ผลการทดลอง

A. การโคลนยีน CHI และ GLU จาก cDNA และการทำ DNA sequence

จากการนำ total RNA ของพริกพันธุ์ CA1131 มาทำเป็น cDNA โดยใช้เอนไซม์ Reverse transcriptase จากนั้นนำ cDNA ที่ได้ไปเพิ่มปริมาณยีน CHI และ GLU ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ชุด primers - Chi2F1 (5'-CGGATGCTGAGTTTTAGG-3') และ Chi2P-R2 (5'-CCCCTTATTTATTACTGTCATCTCC-3') สำหรับการเพิ่มปริมาณยีน CHI และชุด primers - GluP2-F (5'-GCTAGGGAACAACTTGCCACCAGCATCAC-3') และ GluP2-R (5'-CTATCAGAAAACCCAAGTTGAGTGG-3') สำหรับการเพิ่มปริมาณยีน GLU ตามลำดับ หลังจากนั้นนำ PCR product ที่ได้ไปโคลนใส่ในพลาสมิด pCR2.1 จากนั้นนำพลาสมิดที่ได้รับการตัดต่อ PCR products ไปทำ DNA sequencing ผลการทดลองพบว่า primers Chi2F1 และ Chi2P-R2 สามารถเพิ่มปริมาณยีน CHI จากพริกได้ ขนาด 980 bp (รูปที่ 4.1) และ primers GluP2-F และ GluP2-F สามารถเพิ่มปริมาณยีน GLU จากพริกได้ ขนาด 665 bp (รูปที่ 4.2)

เมื่อนำ DNA sequence ของพริกที่ได้จากการทำ PCR ไปทำ homology search กับ DNA data base ที่มีอยู่ในฐานข้อมูลของ DDBJ โดยใช้โปรแกรม Genetyx พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ Homology สูงถึง 99.184% กับ Chitinase gene (accession no. AY775335) และ 94.887% กับ β-1,3-Glucanase gene (accession no. AF227953) ของพริก (รูปที่ 4.3 และ 4.4)

B. การศึกษาการแสดงออกของยีน CHI และ GLU ของพริก

การทดสอบชนิดของ primers ที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ทำ Real-time PCR

ในการศึกษาการแสดงออกของยีน CHI และ GLU จำเป็นต้องออกแบบ primers ใหม่ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อยีนที่ต้องการศึกษาสูงและขนาดหรือความยาวของ PRC product ที่ได้ควรอยู่ในช่วงระหว่าง 100-150 bp ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงได้ทำการออกแบบ primers ใหม่ และทำการทดสอบประสิทธิภาพของ primers ที่จะนำไปใช้ในการทำ Real time PCR โดยเบื้องต้นได้ทดลองนำ primers ที่ออกแบบได้ไปใช้ในการเพิ่มปริมาณ target DNA จากการศึกษาพบว่า ชุด primers CHI-F (5'-CACCAGCAGATAGGTCAGCA-3') และ CHI-R (5'-TCCAGTGGGAACATTCAACA-3') สามารถเพิ่มปริมาณ CHI gene จาก cDNA ของพริกได้ โดยมีขนาด PCR product เท่ากับ 157 bp (รูปที่ 4.5) และพบว่าชุด primers GLU-F1 (5'-TTTCTTCTTCCTGCCATGAG-3') และ GLU-R1 (5'-GGTGGAAAAGAGTTCCCAAT-3') สามารถเพิ่มปริมาณ GLU gene จาก cDNA ของพริกได้ โดยมีขนาด PCR product เท่ากับ 116 bp (รูปที่ 4.6) ในขณะที่ชุด primers GLU-F2 และ GLU-R2 ไม่สามารถใช้ในการเพิ่มปริมาณ GLU gene จาก cDNA ของพริกได้ เนื่องจากได้ PCR product ที่มีขนาดของดีเอ็นเอยาวเกินไป (>150 bp)

```
       10         20         30         40         50         60         70         80
acggatgctg agttttagga acaacgctgc atgtcctggc aagggattct acacttatga agcattcata actgcagcca
                                                                              PstI
        90        100        110        120        130        140        150        160
attcctttcc agcttttggt actaccggtg ataatactgc ccgtaagaaa gaagttgctg ccttttttgg tcaaacttct
           AluI
       170        180        190        200        210        220        230        240
catgaaacta atggtaattc ttctcattcc tctattcgtg taatttaact tgtcgtacca cgtttctagg ttcatcattc

       250        260        270        280        290        300        310        320
cacttactaa caacatttta tcatatatag ttatgttcta cgtgacatga tcaatataat gtaaaattga aatctataat
                                                 Sau3AI
       330        340        350        360        370        380        390        400
ctgaacccttt tgctcttccg cgcgcaggag gtcgtgcagg aacatttaac ggaggatatt gctttgttag gcaaattgac

       410        420        430        440        450        460        470        480
cagtcagaca gatactatgg gagaggacct atccaattga cacagtaaga ccatgaattg aataccgtac caatcgttaa

       490        500        510        520        530        540        550        560
actgtcacct tatttaaact ctgactagtc tacatagtgc ctcgatgact aattttgaca ttaatgataa aacttgtgca

       570        580        590        600        610        620        630        640
gccgatctaa ctacgagcgc gcaggaaggg gcattggtgt tggacaagac ttagtgaaca accctgataa agtggccact
   Sau3AI                                                                      HaeIII
       650        660        670        680        690        700        710        720
aatcctgtta tatcattcaa aacagcaata tggttctgga tgacagcaca ggataataag ccatcatgcc acgacgttat

       730        740        750        760        770        780        790        800
cattggacga tggaagccat caccagcaga taggtcagca aatcgagtgc caggctacgg tgtcataacc aacattatta

       810        820        830        840        850        860        870        880
atggtggaat tgaatgtggg aagggtcgga atggtgctgt agaaagtcga attggatttt acaagaggta ctgtggtatg

       890        900        910        920        930        940        950        960
ttgaatgttc ccactggaaa caacctggac tgttacaatc aaaagaactt tgcccagggt taggcttctt tacatatata

       970        980        990       1000       1010       1020       1030       1040
taggatgaca atcatgttat
```

รูปที่ 4.1 แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน Chitinase ในพริก ในพริกพันธุ์ CA1131

```
        10         20         30         40         50         60         70         80
gtacattgct gttggaaatg aagtcagccc tgtaacaggc acatcttcac ttacccgatt tcttcttcct gccatgagaa

        90        100        110        120        130        140        150        160
acattcggaa tgcaatttct tcagctggtt tgggaaacaa catcaaagtc tcaacttcca tggacatgac tttgattggg
                     AluI                                      StyI

       170        180        190        200        210        220        230        240
aactcttttc caccatcaca gggttcattt aggaatgatg ttaggtcgtt cattgatccg attattgtgt ttttaagggg
                                                    Sau3AI

       250        260        270        280        290        300        310        320
gataaattcg cctttgctcg ttaacattta cccttatttt agctatgctg gtaatccgcg tgacatttct ctctcctatg
                                      AluI

       330        340        350        360        370        380        390        400
ctcttttcac tgcacctaat gtggtggtac aagatggttc acttggatat aggaacttat ttgatgcaat gttggattct

       410        420        430        440        450        460        470        480
gtttacgctg ccttgtctcg agccggaggg ggctcgatag agattgttgt gtccgagagt ggctggccat ctgctggggc
              XhoI                                                HaeIII

       490        500        510        520        530        540        550        560
atttggagcg acaacaaaca atgcagcaac ttactacagg aacttaattc agcatgttag aaggggtagt ccaagaaggc
                                                                                HaeIII

       570        580        590        600        610        620        630        640
ctaatagagc cattgagacc tatttatttg ccatgtttga tgagaataac aagaaccctg aactggagaa acatttggag

       650        660        670        680        690        700        710        720
tgttttcccc acaagcagcc c
```

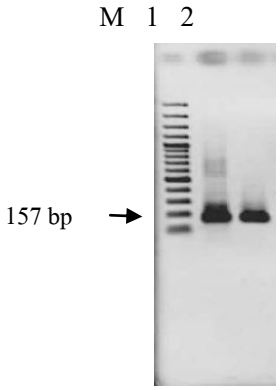
รูปที่ 4.2 แสดงลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน β-1,3-glucanase ในพริกพันธุ์ CA1131

```
AY775335    1441' CACAAAATAT TGGTTCAATT GTAACCAGGG ACTTGTTTGA ACGGATGCTG AGTTTTAGGA
                                                  ********** **********
Chi_Th         1"                                             ACGGATGCTG AGTTTTAGGA

AY775335    1501' ACAACGCTGC ATGTCCTGGC AAGGGATTCT ACACTTATGA AGCATTCATA ACTGCAGCCA
                  ********** ********** ********** ********** ********** **********
Chi_Th        21" ACAACGCTGC ATGTCCTGGC AAGGGATTCT ACACTTATGA AGCATTCATA ACTGCAGCCA

AY775335    1561' ATTCCTTTCC AGCTTTTGGT ACTACCGGTG ATAATACTGC CCGTAAGAAA GAAGTTGCTG
                  ********** ********** ********** ********** ********** **********
Chi_Th        81" ATTCCTTTCC AGCTTTTGGT ACTACCGGTG ATAATACTGC CCGTAAGAAA GAAGTTGCTG

AY775335    1621' CCTTTTTTGG TCAAACTTCT CATGAAACTA ATGGTAATTC GGCTCATCCT ACTATCAGTG
                  ********** ********** ********** **********   ***** *   ****  ***
Chi_Th       141" CCTTTTTTGG TCAAACTTCT CATGAAACTA ATGGTAATTC TTCTCATTCC TCTATTCGTG

AY775335    1681' TAATTTAACT TGTCGTACCA CGTTTCTAGG TTCATCATTC CACTTACTAA CAACATTTTA
                  ********** ********** ********** ********** ********** **********
Chi_Th       201" TAATTTAACT TGTCGTACCA CGTTTCTAGG TTCATCATTC CACTTACTAA CAACATTTTA

AY775335    1741' TCATATATAG TTATGTTCTA CGTGACATGA TCAATATAAT GTAAAATTGA AATCTATAAT
                  ********** ********** ********** ********** ********** **********
Chi_Th       261" TCATATATAG TTATGTTCTA CGTGACATGA TCAATATAAT GTAAAATTGA AATCTATAAT

AY775335    1801' CTGAACCCTT TGCTCTTCCG CGCGCAGGAG GTCGTGCAGG AACATTTAAC GGAGGATATT
                  ********** ********** ********** ********** ********** **********
Chi_Th       321" CTGAACCCTT TGCTCTTCCG CGCGCAGGAG GTCGTGCAGG AACATTTAAC GGAGGATATT

AY775335    1861' GCTTTGTTAG GCAAATTGAC CAGTCAGACA GATACTATGG GAGAGGACCT ATCCAATTGA
                  ********** ********** ********** ********** ********** **********
Chi_Th       381" GCTTTGTTAG GCAAATTGAC CAGTCAGACA GATACTATGG GAGAGGACCT ATCCAATTGA

AY775335    1921' CACAGTAAGA CCATGAATTG AATACCGTAC CAATCGTTAA ACTGTCACCT TATTTAAACT
                  ********** ********** ********** ********** ********** **********
Chi_Th       441" CACAGTAAGA CCATGAATTG AATACCGTAC CAATCGTTAA ACTGTCACCT TATTTAAACT

AY775335    1981' CTGACTAGTC TACATAGTGC CTCGATGACT AATTTTGACA TTAATGATAA AACTTGTGCA
                  ********** ********** ********** ********** ********** **********
Chi_Th       501" CTGACTAGTC TACATAGTGC CTCGATGACT AATTTTGACA TTAATGATAA AACTTGTGCA

AY775335    2041' GCCGATCTAA CTACGAGCGC GCAGGAAGGG GCATTGGTGT TGGACAAGAC TTAGTGAACA
                  ********** ********** ********** ********** ********** **********
Chi_Th       561" GCCGATCTAA CTACGAGCGC GCAGGAAGGG GCATTGGTGT TGGACAAGAC TTAGTGAACA

AY775335    2101' ACCCTGATAA AGTGGCCACT AATCCTGTTA TATCATTCAA AACAGCAATA TGGTTCTGGA
                  ********** ********** ********** ********** ********** **********
Chi_Th       621" ACCCTGATAA AGTGGCCACT AATCCTGTTA TATCATTCAA AACAGCAATA TGGTTCTGGA

AY775335    2161' TGACAGCACA GGATAATAAG CCATCATGCC ACGACGTTAT CATTGGACGA TGGAAGCCAT
                  ********** ********** ********** ********** ********** **********
Chi_Th       681" TGACAGCACA GGATAATAAG CCATCATGCC ACGACGTTAT CATTGGACGA TGGAAGCCAT

AY775335    2221' CACCAGCAGA TAGGTCAGCA AATCGAGTGC CAGGCTACGG TGTCATAACC AACATTATTA
                  ********** ********** ********** ********** ********** **********
Chi_Th       741" CACCAGCAGA TAGGTCAGCA AATCGAGTGC CAGGCTACGG TGTCATAACC AACATTATTA

AY775335    2281' ATGGTGGAAT TGAATGTGGG AAGGGTCGGA ATGGTGCTGT AGAAAGTCGA ATTGGATTTT
                  ********** ********** ********** ********** ********** **********
Chi_Th       801" ATGGTGGAAT TGAATGTGGG AAGGGTCGGA ATGGTGCTGT AGAAAGTCGA ATTGGATTTT

AY775335    2341' ACAAGAGGTA CTGTGGTATG TTGAATGTTC CCACTGGAAA CAACCTGGAC TGTTACAATC
                  ********** ********** ********** ********** ********** **********
Chi_Th       861" ACAAGAGGTA CTGTGGTATG TTGAATGTTC CCACTGGAAA CAACCTGGAC TGTTACAATC

AY775335    2401' AAAAGAACTT TGCCCAGGGT TAGGCTTCTT TACATATATA TAGGATGCCA ATCATGTTAT
                  ********** ********** ********** ******* ** **********
Chi_Th       921" AAAAGAACTT TGCCCAGGGT TAGGCTTCTT TACATATATA TAGGATGACA ATCATGTTAT
```

รูปที่ 4.3 DNA Alignment ระหว่าง Chitinase gene (Chi-Th) จากพริกพันธุ์ CA1131 กับ Chitinase gene (accession no. AY775335) จาก DNA data base

```
AF227953     301' GGTTCAAAGG AATGTCAAAA TTCTGGCCAC TGTTTAAATT ATAGAGTACA TTGCTG--TG
                                                                ***** ******   *
Glu_Th         1"                                                GTACA TTGCTGTTGG

AF227953     359' AAATGAAGTC AGCCCTGTTA ACAGGCACAT CTTCACTTAC CCGATTTCTT CTTCCTGCCA
                  ********** ******* ** ********** ********** ********** **********
Glu_Th        16" AAATGAAGTC AGCCCTG-TA ACAGGCACAT CTTCACTTAC CCGATTTCTT CTTCCTGCCA

AF227953     419' TGAGAAACAT TCGGAATGCA ATTTCTTCAG CTGGTTTGGG AAACAACATC AAAGTCTCAA
                  ********** ********** ********** ********** ********** **********
Glu_Th        75" TGAGAAACAT TCGGAATGCA ATTTCTTCAG CTGGTTTGGG AAACAACATC AAAGTCTCAA

AF227953     479' CTTCCATAGA CATGACTTTG ATTGGGAACT CTTTTCCACC ATCACAGGGT TCATTTAGGA
                  ******* ** ********** ********** ********** ********** **********
Glu_Th       135" CTTCCATGGA CATGACTTTG ATTGGGAACT CTTTTCCACC ATCACAGGGT TCATTTAGGA

AF227953     539' ATGATGTTAG GTCGTTCATT GATCCGATTA TTGTGTTTTT AAGGGGGATA AATTCGCCTT
                  ********** ********** ********** ********** ********** **********
Glu_Th       195" ATGATGTTAG GTCGTTCATT GATCCGATTA TTGTGTTTTT AAGGGGGATA AATTCGCCTT

AF227953     599' TGCTCGTTAA CATTTACCCT TATTTTAGCT ATGCTGGTAA TCCGCGTGAC ATTTCTCTCT
                  ********** ********** ********** ********** ********** **********
Glu_Th       255" TGCTCGTTAA CATTTACCCT TATTTTAGCT ATGCTGGTAA TCCGCGTGAC ATTTCTCTCT

AF227953     659' CCTATGCTCT TTTCACTGCA CCTAATGTGG TGGTACAAGA TGGTTCACTT GGATATAGGA
                  ********** ********** ********** ********** ********** **********
Glu_Th       315" CCTATGCTCT TTTCACTGCA CCTAATGTGG TGGTACAAGA TGGTTCACTT GGATATAGGA

AF227953     719' ACTTATCTGA TGAAAGGTTG GACTCCGTTA CAGCTGCCCT ATCTCAAGCC AGAGGGGGCT
                  ****** *** ** ** **** ** ** ***    ****** *  **** ****  *********
Glu_Th       375" ACTTATTTGA TGCAATGTTG GATTCTGTTT ACGCTGCCTT GTCTCGAGCC GGAGGGGGCT

AF227953     779' CGGTAGAGAT TGTTGTGTCC GAGAGTGGCT GGCCATCTGC TGGCGCATTT GCCACGACAA
                  ** ******* ********** ********** ********** *** ****** *   ******
Glu_Th       435" CGATAGAGAT TGTTGTGTCC GAGAGTGGCT GGCCATCTGC TGGGGCATTT GGAGCGACAA

AF227953     839' CAAACGATGC AGCAGCTTAC TACAAGAACT TAATTCAGCA TGTTAAAAGG GGAAGTCCAA
                  ***** **** **** ***** **** ***** ********** ***** **** ** *******
Glu_Th       495" CAAACAATGC AGCAACTTAC TACAGGAACT TAATTCAGCA TGTTAGAAGG GGTAGTCCAA

AF227953     899' GAAGGCCTAA TAAAGTCATT GAGACCTATT TATTTGCCAT GTTTGATGAG AATAACAAGA
                  ********** ** ** **** ********** ********** ********** **********
Glu_Th       555" GAAGGCCTAA TAGAGCCATT GAGACCTATT TATTTGCCAT GTTTGATGAG AATAACAAGA

AF227953     959' ACCCTGAACT GGAGAAACAT TTTGGAGGTT TTTCCCCCAA CAAGCAGCCC AAATTTCCAC
                  ********** *********  ****** **  *** **** * **********
Glu_Th        615" ACCCTGAACT GGAGAAACA- TTTGGA-GTG TTTTCCCC-A CAAGCAGCCC
```

รูปที่ 4.4 DNA Alignment ระหว่าง β-1,3-glucanase (Chi-Th) จากพริกพันธุ์ CA1131 กับ β-1,3-glucanase gene (accession no. AY775335) จาก DNA data base

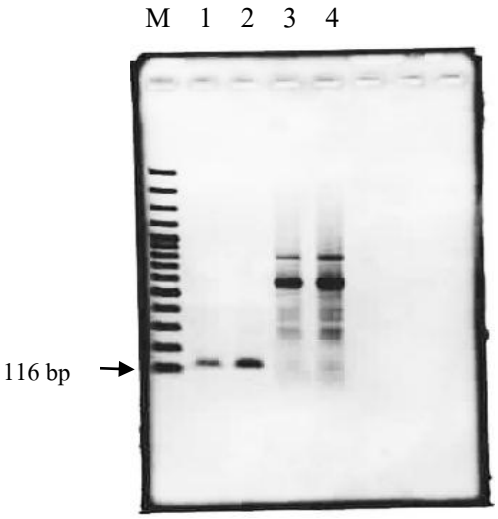


รูปที่ 4.5 การทดสอบประสิทธิภาพของ primers (CHI-F และ CHI-R) ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณ chitinase gene ในขั้นตอนการทำ Real-time PCR จากพริกพันธุ์ CA1131 บน 2% agarose gel

Lane M: DNA Ladder

Lane 1 : 3 µl loading sample with CHI-F/CHI-R primers (157 bp)

Lane 2 : 5 µl loading sample with CHI-F/CHI-R primers (157 bp)



รูปที่ 4.6 การทดสอบประสิทธิภาพของ primers (GLU-F1 และ GLU-R1, GLU-F2 และ GLU-R2) ที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณ β-1,3-glucanase gene ในขั้นตอนการทำ Real-time PCR จากพริกพันธุ์ CA1131 บน 2% agarose gel

Lane M: DNA Ladder

Lane 1 : 3 µl loading sample with GLU-F1/GLU-R1 primers (116 bp)

Lane 2: 5 µl loading sample with GLU-F1/GLU-R1 primers (116 bp)

Lane 3 : 3 µl loading sample with GLU-F2/GLU-R2 primers

Lane 4: 5 µl loading sample with GLU-F2/GLU-R2 primers

การแสดงออกของยีน CHI และ GLU โดยวิธี Real time RT- PCR

การแสดงออกของยีน Chitinase ในใบพริกพันธุ์ CA1131 พิจารณาจากระดับ transcription level ซึ่งวิเคราะห์ได้จากวิธี Real time PCR ซึ่งพบว่าใบพริกที่ฉีดพ่นด้วย น้ำ (control), BTH (Benzolthiadiazole) ความเข้มข้น 40 µg/ml และเส้นใยอบแห้งของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ความเข้มข้น 7% เป็นเวลา 0, 3 และ 7 วัน มีระดับการแสดงออกของยีน Chitinase ดังนี้ การแสดงออกของยีน Chitinase ในใบพริกหลังจากฉีดพ่นด้วย น้ำ, BTH และเส้นใยอบแห้ง ทันที (วันที่ 0) มีค่าใกล้เคียงกันคือ มีค่าอยู่ระหว่าง 0.20-0.28 จากนั้นในวันที่ 3 ของการฉีดพ่น พบว่า ใบพ่นที่ฉีดพ่นด้วยเส้นใยอบแห้งมีการแสดงออกของยีน Chitinase สูงที่สุด (1.49) รองลงมาคือ ใบพริกที่ฉีดพ่นด้วย BTH (0.47) ในขณะที่ใบพริกที่ฉีดพ่นด้วยน้ำ (control) มีการแสดงออกของยีนต่ำที่สุด (0.1) อย่างไรก็ตาม ในวันที่ 5 หลังการฉีดพ่น พบว่าการแสดงออกของยีน Chitinase จะลดลง โดยเฉพาะใบพริกที่ฉีดพ่นด้วยเส้นใยอบแห้ง (0.52) ในขณะที่ใบพริกที่ฉีดพ่นด้วย BTH มีการแสดงออกของยีนเพิ่มขึ้นมากกว่าวันที่ 3 อีกเล็กน้อย (0.74) และพบว่าใบพริกในชุดควบคุม (น้ำ) มีการแสดงออกของยีน Chitinase เพิ่มขึ้นจากวันที่ 3 เล็กน้อยเช่นกัน (0.34) (ตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.6)

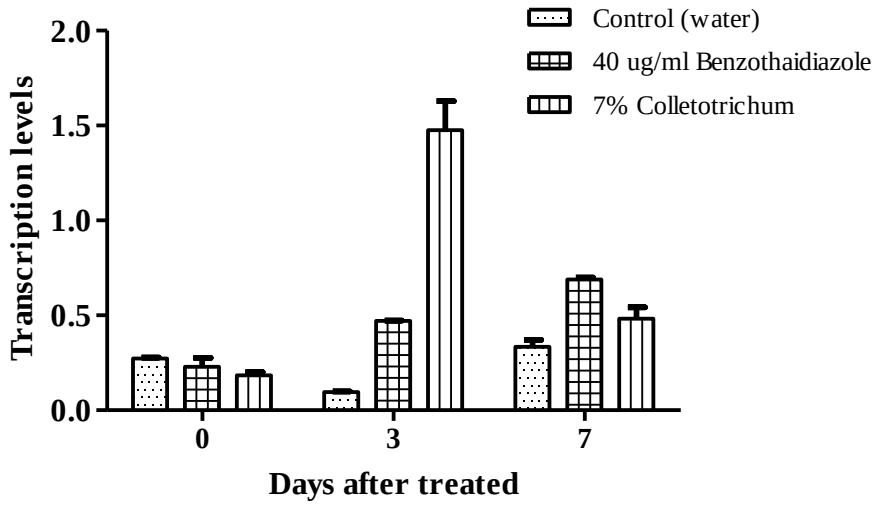
การแสดงออกของยีน β-1,3-glucanase ในใบพริกพันธุ์ CA1131 พบว่าใบพริกที่ฉีดพ่นด้วย น้ำ (control), BTH (Benzolthiadiazole) และเส้นใยอบแห้งของเชื้อรา *C. capsici* มีระดับการแสดงออกของยีน β-1,3-glucanase ดังนี้ ใบพริกที่ผ่านการฉีดพ่นด้วย น้ำ, BTH และเส้นใยอบแห้ง ทันที (วันที่ 0) มีระดับการแสดงออกของยีน β-1,3-glucanase ใกล้เคียงกันคือ มีค่าอยู่ระหว่าง 0.61-0.72 จากนั้นในวันที่ 3 และ 7 ของการฉีดพ่น พบว่าพริกทุกทรีตเมนท์มีการแสดงออกของยีน β-1,3-glucanase ลดลง โดยเฉพาะใบพริกที่ฉีดพ่นด้วยเส้นใยเชื้อราอบแห้ง (0.28, 0.17) และ BTH (0.62, 0.41) ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.7)

ตารางที่ 4.1 การแสดงออกของยีน Chitinase ในใบพริกพันธุ์ CA1131 หลังจากได้รับ น้ำ (control), BTH (Benzolthiadiazole) ความเข้มข้น 40 µg/ml และเส้นใยอบแห้งของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ความเข้มข้น 7% เป็นเวลา 0, 3 และ 7 วัน

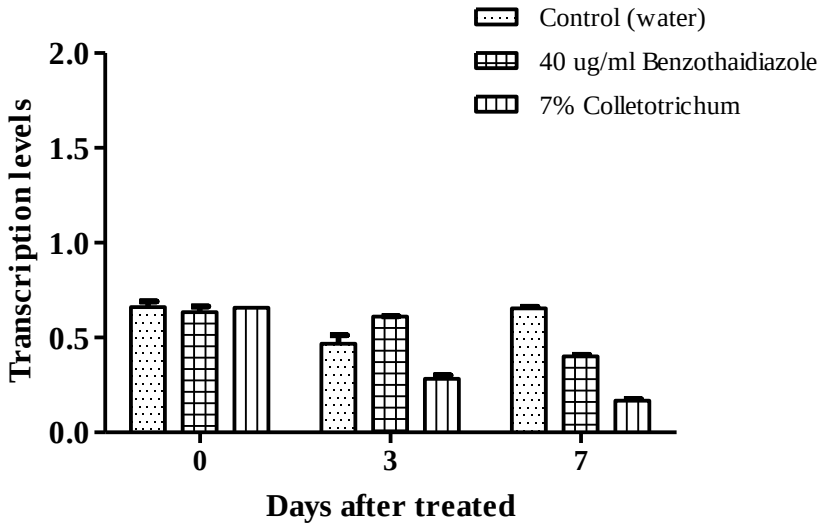
Treatments	Transcription levels of Chitinase		
	Day 0	Day 3	Day 7
Control (Water)	0.28	0.10	0.34
40 µg/ml BTH	0.26	0.47	0.74
7% Dry mycelium	0.20	1.49	0.52

ตารางที่ 4.2 การแสดงออกของยีน β-1,3-glucanase ในใบพริกพันธุ์ CA1131 หลังจากได้รับ น้ำ (control), BTH (Benzolthiadiazole) ความเข้มข้น 40 µg/ml และเส้นใยอบแห้งของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ความเข้มข้น 7% เป็นเวลา 0, 3 และ 7 วัน

Treatments	Transcription levels of β-1,3-glucanase		
	Day 0	Day 3	Day 7
Control (Water)	0.61	0.47	0.65
40 µg/ml BTH	0.66	0.62	0.41
7% Dry mycelium	0.72	0.28	0.17



รูปที่ 4.7 การแสดงออกของยีน Chitinase ในใบพริกพันธุ์ CA1131 หลังจากได้รับ น้ำ (control), BTH (Benzolthiadiazole) ความเข้มข้น 40 µg/ml และเส้นใยอบแห้งของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ความเข้มข้น 7% เป็นเวลา 0 (A), 3 (C) และ 7 (E) วัน

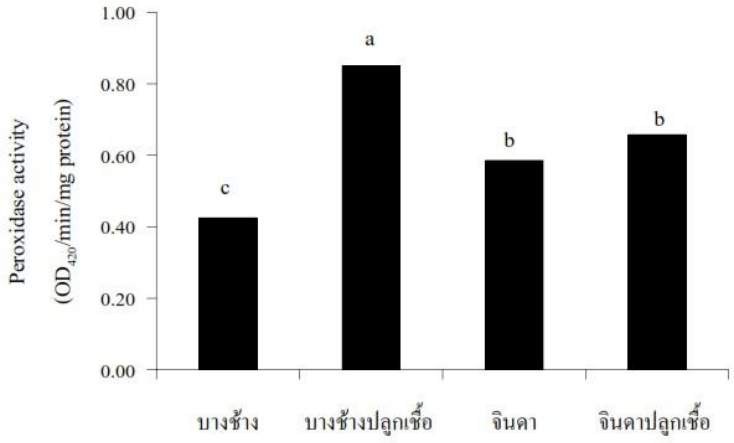


รูปที่ 4.8 การแสดงออกของยีน β-1,3-glucanase ในใบพริกพันธุ์ CA1131 หลังจากได้รับ น้ำ (control), BTH (Benzolthiadiazole) ความเข้มข้น 40 µg/ml และเส้นใยอบแห้งของเชื้อรา *Colletotrichum capsici* ความเข้มข้น 7% เป็นเวลา 0 (A), 3 (C) และ 7 (E) วัน

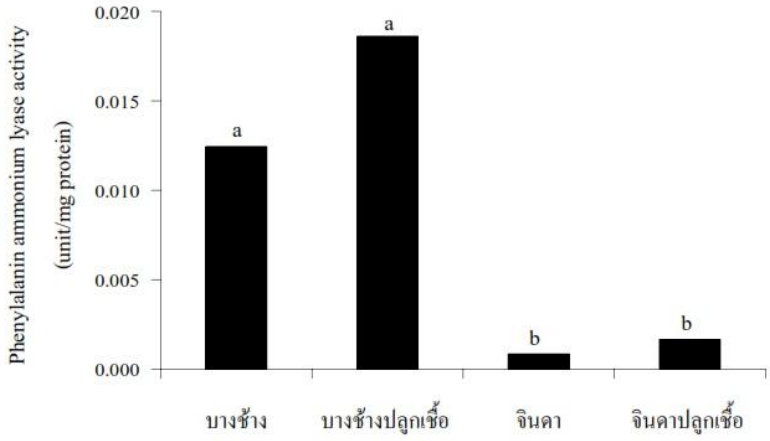
C. การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคในผลพริก

จากการตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรค 4 ชนิดในผลพริกพันธุ์การค้า 2 พันธุ์คือ พันธุ์จินดาและพันธุ์บางช้างที่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* นาน 6 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับพริกที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรา พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase ในพริกทั้ง 2 พันธุ์ที่ปลูกเชื้อราและไม่ปลูกเชื้อรามีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน (รูปที่ 4.9) โดยพริกพันธุ์จินดาที่ไม่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* มีกิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase สูงกว่าพันธุ์บางช้าง โดยพริกพันธุ์จินดามีกิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase เท่ากับ 0.5845 และพันธุ์บางช้างมีกิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase เท่ากับ 0.4242 OD_{420}/min/mg protein และเมื่อปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในพริกทั้ง 2 พันธุ์ พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase ในพริกทั้ง 2 พันธุ์มีปริมาณสูงขึ้น โดยในพันธุ์บางช้างมีกิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase สูงกว่าพันธุ์จินดาโดยมีค่ากิจกรรมเท่ากับ 0.8502 และ 0.6567 OD_{420}/min/mg protein ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าพริกพันธุ์บางช้างที่ปลูกเชื้อรา *C.gloeosporioides* มีกิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase สูงที่สุด และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับพริกพันธุ์จินดา พริกพันธุ์จินดาที่ปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* และพริกพันธุ์บางช้าง (ตารางที่ ข.1) ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase พบว่าพริกพันธุ์บางช้างที่ปลูกเชื้อรา และไม่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงกว่าพริกพันธุ์จินดาที่ปลูกเชื้อรา และไม่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ซึ่งในพริกทั้ง 2 พันธุ์นี้จะมีกิจกรรมของเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase เพิ่มสูงขึ้นเมื่อปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* และพริกพันธุ์บางช้างที่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* มีกิจกรรมของเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase เท่ากับ 0.0186 unit/mg protein ซึ่งสูงกว่าพริกพันธุ์บางช้าง พริกพันธุ์

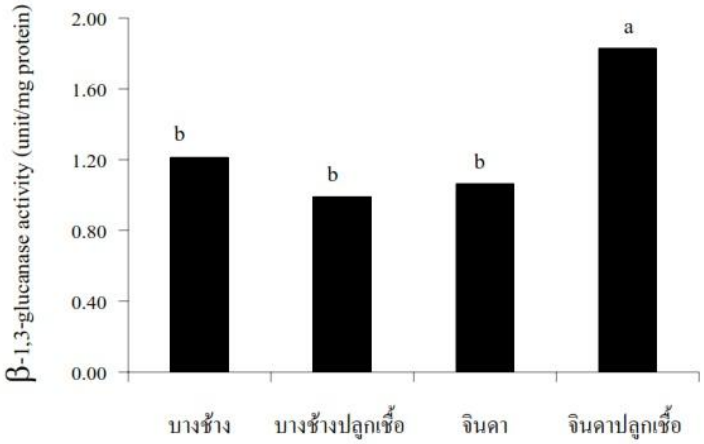
จินดา และพริกพันธุ์จินดาที่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* (รูปที่ 4.10) แต่การปลูกเชื้อรา *C .gloeosporioides* ไม่ได้มีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase สูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตารางที่ ข. 1) ในขณะที่พริกพันธุ์บางช้างมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase แตกต่างกับพริกพันธุ์จินดาอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กิจกรรมของเอนไซม์ β-1,3-glucanase พบว่าพริกพันธุ์บางช้างเมื่อปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* จะมีกิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเล็กน้อยแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับพริกที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ ส่วนพริกพันธุ์จินดาที่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มขึ้นโดยมีค่าเท่ากับ 1.8283 unit/mg protein ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) กับพริกพันธุ์จินดาที่ไม่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ซึ่งมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ β-1,3-glucanase เท่ากับ 1.0636 unit/mg protein ส่วนพริกพันธุ์บางช้างถึงแม้ว่าจะมีกิจกรรมของเอนไซม์ β-1,3-glucanase ลดลงเมื่อปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* แต่ก็ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ กับกิจกรรมของเอนไซม์ β-1,3-glucanase ในพริกพันธุ์บางช้างที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรากิจกรรมของเอนไซม์ Chitinase พบว่าพริกพันธุ์บางช้างเมื่อปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* จะมีกิจกรรมของเอนไซม์ลดลง (รูปที่ 4.11) ในขณะที่พริกพันธุ์จินดาที่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* จะพบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์ Chitinase เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์จินดาที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ โดยมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 0.0386 unit/mg protein ซึ่งมีความแตกต่างทางสถิต ($p \leq 0.05$) กับพริกพันธุ์จินดาที่ไม่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์ Chitinase เท่ากับ 0.0132 unit/mg protein ส่วนพริกพันธุ์บางช้างถึงแม้ว่าจะมีกิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเมื่อปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* แต่ก็ไม่พบความแตกต่างทางสถิติกับพริกที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* (รูปที่ 4.12)



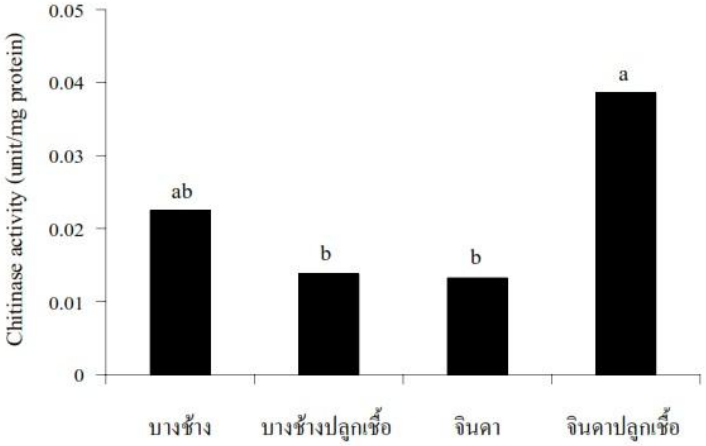
รูปที่ 4.9 กิจกรรมเอนไซม์ Peroxidase ในพริกพันธุ์บางช้างและพันธุ์จินดาที่ไม่ปลูกเชื้อรา และปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* นาน 6 ชั่วโมง



รูปที่ 4.10 กิจกรรมเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase ในพริกพันธุ์บางช้างและพันธุ์จินดาที่ไม่ปลูกเชื้อรา และปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* นาน 6 ชั่วโมง



รูปที่ 4.11 กิจกรรมเอนไซม์ β-1,3-glucanase ในพริกพันธุ์บางช้างและพันธุ์จินดาที่ไม่ปลูกเชื้อรา และปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* นาน 6 ชั่วโมง



รูปที่ 4.12 กิจกรรมเอนไซม์ Chitinase ในพริกพันธุ์บางช้างและพันธุ์จินดาที่ไม่ปลูกเชื้อรา และปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* นาน 6 ชั่วโมง

D. ศึกษาผลของสารละลายไคโตแซนต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสและการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและสรีระวิทยาของผลพริกพันธุ์จินดา

การเกิดโรคบนผลพริก

การเกิดโรคบนผลพริกในทุกทรีตเมนท์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดอายุการเก็บรักษา โดยผลพริกที่ไม่ได้ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* พบว่ามีการเกิดโรคขึ้นด้วย ซึ่งพริกที่ทำแผล ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* และไม่เคลือบสารละลายไคโตแซนมีการเกิดโรคสูงที่สุด โดยในวันสุดท้ายของการเก็บรักษามีร้อยละการเกิดโรคเท่ากับ 45.20 รองลงมาได้แก่ พริกที่ทำแผลปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* และเคลือบสารละลายไคโตแซนความเข้มข้นร้อยละ 1.2 (ร้อยละการเกิดโรคเท่ากับ 40.00) และ 1.6 (ร้อยละการเกิดโรคเท่ากับ 36.80) พริกที่ทำแผล ไม่ปลูกเชื้อรา *C.gloeosporioides* และไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน (ร้อยละการเกิดโรคเท่ากับ 28.40) และพริกที่ไม่ทำแผล ไม่ปลูกเชื้อรา และไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน (ร้อยละการเกิดโรคเท่ากับ 19.60) ตามลำดับ (รูปที่ 4.13) ซึ่งแต่ละทรีตเมนท์มีความแตกต่างด้านการเกิดโรคอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) (ตารางที่ ข.2)

การเปลี่ยนแปลงอัตราการหายใจและการผลิตเอทิลีน

การเปลี่ยนแปลงอัตราการหายใจของผลพริกพันธุ์จินดา พบว่าผลพริกทุกทรีตเมนท์มีแนวโน้มของอัตราการหายใจเพิ่มมากขึ้นตลอดอายุการเก็บรักษา (รูปที่ 4.14) โดยพริกที่ทำแผล ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* เคลือบสารละลายไคโตแซนความเข้มข้นร้อยละ 1.2 มีอัตราการหายใจต่ำกว่าพริกเคลือบสารละลายไคโตแซนความเข้มข้นร้อยละ 1.6 ตลอดอายุการเก็บรักษา และต่ำกว่าทรีตเมนท์อื่นๆ ใน 15 วันแรกของการเก็บรักษา หลังจากนั้นพริกที่ไม่ทำแผล ไม่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซนจะมีอัตราการหายใจสูงที่สุดและสูงกว่าทรีตเมนท์อื่นๆ และเมื่อเปรียบเทียบอัตราการหายใจของพริกที่ทำแผลและไม่ทำแผล พบว่าพริกที่ทำแผลมีอัตราการหายใจสูงกว่าพริกที่ไม่ทำแผลอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) (ตารางที่ ข.3)

การเปลี่ยนแปลงการผลิตเอทิลีนของผลพริก พบว่าพริกทุกทรีตเมนท์มีแนวโน้มการผลิตเอทิลีนเพิ่มขึ้นตลอดอายุการเก็บรักษา โดยในวันแรกถึงวันที่ 9 ของการเก็บรักษา พริกทุกทรีตเมนท์มีการผลิต เอทิลีนเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในทิศทางเดียวกัน (รูปที่ 4.15) โดยพริกที่เคลือบสารละลายไคโตแซนมีการผลิตเอทิลีนต่ำกว่าพริกที่ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน โดยเฉพาะในวันที่ 9 ของการเก็บรักษานั้นพบว่าพริกที่ทำแผล ปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซนมีการผลิตเอทิลีน (0.008 µl C_2H_4/kg.h) เพิ่มสูงขึ้น และมากกว่าพริกที่เคลือบสารละลายไคโตแซนที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.2 และ 1.6 (0.00474 และ 0.00472 µl C_2H_4/kg.h ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบการผลิตเอทิลีนระหว่างพริกที่เคลือบสารละลายไคโตแซน และพริกที่ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน พบว่ามีความแตกต่างกันของการผลิตเอทิลีนอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) (ตารางที่ ข.4) ส่วนในวันที่ 12 ถึง 18 ของการเก็บรักษานั้นพริกที่เคลือบสารละลายไคโตแซนร้อยละ1.2 มีการผลิตเอทิลีนต่ำกว่า พริกที่เคลือบสารละลายไคโตแซนร้อยละ 1.6 ส่วน

พริกที่ไม่เคลือบสารละลาย ไคโตแซนนั้นพบว่า พริกที่ไม่ทำแผล ไม่ปลูกเชื้อรา และ พริกทำแผล ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* มีการผลิตเอทิลีนสูงที่สุดในวันที่ 15 ของการเก็บรักษา จากนั้นลดลงอย่างรวดเร็วส่วนพริกที่ทำแผล ไม่ปลูกเชื้อรา พบว่ามีการผลิตเอทิลีนต่ำตลอดอายุการเก็บรักษา

การเปลี่ยนแปลงสีของผลพริก

การเปลี่ยนแปลงค่าความสว่าง (L) ที่ผลพริก พบว่าทุกทรีตเมนท์มีแนวโน้มลดลงตลอดอายุการเก็บรักษาโดยในวันแรกถึงวันที่ 18 ของการเก็บรักษานั้น พริกที่ทำแผล ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* เคลือบสารละลายไคโตแซนความเข้มข้นร้อยละ 1.2 มีการเปลี่ยนแปลงค่าความสว่าง (L) น้อยกว่าทรีตเมนท์อื่นๆ (รูปที่ 4.16) แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติในแต่ละทรีตเมนท์ (ตารางที่ ข.5) ส่วนในวันสุดท้ายของการเก็บรักษานั้นพบว่ามีการลดลงของค่า L อย่างรวดเร็ว และมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยพริกที่ทำแผล ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* เคลือบสารละลายไคโตแซนความเข้มข้นร้อยละ 1.6 มีค่าความสว่าง (L) ต่ำกว่าทรีตเมนท์อื่นๆ โดยมีค่าเท่ากับ 23.992 (ตารางที่ ข.5)

ส่วนการเปลี่ยนแปลงค่าสีแดง (a) ของพริกพบว่าทุกทรีตเมนท์มีแนวโน้มลดลงเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น เนื่องจากพริกมีการสุกและการเกิดโรคเพิ่มมากขึ้น ทำให้พริกมีสีแดงมากขึ้นจนถึงแดงคล้ำ และในวันสุดท้ายของการเก็บรักษานั้นค่าสีแดง (a) ลดลงต่ำอย่างเห็นได้ชัดเจน แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติในแต่ละทรีตเมนท์ตั้งแต่วันแรกจนถึงวันที่ 18 ของการเก็บรักษา และเมื่อเก็บรักษาไว้นาน 21 วัน พบว่าพริกที่ทำแผล ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* เคลือบสารละลายไคโตแซนความเข้มข้นร้อยละ 1.2 มีการลดลงของค่าสีแดง (a) ต่ำกว่าทรีตเมนท์อื่นๆ คือมีค่าเท่ากับ 28.832 และไม่พบว่าความแตกต่างทางสถิติกับพริกที่ทำแผล ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* เคลือบสารละลายไคโตแซน แต่จะมีความแตกต่างกันทางสถิติกับพริกไม่ทำแผล ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน (รูปที่ 4.17) (ตารางที่ ข.6)

การเปลี่ยนแปลงความแน่นเนื้อของผลพริก

การเปลี่ยนแปลงความแน่นเนื้อของผลพริกพบว่าพริกในทุกทรีตเมนท์มีการแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยพบว่าพริกที่ทำแผล ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* เคลือบสารละลายไคโตแซนความเข้มข้นร้อยละ 1.6 มีการเปลี่ยนแปลงร้อยละของความแน่นเนื้อต่ำกว่าทรีตเมนท์อื่นๆตลอดอายุการเก็บรักษา (รูปที่ 4.18) ซึ่งในวันที่ 3 และวันที่ 6 ของการเก็บรักษา พบว่าความแน่นเนื้อของพริกที่ทำแผล ปลูกด้วยเชื้อรา *C. gloeosporioides* เคลือบสารละลายไคโตแซน ความเข้มข้นร้อยละ 1.6 มีสูงกว่าพริกในทรีตเมนท์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ข.7)

การสูญเสียน้ำหนักของพริก

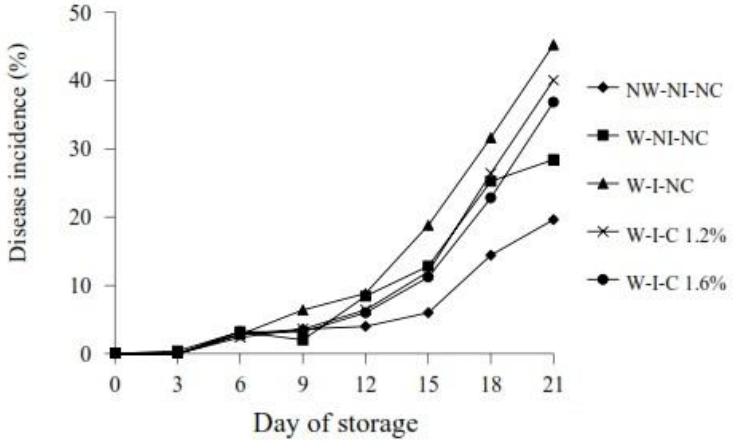
การสูญเสียน้ำหนักของผลพริกพบว่าทุกทรีตเมนท์มีแนวโน้มการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นตลอดอายุการเก็บรักษา โดยพบว่าพริกที่ไม่ทำแผล ไม่ปลูกเชื้อรา ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซนมีการสูญเสียน้ำหนักสูงกว่าทรีตเมนท์อื่นตลอดอายุการเก็บรักษา (รูปที่ 4.19) แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับผลพริกในทรีตเมนท์อื่นๆ (ตารางที่ ข. 8)

การเน่าของขั้วผล

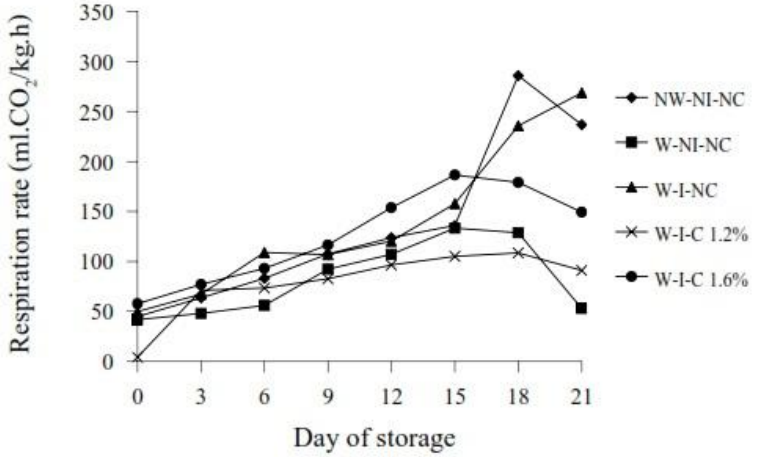
การเน่าของขั้วผลพบว่าพริกในทุกทรีตเมนท์มีแนวโน้มการเน่าของขั้วผลเพิ่มขึ้นตลอดอายุการเก็บรักษา ซึ่งในวันที่ 9 ของการเก็บรักษามีแนวโน้มการเน่าที่ขั้วผลเพิ่มสูงขึ้นอย่างชัดเจน (รูปที่ 4.20) โดยพบว่าพริกที่ทำแผล ปลูกด้วยเชื้อรา *C.gloeosporioides* และเคลือบสารละลายไคโตแซนความเข้มข้นร้อยละ 1.6 มีการเน่าสูงกว่าทรีตเมนท์อื่นตลอดการเก็บรักษา และสูงสุดในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา คือมีร้อยละของการเน่าเสียของขั้วผลเท่ากับ 94.40 ซึ่งการเน่าของขั้วผลพริกที่เคลือบสารละลายไคโตแซนความเข้มข้นร้อยละ 1.6 มีความแตกต่างทางสถิติกับการเกิดโรคบนขั้วผลพริกที่ทรีตเมนท์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ตารางที่ ข.9)

การเปลี่ยนแปลงของสีขั้วผล

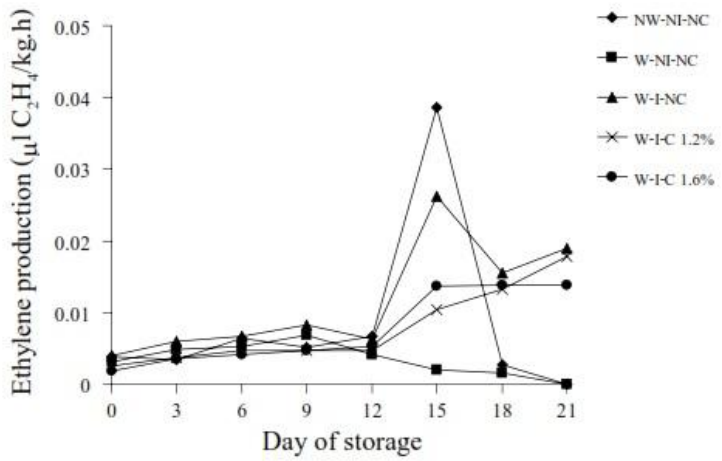
การเปลี่ยนแปลงสีของขั้วผลมีดังนี้คือ การเปลี่ยนแปลงค่าความสว่าง (L) ที่ขั้วผลพบว่ามีการเปลี่ยนแปลง 2 ช่วง คือช่วงแรกในวันที่ 0 ถึง 9 ของการเก็บรักษาทุกทรีตเมนท์มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของค่าความสว่าง (L) ของสีขั้วผลเพิ่มขึ้น และหลังจากวันที่ 9 พบว่าค่าความสว่าง (L)ของสีขั้วผลเริ่มลดลงอย่างชัดเจนจนถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (รูปที่ 4.21) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของค่าความสว่าง (L) ในการเก็บรักษาช่วงแรกนั้นมีผลเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงของสีขั้วผลที่เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง ส่วนการเปลี่ยนแปลงช่วงที่ 2 เป็นผลมาจากการเน่าเสียของขั้วผล ทำให้สีของขั้วผลคล้ำลง ดังนั้นค่าความสว่าง (L) จึงลดลงส่วนการเปลี่ยนแปลงค่าสีเหลือง (b) ของขั้วผล พบว่าที่ขั้วผลพบว่ามีการเปลี่ยนแปลง 2 ช่วง คือช่วงแรกในวันที่ 0 ถึง 9 ของการเก็บรักษา พบว่าทุกทรีตเมนท์มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงค่าสีเหลือง (b) เพิ่มขึ้น และหลังจากวันที่ 9 จะเห็นว่าค่าสีเหลือง (b) เริ่มลดลงอย่างชัดเจนจนถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษา (รูปที่ 4.22) ซึ่งการเพิ่มขึ้นของค่าสีเหลือง (b) ในการเก็บรักษาช่วงแรกนั้นมีผลเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงของสีขั้วผลที่เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง ส่วนการเปลี่ยนแปลงช่วงที่ 2 เป็นผลมาจากการเน่าเสียของขั้วผล ทำให้สีของขั้วผลคล้ำลง ดังนั้นค่าสีเหลือง (b) จึงลดลง



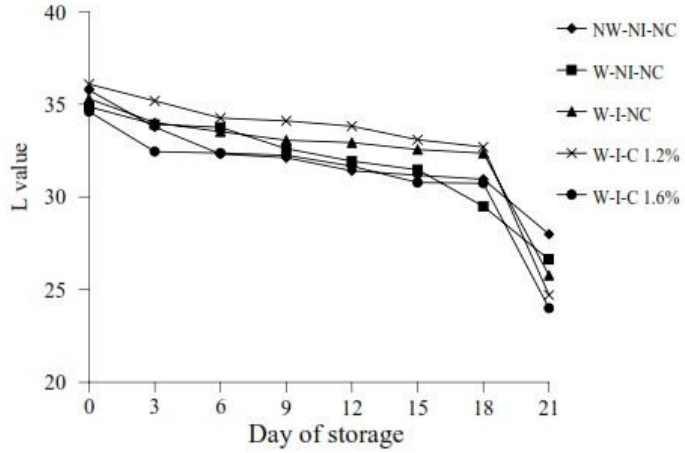
รูปที่ 4.13 การเกิดโรคบนผลพริกพันธุ์จินดาที่เก็บรักษาที่ 13 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน
(NW) = ไม่ทำแผล, (NI) = ไม่ปลูกเชื้อ, (NC) = ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน,
(W) = ทำแผล, (I) = ปลูกเชื้อ, (C) = เคลือบสารละลายไคโตแซน



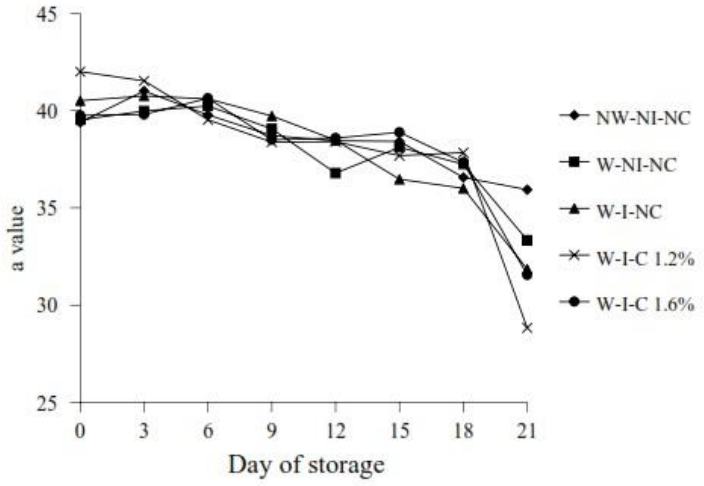
รูปที่ 4.14 อัตราการหายใจของผลพริกพันธุ์จินดาที่เก็บรักษาที่ 13 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน
(NW) = ไม่ทำแผล, (NI) = ไม่ปลูกเชื้อ, (NC) = ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน,
(W) = ทำแผล, (I) = ปลูกเชื้อ, (C) = เคลือบสารละลายไคโตแซน



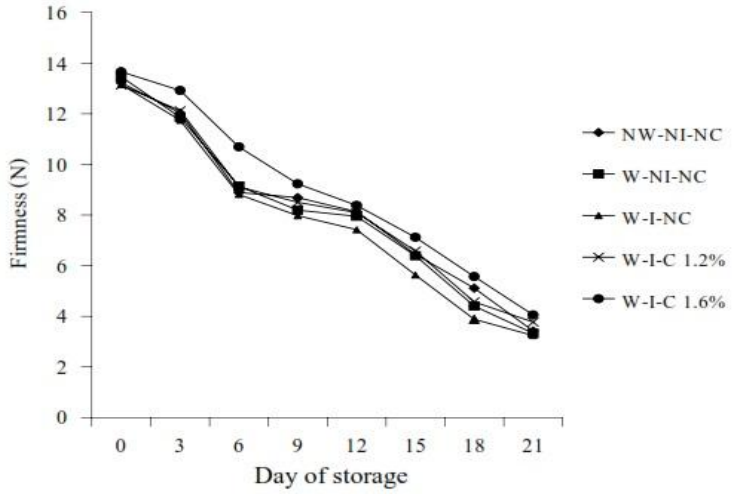
รูปที่ 4.15 การผลิตเอทิลีนของผลพริกพันธุ์จินดาที่เก็บรักษาที่ 13 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน
(NW) = ไม่ทำแผล, (NI) = ไม่ปลูกเชื้อ, (NC) = ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน,
(W) = ทำแผล, (I) = ปลูกเชื้อ, (C) = เคลือบสารละลายไคโตแซน



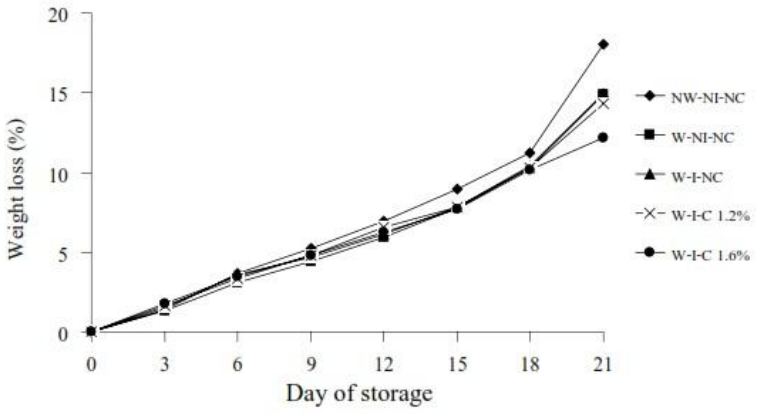
รูปที่ 4.16 การเปลี่ยนแปลงของค่าความสว่าง (L) บนผลพริกพันธุ์จินดาที่เก็บรักษาที่ 13 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน
(NW) = ไม่ทำแผล, (NI) = ไม่ปลูกเชื้อ, (NC) = ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน,
(W) = ทำแผล, (I) = ปลูกเชื้อ, (C) = เคลือบสารละลายไคโตแซน



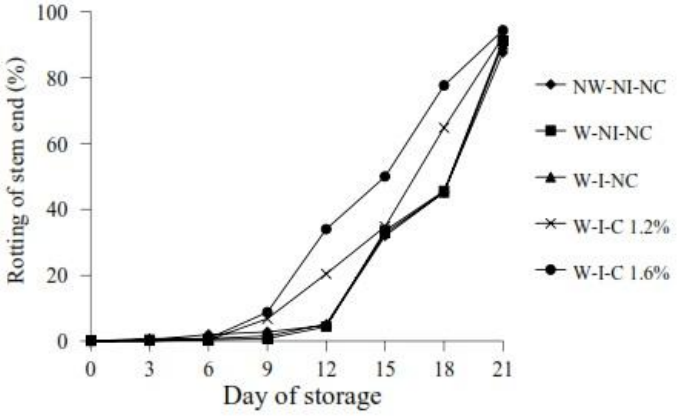
รูปที่ 4.17 การเปลี่ยนแปลงของค่าสีแดง (a) บนผลพริกพันธุ์จินดาที่เก็บรักษาที่ 13 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน
(NW) = ไม่ทำแผล, (NI) = ไม่ปลูกเชื้อ, (NC) = ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน,
(W) = ทำแผล, (I) = ปลูกเชื้อ, (C) = เคลือบสารละลายไคโตแซน



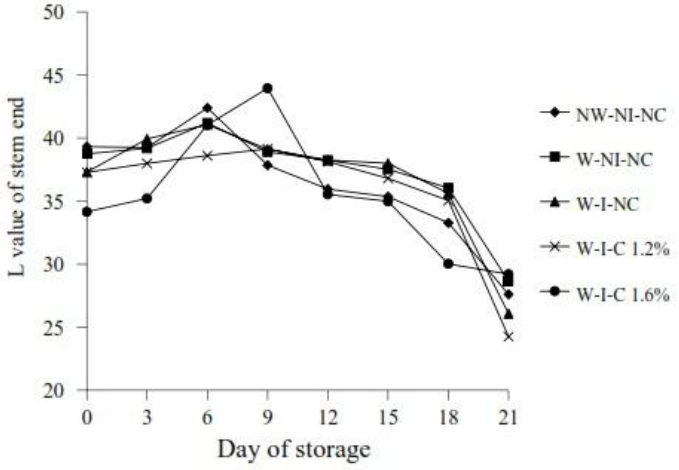
รูปที่ 4.18 การเปลี่ยนแปลงความแน่นเนื้อของผลพริกพันธุ์จินดาที่เก็บรักษาที่ 13 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน
(NW) = ไม่ทำแผล, (NI) = ไม่ปลูกเชื้อ, (NC) = ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน,
(W) = ทำแผล, (I) = ปลูกเชื้อ, (C) = เคลือบสารละลายไคโตแซน



รูปที่ 4.19 การสูญเสียน้ำหนักของผลพริกพันธุ์จินดาที่เก็บรักษาที่ 13 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน
(NW) = ไม่ทำแผล, (NI) = ไม่ปลูกเชื้อ, (NC) = ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน,
(W) = ทำแผล, (I) = ปลูกเชื้อ, (C) = เคลือบสารละลายไคโตแซน



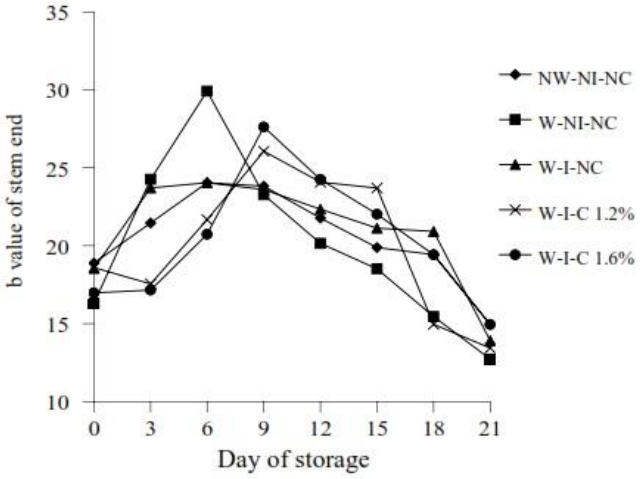
รูปที่ 4.20 การเน่าของขั้วผลพริกพันธุ์จินดาที่เก็บรักษาที่ 13 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน
(NW) = ไม่ทำแผล, (NI) = ไม่ปลูกเชื้อ, (NC) = ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน,
(W) = ทำแผล, (I) = ปลูกเชื้อ, (C) = เคลือบสารละลายไคโตแซน



รูปที่ 4.21 การเปลี่ยนแปลงค่าความสว่าง (L) ของขั้วผลพริกพันธุ์จินดาที่เก็บรักษาที่ 13 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน

(NW) = ไม่ทำแผล, (NI) = ไม่ปลูกเชื้อ, (NC) = ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน,

(W) = ทำแผล, (I) = ปลูกเชื้อ, (C) = เคลือบสารละลายไคโตแซน



รูปที่ 4.22 การเปลี่ยนแปลงค่าสีเหลือง (b) ของขั้วผลพริกพันธุ์จินดาที่เก็บรักษาที่ 13 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน

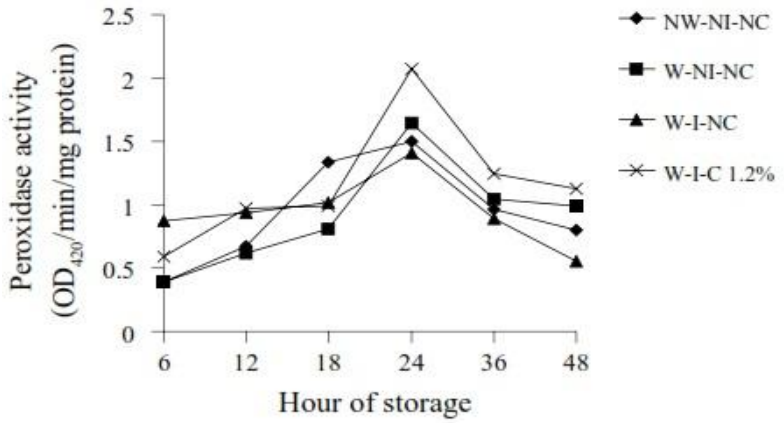
(NW) = ไม่ทำแผล, (NI) = ไม่ปลูกเชื้อ, (NC) = ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน,

(W) = ทำแผล, (I) = ปลูกเชื้อ, (C) = เคลือบสารละลายไคโตแซน

กิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase, Phenylalanine ammonia lyase, β-1,3- glucanase และ Chitinase ของผลพริกพันธุ์จินดา

ผลของการใช้สารละลายไคโตแซนต่อการชักนำกิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase, Phenylalanine ammonia lyase, β-1,3- glucanase และ Chitinase บนผลพริกพันธุ์จินดาที่ไม่ทำแผล ไม่ปลูกเชื้อรา ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน, พริกที่ทำแผล ไม่ปลูกเชื้อรา ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน, พริกที่ทำแผล ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* และไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน และพริกที่ทำแผล ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* เคลือบสารละลายไคโตแซนความเข้มข้นร้อยละ 1.2 และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส นาน 6, 12, 18, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง พบว่าการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase ของผลพริกในแต่ละทรีตเมนท์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.23) และมีกิจกรรมสูงมากที่สุดในชั่วโมง 24 จากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์จะค่อยๆ ลดลงจนถึงชั่วโมงที่ 48 โดยพริกที่ทำแผล ปลูกด้วยเชื้อรา *C. gloeosporioides* เคลือบสารละลายไคโตแซนความเข้มข้นร้อยละ 1.2 มีกิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase สูงกว่าพริกในทรีตเมนท์อื่น คือมีปริมาณเท่ากับ 2.07 OD_{420}/min/mg protein จากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์จะลดลงอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 36 อย่างไรก็ตาม กิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase ในแต่ละทรีตเมนท์มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) ตลอดอายุการเก็บรักษา (ตารางที่ ข.12) ส่วนการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase พบว่าผลพริกในแต่ละทรีตเมนท์มีกิจกรรมของเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase เพิ่มสูงขึ้น และสูงที่สุดในชั่วโมงที่ 18 (รูปที่ 4.24) โดยผลพริกที่ไม่ทำแผล ไม่ปลูกเชื้อรา ไม่เคลือบผิวสารละลายไคโตแซน มีการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase สูงกว่าทรีตเมนท์อื่นตลอดการเก็บรักษา คือมีค่าเท่ากับ 0.063 unit/mg protein จากนั้นจะค่อยๆ ลดต่ำลงและจะต่ำที่สุดในชั่วโมงที่ 48 และในแต่ละทรีตเมนท์มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) ตลอดอายุการเก็บรักษา (ตารางที่ ข.13) การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ β-1,3-glucanase พบว่าผลพริกที่ทำแผล ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน และพริกที่ทำแผล ปลูกด้วยเชื้อรา *C. gloeosporioides* เคลือบสารละลายไคโตแซนความเข้มข้นร้อยละ 1.2 มีปริมาณ β-1,3-glucanase เพิ่มสูงสุดในชั่วโมงที่ 12 (รูปที่ 4.25) โดยมีปริมาณใกล้เคียงกันคือ 3.115 และ 3.157 unit/mg protein ตามลำดับ และไม่พบความแตกต่างทางสถิติใน 2 ทรีตเมนท์นี้ จากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์ β-1,3-glucanase จะค่อยๆ ลดต่ำลง และต่ำสุดที่ชั่วโมงที่ 48 ส่วนพริกที่ทำแผล ไม่ปลูกเชื้อรา ไม่เคลือบผิวด้วยสารละลายไคโตแซน มีการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 และเพิ่มสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 24 คือมีค่ากิจกรรมเท่ากับ 2.903 unit/mg protein แล้วลดลงต่ำสุดในชั่วโมงที่ 48 และพริกที่ไม่ทำแผล ไม่ปลูกเชื้อรา ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน มีแนวโน้มลดลงตลอดการเก็บรักษา และต่ำสุดในชั่วโมงที่ 48 คือมีค่าเท่ากับ 0.989 unit/mg protein ซึ่งพริกที่ทำแผลแตกต่างกับพริกที่ไม่ทำแผลอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p \leq 0.01$) ตลอดอายุการเก็บรักษา (ตารางที่ ข.14)การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ Chitinase พบว่าผลพริกที่ทำแผล ปลูกด้วยเชื้อรา *C. gloeosporioides* และไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน และพริกที่ทำแผล ปลูกด้วยเชื้อรา *C. gloeosporioides* เคลือบสารละลายไคโตแซนความเข้มข้นร้อยละ 1.2 มีปริมาณเพิ่มสูงสุดในชั่วโมงที่ 12 (รูปที่ 4.26) โดยมีกิจกรรมใกล้เคียงกันคือ 0.037 และ 0.038 unit/mg

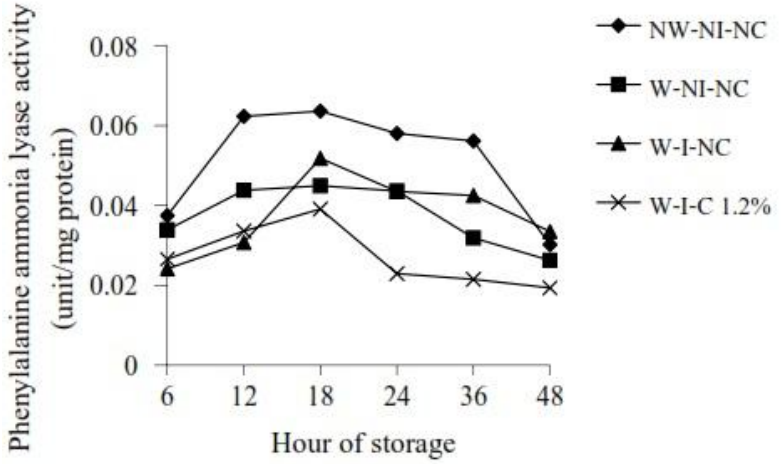
protein ตามลำดับจากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์ Chitinase จะลดต่ำลง และต่ำที่สุดในชั่วโมงที่ 48 ส่วนพริกที่ไม่ทำแผลไม่ปลูกเชื้อรา ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน และพริกที่ทำแผล ไม่ปลูกเชื้อรา ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน กิจกรรมของเอนไซม์ Chitinase สูงสุดที่ชั่วโมงที่ 36 โดยมีค่าเท่ากับ 0.023 และ 0.040 unit/mg protein ตามลำดับ แล้วลดลงต่ำอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 48 (ตารางที่ ข.15)



รูปที่ 4.23 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase ในพริกพันธุ์จินดาที่เก็บรักษาที่ 13 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน

(NW) = ไม่ทำแผล, (NI) = ไม่ปลูกเชื้อ, (NC) = ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน,

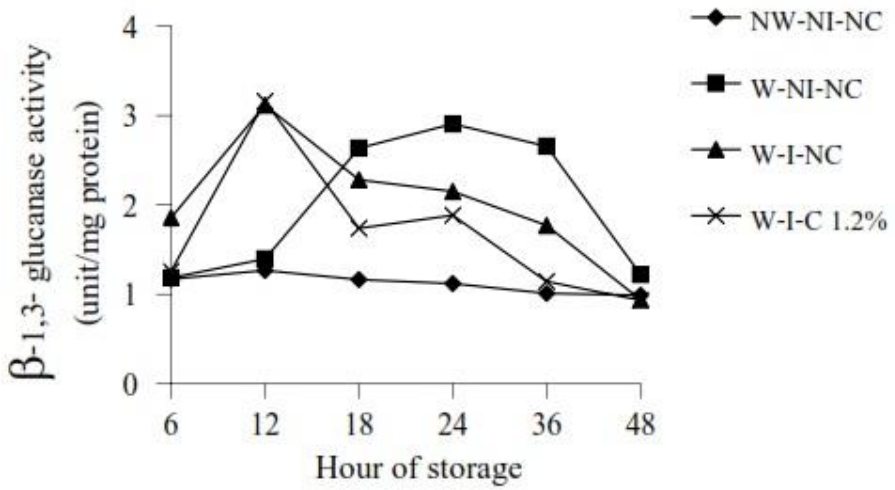
(W) = ทำแผล, (I) = ปลูกเชื้อ, (C) = เคลือบสารละลายไคโตแซน



รูปที่ 4.24 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase ในพริกพันธุ์จินดาที่เก็บรักษาที่ 13 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน

(NW) = ไม่ทำแผล, (NI) = ไม่ปลูกเชื้อ, (NC) = ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน,

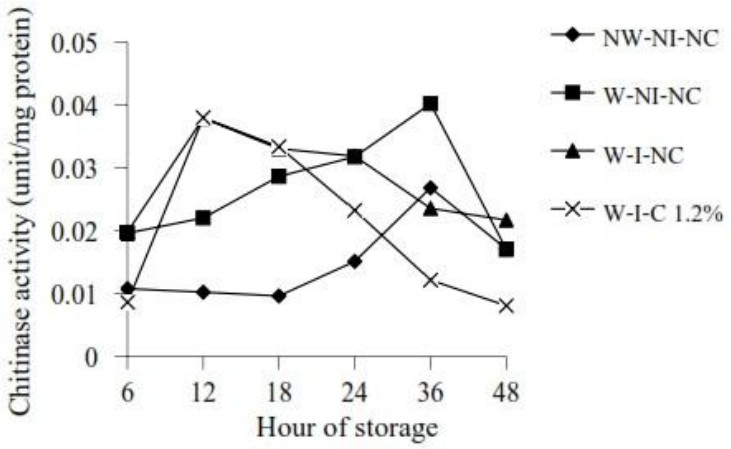
(W) = ทำแผล, (I) = ปลูกเชื้อ, (C) = เคลือบสารละลายไคโตแซน



รูปที่ 4.25 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ β-1,3-glucanase ในพริกพันธุ์จินดาที่เก็บรักษาที่ 13 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน

(NW) = ไม่ทำแผล, (NI) = ไม่ปลูกเชื้อ, (NC) = ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน,

(W) = ทำแผล, (I) = ปลูกเชื้อ, (C) = เคลือบสารละลายไคโตแซน



รูปที่ 4.26 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ Chitinase ในพริกพันธุ์จินดาที่เก็บรักษาที่ 13 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน

(NW) = ไม่ทำแผล, (NI) = ไม่ปลูกเชื้อ, (NC) = ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน,

(W) = ทำแผล, (I) = ปลูกเชื้อ, (C) = เคลือบสารละลายไคโตแซน