

บทที่ 5

บทย่อ สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

บทย่อ

บทนำ

ข้าวสังข์หยดพัทลุงเป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองดั้งเดิมของจังหวัดพัทลุงซึ่งอุดมไปด้วยสารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงโดยเฉพาะในอาซินและเมื่อนำข้าวกล้องไปหุงแล้วก็มีรสชาติที่อร่อยกว่าข้าวกล้องทั่วไป ด้วยคุณสมบัติอันโดดเด่นดังกล่าวทำให้ข้าวสังข์หยดพัทลุงได้รับความนิยมอย่างสูงในกลุ่มผู้บริโภค แต่ปัญหาที่สำคัญคือข้าวสังข์หยดพัทลุงเป็นพันธุ์ข้าวที่มีความอ่อนแอต่อโรคไหม้ โดยมีเชื้อราก่อโรคคือ *Pyricularia grisea* ด้วยเหตุนี้ทำให้ผู้วิจัยเล็งเห็นถึงความสำคัญของปัญหาดังกล่าว โดยมุ่งศึกษาอิทธิพลของออลิโกไคโดซานต่อการกระตุ้นกลไกการป้องกันตนเองในต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงเพื่อให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงมีความต้านทานต่อโรคได้มากขึ้น พร้อมทั้งกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงมีการเจริญเติบโตและให้ปริมาณผลผลิตที่เพิ่มสูงขึ้นและอาจจะนำไปสู่การเพิ่มความเข้มสีและปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวสังข์หยดได้อีกด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาผลของออลิโกไคโดซานต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุง
2. ศึกษาผลของออลิโกไคโดซานต่อการกระตุ้นเอนไซม์ไคตินเนสและกลไกการป้องกันโรคไหม้ในต้นข้าวสังข์หยดพัทลุง
3. ศึกษาผลของออลิโกไคโดซานต่อผลผลิตของข้าวสังข์หยดพัทลุง
4. ศึกษาผลของออลิโกไคโดซานต่อปริมาณสารแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุง

วิธีดำเนินการวิจัย

1. ศึกษาสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของออลิโกไคโดซานโดยการวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลด้วยเทคนิค Electro Spray Ionization Mass Spectrophotometry (ESIMS) พร้อมทั้งวัดระดับการกำจัดหมู่อะซิetyl (Degree of Deacetylation, %DD) ด้วยเทคนิค Spectrophotometry
2. ศึกษาผลของออลิโกไคโดซานต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโดซานชนิดต่าง ๆ และออลิโกไคโดซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ รวมทั้งการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโดซานชนิด O-5 ด้วยความถี่ต่าง ๆ โดยการวัดความสูงของต้นข้าว

3. ศึกษาผลของออลิโกไคโดซานต่อกิจกรรมของเอนไซม์โคติเนสที่สกัดจากใบของต้นข้าวสาลีพันธุ์หอยพิทลุงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโดซานชนิดต่าง ๆ และออลิโกไคโดซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ รวมทั้งการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโดซานชนิด O-5 ด้วยความถี่ต่าง ๆ ด้วยเทคนิค Spectrophotometry พร้อมทั้งวิเคราะห์ลักษณะโปรตีนด้วยเทคนิค Sodium Dodecyl Sulfate - Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS - PAGE)

4. ศึกษาผลของออลิโกไคโดซานต่อการป้องกันเชื้อราก่อโรคไหม้ในต้นข้าวสาลีพันธุ์หอยพิทลุงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโดซานชนิดต่าง ๆ และออลิโกไคโดซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เปรียบเทียบกับต้นข้าวพิษณุโลก 2 และปทุมธานี 1 โดยวัดจากระดับความรุนแรงของโรคไหม้

5. ศึกษาผลผลิตของต้นข้าวสาลีพันธุ์หอยพิทลุงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโดซานชนิดต่าง ๆ และออลิโกไคโดซานชนิด O-5 ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ รวมทั้งการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโดซานชนิด O-5 ที่ความถี่ต่าง ๆ โดยการวัดน้ำหนักเมล็ดข้าวที่สมบูรณ์ต่อกอ

6. ศึกษาความเข้มข้นของเมล็ดข้าวสาลีพันธุ์หอยพิทลุงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโดซานชนิดต่าง ๆ และออลิโกไคโดซานชนิด O-5 ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยเครื่องวัดสีแบบตั้งโต๊ะ Colorimeter (Color Flex)

7. ศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินของเมล็ดข้าวสาลีพันธุ์หอยพิทลุงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโดซานชนิดต่าง ๆ และออลิโกไคโดซานชนิด O-5 ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

สรุปผล

จากการศึกษาผลของออลิโกไคโดซานต่อการเจริญเติบโตและกลไกการป้องกันโรคไหม้ในต้นข้าวพันธุ์หอยพิทลุง สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังหัวข้อต่อไปนี้

1. ศึกษาสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของออลิโกไคโดซาน

1.1 การวิเคราะห์ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล (Degree of Deacetylation, %DD) ของออลิโกไคโดซานพบว่า ออลิโกไคโดซานชนิด O-5 และ O-80 มี %DD เท่ากันคือ 86.67% สำหรับออลิโกไคโดซานชนิด SCS มี %DD เท่ากับ 80%

1.2 การวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลของออลิโกไคโดซานด้วยเทคนิค Electro Spray Ionization Mass Spectrophotometry (ESIMS) พบว่าออลิโกไคโดซานชนิด O-5 ประกอบไปด้วยออลิโกไคโดซานที่มีขนาดโมเลกุลเล็กซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 406 - 6,463 Da สำหรับออลิโกไคโดซานชนิด O-80 จะพบออลิโกไคโดซานที่มีขนาดโมเลกุลปานกลางเป็นองค์ประกอบหลัก ส่วนใหญ่มีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 25,111 - 25,115 Da และออลิโกไคโดซานชนิด SCS จะตรวจ

พบว่าเป็นไคโตซานที่มีขนาดโมเลกุลที่ใหญ่มาก (1.19×10^6 Da) ดังนั้นจึงสามารถจัดเรียงขนาดโมเลกุลของออลิโกไคโตซานทั้ง 3 ชนิดได้ดังนี้ $SCS > O-80 > O-5$ ตามลำดับ

2 ศึกษาผลของออลิโกไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวสัจหัดพัทลุง

2.1 การศึกษาผลของชนิดออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวสัจหัดพัทลุงพบว่า ที่ความเข้มข้นเท่ากัน (40 mgL^{-1}) ออลิโกไคโตซานชนิด O-5 สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวสัจหัดพัทลุงได้ดีที่สุด โดยสามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสัจหัดพัทลุงมีความสูงเพิ่มขึ้น 2.53 เท่าของชุดควบคุมรองลงมาคือ ออลิโกไคโตซานชนิด O-80 และ SCS สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสัจหัดพัทลุงมีความสูงเพิ่มขึ้น 2.30 และ 2.14 เท่าของชุดควบคุมตามลำดับ

2.2 การศึกษาผลของความเข้มข้นของออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ในช่วงความเข้มข้น $20 - 1,000 \text{ mgL}^{-1}$ ต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวสัจหัดพัทลุงพบว่า ที่ความเข้มข้น 40 mgL^{-1} จะมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวสัจหัดพัทลุงได้ดีที่สุด โดยต้นข้าวสัจหัดพัทลุงมีความสูงเพิ่มขึ้น 2.53 เท่าของชุดควบคุม

2.3 การศึกษาผลของความถี่ในการฉีดพ่นออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 40 mgL^{-1} พบว่าการฉีดพ่นออลิโกไคโตซานด้วยความถี่ 2 สัปดาห์/ครั้ง จะมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวสัจหัดพัทลุงได้ดีกว่าการฉีดพ่นด้วยความถี่ 1 และ 4 สัปดาห์/ครั้ง

3 ศึกษาผลของออลิโกไคโตซานต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสในสารสกัดจากใบข้าวสัจหัดพัทลุง

3.1 การศึกษาผลของชนิดออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสในต้นข้าวสัจหัดพัทลุงพบว่า ที่ความเข้มข้นเท่ากัน (40 mgL^{-1}) ออลิโกไคโตซานชนิด O-5 และ O-80 สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสัจหัดพัทลุงมี Specific Activity ของเอนไซม์ไคตินเนสได้สูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับออลิโกไคโตซาน โดยใบจากต้นข้าวสัจหัดพัทลุงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ตรวจพบ Specific Activity ของเอนไซม์ไคตินเนสสูงที่สุดเท่ากับ $17.130 \times 10^{-2} \text{ unit/mg}$ คิดเป็น 1.24 เท่าของชุดควบคุม ซึ่งแตกต่างจากต้นข้าวที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด SCS ที่พบ Specific Activity ของเอนไซม์ไคตินเนสไม่แตกต่างจากชุดควบคุม

3.2 การศึกษาผลของออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ต่อการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสในต้นข้าวสัจหัดพัทลุงพบว่าต้นข้าวสัจหัดพัทลุงที่ฉีดพ่นด้วยออลิโกไคโตซานชนิด O-5 จะมี Specific Activity ของเอนไซม์ไคตินเนสได้สูงที่สุดในวันที่ 5 หลังจากได้รับการฉีดพ่นและจะมี Specific Activity ของเอนไซม์ไคตินเนสในระดับคงที่ตั้งแต่วันที่ 14 หลังจากได้รับการฉีดพ่น

แม้ว่าต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงจะมี Specific Activity ของเอนไซม์ไคตินเนสในระดับคงที่ก็ตาม หากแต่ก็ยังมีความ Specific Activity ของเอนไซม์ไคตินเนสในระดับที่สูงกว่าชุดควบคุมและก่อนได้รับการฉีดพ่น (วันที่ 0)

3.3 การศึกษาผลของความเข้มข้นของออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ในช่วงความเข้มข้น $20 - 1,000 \text{ mgL}^{-1}$ ต่อการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสพบว่า ออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ $20 - 1,000 \text{ mgL}^{-1}$ สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงมีความ Specific Activity ของเอนไซม์ไคตินเนสในระดับที่สูงกว่าชุดควบคุม เมื่อพิจารณาในวันที่ 5 หลังจากต้นข้าวได้รับการฉีดพ่นออลิโกไคโตซานชนิด O-5 พบว่าที่ความเข้มข้น 100 mgL^{-1} จะมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงมีความ Specific Activity ของเอนไซม์ไคตินเนสได้สูงที่สุดถึง $22.050 \times 10^{-2} \text{ unit/mg}$ ในขณะที่ชุดควบคุมตรวจพบ Specific Activity ของเอนไซม์ไคตินเนสเพียง $13.810 \times 10^{-2} \text{ unit/mg}$

4 ศึกษาผลของออลิโกไคโตซานต่อการป้องกันเชื้อราก่อโรคไหม้ในต้นข้าว

4.1 การศึกษาผลของชนิดออลิโกไคโตซานต่อการป้องกันเชื้อราก่อโรคไหม้ในต้นข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง พืชปลูก 2 และปทุมธานี 1 พบว่าใบข้าวทุกพันธุ์ที่มาจากต้นข้าวที่ได้รับการออลิโกไคโตซานทุกชนิดมีความสามารถในการป้องกันเชื้อราก่อโรคไหม้ได้ทั้งหมด ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมของพันธุ์ข้าวที่อ่อนแอต่อโรคไหม้ที่ไม่สามารถป้องกันตนเองจากเชื้อราก่อโรคไหม้ได้เลย ส่งผลให้พบการติดเชื้อ 100% หลังจากได้รับเชื้อรา *Pyricularia grisea* เป็นระยะเวลา 7 วัน โดยใบข้าวที่ได้รับการออลิโกไคโตซานชนิด O-5 และ O-80 มีความสามารถในการป้องกันเชื้อราก่อโรคไหม้ได้ดีใบข้าวที่ได้รับการออลิโกไคโตซานชนิด SCS

4.2 การศึกษาผลของความเข้มข้นออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ต่อการป้องกันเชื้อราก่อโรคไหม้ในต้นข้าวพบว่าต้นข้าวที่ได้รับการออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้น 500 mgL^{-1} สามารถป้องกันตนเองจากเชื้อราก่อโรคไหม้ได้ดีที่สุดซึ่งปรากฏอาการติดเชื้อเพียง 2.50%

5. ศึกษาผลของออลิโกไคโตซานต่อผลผลิตของข้าวสังข์หยดพัทลุง

5.1 การศึกษาผลของชนิดออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นผลผลิตของข้าวสังข์หยดพัทลุงพบว่าที่ความเข้มข้นเท่ากัน (40 mgL^{-1}) ออลิโกไคโตซานชนิด O-5 จะมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงให้ปริมาณผลผลิตสูงกว่าออลิโกไคโตซานชนิด O-80 และ SCS โดยต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS ให้ปริมาณผลผลิตคิดเป็น 1.83, 1.70 และ 1.19 เท่าของชุดควบคุมตามลำดับ

5.2 การศึกษาผลของความเข้มข้นออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ต่อการกระตุ้นปริมาณผลผลิตของข้าวสังข์หยดพัทลุงพบว่าออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้น $40 - 1,000 \text{ mgL}^{-1}$

สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ให้ปริมาณผลผลิตสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับอลิโกไคโตซาน โดยที่ความเข้มข้น 40 และ 1,000 mgL⁻¹ จะกระตุ้นให้ต้นข้าวสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ให้ปริมาณผลผลิตสูงที่สุดคิดเป็นน้ำหนักเมล็ดสมบูรณ์ 2.22 กรัม/กอ และ 2.20 กรัม/กอ หรือคิดเป็น 1.83 และ 1.82 เท่าของชุดควบคุม

6. ศึกษาความเข้มข้นเมล็ดข้าวสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ที่ถูกกระตุ้นด้วยอลิโกไคโตซาน

การศึกษาความเข้มข้นของเมล็ดข้าวสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ด้วยเครื่องวัดสีแบบตั้งโต๊ะ Colorimeter (Color Flex) พบว่าเมล็ดข้าวสังเคราะห์คลอโรฟิลล์จากต้นที่ถูกกระตุ้นด้วยอลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS มีค่าความเข้มของสีแดงสูงกว่าชุดควบคุม โดยต้นที่ได้รับการกระตุ้นด้วยอลิโกไคโตซานชนิด O-5 จะให้เมล็ดข้าวที่มีค่าความเข้มสีแดงมากที่สุด โดยมีค่า Chroma เท่ากับ 27.89 °C และ 27.90 °C

7. ศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินของเมล็ดข้าวสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ที่ได้รับการกระตุ้นด้วยอลิโกไคโตซาน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินของเมล็ดข้าวสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) พบว่า อลิโกไคโตซานชนิด O-5 และ O-80 ที่ความเข้มข้น 500 mgL⁻¹ สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ผลิตเมล็ดข้าวที่มีปริมาณแอนโทไซยานินได้สูงกว่าชุดควบคุมซึ่งตรวจพบปริมาณแอนโทไซยานินเท่ากับ 16.39 และ 15.98 mgL⁻¹ คิดเป็น 1.21 และ 1.18 เท่าของชุดควบคุมตามลำดับ

อภิปรายผล

การตรวจสอบสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของอลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS

จากการตรวจสอบคุณสมบัติของอลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS โดยการวิเคราะห์ค่า Degree of Deacetylation (%DD) ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายอลิโกไคโตซาน ที่ความยาวคลื่น 203 นาโนเมตรพบว่า อลิโกไคโตซานชนิด O-5 และ O-80 มีค่า %DD เท่ากันคือ 86.67% ส่วนอลิโกไคโตซานชนิด SCS มีค่า %DD เท่ากับ 80% ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Patcharporn Pochanavanich and Worapot Suntornsuk (2002 : 20) ที่รายงานค่า %DD ของ โคโตซานจากกุ้งอยู่ในช่วง 83.8 - 86.5% และวิทยานิพนธ์ของอำมรินทร์ สาแม (2552 : 96) ที่รายงานค่า %DD ของโคโตซานจากเห็ดหลายชนิดในช่วง 80 - 88% แสดงว่าค่า Degree of Deacetylation ของ อลิโกไคโตซานที่ใช้ในงานวิจัยมีค่าที่ยอมรับได้ดังที่ระบุในรายงานของรัฐบาล พิชญางกูร (2548 : 3) ไว้ว่า โคโตซานที่ดีต้องมีค่า %DD มากกว่า 75% เพราะหากมีค่า %DD ต่ำกว่านี้โคโตซานจะไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกันเมื่อนำมาเตรียมเป็นสารละลายซึ่งไม่สามารถนำไปใช้ได้

เมื่อทำการวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลของออลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS ด้วย เทคนิค Electro Spray Ionization Mass Spectrophotometry (ESIMS) พบว่า ออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ประกอบด้วยออลิโกไคโตซานที่มีขนาดโมเลกุลเล็กโดยมีน้ำหนักอยู่ระหว่าง 406 - 6,463 Da และตรวจพบออลิโกไคโตซานที่มีขนาดโมเลกุลปานกลางซึ่งมีน้ำหนักอยู่ระหว่าง 17,707 - 17,729 Da เจือปนเล็กน้อย สำหรับออลิโกไคโตซานชนิด O-80 พบองค์ประกอบหลักเป็นออลิโกไคโตซาน ที่มีขนาดโมเลกุลปานกลางซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 25,111 - 25,115 Da และมีออลิโกไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 805 - 15,341 Da เจือปนเล็กน้อย ซึ่งการที่พบออลิโกไคโตซานที่มีขนาดโมเลกุลต่างกันเจือปนมาด้วยนั้น บริษัทผู้ผลิตโดยซีเซอร์และแอกบูกา (Sezer and Akbuga. 1999 : 687 - 696) ได้รายงานข้อมูลการเตรียมออลิโกไคโตซานไว้ว่า การเตรียมออลิโกไคโตซานจะใช้เอนไซม์ไคตินเนสจากจุลินทรีย์มาทำการย่อยไคโตซาน จากนั้นนำมาแยกองค์ประกอบด้วย Gel Permeation Chromatography Column (GPC Column) ซึ่งอาจมีออลิโกไคโตซานที่มีขนาดโมเลกุลที่แตกต่างกัน เข้ามาเจือปนในสารตัวอย่างที่แยกออกมาในแต่ละช่วงโมเลกุล หากแต่เป็นเพียงการเจือปนที่เล็กน้อย เท่านั้นสำหรับออลิโกไคโตซานชนิด SCS ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ขนาดใหญ่ที่มีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย ประมาณ 1.19×10^6 Da ดังนั้นสามารถจัดเรียงลำดับขนาดโมเลกุลของออลิโกไคโตซานได้ดังนี้คือ $SCS > O-80 > O-5$ ตามลำดับ

การศึกษาการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซาน

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซาน ที่มีขนาดโมเลกุลแตกต่างกัน (O-5 ; 406 - 6,463 Da , O-80 ; 25,111 - 25,115 Da และ SCS 1.19×10^6 Da) โดยทำการวัดความสูงของต้นข้าวทุกสัปดาห์เป็นระยะเวลา 1 เดือนนับตั้งแต่วันที่ทำการฉีดพ่นครั้งแรกพบว่า ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซานทั้งหมดมีความสูงของต้นข้าวเพิ่มขึ้นมากกว่าชุดควบคุม เมื่อพิจารณาที่ความเข้มข้นเท่ากันทำให้ทราบว่า ออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ซึ่งมีขนาดโมเลกุลเล็กที่สุดจะมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงมีความสูงเพิ่มขึ้นมากที่สุด โดยมีความสูงเพิ่มขึ้น 22.18 ซม.คิดเป็น 2.53 เท่าของชุดควบคุม

เมื่อทำการศึกษาผลของความเข้มข้นของออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงพบว่า ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ $20 - 100 \text{ mgL}^{-1}$ มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงมีความสูงเพิ่มขึ้นได้ถึง 16.70 - 22.18 ซม.คิดเป็น 1.90 - 2.53 เท่าของชุดควบคุม โดยที่ความเข้มข้น 40 mgL^{-1} มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงได้ดีที่สุด

สำหรับการศึกษาความถี่ในการฉีดพ่นออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ทำให้ทราบว่าการฉีดพ่นออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ด้วยความถี่ 2 สัปดาห์/ครั้ง จะมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงได้ดีกว่าการฉีดพ่นด้วยความถี่ 1 และ 4 สัปดาห์/ครั้ง และเมื่อทำการทดลองลักษณะเดียวกันกับต้นข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 และพิษณุโลก 2 พบว่า การฉีดพ่นด้วยออลิโกไคโตซานชนิด O-5 จะมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวทั้ง 2 พันธุ์ได้ดีกว่าออลิโกไคโตซานชนิด O-80 และ SCS เช่นกัน โดยต้นข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 จะมีความสูงเพิ่มขึ้น 39.25 ซม. คิดเป็น 6.01 เท่าของชุดควบคุมและข้าวพันธุ์พิษณุโลก 2 ที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 จะมีความสูงเพิ่มขึ้น 31.12 ซม. คิดเป็น 5.63 เท่าของชุดควบคุม ซึ่งผลการทดลองที่กล่าวมาข้างต้นมีความสอดคล้องกับวิทยานิพนธ์ของ Paatoon Seanbualuang (2550 : 31) ที่ศึกษาผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 พบว่า ต้นข้าวที่ถูกกระตุ้นด้วยไคโตซานมีความสูงของต้นสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ถูกกระตุ้นด้วยไคโตซาน 0.55 ซม. และวิทยานิพนธ์ของ Sorawee Kleekron (2005 : 46) ที่ศึกษาผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตในข้าวพันธุ์กข 6 และกข 10 ผลการศึกษาพบว่า การใช้ไคโตซานความเข้มข้น 1.5 และ 2 gL⁻¹ สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวทั้งสองพันธุ์มีความสูงมากกว่าชุดควบคุมรวมทั้งงานวิจัยของ สุชาดา บุญเลิศนิรันดร์, กิตติ บุญเลิศนิรันดร์ และอิสรา สุขสถาน (2548 : 37 - 43) ที่ศึกษาผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ผลการศึกษาพบว่า การแช่เมล็ดข้าวก่อนปลูกในสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 20 mgL⁻¹ ควบคู่กับการฉีดพ่นด้วยไคโตซานจำนวน 4 ครั้งตามระยะการเจริญเติบโตของต้นข้าวคือ ระยะ Seeding, Tilling, Panicle Initiation และ Panicle Heading ควบคู่กับการใส่ปุ๋ยผสมระหว่างสูตร 16-20-0 และ 46-0-0 ในอัตรา 50 กก./ไร่ จะทำให้ต้นข้าวมีการสะสมน้ำหนักรากแห้งช่วงหลังและจำนวนหน่อต่อต้นสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับไคโตซานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) อีกทั้งยังมีงานวิจัยของจุฬารัตน์ ไชยนันท์ และศศิธร วงศ์เรือง (2552 : 78 - 86) ที่ได้กล่าวไว้ว่า การแช่เมล็ดข้าวพันธุ์หลวงสันป่าตองในสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 10 gL⁻¹ จะกระตุ้นให้ต้นข้าวพันธุ์หลวงสันป่าตองมีความยาวรากและลำต้นเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ด้วยเหตุนี้จึงมีความเป็นไปได้ที่ออลิโกไคโตซานที่ให้กับต้นข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง พิษณุโลก 2 และปทุมธานี 1 อาจจะทำหน้าที่เป็น Elicitor ไปกระตุ้นสัญญาณ Signal Transduction ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์ โดยการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจมีผลไปกระตุ้นสารควบคุมการเจริญเติบโต (Growth Regulator) ของต้นข้าวส่งผลให้ต้นข้าวทั้ง 3 พันธุ์ มีการเจริญเติบโตได้ดีขึ้น

เมื่อพิจารณาปัจจัยของขนาดโมเลกุลของออลิโกไคโตซานจากการทดลองพบว่า ยิ่งออลิโกไคโตซานมีขนาดโมเลกุลเล็กก็จะมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวได้ดี

ยิ่งขึ้น ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ Nge, et al. (2006 : 1185 - 1190) ที่ศึกษาผลของขนาดโมเลกุลไลโคซานจากกึ่งต่อการเจริญของเนื้อเยื่อกล้วยไม้ (Protocorm - Like body : PLB) ในอาหารเหลวโดยให้ PLB เจริญในอาหารเหลวที่ประกอบด้วยไลโคซานที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกัน (1 kDa, 10 kDa และ 100 kDa) ที่ความเข้มข้น 15 mgL^{-1} ผลการศึกษาพบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 3 สัปดาห์ PLB ที่เจริญในอาหารเหลวที่ประกอบด้วยไลโคซานขนาด 1 kDa มีการขยายตัวของเซลล์ มากกว่า PLB ที่เจริญในอาหารเหลวที่ประกอบด้วยไลโคซานขนาด 10 kDa และ 100 kDa อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และเมื่อเวลาผ่านไป 6 สัปดาห์ยังพบว่า เนื้อเยื่อ PLB ที่เจริญในอาหารเหลวที่ประกอบด้วยไลโคซานขนาด 1 และ 10 kDa จะมีน้ำหนักเซลล์เพิ่มสูงขึ้นถึง 15 เท่า ซึ่งแตกต่างเนื้อเยื่อ PLB ที่เจริญในอาหารเหลวที่ประกอบด้วยไลโคซานขนาด 100 kDa ที่ไม่พบการกระตุ้นให้เนื้อเยื่อ PLB มีน้ำหนักเซลล์เพิ่มขึ้นเลย ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่ายิ่งไลโคซานมีขนาดโมเลกุลเล็กพืชยังสามารถดูดซึมเข้าสู่เซลล์ได้ดีกว่าไลโคซานที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่

การศึกษาผลของออลิโกไลโคซานต่อการกระตุ้นผลผลิตของต้นข้าวสาลีหอดพัทลุง

ผลจากการวัดปริมาณผลผลิตของต้นข้าวสาลีหอดพัทลุงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไลโคซานที่มีขนาดโมเลกุลแตกต่างกันพบว่าต้นข้าวสาลีหอดพัทลุงที่ถูกกระตุ้นด้วยออลิโกไลโคซานทุกชนิดจะออกรวงเร็วกว่าชุดควบคุมประมาณ 1 สัปดาห์ นั้นแสดงว่าออลิโกไลโคซานมีผลในการทำให้ผลผลิตของพืชเข้าสู่ระยะการสุก (Senescence) เร็วขึ้นซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Ramonell, Zhang, Ewing, Chen, Xu, Stacey and Somerville. (2002 : 301 - 311) ที่ศึกษาการกระตุ้นกลไกการป้องกันตนเองของ *Arabidopsis thaliana* ที่ได้รับไลโคซาน ผลการศึกษาพบการแสดงออกของยีน (Gene Expression) ที่ใช้ในการสังเคราะห์เอทิลีน (Ethylene) ของ *A. thaliana* เพิ่มขึ้น 36% และการที่ออลิโกไลโคซานมีคุณสมบัติในการเพิ่มระดับความสามารถในการต้านทานโรคให้แก่พืช (Agrawal, et al. 2002 : 1061 - 1069 ; El Hadrami, et al. 2010 : 968 - 987 ; Lin, et al. 2005 : 937 - 944 ; Rodríguez, et al. 2007 : 207) ส่งผลให้พืชมีการชักนำการสร้าง Ethylene โดยสร้าง mRNA สำหรับ 1-aminocyclopropane-1-carboxylate Synthase (ACC Synthase) มากขึ้น (อักษร ศรีเปตัง, พูนพิไล สุวรรณฤทธิ์, สวัสดิ์ ลิ้มทอง, พงษ์ สุนทรนันท์, ประดิษฐ์ พงศ์ทองคำ, สมศักดิ์ อภิสิทธิ์วานิช, สุรินทร์ ปิยะโชคคณากุล และพูนพิภพ เกษมทรัพย์. 2006 : 357)

เมื่อพิจารณาในแง่ปริมาณผลผลิตพบว่า ที่ความเข้มข้นเท่ากัน (40 mgL^{-1}) ออลิโกไลโคซาน ชนิด O-5 (406 - 6,463 Da) และ O-80 (25,111 - 25,115 Da) สามารถกระตุ้นต้นข้าวสาลีหอดพัทลุงให้ปริมาณผลผลิตสูงกว่าชุดควบคุม โดยต้นข้าวสาลีหอดพัทลุงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไลโคซานชนิด O-5 จะให้ปริมาณผลผลิตคิดเป็นเมล็ดข้าวสมบูรณ์ 568.30 กก./ไร่ ซึ่งสูง

กว่าชุดควบคุมถึง 1.83 เท่า ส่วนต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ถูกกระตุ้นด้วยอลิโกไคโดซานชนิด O-80 จะให้ปริมาณผลผลิตคิดเป็นเมล็ดข้าวสมบูรณ์ 527.34 กก./ไร่ ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุม 1.70 เท่า แต่สำหรับต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ถูกกระตุ้นด้วยอลิโกไคโดซานชนิด SCS (1.19×10^6 Da) กลับไม่พบการเพิ่มขึ้นของปริมาณผลผลิตเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม การที่อลิโกไคโดซานชนิด O-5 สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงให้ปริมาณผลผลิตสูงกว่าต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยอลิโกไคโดซานชนิด O-80 และ SCS นั้นเนื่องจากอลิโกไคโดซานชนิด O-5 เป็นอลิโกไคโดซานที่มีขนาดโมเลกุลเล็กกว่าอลิโกไคโดซานชนิด O-80 และ SCS จึงสามารถถูกดูดซึมเข้าสู่เซลล์พืชได้ดีกว่านั่นเอง ส่วนอลิโกไคโดซานชนิด SCS ไม่สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุง ให้ปริมาณผลผลิตเพิ่มขึ้นได้นั้น อาจเนื่องมาจากโมเลกุลของอลิโกไคโดซานชนิด SCS มีขนาดโมเลกุลที่ใหญ่เกินไปซึ่งอาจจะดูดซึมเข้าสู่เนื้อเยื่อของพืชได้ยากรวมทั้งอาจจะมีขนาดโมเลกุลที่ไม่เหมาะสมกับบริเวณ Receptor บน Plasma Membrane จึงทำให้ไม่สามารถกระตุ้นให้ Signaling Molecule ส่งสัญญาณในการกระตุ้นสารควบคุมการเจริญเติบโต

เมื่อศึกษาผลของความเข้มข้นของอลิโกไคโดซานชนิด O-5 ต่อการให้ผลผลิตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงพบว่า ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ $40 - 1,000 \text{ mgL}^{-1}$ สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงให้ปริมาณผลผลิตได้สูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับอลิโกไคโดซาน โดยที่ความเข้มข้น 40 และ $1,000 \text{ mgL}^{-1}$ สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงให้ปริมาณผลผลิตสูงสุดที่สุดคือ 2.22 กรัม/กอ และ 2.20 กรัม/กอ ตามลำดับคิดเป็น 1.83 และ 1.82 เท่าของชุดควบคุมหรือคิดเป็นผลผลิตต่อไร่ ของข้าวสังข์หยดพัทลุง 568.32 กก./ไร่ และ 563.20 กก./ไร่ ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองที่กล่าวมาข้างต้นนี้มีความสอดคล้องกับวิทยานิพนธ์ของ Sorawee Kleekron (2005 : 56) ได้กล่าวว่า การใช้ไคโดซานความเข้มข้น 2 gL^{-1} ฉีดพ่นในต้นข้าวพันธุ์กข 6 และกข 10 ทุกสัปดาห์จะสามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวทั้งสองพันธุ์ให้ปริมาณผลผลิตสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับไคโดซานโดยข้าวพันธุ์ กข 6 ที่ถูกกระตุ้นด้วยไคโดซานจะให้ปริมาณผลผลิต 675 กก./ไร่ ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุมที่ให้ปริมาณผลผลิตเพียง 659 กก./ไร่ ในทำนองเดียวกันกับข้าวพันธุ์กข 10 ที่ถูกกระตุ้นด้วยไคโดซานจะให้ปริมาณผลผลิต 686 กก./ไร่ ในขณะที่ชุดควบคุมให้ปริมาณผลผลิตเพียง 652 กก./ไร่ เท่านั้น อีกทั้งวิทยานิพนธ์ของ Paitoon Seanbualuang (2550 : 39) ที่ศึกษาผลของการใช้ไคโดซานต่อผลผลิตของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ผลการศึกษาพบว่า ต้นข้าวที่ได้รับการฉีดพ่นไคโดซานความเข้มข้น 40 mgL^{-1} จะให้ปริมาณผลผลิตคิดเป็น 2.40 กรัมต่อเมล็ดข้าว 100 เมล็ด ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุมที่ให้ปริมาณผลผลิตเพียง 2.28 กรัมต่อเมล็ดข้าว 100 เมล็ด ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า การให้ออลิโกไคโดซาน ในความเข้มข้นที่เหมาะสมจะมีประสิทธิภาพ ในการกระตุ้นต้นข้าวให้มีปริมาณผลผลิตเพิ่มสูงขึ้น

อิทธิพลของอลิโกไคโดซานที่สามารถกระตุ้นการเพิ่มปริมาณผลผลิตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงมีความเป็นไปได้ที่จะมีความเชื่อมโยงกับความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตโดยอลิโกไคโดซานที่สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นก็จะส่งผลทำให้ต้นข้าวมีความสมบูรณ์และให้ผลผลิตของเมล็ดข้าวเพิ่มขึ้นด้วย

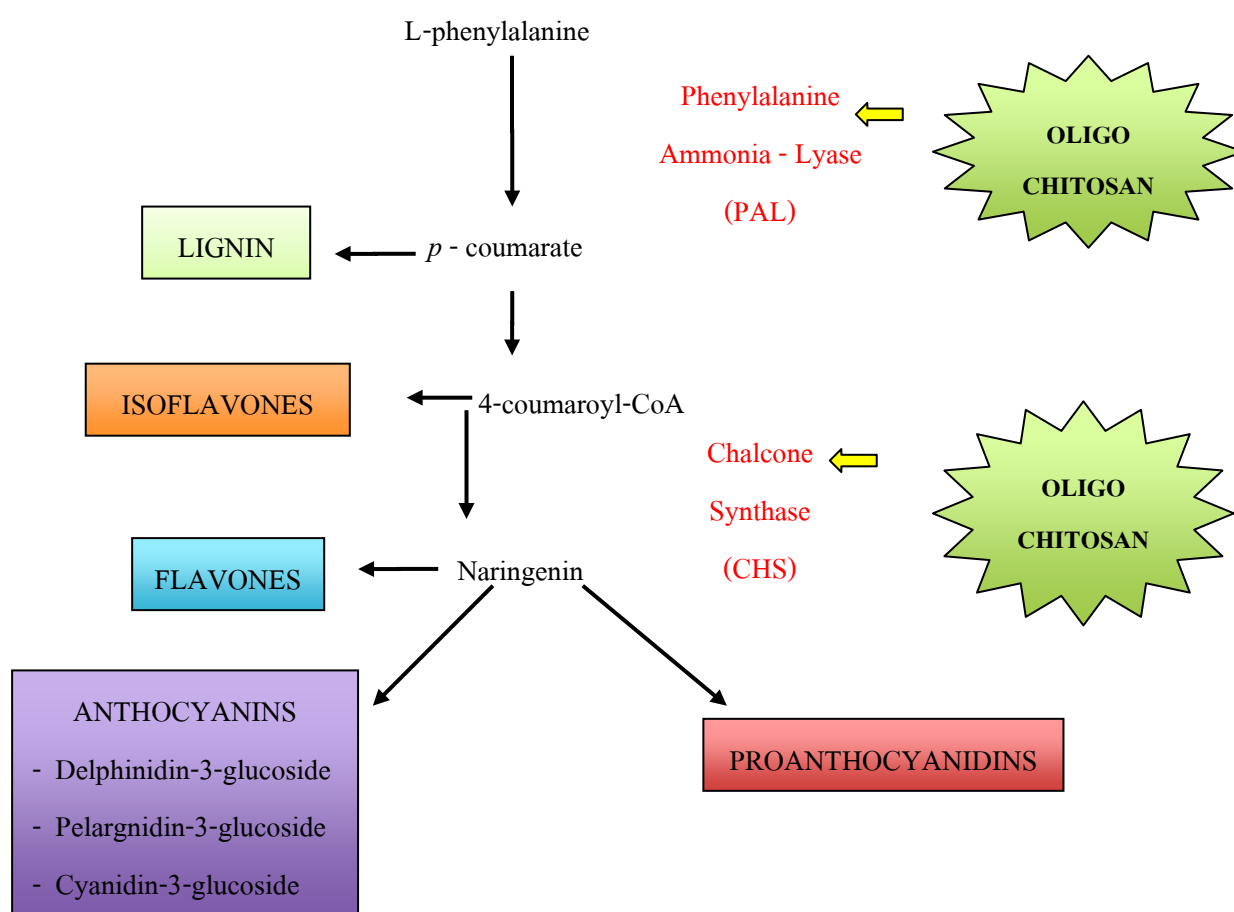
นอกจากนี้อลิโกไคโดซานยังมีคุณสมบัติในการจับไอออนต่าง ๆ เช่น โพแทสเซียม (K), แคลเซียม (Ca), แมกนีเซียม (Mg), เหล็ก (Fe) และฟอสฟอรัส (P) ซึ่งแร่ธาตุเหล่านี้ล้วนเป็นประโยชน์ต่อพืชแล้วค่อย ๆ ปลดปล่อยแร่ธาตุเหล่านี้แก่พืช ทั้งนี้เพราะอลิโกไคโดซานเป็น Biopolymer ที่มีประจุประจุลบจึงช่วยลดการชะล้างและช่วยให้การใช้ปุ๋ยมีประสิทธิภาพมากขึ้น (สุชาดา บุญเลิศนิรันดร์, กิตติ บุญเลิศนิรันดร์ และอิสรา สุขสสถาน. 2548 : 37 - 43) ทำให้ต้นข้าวมีการสะสมธาตุอาหารได้เป็นจำนวนมากส่งผลให้ต้นข้าวเมื่อถึงระยะออกรวงก็จะให้ปริมาณผลผลิตเพิ่มสูงขึ้นด้วย อีกทั้งอลิโกไคโดซานยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อราทำให้รวงข้าวของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ได้รับการฉีดพ่นด้วยอลิโกไคโดซานถูกเชื้อราทำลายในอัตราที่ต่ำส่งผลให้รวงข้าวแต่ละรวงมีปริมาณเมล็ดสมบูรณ์และน้ำหนักเมล็ดข้าวต่อกอสูง

การศึกษาผลของอลิโกไคโดซานต่อการกระตุ้นปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุง

ผลจากการศึกษาความเข้มข้นของเมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ถูกกระตุ้นด้วยอลิโกไคโดซานด้วยเครื่องวัดสีแบบตั้งโต๊ะ Colorimeter (Color Flex) พบว่า ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ถูกกระตุ้นด้วยอลิโกไคโดซานชนิด O-5, O-80 และ SCS จะให้เมล็ดข้าวที่มีสีในช่วงสีแดงเข้มสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับอลิโกไคโดซานเล็กน้อยและเมื่อศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ถูกกระตุ้นด้วยอลิโกไคโดซานด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography สามารถ อภิปรายผลการทดลองได้ดังนี้

ผลจากการทดลองพบว่า อลิโกไคโดซานชนิด O-5 และ O-80 สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงออกรวงให้เมล็ดข้าวมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับอลิโกไคโดซานซึ่งแสดงว่า อลิโกไคโดซานชนิด O-5 และ O-80 มีผลต่อการกระตุ้นแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุงให้มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นซึ่งการที่อลิโกไคโดซานสามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงออกรวงให้เมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุงมีปริมาณแอนโทไซยานินเพิ่มสูงขึ้นนี้อาจเนื่องมาจากอลิโกไคโดซานมีความสามารถในการกระตุ้นเอนไซม์ Phenylalanine Ammonia - Lyase (PAL) (Mitchell, Hall and Barber 1994 : 551 - 556 ; Rodríguez, et al. 2007 : 206 - 215) ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าว นอกจากจะเป็นเอนไซม์ที่กระตุ้นให้พืชมีการตอบสนองกลไกการป้องกันตนเองเพิ่มขึ้นแล้ว PAL ยังเป็นเอนไซม์หนึ่งในเส้นทางการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในพืช

(Phenylpropanoid Pathway) อีกด้วยโดยผ่านสารตั้งต้นคือ L-phenylalanine (Zabala, et al. 2006 : 6 - 26) และในรายงานวิจัยของ Münch - Garthoff (1997 : 242) ได้ระบุไว้ว่า เมื่อพืชถูกเชื้อราบุกกรุก พืชจะมีการแสดงออกของยีน *Sr5-* ในการยับยั้งการบุกกรุกของเชื้อราโดยการกระตุ้นการสังเคราะห์ เอนไซม์ใน Phenylpropanoid Pathway ได้แก่ PAL, 4-coumarate : Co A Ligase และ Coumaryl Alcohol Dehydrogenase นอกจากนี้โอลิโกไคโตซานอาจจะกระตุ้นให้พืชผลิตสารกลุ่ม Phytoalexins เพิ่มขึ้น เพื่อให้พืชมีความสามารถในการต้านทานเชื้อก่อโรค (Vasyukova, Zinov'eva, Il'inskaya, Perekhod, Chalenko, Gerasimova, Il'ina, Varlamov and Ozeretskovskaya. 20012001 : 103 - 109 ; Agrawal, et al. 2002 : 1061 - 1069) อีกทั้งยังพบว่าสารในกลุ่ม Phytoalexins เป็น สารตัวหนึ่งใน Phenylpropanoid Pathway โดย Phytoalexins จะเปลี่ยนเป็นสารกลุ่ม Isoflavones จากนั้นจะเปลี่ยน เป็น Narinigenin และสุดท้ายจะสังเคราะห์กลายเป็นสารกลุ่มแอนโทไซยานินในที่สุด ซึ่งกลไกที่อาจเป็นไปได้ในการกระตุ้นการสังเคราะห์แอนโทไซยานินด้วยโอลิโกไคโตซาน ในข้าวสัจหคพัตลุง สามารถแสดงเป็นแผนภาพได้ดังภาพที่ 46



ภาพที่ 46 กลไกจำลองแสดงการกระตุ้นการสังเคราะห์แอนโทไซยานิน ด้วยโอลิโกไคโตซานในพืชชนิดอื่น ๆ

เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวสาลีหัดพัทพบว่า ที่ความเข้มข้น 40 mgL^{-1} จะมีเพียงออลิโกไคโตซานชนิด O-80 เท่านั้น ที่สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสาลีหัดพัทสูงออกทรงให้เมล็ดข้าวที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่า ชุดควบคุมที่ไม่ได้รับออลิโกไคโตซาน สำหรับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 จะพบการกระตุ้นปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวสาลีหัดพัทสูงสูงกว่าชุดควบคุมเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็น 100 mgL^{-1} ส่วนออลิโกไคโตซานชนิด SCS จะไม่พบการกระตุ้นให้เมล็ดข้าวสาลีหัดพัทสูงมีปริมาณแอนโทไซยานิน สูงกว่าชุดควบคุมเลยแม้จะเพิ่มความเข้มข้นเป็น 500 mgL^{-1} ก็ตาม ผลจากการทดลองดังกล่าวมีความเป็นไปได้ที่กลไกการกระตุ้นการสังเคราะห์แอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวสาลีหัดพัทสูงโดยออลิโกไคโตซานจะเป็นกลไกการกระตุ้นแบบจำเพาะเจาะจงระหว่าง Receptor กับขนาดออลิโกไคโตซานที่มีขนาดโมเลกุลปานกลาง ($10,000 - 25,000 \text{ Da}$) โดยพบว่า ออลิโกไคโตซานชนิด O-80 ($25,111 - 25,115 \text{ Da}$) สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสาลีหัดพัทสูงออกทรงให้เมล็ดข้าวที่มีปริมาณแอนโทไซยานิน ในปริมาณที่สูงกว่าชุดควบคุม แต่สำหรับออลิโกไคโตซานชนิด SCS เป็นออลิโกไคโตซานที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่มาก ($1.19 \times 10^6 \text{ Da}$) ซึ่งอาจจะมีความไม่เหมาะสมในการจับกับ Receptor ได้อย่างจำเพาะเจาะจงส่งผลให้ไม่พบการกระตุ้นให้เมล็ดข้าวสาลีหัดพัทสูงมีปริมาณแอนโทไซยานิน เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

การศึกษาผลของออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์โคตินเอสในต้นข้าวสาลีหัดพัทสูง

เมื่อพิจารณาผลของออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์โคตินเอสในต้นข้าวสาลีหัดพัทสูงพบว่า ต้นข้าวสาลีหัดพัทสูงที่ได้รับออลิโกไคโตซานจะมีกิจกรรมของเอนไซม์โคตินเอสเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับก่อนได้รับออลิโกไคโตซานและชุดควบคุม ผลจากการทดลองดังกล่าว บ่งชี้ได้ว่าออลิโกไคโตซานมีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้ต้นข้าวสาลีหัดพัทสูงมีการผลิตเอนไซม์โคตินเอสเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sathiyabama and Balasubramanian (1998 : 307 - 313) ที่ศึกษาผลของไคโตซานต่อการชักนำความสามารถในการต้านทานเชื้อรา *Puccinia arachidis* ซึ่งเป็นเชื้อราก่อโรคใบสนิมในต้นถั่ว (*Arachys hypogaeal L.*) ผลการศึกษาพบว่า ต้นถั่วที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น $1,000 \text{ mgL}^{-1}$ มีการกระตุ้นเอนไซม์โคตินเอสในปริมาณที่สูงขึ้นและเมื่อทำการวิเคราะห์สารสกัดเอนไซม์ด้วยเทคนิค Enzyme Activity Stain และ Westernblot Analysis พบ Isoform ใหม่ของเอนไซม์โคตินเอสเพิ่มขึ้นด้วย รวมทั้งงานวิจัยของ Tejchgraber, Popper and Knorr (1991 : 11 - 14 อ้างอิงจาก Rodríguez, et al. 2007 : 207) ระบุว่า เมล็ดถั่วเหลืองที่ได้รับสารละลายไคโตซานกลูตามาที่ความเข้มข้น 0.1%, 0.5% และ 1.0% มีการผลิตเอนไซม์โคตินเอสเพิ่มสูงขึ้น และงานวิจัยของ Münch - Garthoff (1997 : 235 - 244) พบว่า ต้น

ข้าวสาลี (*Triticum aestivum* L.) ที่ได้รับไคโตซานหลังจากได้รับเชื้อ *Puccinia graminis* f.sp. *tritici* จะมีการชักนำให้มีการสังเคราะห์ เอนไซม์ไคตินเนสเพิ่มขึ้น

เมื่อศึกษาผลของขนาดโมเลกุลต่อการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสในข้าวสาลี หยดพัทลุงทำให้ทราบว่า ประสิทธิภาพในการกระตุ้นเอนไซม์ไคตินเนสที่ตรวจพบในใบข้าวสาลีหยดพัทลุง มีความสัมพันธ์กับขนาดโมเลกุลของออลิโกไคโตซานโดยพบว่า ออลิโกไคโตซานที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก (O-5 ; 406 - 6,463 Da) และออลิโกไคโตซานที่มีโมเลกุลขนาดปานกลาง (O-80 ; 25,111 - 25,115 Da) สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสาลีหยดพัทลุงผลิตเอนไซม์ไคตินเนสได้สูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซาน แต่สำหรับต้นข้าวสาลีหยดพัทลุงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซานที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ (SCS ; 1.19×10^6 Da) กลับตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสในระดับที่ใกล้เคียงกับชุดควบคุม นั้นแสดงให้เห็นว่า ยิ่งออลิโกไคโตซานมีโมเลกุลขนาดเล็กก็จะมีประสิทธิภาพ ในการกระตุ้นให้ต้นข้าวสาลีหยดพัทลุงมีการผลิตเอนไซม์ไคตินเนสได้ดียิ่งขึ้น ผลการสรุปดังกล่าวนี้ มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ El Hadrami, et al. (2010 : 968 - 987) ที่ได้รายงานสมบัติในการเป็น Elicitor ของไคโตซานไว้ว่า สมบัติในการเป็น Elicitor ของไคโตซานจะมีความสัมพันธ์กับ น้ำหนักโมเลกุล ค่า Degree of Deacetylation, ค่าความหนืดและความเข้มข้นที่เหมาะสม ซึ่งสอดคล้อง กับงานวิจัยของ Lin et al. (2005 : 942) ที่ได้อภิปรายไว้ในงานวิจัยไว้ว่า ไคโตซานที่ขนาดโมเลกุล 1,335 Da จะมีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการจับกับ Specific Receptors บน Plasma Membrane ซึ่ง Receptors ชนิดนี้จะไปชักนำให้พืชเกิดกระบวนการกลไกการป้องกันตนเอง อีกทั้งงานวิจัยของ Rodríguez, et al. (2007 : 206 - 215) ที่ศึกษาการเหนี่ยวนำกลไกการป้องกันตนเองของต้นอ่อนข้าวสาลี (*Oryza sativa* L.) ในการต้านทานต่อเชื้อรา *Pyricularia grisea* ด้วยไคโตซานและไฮโดรไลซ์ ไคโตซานผลการศึกษพบว่า ต้นอ่อนข้าวสาลีที่ได้รับการฉีดพ่นด้วยไฮโดรไลซ์ไคโตซานเมื่อได้รับ เชื้อรา *Pyricularia grisea* เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง จะมีกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสสูงกว่าต้นอ่อน ข้าวสาลีที่ได้รับการฉีดพ่นด้วยไคโตซาน และยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Vasyukova, et al. (2001 : 115 - 122) ที่ศึกษาผลของขนาดโมเลกุลไคโตซานต่อการกระตุ้นความสามารถในการต้านทานเชื้อโรคของพืชผลการศึกษพบว่า ไคโตซานที่มีขนาดโมเลกุล 5 kDa มีประสิทธิภาพในการกระตุ้น ให้เนื้อเยื่อมะเขือเทศให้มีการผลิตเอนไซม์ไคตินเนสสูงกว่าเนื้อเยื่อที่ได้รับไคโตซานที่มีขนาดโมเลกุล 24 kDa และ 200 kDa รวมทั้งงานวิจัยของ Lin, et al. (2005 : 937 - 944) ที่ศึกษาผลการตอบสนอง ต่อระบบป้องกันตนเองของข้าวที่ได้รับไคโตซานที่มีขนาดโมเลกุลแตกต่างกัน ผลการศึกษพบว่า ไคโตซานที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก (1,335 Da) มีความสามารถในการกระตุ้นเอนไซม์ไคตินเนสได้ดีกว่า ไคโตซานที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ (50,000 Da)

ผลการวิเคราะห์ชนิดของโปรตีนด้วยเทคนิค SDS - PAGE จากสารสกัดใบข้าวสังข์หยด พืชจะปรากฏโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุล 13.05 kDa, 32.26 kDa และ 65.16 kDa ซึ่งสารสกัดจาก ใบข้าวที่ถูกกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซานชนิด O-5 และ O-80 จะปรากฏแถบโปรตีนที่มีขนาด โมเลกุล 32.26 kDa และ 13.05 kDa เข้มกว่าแถบโปรตีนที่มาจากสารสกัดจากใบข้าวที่ถูก กระตุ้นด้วย ออลิโกไคโตซานชนิด SCS และจากชุดควบคุม ซึ่งการที่ปรากฏแถบโปรตีนที่มีขนาด โมเลกุล 32.26 kDa สามารถบ่งชี้ได้ว่า โปรตีนดังกล่าวอาจจะเป็นโปรตีนที่เป็นเอนไซม์ไค ดินเอส เนื่องจาก ผลการทดลองดังกล่าวมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Park (1999 : 6642 - 6649 ; อ้างอิงจาก Sorawee Kleekron 2005 : 54) ที่ได้ไว้กล่าวว่า น้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์ไคดินเอส จะอยู่ในช่วง 31 - 115 kDa และงานวิจัยของ Legrand, Kauffmann, Geoffroy and Fritig. (1987 : 6750 - 6754) ที่ศึกษาการทำงานของ Pathogenesis-Related proteins (PR proteins) ในใบยาสูบ ผล การศึกษาพบว่า ใบยาสูบที่ได้รับการกระตุ้นด้วย Tobacco Mosaic Virus (TMV) จะพบเอนไซม์ไค ดินเอสที่มีน้ำหนัก โมเลกุลเท่ากับ 32 kDa และ 34 kDa โดยพืชจะสะสมเอนไซม์ไคดินเอสไว้ใน ช่องว่างระหว่างเซลล์ (Intercellular Space) รอบ ๆ ผนังเซลล์ซึ่งเป็นบริเวณที่พืชจะหลั่งเอนไซม์ต่าง ๆ เช่น β -1,3-glucanase, Glucanhydrolase เพื่อทำลายผนังเซลล์ของเชื้อโรคที่เข้ามาบุกรุก

การที่ออลิโกไคโตซานมีความสามารถในการกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพืชมีการผลิต เอนไซม์ไคดินเอสได้เพิ่มขึ้นนั้นเนื่องจาก ออลิโกไคโตซานมีโครงสร้างที่คล้ายกับผนังเซลล์ของเชื้อ รา ดังที่กล่าวในงานวิจัยของ Freytag and Mendgen (1991 : 94 - 103 ; อ้างอิงจาก Münch - Garthoff 1997 : 242) ไว้ว่า โครงสร้างของเชื้อก่อโรคใบสนิม (*Puccinia graminis* f.sp. *tritici*) ที่ฟอร์มตัวอยู่ ใน Mesophyll ของเซลล์พืชจะเต็มไปด้วย Glycoproteins Proteins, α และ β -1,3-glucan ซึ่งเชื้อจะ เปลี่ยนสารดังกล่าวให้อยู่ในรูปของไคโตซานโดยใช้เอนไซม์ Chitin Deacetylase จากการศึกษาทำ ให้ทราบว่า Chitin Deacetylase เป็นจุดเริ่มต้นของการสร้างเส้นใย (Hypha) ของเชื้อราที่ใช้ในการ โจมตี เซลล์พืชเมื่อเชื้อมีการบุกรุกเข้าสู่ปากใบ (Stomata) พืชจะจดจำเชื้อโรคก่อนที่ปากใบจะเปิดซึ่ง จะทำให้เชื้อราเข้าสู่เซลล์ได้โดยตรง ด้วยเหตุนี้เมื่อออลิโกไคโตซานถูกดูดซึมเข้าสู่เซลล์พืชด้วย คุณสมบัติในการเป็นตัวกระตุ้นชนิด Pathogen-Associated Molecular Patterns (PAMPs) (ยุนัตริ ยอดโยธี. 2554 : 26) ทำให้พืชจดจำได้ว่ามีคุณสมบัติเป็นเชื้อโรคส่งผลให้พืชส่งสัญญาณให้ภายใน เซลล์มีการแสดงออก ของยีน *Sr24*- เพื่อสังเคราะห์เอนไซม์ไคดินเอสให้ไปทำลายเส้นใยของเชื้อ ราบริเวณภายนอกเซลล์ (Extracellular) ส่วนบริเวณภายในเซลล์ (Intracellular) เอนไซม์ไคดินเอสจะ ถูกพืชกระตุ้นให้มีกิจกรรมเพิ่มมากขึ้นเมื่อพืชมีการติดเชื้อแล้ว (Münch - Garthoff. 1997 : 242) และ ในงานวิจัยของ Mauch and Staehelin (1989 : 936 - 942 ; อ้างอิงจาก Münch - Garthoff 1997 : 242) ได้รายงานไว้ว่า เมื่อเชื้อโรค เข้าสู่ชั้น Mesophyll จะพบการแสดงออกของยีน *Pre-Sr 24* ในพืชและ

เมื่อเชื้อโรคเริ่มปรับตัวเข้ากับการเผชิญกับเอนไซม์เหล่านี้พืชก็จะมีการส่งสัญญาณให้มีการปลดปล่อยเอนไซม์ในปริมาณที่เพิ่มขึ้น และยังมีการเพิ่มประสิทธิภาพของเอนไซม์โดยการทำงานร่วมกัน (Synergistic) ระหว่างเอนไซม์ 2 ชนิด เพื่อให้พืชสามารถที่จะต่อสู้กับเชื้อโรคได้อีกด้วย (Mauch, Mauch - Mani and Boller. 1988 : 936 - 942 ; Roberts and Selitrennikoff. 1988 : 169 - 176 ; อ้างอิงจาก Münch - Garthoff 1997 : 242)

จากการวิเคราะห์ชนิดของโปรตีนด้วยเทคนิค SDS - PAGE และการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสในสารสกัดจากใบข้าวด้วยเทคนิค Spectrophotometer ที่กล่าวมาในข้างต้นสามารถยืนยันได้ค่อนข้างชัดเจนว่า ออลิโกไคโตซานสามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสังเคราะห์ผลิตเอนไซม์ไคตินเนสในระดับที่สูงขึ้นเนื่องจากออลิโกไคโตซานมีคุณสมบัติในการเป็นตัวกระตุ้นชนิด PAMPs ทำให้พืชจดจำว่ามีเชื้อโรคบุกรุกจึงส่งสัญญาณภายในเซลล์ให้มีการสังเคราะห์เอนไซม์ไคตินเนสเพิ่มขึ้น เพื่อทำลายเชื้อรา

การศึกษาผลของออลิโกไคโตซานต่อการป้องกันตนเองจากเชื้อราก่อโรคไหม้ในข้าวสังข์หยดพัทลุง

ผลจากการทดลองพบว่า ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS มีความสามารถในการต้านทานต่อเชื้อรา *Pyricularia grisea* ได้ดีกว่าชุดควบคุมที่ไม่สามารถต้านทานเชื้อรา *Pyricularia grisea* ได้เลยซึ่งชี้ให้เห็นว่า ออลิโกไคโตซานมีความสามารถในการกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงมีความสามารถในการต้านทานต่อเชื้อราก่อโรคไหม้ได้ซึ่งสอดคล้องกับ งานวิจัยของ Sorawee Kleekron (2005 : 46) ที่ศึกษาการใช้ไคโตซานในการกระตุ้นระบบป้องกัน ตนเองจากโรคไหม้ผลการศึกษพบว่า ต้นข้าวพันธุ์กข 6 และกข 10 ที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น $1.5 - 2 \text{ gL}^{-1}$ จะมีการติดเชื้อรา *Pyricularia grisea* ลดลง 38% และ 40% ตามลำดับ ซึ่งผลการศึกษานี้ มีความใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Supaporn Janbuathong (2003 ; อ้างอิงจาก Sorawee Kleekron 2005 : 49) ที่ได้ระบุว่า ต้นข้าวพันธุ์หอมมะลิ 105, ข้าวตาแห้ง 17 และปทุมธานี 60 ที่ได้รับไคโตซานความเข้มข้น 2 gL^{-1} จะมีความรุนแรงของโรคไหม้ข้าวลดลง

เมื่อพิจารณาผลของขนาดโมเลกุลของออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นความสามารถในการต้านทานเชื้อรา *Pyricularia grisea* ของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงพบว่า ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 และ O-80 จะมีความสามารถในการต้านทานเชื้อรา *Pyricularia grisea* ได้ดีกว่าต้นข้าวที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด SCS ซึ่งผลการทดลองนี้บ่งชี้ให้เห็นว่าประสิทธิภาพ ของออลิโกไคโตซานในการกระตุ้นให้พืชมีความต้านทานต่อเชื้อรา *Pyricularia grisea* มีความสัมพันธ์ กับขนาดโมเลกุล โดยออลิโกไคโตซานที่มีโมเลกุลขนาดเล็กจะมีความสามารถในการกระตุ้นให้พืช มีความต้านทานต่อเชื้อราก่อโรคได้ดีกว่าไคโตซานที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ ซึ่ง

ข้อสรุปดังกล่าวนี้มีความสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Lin, et al. (2005 : 937 - 944) ที่ศึกษาผลของขนาดโมเลกุลของไคโตซานต่อความสามารถในการต้านทานโรคไหม้ในต้นข้าวผลการศึกษาพบว่า ต้นข้าวที่ได้รับไคโตซานที่มีขนาดโมเลกุล 3,350 Da จะปรากฏอาการติดเชื้อน้อยกว่าต้นข้าวที่ได้รับไคโตซาน ขนาดโมเลกุล 50,000 Da และยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Rodríguez, et al. (2007 : 206 - 215) ที่ศึกษาผลของไคโตซานและไฮโดรไลซ์ไคโตซานต่อการชักนำต่อการตอบสนองกลไกการป้องกันตนเองของต้นอ่อนข้าวสาลี (*Oryza sativa* L.) ต่อเชื้อรา *Pyricularia grisea* ผลการศึกษาพบว่า หลังจากต้นข้าวได้รับเชื้อรา *Pyricularia grisea* เป็นระยะเวลา 7 วัน ต้นข้าวที่ได้รับไฮโดรไลซ์ไคโตซาน (588 - 1,511 Da) ที่ความเข้มข้น 100 mgL^{-1} จะไม่ปรากฏอาการของโรคไหม้เลย ซึ่งแตกต่างจาก ต้นข้าวที่ได้รับไคโตซานที่ความเข้มข้นเดียวกันที่ปรากฏจุดสีน้ำตาลขนาดเล็กซึ่งเกิดจากการติดเชื้อรา *Pyricularia grisea*

เมื่อพิจารณาผลของความเข้มข้นออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่มีความเข้มข้นในช่วง 20 - $1,000 \text{ mgL}^{-1}$ ต่อการกระตุ้นความสามารถในการต้านทานเชื้อรา *Pyricularia grisea* ของต้นข้าวสังข์หยด พืชพบว่า ต้นข้าวสังข์หยดพืชจะมีความสามารถในการต้านทานเชื้อรา *Pyricularia grisea* ได้ สูงขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของออลิโกไคโตซานชนิด O-5 โดยต้นข้าวสังข์หยดพืชที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้น 500 mgL^{-1} จะมีความสามารถในการต้านทานเชื้อรา *Pyricularia grisea* ได้ดีที่สุด โดยจะพบการเกิดอาการแผลจุดดำเพียง 2.50% เท่านั้น สำหรับการที่ต้นข้าวสังข์หยดพืชที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้น 40 mgL^{-1} มีความสามารถในการต้านทานเชื้อรา *Pyricularia grisea* ได้สูงกว่าออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้น 100 mgL^{-1} นั้นอาจ เนื่องมาจากออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้น 40 mgL^{-1} เป็นความเข้มข้นที่สามารถกระตุ้น ให้ต้นข้าวสังข์หยดพืชมีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด จากอิทธิพลดังกล่าวนี้จึงส่งผลให้ต้นข้าวสังข์หยดพืชมีความสมบูรณ์ ส่งผลให้ต้นข้าวสังข์หยดพืชมีความสามารถในการต้านทานเชื้อราก่อโรคได้เพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงเป็นผลที่เกิดจากอิทธิพลร่วมกันระหว่างการกระตุ้นการเจริญเติบโตและการกระตุ้นความสามารถในการต้านทานเชื้อราก่อโรคในต้นข้าวสังข์หยดพืช

เมื่อทำการศึกษาผลของออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ต่อการกระตุ้นความสามารถในการต้านทานเชื้อรา *Pyricularia grisea* ต่อข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 (พันธุ์ต้านทานโรคไหม้), ข้าวพันธุ์สังข์หยดพืช และข้าวพันธุ์พิษณุโลก 2 (พันธุ์อ่อนแอต่อโรคไหม้) พบว่า ข้าวพันธุ์อ่อนแอต่อโรคไหม้เมื่อได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 จะมีความสามารถในการต้านทานเชื้อรา *Pyricularia grisea* ได้เพิ่มขึ้น ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมที่ไม่ได้รับออลิโกไคโตซานที่ไม่มีความสามารถในการต้านทานเชื้อรา *Pyricularia grisea* ได้เลย ส่วนข้าวพันธุ์ต้านทานโรคไหม้เมื่อได้รับเชื้อรา

Pyricularia grisea พบว่า ข้าวพันธุ์ต้านทานโรคไหม้ทั้งจากชุดควบคุมและชุดที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ต่างมีความสามารถในการต้านทานเชื้อรา *Pyricularia grisea* ได้ทั้งหมด สาเหตุที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากข้าวพันธุ์ต้านทานต่อโรคไหม้เป็นพันธุ์ที่กรมการข้าวได้ทำการวิจัยและปรับปรุงพันธุ์ในระดับยีนเพื่อให้มีความสามารถในการต้านทานต่อเชื้อก่อโรคไหม้ซึ่งผลจากการทดลองดังกล่าวทำให้สรุปได้ว่า ออลิโกไคโตซานมี ประสิทธิภาพในการกระตุ้นให้ต้นข้าวพันธุ์อ่อนแอต่อโรคไหม้สามารถต้านทานต่อเชื้อก่อโรคไหม้ได้

การที่ออลิโกไคโตซานสามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสังขยดพัทลุงสามารถต้านทานต่อเชื้อราก่อโรคไหม้ได้สูงขึ้นนั้นเนื่องมาจากพืชจะมีกลไกการป้องกันตนเองจากการถูกเชื้อราบุกรุกโดยการมี Trans-membrane Pattern Recognition Receptors (PRRs) ในการสร้างอันตรกิริยา (Interaction) กับ Pathogen/Microbe-Associated Patterns (PAMPs/MAMPs) ซึ่งอาจจะเป็นตัวควบคุม (Regulator) สารที่หลั่งมาจากเชื้อโรคหรือจากผนังเซลล์ของพืชที่ติดเชื้อแล้วรวมทั้งผนังเซลล์ในกลุ่ม Polysaccharides ได้แก่ Glucan และ Chitosan (Iriti and Faoro, 2009 : 66 - 68) ด้วยเหตุนี้เมื่อพืชได้รับออลิโกไคโตซาน ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายกับผนังเซลล์ของเชื้อราหลายชนิดและมีคุณสมบัติในการเป็น Elicitor ชนิด PAMPs (ยุรฉัตร ยอดโยธี, 2554 : 26 ; Iriti and Faoro, 2009 : 66 - 68) ออลิโกไคโตซานก็จะทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการเกิด Interaction ระหว่าง Polycationic Molecule กับ Negatively- Charged Phospholipid (Kauss, Jeblick and Domard, 1989 : 385 - 392) และจะเข้าไปจับกับโปรตีน ภายใน Plasma Membrane แบบจำเพาะเจาะจงในลักษณะ Chitosan-Binding Proteins (Day, Tanabe, Koshioka, Mitsui, Itoh, Ueguchi - Tanaka, Matsuoka, Kaku, Shibuya and Minami, 2004 : 261 - 272) และผลจากการศึกษาของ Chen and Xu (2005 : 452 - 456) ที่ทำการสกัด Chitosan-Binding Proteins พบว่า โปรตีนชนิดนี้ทำหน้าที่เป็น Receptor สำหรับไคโตซานจึงเรียกโปรตีนนี้ว่า Chitin Elicitor Binding Protein (CEBiP) ส่งผลให้พืชเกิดการชักนำกลไกการป้องกันตนเองขึ้นเมื่อได้รับออลิโกไคโตซานผ่านกลไกหลายช่องทาง เช่น Ion channel ภายในเซลล์พืชจะถูกเปิดออกเพื่อปล่อย H^+ และ Ca^{2+} เข้าไปใน Cytosol เพิ่มมากขึ้น (Amborabe', et al. 2008 : 2317 - 2324) พืชจะสังเคราะห์ 2-oxo-phytodeionin และ Jasmonic Acid ซึ่งเป็นที่ทำหน้าที่เป็น Signal Molecule ที่สำคัญที่สุดในพืชที่ใช้ในการป้องกันเชื้อโรคที่เข้ามาบุกรุก (El Hadrami, et al. 2010 : 978 ; Lin, et al. 2005 : 937 - 944) รวมทั้งผลิตเอนไซม์ Peroxidase, Polyphenoloxidase และ PAL ซึ่งเป็นเอนไซม์หลัก (Key Enzyme) ใน Phenylalanine Pathway ในการสังเคราะห์สาร Phytoalexins และสาร Secondary Phenolic Metabolites หลายชนิดในพืช (Lin, et al. 2005 : 941) รวมทั้งสังเคราะห์สารประกอบ Phenolic, สารในกลุ่ม Hydroxycinnamic Acid, Benzoic และ Lignin ในปริมาณสูงขึ้น (El Hassni, El Hadrami, Daayf, Che'rif, Ait Barka, and El Hadrami, I.

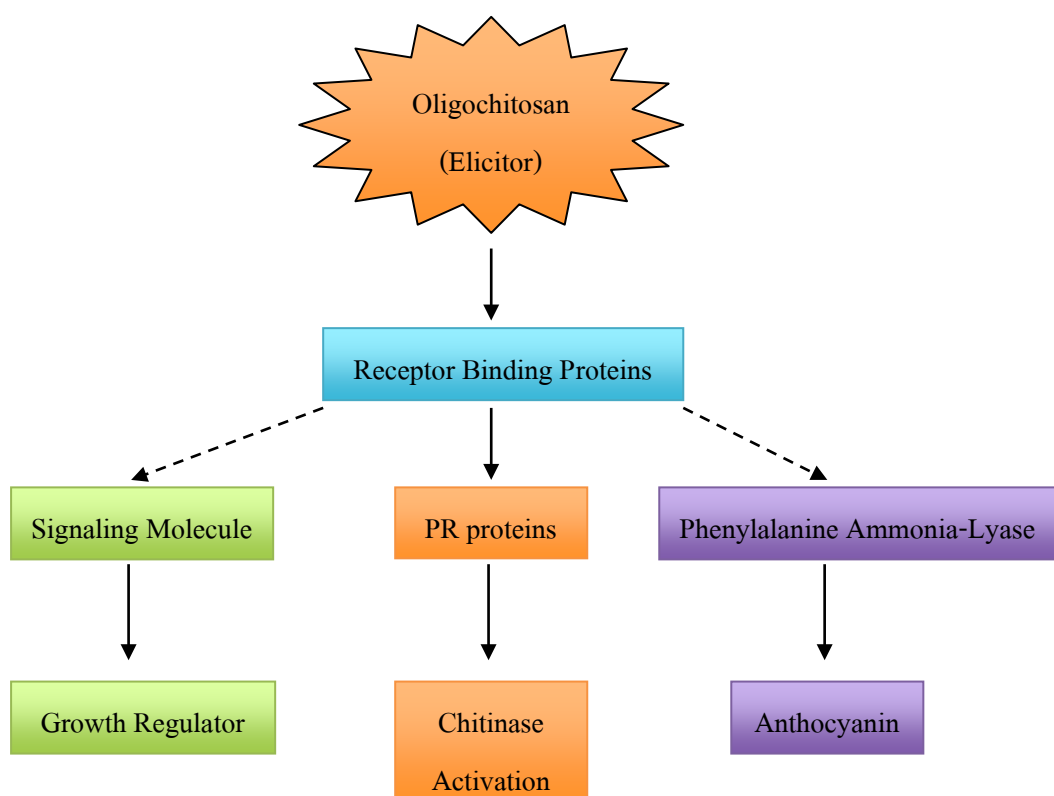
2004 : 195 - 204 ; Reddy, et al. 1999 : 1208 - 1216) และ Hydrogen Peroxide (H_2O_2) (Lin, et al. 2005 : 938 ; Levine, et al. 1994 : 583 - 593)

กล่าวโดยสรุปคือ เมื่อต้นข้าวสังข์หยดพื้ตูลงได้รับออลิโกไคโตซานซึ่งเป็นสารไบโอพอลิเมอร์ ที่มีคุณสมบัติในการเป็นตัวกระตุ้นชนิด PAMPs ส่งผลให้พืชผลิตสารต่าง ๆ รวมทั้ง PR proteins (Hadwiger. 1999 : 185 - 200 ; Loschke et al. 1983 : 163 - 173) เพื่อป้องกันอันตรายให้กับตนเอง ดังที่กล่าวในรายงานวิจัยของ Agrawal, et al. (2002 : 1061 - 1069) ที่การศึกษาผลของออลิโกไคโตซานต่อการตอบสนองกลไกการป้องกันตนเองในต้นอ่อนข้าวสาลีผลการศึกษพบว่า ต้นอ่อนข้าวสาลีที่ได้รับออลิโกไคโตซานมีการสะสม PR proteins ชนิด *OsPR5* และ *OsPR10* ซึ่งสอดคล้อง กับงานวิจัยของ Münch - Garthoff, et al. (1999 : 235-244) ที่พบการแสดงออกของยีน *Sr5* และ *Sr24* ซึ่งเป็นยีนที่มีบทบาทในการสังเคราะห์ PR proteins 2 ชนิดคือ β -1,3-glucanase และ Chitinase ในต้นข้าวที่ได้รับออลิโกไคโตซาน นอกจาก PR proteins จะมีบทบาทในการทำลายเชื้อโรคที่เข้ามา บุกรุกเซลล์พืชโดยตรงแล้ว PR proteins ที่พืชผลิตขึ้นมานั้นยังไปกระตุ้นระบบ Systemic Acquired Resistance (SAR) ในพืชทำให้พืชเกิดการต้านทานโรคแบบไม่จำเพาะเจาะจงได้ โดยพืชจะมีความสามารถในการต้านทานเชื้อโรคได้ทั้งในบริเวณที่ถูกบุกรุกและบริเวณที่ไกลออกไปได้ซึ่งระบบ SAR นี้จะมี Salicylic Acid ที่ทำหน้าที่เป็น Signaling Molecule ซึ่งมีความสอดคล้องสอดคล้องกับรายงานวิจัย ของ Sathiyabama and Balasubramanian (1998 : 301 - 313) ที่พบการสะสม Salicylic Acid ใน เนื้อเยื่อต้นถั่วที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซานในปริมาณที่สูงถึง 2 เท่าของชุดควบคุมที่ไม่ได้ รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซาน

จากผลการทดลองที่พบว่า ต้นข้าวสังข์หยดพื้ตูลงที่ได้รับออลิโกไคโตซานมีการผลิตสารกลุ่มแอนโทไซยานินในปริมาณที่เพิ่มสูงขึ้นในเมล็ดข้าวสังข์หยดพื้ตูลงเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม ผลการทดลองดังกล่าวมีความสอดคล้องกับรายงานการวิจัยของ Lin, et al. 2005 : 941 ; Hadrami, et al. 2010 : 968 - 987 ; Mitchell, Hall and Barber. 1994 : 551 - 556 ; Rodríguez, et al. 2007 : 206 - 215) ที่ได้กล่าวไว้ว่า พืชที่ได้รับออลิโกไคโตซานจะพบการกระตุ้นการผลิตเอนไซม์ PAL ในปริมาณ ที่เพิ่มสูงขึ้นซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวทำหน้าที่เป็น Key Enzyme ของกระบวนการสังเคราะห์สาร Secondary Phenolic Metabolites ในพืชหลายชนิดรวมทั้งงานวิจัยของ Agrawal, et al. 2002 : 1061 - 1069) ที่พบว่าต้นอ่อนข้าวสาลีที่ได้รับออลิโกไคโตซานจะมีการผลิตสารกลุ่ม Flavonoid เพิ่มสูงขึ้น

นอกจากออลิโกไคโตซานจะมีคุณสมบัติในการเป็นตัวกระตุ้นระบบกลไกการป้องกันตนเอง รวมทั้งสารกลุ่ม Secondary Metabolites ในพืชแล้ว ออลิโกไคโตซานยังมีความสามารถในการกระตุ้น การเจริญเติบโตในพืชได้อีกด้วย เนื่องจากออลิโกไคโตซานไปกระตุ้น Signal

Transduction ในพืช เพื่อส่งสัญญาณให้พืชผลิตสารในกลุ่มสารควบคุมการเจริญเติบโตในพืชให้เพิ่มสูงขึ้นด้วย ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่า ออลิโกไคโตซานมีความสามารถในการกระตุ้นให้ต้นข้าวสาลีหยดพัทลุงมีการเจริญเติบโตได้ดีขึ้น อีกทั้งยังสามารถกระตุ้นกลไกการป้องกันตนเองในต้นข้าวสาลีหยดพัทลุงและกระตุ้นการสร้างสารกลุ่มแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวสาลีหยดพัทลุงให้มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นด้วยดังภาพที่ 47



ภาพที่ 47 กลไกจำลองแสดงการเปลี่ยนแปลงภายในใบข้าวสาลีหยดพัทลุง
เมื่อถูกกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซาน

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในการสังเคราะห์สารป้องกันตนเองของพืชในกลุ่ม Phytoalexins และ PR proteins เพื่อให้มีความเข้าใจกลไกในการป้องกันตนเองจากโรคพืชได้ชัดเจนยิ่งขึ้น
2. ควรมีการศึกษาการแสดงออกของยีนที่ใช้ในการสังเคราะห์เอนไซม์ไคตินเอส และสารในกลุ่มแอนโทไซยานินเพื่อเป็นการพิสูจน์ได้อย่างชัดเจนยิ่งขึ้นว่าไคโตซานมีความสามารถในการกระตุ้น การผลิตเอนไซม์ไคตินเอสและสารแอนโทไซยานินได้เพิ่มขึ้น
3. ควรทำบริสุทธิ์และหาเอกลักษณ์ของเอนไซม์ไคตินเอสจากสารสกัดเอนไซม์จากใบข้าวสาลีหอยพัดสูงเพื่อพิสูจน์ได้อย่างชัดเจนยิ่งขึ้นว่าออลิโกไคโตซานมีความสามารถในการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเอสได้สูงขึ้นและเป็นเอนไซม์ไคตินเอส Isoform ชนิดใด