

แบบรายงานการวิจัยฉบับย่อ
มหาวิทยาลัยทักษิณ

ผลของออลิโกไคโตซานต่อการเติบโตและกลไกการป้องกัน
โรคไหม้ในข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง
Effect of oligochitosan on growth and defense against
blast disease of Sung Yod Phatthalung rice

โดย

รองศาสตราจารย์ เกษม อัสวตรีรัตนกุล
สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ

นางสาว ธัญชนก พูนศิลป์
นิสิตปริญญาโท หลักสูตร วท.ม. (เคมีประยุกต์) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ กองทุนวิจัย
มหาวิทยาลัยทักษิณ (ทุนวิจัยบัณฑิตศึกษา) ปีงบประมาณ 2556

ผลของออลิโกไคโตซานต่อการเติบโตและกลไกการป้องกัน
โรคไหม้ในข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง

Effect of oligochitosan on growth and defense against
blast disease of Sung Yod Phatthalung rice

โดย

รองศาสตราจารย์ เกษม อัสวตรีรัตนกุล
สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ

นางสาว ธัญชนก พูนศิลป์
นิสิตปริญญาโท หลักสูตร วท.ม. (เคมีประยุกต์) คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนการวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้ กองทุนวิจัย
มหาวิทยาลัยทักษิณ (ทุนวิจัยบัณฑิตศึกษา) ปีงบประมาณ 2556

คำนำ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณเงินรายได้จาก กองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ (ทุนวิจัยบัณฑิตศึกษา) ปีงบประมาณ 2556 ซึ่งรายงานการวิจัยฉบับนี้ได้สัมฤทธิ์ผลทุกประการตามวัตถุประสงค์ของโครงการที่ตั้งไว้ องค์ความรู้ที่ได้รับจากงานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ขั้นพื้นฐานในการศึกษากลไกการป้องกันโรคไหม้ในข้าวพันธุ์ สังข์หยดพัทลุง ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรที่ปลูกข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงในพื้นที่ภาคใต้ นอกจากนี้ยังสามารถนำความรู้ที่ได้มาประยุกต์สำหรับการเรียนการสอนในระดับปริญญาตรีและระดับบัณฑิตศึกษาของสาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณได้เป็นอย่างดี ผู้วิจัยหวังว่าข้อมูลจากโครงการวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ต่อการพัฒนาการเพิ่มผลผลิตของข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงต่อไปในอนาคต

รายงานวิจัยฉบับนี้ เป็นรายงานฉบับย่อ ถ้าผู้สนใจต้องการศึกษารายละเอียดเพิ่มเติม จะศึกษาได้จาก รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

รองศาสตราจารย์ เกษม อัสวศิริรัตนกุล

นางสาว ธัญชนก พูนศิลป์

เมษายน 2557

ชื่อโครงการวิจัย ผลของออลิโกไคโตซานต่อการเติบโตและกลไกการป้องกัน

โรคไหม้ในข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง

Effect of oligochitosan on growth and defense against

blast disease of Sung Yod Phatthalung rice

ความสำคัญของปัญหาการวิจัย

ข้าวสังข์หยดพัทลุงเป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองดั้งเดิมของจังหวัดพัทลุงซึ่งอุดมไปด้วยสารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเฉพาะในอาซินและเมื่อนำข้าวกล้องไปหุงแล้วก็มีรสชาติที่อร่อยกว่า ข้าวกล้องทั่วไป ด้วยคุณสมบัติอันโดดเด่นดังกล่าวทำให้ข้าวสังข์หยดพัทลุงได้รับความนิยมอย่างสูงในกลุ่มผู้บริโภค แต่ปัญหาที่สำคัญคือข้าวสังข์หยดพัทลุงเป็นพันธุ์ข้าวที่มีความอ่อนแอต่อโรคไหม้ โดยมีเชื้อราก่อโรคคือ *Pyricularia grisea* ด้วยเหตุนี้ทำให้ผู้วิจัยเล็งเห็นถึงความสำคัญของปัญหาดังกล่าว โดยมุ่งศึกษาอิทธิพลของออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นกลไกการป้องกันตนเองในต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงเพื่อให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงมีความต้านทานต่อโรคได้มากขึ้น พร้อมทั้งกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงมีการเจริญเติบโตและให้ปริมาณผลผลิตที่เพิ่มสูงขึ้นและอาจจะนำไปสู่การเพิ่มความเข้มข้นและปริมาณแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวสังข์หยดได้อีกด้วย

วัตถุประสงค์การวิจัย

1. ผลของออลิโกไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุง
2. ศึกษาผลของออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นเอนไซม์ไคตินเนสและกลไกการป้องกันโรคไหม้ในต้นข้าวสังข์หยดพัทลุง
3. ศึกษาผลของออลิโกไคโตซานต่อผลผลิตของข้าวสังข์หยดพัทลุง
4. ศึกษาผลของออลิโกไคโตซานต่อปริมาณสารแอนโทไซยานินในเมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุง

การสังเคราะห์วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

โรคไหม้ข้าวเป็นโรคที่มีความสำคัญโรคหนึ่งของข้าวเนื่องจากสร้างความเสียหายต่อข้าวเป็นอย่างมาก สาเหตุของโรคนี้เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia grisea* Sacc. มีความสามารถในการทำลายข้าวได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้าจนถึงออกรวงและเข้าทำลายทุกส่วนของต้นข้าว [1] บริเวณที่เชื้อเข้าทำลายมากที่สุดคือ บริเวณใบและรวง [2] วิธีการควบคุมโรคไหม้ในปัจจุบันคือ การปลูกพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้และการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อรา อย่างไรก็ตามการปลูกข้าวที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์มีข้อจำกัดหลายประการเนื่องจากเชื้อ *P.grisea* ที่พบในประเทศไทยมีความแปรปรวนและหลากหลายทั้งยังมีการเปลี่ยนแปลงได้ในระยะเวลาอันสั้น [3] ด้วยเหตุนี้พันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้ที่ทางกรมวิชาการข้าวแนะนำจึงมีความต้านทานโรคลดลง เชื้อสามารถเข้าทำลายข้าวได้ภายใน

ระยะเวลาไม่กี่ปี หลังจากที่เราแนะนำเกษตรกรให้ปลูกในสภาพแปลงนา [4] ส่วนการใช้สารเคมีในการกำจัดเชื้อรา มีราคาแพงทำให้เป็นภาระต่อเกษตรกรและยังเป็นอันตรายทั้งกับเกษตรกรสิ่งแวดล้อมรวมทั้งผู้บริโภค จากปัญหาดังกล่าวผู้วิจัย จึงสนใจทำการศึกษาวิธีการควบคุมเชื้อราก่อโรคโดยการนำโอลิโกไคโตซานซึ่งเป็นสารประกอบทางธรรมชาติที่มีขนาดโมเลกุลเล็กกว่าไคโตซานมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของไมซีเลียมแอสปอร์ของเชื้อ *P.grisea* ได้ [5] โดยการนำมาประยุกต์ใช้เป็นตัว กระตุ้น (elicitor) ให้ต้นข้าวสังเคราะห์ผลิตพืทูลงสร้างกลไกการป้องกันตนเองเพื่อต่อต้านเชื้อรา *P.grisea* รวมทั้งกระตุ้นการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตแก่ต้นข้าวสังเคราะห์พืทูลง ทั้งยังเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะลดการใช้สารเคมีในการควบคุมโรคไหม้ข้าวซึ่งเป็นแนวทางที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและมนุษย์

วิธีวิจัย

1. ศึกษาสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของโอลิโกไคโตซานโดยการวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลด้วยเทคนิค Electro Spray Ionization Mass Spectrophotometry (ESIMS) พร้อมทั้ง วัดระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล (Degree of Deacetylation, %DD) ด้วยเทคนิค Spectrophotometry
2. ศึกษาผลของโอลิโกไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังเคราะห์พืทูลงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยโอลิโกไคโตซานชนิดต่าง ๆ และโอลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ รวมทั้งการกระตุ้นด้วยโอลิโกไคโตซานชนิด O-5 ด้วยความถี่ต่าง ๆ โดยการวัดความสูงของต้นข้าว
3. ศึกษาผลของโอลิโกไคโตซานต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสที่สกัดจากใบของต้นข้าวสังเคราะห์พืทูลงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยโอลิโกไคโตซานชนิดต่าง ๆ และโอลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ รวมทั้งการกระตุ้นด้วยโอลิโกไคโตซานชนิด O-5 ด้วยความถี่ต่าง ๆ ด้วยเทคนิค Spectrophotometry พร้อมทั้งวิเคราะห์ลักษณะโปรตีนด้วยเทคนิค Sodium Dodecyl Sulfate - Polyacrylamide Gel Electrophoresis (SDS - PAGE)
4. ศึกษาผลของโอลิโกไคโตซานต่อการป้องกันเชื้อราก่อโรคไหม้ในต้นข้าวสังเคราะห์พืทูลงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยโอลิโกไคโตซานชนิดต่าง ๆ และโอลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เปรียบเทียบกับต้นข้าวพืทูลงโลก 2 และปทุมธานี 1 โดยวัดจากระดับความรุนแรงของโรคไหม้
5. ศึกษาผลผลิตของต้นข้าวสังเคราะห์พืทูลงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยโอลิโกไคโตซานชนิดต่าง ๆ และโอลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ รวมทั้งการกระตุ้นด้วยโอลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่ความถี่ต่าง ๆ โดยการวัดน้ำหนักเมล็ดข้าวที่สมบูรณ์ต่อกอ
6. ศึกษาความเข้มข้นของเมล็ดข้าวสังเคราะห์พืทูลงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยโอลิโกไคโตซานชนิดต่าง ๆ และโอลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยเครื่องวัดสีแบบตั้งโต๊ะ Colorimeter (Color Flex)
7. ศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินของเมล็ดข้าวสังเคราะห์พืทูลงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยโอลิโกไคโตซานชนิดต่าง ๆ และโอลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

จากการศึกษาผลของออลิโกไคโตซานต่อการเจริญเติบโตและกลไกการป้องกันโรคไหม้ในต้นข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง สามารถสรุปผลการทดลองได้ดังหัวข้อต่อไปนี้

1. ศึกษาสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของออลิโกไคโตซาน

1.1 การวิเคราะห์ระดับการกำจัดหมู่อะซิทิล (Degree of Deacetylation, %DD) ของ ออลิโกไคโตซานพบว่า ออลิโกไคโตซานชนิด O-5 และ O-80 มี %DD เท่ากันคือ 86.67% สำหรับ ออลิโกไคโตซานชนิด SCS มี %DD เท่ากับ 80%

1.2 การวิเคราะห์หาน้ำหนักโมเลกุลของออลิโกไคโตซานด้วยเทคนิค Electro Spray Ionization Mass Spectrophotometry (ESIMS) พบว่าออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ประกอบไปด้วย ออลิโกไคโตซานที่มีขนาดโมเลกุลเล็กซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 406 - 6,463 Da สำหรับ ออลิโกไคโตซานชนิด O-80 จะพบออลิโกไคโตซานที่มีขนาดโมเลกุลปานกลางเป็นองค์ประกอบหลัก ส่วนใหญ่มีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 25,111 - 25,115 Da และออลิโกไคโตซานชนิด SCS จะตรวจพบว่าเป็นไคโตซานที่มีขนาดโมเลกุลที่ใหญ่มาก (1.19×10^6 Da) ดังนั้นจึงสามารถจัดเรียงขนาดโมเลกุลของออลิโกไคโตซานทั้ง 3 ชนิดได้ดังนี้ $SCS > O-80 > O-5$ ตามลำดับ

2. ศึกษาผลของออลิโกไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุง

2.1 การศึกษาผลของชนิดออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงพบว่า ที่ความเข้มข้นเท่ากัน (40 mgL^{-1}) ออลิโกไคโตซานชนิด O-5 สามารถกระตุ้น การเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงได้ดีที่สุด โดยสามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงมีความสูงเพิ่มขึ้น 2.53 เท่าของชุดควบคุมรองลงมาคือ ออลิโกไคโตซานชนิด O-80 และ SCS สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงมีความสูงเพิ่มขึ้น 2.30 และ 2.14 เท่าของชุดควบคุมตามลำดับ

2.2 การศึกษาผลของความเข้มข้นของออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ในช่วงความเข้มข้น $20 - 1,000 \text{ mgL}^{-1}$ ต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงพบว่า ที่ความเข้มข้น 40 mgL^{-1} จะมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงได้ดีที่สุด โดยต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงมีความสูงเพิ่มขึ้น 2.53 เท่าของชุดควบคุม

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

3. ศึกษาผลของออลิโกไคโตซานต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไคตินเนสในสารสกัดจากใบข้าวสังข์หยดพัทลุง

3.1 การศึกษาผลของชนิดออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ ไคตินเนสในต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงพบว่าที่ความเข้มข้นเท่ากัน (40 mgL^{-1}) ออลิโกไคโตซานชนิด O-5 และ O-80 สามารถ

กระตุ้นให้ต้นข้าวสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ Specific Activity ของเอนไซม์โคดีเนส ได้สูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับออลิโกไคโตซาน โดยใบจากต้นข้าวสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ตรวจพบ Specific Activity ของเอนไซม์โคดีเนสสูงที่สุดเท่ากับ 17.130×10^{-2} unit/mg คิดเป็น 1.24 เท่าของชุดควบคุม ซึ่งแตกต่างจากต้นข้าวที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด SCS ที่พบ Specific Activity ของเอนไซม์โคดีเนสไม่แตกต่างจากชุดควบคุม

3.2 การศึกษาผลของออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ต่อการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ โคดีเนสในต้นข้าวสังเคราะห์คลอโรฟิลล์พบว่าต้นข้าวสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ที่ฉีดพ่นด้วยออลิโกไคโตซานชนิด O-5 จะมี Specific Activity ของเอนไซม์โคดีเนสได้สูงที่สุดในวันที่ 5 หลังจากได้รับการฉีดพ่นและ จะมี Specific Activity ของเอนไซม์โคดีเนสในระดับคงที่ตั้งแต่วันที่ 14 หลังจากได้รับการฉีดพ่น แม้ว่าต้นข้าวสังเคราะห์คลอโรฟิลล์จะมี Specific Activity ของเอนไซม์โคดีเนสในระดับคงที่ก็ตาม หากแต่ ก็ยังมี Specific Activity ของเอนไซม์โคดีเนสในระดับที่สูงกว่าชุดควบคุมและก่อนได้รับการฉีดพ่น (วันที่ 0)

3.3 การศึกษาผลของความเข้มข้นของออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ในช่วงความเข้มข้น 20 - 1,000 mgL⁻¹ ต่อการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์โคดีเนสพบว่า ออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่ ความเข้มข้น ตั้งแต่ 20 - 1,000 mgL⁻¹ สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสังเคราะห์คลอโรฟิลล์มี Specific Activity ของเอนไซม์โคดีเนสในระดับที่สูงกว่าชุดควบคุม เมื่อพิจารณาในวันที่ 5 หลังจากต้นข้าวได้รับการฉีดพ่นออลิโกไคโตซานชนิด O-5 พบว่าที่ความเข้มข้น 100 mgL⁻¹ จะมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นให้ ต้นข้าวสังเคราะห์คลอโรฟิลล์มี Specific Activity ของเอนไซม์โคดีเนสได้สูงที่สุดถึง 22.050×10^{-2} unit/mg ในขณะที่ชุดควบคุมตรวจพบ Specific Activity ของเอนไซม์โคดีเนสเพียง 13.810×10^{-2} unit/mg

4 ศึกษาผลของออลิโกไคโตซานต่อการป้องกันเชื้อราก่อโรคไหม้ในต้นข้าว

4.1 การศึกษาผลของชนิดออลิโกไคโตซานต่อการป้องกันเชื้อราก่อโรคไหม้ในต้นข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง พืชปลูก 2 และปทุมธานี 1 พบว่าใบข้าวทุกพันธุ์ที่มาจากต้นข้าวที่ได้รับออลิโกไคโตซานทุกชนิดมีความสามารถในการป้องกันเชื้อราก่อโรคไหม้ได้ทั้งหมด ซึ่งแตกต่างจากชุดควบคุมของพันธุ์ข้าวที่อ่อนแอต่อโรคไหม้ที่ไม่สามารถป้องกันตนเองจากเชื้อราก่อโรคไหม้ได้เลย ส่งผลให้พบการติดเชื้อ 100% หลังจากได้รับเชื้อรา *Pyricularia grisea* เป็นระยะเวลา 7 วัน โดยใบข้าวที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 และ O-80 มีความสามารถในการป้องกันเชื้อราก่อโรคไหม้ได้ดีใบข้าวที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด SCS

4.2 การศึกษาผลของความเข้มข้นออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ต่อการป้องกันเชื้อราก่อโรคไหม้ในต้นข้าวพบว่าต้นข้าวที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้น 500 mgL⁻¹ สามารถป้องกันตนเองจากเชื้อราก่อโรคไหม้ได้ดีที่สุดซึ่งปรากฏอาการติดเชื้อเพียง 2.50%

5. ศึกษาผลของออลิโกไคโตซานต่อผลผลิตของข้าวสังข์หยดพัทลุง

5.1 การศึกษาผลของชนิดออลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นผลผลิตของข้าวสังข์หยดพัทลุงพบว่าที่ความเข้มข้นเท่ากัน (40 mgL⁻¹) ออลิโกไคโตซานชนิด O-5 จะมีประสิทธิภาพในการ กระตุ้นต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงให้ปริมาณผลผลิตสูงกว่าออลิโกไคโตซานชนิด O-80 และ SCS โดยต้นข้าวสังข์หยดพัทลุง

ที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออกลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS ให้ปริมาณผลผลิตคิดเป็น 1.83, 1.70 และ 1.19 เท่าของชุดควบคุมตามลำดับ

5.2 การศึกษาผลของความเข้มข้นออกลิโกไคโตซานชนิด O-5 ต่อการกระตุ้นปริมาณ ผลผลิตของ ข้าวสาลีหอยคัพทลงพบว่าออกลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่ความเข้มข้น 40 - 1,000 mgL⁻¹ สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าว สาลีหอยคัพทลงให้ปริมาณผลผลิตสูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับออกลิโก-ไคโตซาน โดยที่ความเข้มข้น 40 และ 1,000 mgL⁻¹ จะกระตุ้นให้ต้นข้าวสาลีหอยคัพทลงให้ปริมาณ ผลผลิตสูงสุดคิดเป็นน้ำหนักเมล็ดสมบูรณ์ 2.22 กรัม/กอ และ 2.20 กรัม/กอ หรือคิดเป็น 1.83 และ 1.82 เท่าของชุดควบคุม

6. ศึกษาความเข้มสีเมล็ดข้าวสาลีหอยคัพทลงที่ถูกกระตุ้นด้วยออกลิโกไคโตซาน

การศึกษาความเข้มสีของเมล็ดข้าวสาลีหอยคัพทลงด้วยเครื่องวัดสีแบบตั้งโต๊ะ Colori meter (Color Flex) พบว่าเมล็ดข้าวสาลีหอยคัพทลงจากต้นที่ถูกกระตุ้นด้วยออกลิโกไคโตซานชนิด O-5, O-80 และ SCS มีค่าความ เข้มของสีแดงสูงกว่าชุดควบคุม โดยต้นที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออกลิโกไคโตซานชนิด O-5 จะให้เมล็ดข้าวที่มีค่า ความเข้มสีแดงมากที่สุด โดยมีค่า Chroma เท่ากับ 27.89 °C และ 27.90 °C

7. ศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินของเมล็ดข้าวสาลีหอยคัพทลงที่ได้รับการกระตุ้นด้วยออกลิโกไคโตซาน

จากการวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินของเมล็ดข้าวสาลีหอยคัพทลงด้วยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) พบว่า ออกลิโกไคโตซานชนิด O-5 และ O-80 ที่ความเข้มข้น 500 mgL⁻¹ สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวสาลีหอยคัพทลงผลิตเมล็ดข้าวมีปริมาณแอนโท- ไซยานินได้สูงกว่าชุดควบคุมซึ่ง ตรวจพบปริมาณแอนโทไซยานินเท่ากับ 16.39 และ 15.98 mgL⁻¹ คิดเป็น 1.21 และ 1.18 เท่าของชุดควบคุม ตามลำดับ

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในการสังเคราะห์สารป้องกันตนเองของพืชในกลุ่ม Phytoalexins และ PR proteins เพื่อให้มีความเข้าใจกลไกในการป้องกันตนเองจากโรคพืชได้ชัดเจนยิ่งขึ้น
2. ควรมีการศึกษาการแสดงออกของยีนที่ใช้ในการสังเคราะห์เอนไซม์โคตินิน และสารในกลุ่มแอนโทไซยานินเพื่อเป็นการพิสูจน์ได้อย่างชัดเจนยิ่งขึ้นว่าไคโตซานมีความสามารถในการกระตุ้น การผลิตเอนไซม์โคตินินและสารแอนโทไซยานินได้เพิ่มขึ้น
3. ควรทำบริสุทธิ์และหาเอกลักษณ์ของเอนไซม์โคตินินจากสารสกัดเอนไซม์จากใบ ข้าวสาลีหอยคัพทลงเพื่อพิสูจน์ได้อย่างชัดเจนยิ่งขึ้นว่าออกลิโกไคโตซานมีความสามารถในการกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์โคตินินได้สูงขึ้นและเป็นเอนไซม์โคตินิน Isoform ชนิดใด

บรรณานุกรม

- [1] พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์ (2548). โรคไหม้ข้าว : ความหลากหลายและแนวทางการพัฒนาข้าวต้านทานโรคไหม้. อุบลราชธานี: กลุ่มวิจัย ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานีสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 กรมวิชาการเกษตร.
- [2] อภิชาติวรรณวิจิตร, ธาณีสรีวงศ์ชัยและธีรยุทธ ตูจันดา. (2552). การค้นหายีนต้านทานโรคไหม้ในข้าว, ในนิทรรศการงานวิจัย “บนเส้นทางงานวิจัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปี2552”, วันที่30 มกราคม – 7 กุมภาพันธ์ 2552 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์.
- [4] ชูลีกร ลีโนนลาน, สมใจ สาลีโทและณราวุฒิ ปิยโชติสกุลชัย. (2552). การทดสอบปฏิกิริยาของพันธุ์ข้าวต่อโรคไหม้ที่จังหวัดหนองคาย, ใน การประชุมแลกเปลี่ยนผลงาน กลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ประจำปี2551, (หน้า 12 -23). วันที่10-11 มีนาคม 2552 สกลนคร. อุบลราชธานี: สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว.
- [7] ไพฑูรย์แสนบัวหลวง. (2550). ผลของไคโตซานต่อการเติบโตและปริมาณผลผลิตในข้าว *Oryza sativa* L. พันธุ์ปทุมธานี1. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- [10] ยุธจักร ยอดโยธี. (2554). การชักนำการต้านทานโรคและการแสดงออกของยีน PR-1 ในยางพาราโดยใช้ตัวกระตุ้นชนิดต่างๆ. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. สงขลา : มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- [3] Ou, S. H. (1980). **Pathogen Variability and Host Resistance in Rice Blast Disease.**,Annual Review of Phytopathology. (18), 167-187.
- [5] Rodr.quez, A. T., Ram.rez, M. A., C.rdenas, R. M., Hern.ndez, A. N., Vel.zquez, M. G. and Bautista, S. (2007). **Induction of defense response of *Oryza sativa* L. against *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. by treating seeds with chitosan and hydrolyzed chitosan.**Pesticide, Biochemistry and Physiology. 89(3), 206-215.
- [6] Krishnaveni, S., Liang, G. H., Muthukrishnan, S. and Manickam, A. (1999). **Purification and partial characterization of chitinases from sorghum seeds.**, Plant Science.(1), 1-7.
- [8] Vasyukova, N.I., Zinoveva,S.V., Ilinskaya, L.I., Perekhod, E.A., Chalenko, G.I., Gerasimova, N.G., Ilina,A.V.,Varlamov,V.P. and Ozeretskovskaya, O.L. (2001). **Modulation of plant resistance to disease by water soluble chitosan.**, Applied Biochemistry and Microbiology. (37), 103-109.
- [9] Xu,J., Zhao,X., Han, X. and Du Y. (2007). **Antifungal activity of oligochitosan against *Phytophthora capsici* and other plant pathogenic fungi in vitro.**, Pesticide Biochemistry and Physiology. (87), 220-228.
- [11] Yamane, H. (2012). **Plant research. Japan : Biotechnology Research Center.**, The University of Tokyo. สืบค้น เมื่อ 24 กันยายน 2555, จาก <http://park.its.u-tokyo.ac.jp>.

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของออลิโกไคโตซานต่อการเจริญเติบโตและกลไกการป้องกันตนเองในข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงโดยให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงที่มีอายุ 30 วันได้รับออลิโกไคโต-ซานชนิด O-5 ที่ 20 40 100 500 และ 1,000 mgL⁻¹ O-80 และ SCS ที่ 40 และ 500 mgL⁻¹ เมื่อทำการทดสอบเอนไซม์ไคตินเนสในใบข้าวหลังจากฉีดพ่น 0 1 3 5 14 และ 28 วันพบว่า ความเข้มข้นและชนิดของออลิโกไคโตซานมีความสัมพันธ์กับประสิทธิภาพในการชักนำการตอบสนองการป้องกันตนเองโดยต้นข้าวที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ความเข้มข้น 100 mgL⁻¹ ฉีดพ่น 2 สัปดาห์/ครั้ง สามารถกระตุ้นความว่องไวของเอนไซม์ไคตินเนสในต้นข้าวสูงสุด (22.05 x 10⁻² unit/mg) และเมื่อนำใบข้าวมาทดสอบความต้านทานต่อโรคไหม้พบว่า ต้นข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ซึ่งเป็นพันธุ์ต้านทานโรคไหม้สามารถต้านทานเชื้อรา *Pyricularia grisea* ได้ สำหรับข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงและพืชลูกโลก 2 ซึ่งเป็นพันธุ์ไม่ต้านทานโรคไหม้ที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 สามารถต้านทานเชื้อรา *Pyricularia grisea* โดยลดการเกิดอาการแผลจุดดำจาก 100% เป็น 3.75% และ 50% ตามลำดับ สำหรับการศึกษาผลของออลิโกไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุง พืชลูกโลก 2 และปทุมธานี 1 พบว่า O-5 O-80 และ SCS ที่ความเข้มข้น 20 - 40 mgL⁻¹ สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวเพิ่มขึ้น 2.53 - 6.01 เท่าของชุดควบคุม เมื่อต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงเข้าสู่ระยะออกรวงพบว่าต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ได้รับออลิโกไคโตซานทุกชนิด (O-5 O-80 และ SCS) ออกรวงเร็วกว่าชุดควบคุม 1 สัปดาห์และให้ผลผลิตมากกว่าชุดควบคุม โดยออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ความเข้มข้น 40 mgL⁻¹ กระตุ้นให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงให้ปริมาณผลผลิตสูงสุดคิดเป็น 183 % ของชุดควบคุมจากนั้นนำเมล็ดข้าวสังข์หยดพัทลุงมาวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินด้วยเทคนิค spectrophotometry และ high performance liquid chromatography พบว่าต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 และ O-80 ความเข้มข้น 500 mgL⁻¹ มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าชุดควบคุมคิดเป็น 1.21 และ 1.18 เท่าของชุดควบคุมตามลำดับ ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำออลิโกไคโตซานมาประยุกต์ในการควบคุมโรคไหม้ข้าว กระตุ้นการเจริญเติบโต และเพิ่มปริมาณแอนโทไซยานินในข้าวสังข์หยดพัทลุง

Abstract

In this study, we examined the effect of oligochitosan on growth and self defense mechanism of Sung Yod Phatthalung rice. The 30 days of Sung Yod Phatthalung rice seedling (*Oryza sativa* L.) were treated with oligochitosan O-5 (20 40 100 500 and 1,000 mgL⁻¹) O-80 and SCS (40 and 500 mgL⁻¹). Chitinase activity in leave of rice seedlings were evaluated after 0 1 3 5 14 and 28 days of treatment. The result indicated that defense response induction of rice seedlings were affected by concentration and type of oligochitosan. The highest chitinase activity (22.05×10^{-2} unit/mg) was observed within 5 days after oligochitosan treatment with O-5 at 100 mgL⁻¹ every 2 week. Necrosis test indicated that the leaves of Pathum Thani-1 rice seedling (blast disease resistance clone) could completely resistant against *Pyricularia grisea*. The O-5 treatment of Sung Yod Phatthalung rice seedling (sensitive clone) showed higher resistant against *P. grisea* than the Phitsanulok-2 rice seedling. Three clones of rice seedling could stimulate growth by treatment with 20-40 mgL⁻¹ of oligochitosan O-5 O-80 and SCS (2.53-6.01 fold increased when compared with the control). Interestingly, Sung Yod Phatthalung rice treated with oligochitosan started flowering 1 week earlier than the untreated control. Moreover, the highest of grain yield (1.83 fold increasing when compared with the control) was observed in oligochitosan treatment with O-5 at 40 mgL⁻¹. Total anthocyanins determination in Sung Yod Phatthalung rice by spectrophotometry and high performance liquid chromatography found that oligochitosan O-5 and O-80 at 500 mgL⁻¹ could slightly increase total anthocyanins 1.21 and 1.18 fold when compared with the control, respectively. Therefore, oligochitosans application are possibility for blast disease control, growth stimulation and total anthocyanins induction in Sung Yod Phatthalung rice plantation.