ขององค์ประกอบที่เป็นโปรตีนในยางมะละกอ นอกจากนั้นยังมีเอนไซม์ chitinase และ trypsin ที่สามารถยับยั้ง pro-region protein ได้ ซึ่งกลไกที่เกิดขึ้นนี้เป็นกลไกการป้องกันตัวเองของพืช

3.2 การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบจากสับปะรดและมะละกต่อการควบคุมเจริญ

ของรากอโรแคนแทรกโนสในแปลงปลูก

การทดสอบประสิทธิภาพของสารสกัดจากสับปะรดและมะละกอต่อกำหนดการป้องกันโรคอโรแคนแทรกโนสในสภาพแปลง 8 สัปดาห์ หลังฉีดพ่นรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* บนต้นพริกอายุ 2 เดือน พบว่าในชุดการทดลองที่ใช้สารสกัดหยาบเปลือกมะละกอในตัวทำละลายน้ำหมัก EM ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ได้ผลดีที่สุดในการยับยั้งโรคอโรแคนแทรกโนสที่เกิดจากรา *C. gloeosporioides* โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงที่สุดที่ 85 เปอร์เซ็นต์ และมีค่าดัชนีการเกิดโรคเพียง 0.12 เท่านั้น ซึ่งลักษณะต้นพริกมีการแตกยอดเพิ่มเติม มีใบสีเขียว และลำต้นมีขนาดใหญ่ ดังรูปที่ 3i ซึ่งจากผลการทดลองส่วนใหญ่พบว่าในชุดที่มีสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำหมัก EM ให้ผลที่มีประสิทธิภาพกว่าในการยับยั้งรา *C. gloeosporioides* นอกจากนั้นยังมีลำต้นและใบที่มีขนาดใหญ่กว่าในชุดที่ฉีดพ่นด้วยสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยน้ำ ดังรูปที่ 4 และตารางที่ 1

ส่วนรา *C. capsici* ชุดการทดลองที่ฉีดพ่นด้วยสารสกัดหยาบจากลูกและใบสับปะรดที่สกัดด้วยน้ำหมัก EM ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับสารสกัดหยาบของใบมะละกอที่สกัดด้วยน้ำหมัก EM ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงที่สุดที่ 92.5 เปอร์เซ็นต์ และมีดัชนีการเกิดโรคที่ 0.12 ต้นพริกในชุดการทดลองนี้มียอดอ่อนแตกใหม่แทนที่และใบมีสีเขียวทั้งต้น ดังรูปที่ 4 ซึ่งผลการทดลองของสารสกัดต่อการยับยั้งรา *C. capsici* ให้ผลคล้ายกับรา *C. gloeosporioides* โดยในชุดของสารสกัดที่มีตัวทำละลายเป็นน้ำหมัก EM ส่วนใหญ่ให้ผลที่ดีกว่าสารสกัดที่มีตัวทำละลายที่เป็นน้ำ ทั้งค่าดัชนีการเกิดโรคและค่าการยับยั้งการเกิดโรค อีกทั้งยังทำให้ต้นพริกมีลักษณะที่สมบูรณ์กว่าต้นพริกในชุดควบคุมและชุดที่ฉีดพ่นสารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายที่เป็นน้ำ (ตารางที่ 1) การที่ชุด

ทดลองสารสกัดเปลือกมะละกอที่มีตัวทำละลายจากน้ำหมัก EM มีประสิทธิภาพในการยับยั้งรา *C. gloeosporioides* สอดคล้องกับรายงานของ Bautista-Banos [16] ที่รายงานว่าในส่วนต่าง ๆ ของเนื้อเยื่อมะละกอมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถยับยั้งราหลายชนิดรวมถึงรา *C. gloeosporioides* โดยสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเหล่านี้ ได้แก่ ยางมะละกอ และเอนไซม์ chitinase ที่สามารถป้องกันเชื้อก่อโรคในพืชได้ ซึ่งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพทั้ง 2 ชนิด สามารถพบได้ในใบและส่วนอื่น ๆ ของผลมะละกอ นอกจากนั้นเอนไซม์ chitinase ยังสามารถพบได้ในยางมะละกอดิบและเอนไซม์ชนิดนี้มีประสิทธิภาพมากในการยับยั้งรา [17] นอกจากนั้นในสารสกัดหยาบของใบมะละกอยังมีสารฟลาโวนอยด์ อัลคาลอยด์ และเทอร์ปีน ซึ่งสารเหล่านี้อาจเป็นสารที่เป็นพิษต่อผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ของราอีกด้วย [18] ในส่วนของผลดิบของมะละกอยังประกอบด้วยปาเปนและสารที่เป็นพิษต่อรา ได้แก่ oxalate, hydrocyanic acid, phytic acid และเอนไซม์โปรติเอส [19] ในการยับยั้งรา *C. capsici* นั้นชุดสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยใบสับปะรดและใบมะละกอในตัวทำละลาย EM มีประสิทธิภาพที่ดีในการยับยั้ง โดยสารสกัดประเภทนี้จะมีส่วนประกอบสำคัญนอกเหนือจากส่วนของพืชที่ได้จากมะละกอ ซึ่งในสับปะรดนั้นมีเอนไซม์ chitinase หลายชนิดที่ใช้ในการป้องกันต้นสับปะรดจากรากอโรที่สามารย่อยไคตินซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์ของราได้แก่ เอนไซม์ chitinase Chi-B ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่อ่อนแอ โดยพบในใบและต้นของสับปะรดเท่านั้น [6] และใน EM มีรายงานว่าแบคทีเรียที่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสง กลุ่ม *Rhodospseudomonas*, *Rhodobacter*, *Lactobacillus* ยีสต์ และแอคทีโนมัยซีต โดยจุลินทรีย์ใน EM จะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตซึ่งเกิดจากกิจกรรมการสังเคราะห์ด้วยแสง การผลิต

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ฮอร์โมนและเอนไซม์
ชนิดต่าง ๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช

นอกจากนั้นยังสามารถควบคุมเชื้อก่อโรคพืชที่อยู่ในดิน
ได้อีกด้วย [20]



รูปที่ 3 ลักษณะต้นพริกที่ปลูกรา *C. gloeosporioides* 8 สัปดาห์



รูปที่ 4 ลักษณะต้นพริกที่ปลูกราด *C. capsici* 8 สัปดาห์

4. สรุป

การวิจัยครั้งนี้พบว่าได้ผลดีสำหรับการควบคุมและยับยั้งรากโรคแอนแทรคโนส ทั้งรา *C. capsici* และ *C. gloeosporioides* ทั้งสารสกัดหยาบจาก

สับปะรดและมะละกอ ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและแปลงทดลอง โดยในแปลงทดลองนั้น ในชุดสารสกัดหยาบที่มีตัวทำละลายเป็นน้ำหมัก EM ส่วนใหญ่จะให้ผลที่ดีกว่าสารสกัดหยาบที่สกัดมาจากตัวทำละลาย

ที่เป็นน้ำ ทำให้เกิดอาการของโรคที่น้อยกว่าและมีต้นที่สมบูรณ์กว่า ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าสารสกัดนี้มีประสิทธิภาพที่ดี ราคาถูก ไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมและเป็นอีก

แนวทางหนึ่งในการจัดการโรคแอนแทรคโนสในการปลูกพริก

ตารางที่ 1 ดัชนีการเกิดโรค (DSI) และเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (IH) ของสารสกัดสับปะรดและมะละกอในตัวทำละลายน้ำและน้ำมัน EM ในต้นพริกที่ติดโรคจากรา *C. gloeosporioides* และ *C. capsici* เมื่อต้นพริกมีอายุ 8 สัปดาห์ หลังจากปลูกเชื้อ

<i>C. gloeosporioides</i>			<i>C. capsici</i>		
Treatment	DSI	% IH	Treatment	DSI	% IH
ชุดควบคุมไม่ใส่เชื้อ	0.00	0.00a	ชุดควบคุมไม่ใส่เชื้อ	0.00	0.00a
1 % EM ชุดควบคุม	0.48	40.00b	1 % EM ชุดควบคุม	0.44	43.00b
ชุดควบคุมปลูกเชื้อ	0.63	21.25c	ชุดควบคุมปลูกเชื้อ	0.64	20.00c
2 % เปลือกสับปะรด (น้ำ)	0.20	75.00b	1 % เปลือกสับปะรด (น้ำ)	0.20	75.00d
10 % เปลือกสับปะรด (EM)	0.12	75.00b	1 % เปลือกสับปะรด (EM)	0.13	83.70d
1 % ใบสับปะรด (น้ำ)	0.18	77.50d	1 % ใบสับปะรด (น้ำ)	0.21	73.75d
1 % ใบสับปะรด (EM)	0.19	76.25e	1 % ใบสับปะรด (EM)	0.26	67.50d
1 % เปลือกมะละกอ (น้ำ)	0.11	71.25f	4 % เปลือกมะละกอ (น้ำ)	0.20	75.00d
10 % เปลือกมะละกอ (EM)	0.12	85.00g	4 % เปลือกมะละกอ (EM)	0.09	88.75e
2 % ใบมะละกอ (น้ำ)	0.17	78.75h	1 % ใบมะละกอ (น้ำ)	0.22	72.50d
1 % ใบมะละกอ (EM)	0.14	82.50i	1 % ใบมะละกอ (EM)	0.09	88.75f
1 % เปลือกสับปะรด (น้ำ) + 1 % เปลือกมะละกอ (น้ำ)	0.17	73.75j	1 % เปลือกสับปะรด (น้ำ) + 1 % เปลือกมะละกอ (น้ำ)	0.19	76.25d
1 % เปลือกสับปะรด (EM) + 1 % เปลือกมะละกอ (EM)	0.21	73.75k	1 % เปลือกสับปะรด (EM) + 1 % เปลือกมะละกอ (EM)	0.19	76.25d
1 % ใบสับปะรด (น้ำ) + 1 % ใบมะละกอ (น้ำ)	0.15	75.00b	1 % ใบสับปะรด (น้ำ) + 1 % ใบมะละกอ (น้ำ)	0.17	78.75d
1 % ใบสับปะรด (EM) + 1 % ใบมะละกอ (EM)	0.20	75.00d	1 % ใบสับปะรด (EM) + 1 % ใบมะละกอ (EM)	0.12	92.50g
1 % เปลือกสับปะรด (น้ำ) + 1 % ใบมะละกอ (น้ำ)	0.19	76.25l	1 % เปลือกสับปะรด (น้ำ) + 1 % ใบมะละกอ (น้ำ)	0.18	73.75d
1 % เปลือกสับปะรด (EM) + 1 % ใบมะละกอ (EM)	0.13	83.75m	1 % เปลือกสับปะรด (EM) + 1 % ใบมะละกอ (EM)	0.15	81.25d

5. รายการอ้างอิง

- [1] Bosland, P.W. and Votava, E.J., 2003, Peppers: Vegetable and Spice Capsicums, CAB International, England, 233 p.
- [2] Poonpolgul, S. and Kumphai, S., 2007, Chilli Pepper Anthracnose in Thailand, Country Report, In Oh, D.G. and Kim, K.T. (Eds.), Abstracts of The First International Symposium on Chilli Anthracnose, National Horticultural Research Institute, Rural Development of Administration, Republic of Korea, 23 p.
- [3] Hong, J.K. and Hwang, B.K., 1998, Influence of inoculum density, wetness duration, plant age, inoculation method, and cultivar resistance on infection of pepper plants by *Colletotrichum cocodes*, Plant Disease 82: 1079-1083.
- [4] Kim, B.S., Park, H.K. and Lee, W.S., 1989, Resistance to anthracnose (*Colletotrichum* spp.) in pepper, Proceedings of the International Symposium on Integrated Management Practices: Tomato and Pepper Production in the Tropics, AVRDC. Tainan, Taiwan.
- [5] Nwinyi, O.C. and Abikoya, B.A., 2010, Antifungal effects of pawpaw seed extracts and papain on post harvest *Carica papaya* L. fruit rot, Afr. J. Agri. Res. 5: 1531-1535.
- [6] Taira, T., Toma, N., Ichi, M., Takeuchi, M. and Ishihara, M., 2005, Tissue distribution, synthesis stage, and ethylene induction of pineapple (*Ananas comosus*) chitinases, Biosci. Biotechnol. Biochem. 69: 852-854.
- [7] Agrios, G.N., 1997, Plant Pathology, Academic Press, New York, 635 p.
- [8] Vincent, J.M., 1947, Distortion of fungal hyphae in the presence of certain inhibitors, Nature 159: 850.
- [9] Khmel, I.A., Sorokina, T.A., Lemanova, N.B., Lipasova, V.A., Metlitski, O.Z., Burdeinaya, T.V. and Chernin, L.S., 1998, Biological control of crown gall in grapevine and raspberry by two *Pseudomonas* spp. with a wide spectrum of antagonistic activity, Biocon. Sci. Technol. 8: 45-57.
- [10] Plapung, P., 2004, Improvement of Anthracnose Resistant Strawberry, M.Sc. thesis, Chiang Mai University, Chiang Mai, 122 p.
- [11] เสมอใจ ชื่นจิตต์, วสันต์ เพชรรัตน์ และวิจิตรา ลีละศุภกุล, 2552, การประเมินการใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการควบคุมโรคพืชที่เกิดจากเชื้อราของพริก, รายงานการวิจัย, คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา, 85 น.
- [12] ศุภลักษณ์ ฮอกะวัด, 2536, โรคผักตระกูลพริกและมะเขือเทศ, ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น, 249 น.
- [13] จิรัสสา มีกลิ่นหอม, 2546, การคัดเลือกและการใช้จุลินทรีย์ที่แยกได้จากผิวพืชในการควบคุมเชื้อรา *Colletotrichum* spp. สาเหตุโรคแอนแทรค

- โนสของพริก, วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ, 105 น.
- [14] Chavez-Quintal, P., Gonzalez-Flores, T., Rodriguez-Buenfil, I. and Gallegos-Tintore, S., 2011, Antifungal activity in ethanolic extracts of *Carica papaya* L. cv. Maradol leaves and seeds, Ind. J. Microbiol. 51: 54-60.
- [15] Bandasak, C., Rawdkuen, P., Pintathong and Chaiwat, P., 2011, Bioactivities of *Carica papaya* latex extract, Thai J. Agri. Sci. 44: 106-112.
- [16] Bautista-Banos, S., Hernandez-Lopez, M., Diaz-Perez, J.C. and Cano-Ochoa, C.F., 2000, Evaluation of the fungicidal properties of plant extracts to reduce *Rhizopus stolonifer* of ciruela fruit (*Spondias purpurea* L.) during storage, Postharvest Biol. Technol. 20: 99-106.
- [17] Chen, Y.T., Hsu, L.H., Huang, I.P., Tsai, T.C., Lee, G.C. and Shaw, J.F., 2007, Gene cloning and characterization of a novel recombinant antifungal chitinase from papaya (*Carica papaya*), J. Agri. Food Chem. 55: 714-722.
- [18] Pedro, C.Q., Tania, G.F., Ingrid, R.B. and Santiago, G.T., 2011, Antifungal activity in ethanolic extracts of *Carica papaya* L. cv. Maradol leaves and seeds, Ind. J. Microbiol. 51: 54-60.
- [19] Umoh, I.B., 1998, Commonly used fruits in Nigeria, p.84-120, In Osagie, A.U and Eka, O.U. (Eds.), Nutritional Quality of Plant Foods, Postharvest Research Unit, Department of Biochemistry, University of Benin, Benin City, Nigeria.
- [20] Hussain, T., Anjum, A.D. and Tahir, J., 2002, Technology of beneficial microorganisms, Nat. Farm. Environ. 3: 1-14.