

อิทธิพลของโอลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้นเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสในต้นยางพารา
(*Hevea brasiliensis*)

Effect of Oligochitosan On Enzyme Peroxidase Activation In *Hevea Brasiliensis*
(Willd. ex A. Juss.) Muell. Arg.

รัตนา ตำฮอย^{1*} พรรณี อัสวตรรัตนกุล² และเกษม อัสวตรรัตนกุล³

Rattana Tamhoi^{1*} Punnee Asawatreratanakul² and Kasem Asawatreratanakul³

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มุ่งศึกษาผลของโอลิโกไคโตซานต่อการป้องกันโรคของต้นยางพารา โดยศึกษาอิทธิพลของโอลิโกไคโตซานต่อระดับเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส (POD) ในต้นยางพาราพันธุ์ RRIM600 โดยใช้โอลิโกไคโตซาน ขนาดโมเลกุล 5,000 (O-5), 45,000 (O-45) และไคโตซานจากกุ้ง (SCS) ที่ความเข้มข้น 10, 50 และ 100 ppm ผลการวิจัยพบว่า หลังการกระตุ้นด้วยโอลิโกไคโตซาน 2 สัปดาห์ O-5 ที่ความเข้มข้น 10 ppm สามารถกระตุ้นระดับ POD ได้สูงสุดเป็น 1.48 เท่าของชุดควบคุม ซึ่งสูงกว่าการกระตุ้นด้วย O-45 และ SCS การตรวจสอบความสูงของลำต้นให้ผลที่สอดคล้องกันคือ O-5 สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตได้มากกว่า SCS และ O-45 (3.39, 2.08 และ 1.68 เท่าตามลำดับ) และการกระตุ้นด้วย O-5 สามารถเพิ่มปริมาณเนื้อยางแห้งเป็น 46.60 % สำหรับการศึกษาความต้านทานต่อเชื้อราไฟทอปธอรา อยู่ระหว่างดำเนินการ เพื่อสนับสนุนกลไกการป้องกันโรคด้วยโอลิโกไคโตซานในต้นยางพารา

คำสำคัญ : โอลิโกไคโตซาน เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส ยางพารา

¹ นิสิตปริญญาโท สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ สงขลา 90000

² ผศ., ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ 90112

³ รศ., สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ สงขลา 90000

* Corresponding author : E-mail : rattanatomhoi@yahoo.co.th, Tel. 087-2997022

Abstracts

This study was aimed to evaluate the effect of oligochitosan on rubber tree protection from fungal diseases. The effect of oligochitosan on peroxidase (POD) level was evaluated in rubber tree strain RRIM600. Three types of oligochitosan, O-5 (MW. 5,000), O-45 (MW. 45,000), SCS (MW. $>10^5$) were exposed to young Hevea rubber at concentration 10, 50 and 100 ppm. After 2 weeks treated with oligochitosan, O-5 showed the highest POD activation (1.48 fold compare to control). The plants growth activation were also observed and found that O-5, O-45 and SCS increased the plant height 3.39, 2.08 and 1.68 fold, respectively. The highest dry rubber content was observed in the latex of O-5 treated tree. Further elucidation of fungal resistance might be benefit for application of oligochitosan for fungal control in rubber tree.

Keywords : Oligochitosan, Enzyme Peroxidase, Hevea Brasiliensis

บทนำ

ยางพารา (*Hevea brasiliensis*) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญยิ่งของประเทศไทยและภูมิภาคอาเซียน จากข้อมูลวิชาการยางพารา 2553 [1] รายงานว่า นับตั้งแต่ปี พ.ศ.2444 ที่ประเทศไทยเริ่มมีการปลูกยางพาราเป็นครั้งแรก และมีการขยายพื้นที่ปลูกอย่างแพร่หลาย ปัจจุบันไทยเป็นผู้นำในการผลิตและส่งออกยางธรรมชาติมากที่สุดของโลกด้วยปริมาณการผลิต 3.16 ล้านตันต่อปี คิดเป็นร้อยละ 32.91 ของปริมาณการผลิตยางธรรมชาติของโลก มีพื้นที่ปลูกยางทั้งสิ้น 16.89 ล้านไร่ โดยภาคใต้มีการปลูกยางมากที่สุด รองลงมาคือภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคตะวันออก รวมภาคกลาง และภาคเหนือตามลำดับ [1] ยางพาราเจริญเติบโตได้ดีที่มีความชื้นอากาศค่อนข้างสูง และมีฝนตกชุก จึงทำให้เกษตรกรประสบปัญหาจากเชื้อราต่างๆ โดยเฉพาะเชื้อไฟทอปทอรา โดยจะเข้าสู่ระบบท่อลำเลียงภายในลำต้น ทำให้เกิดโรคต่างๆ และส่งผลให้ผลผลิตลดลงหรืออาจทำให้ยางพาราตายได้ ไฟทอปทอราสามารถทำลายพืชมากกว่า 138 ชนิดรวมถึงพืชที่สำคัญทางเศรษฐกิจจำนวนมากด้วยเช่นกัน [2] ตัวอย่างเช่น โกโก้ ถั่วลิสง ทุเรียน ยางพารา พริกไทย มันสำปะหลัง มะเขือเทศและยาสูบ

ไคโตซานเป็นอนุพันธ์ของไคตินที่กำจัดหมู่อะซิโตนอกจากหน่วยย่อยของ N-acetyl glucosamine เกิดเป็นพอลิเมอร์ของ glucosamine ไคโตซานสกัดได้จากไคตินที่เป็นโครงสร้างของเปลือกกุ้ง กระดองปู แก่นปลาหมึก และผนังเซลล์ของเห็ดราบางชนิด ไคโตซานเป็นไบโอพอลิเมอร์ธรรมชาติชนิดหนึ่งที่มีสมบัติพื้นฐาน คือสามารถย่อยสลายง่าย ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม ทั้งนี้เนื่องจากไคโตซานมีหมู่อะมิโนซึ่งแสดงสมบัติพิเศษหลายประการ เช่น การจับกับไอออนของโลหะได้ดีและการมีฤทธิ์ทางชีวภาพ สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในด้าน การเกษตร โดยนำมาใช้ในการยับยั้งเชื้อราบางชนิดที่เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคพืชและเป็นตัวกระตุ้นให้พืชงอกราก เกิดใบใหม่ กระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชหลายๆ ชนิด เช่น ข้าว [3] ถั่วลิสง ไม้ร่อนท้านริ้วกผสม *Paphiopedilum bellatulum* x PAPH. Angthong [4] เนื่องจาก ไคโตซานสามารถออกฤทธิ์เป็นตัวกระตุ้นระบบป้องกันตัวเองของพืช [5] และกระตุ้นให้พืชสร้างภูมิคุ้มกันตนเอง [6] ทำให้พืชผลิตเอนไซม์และสารเคมีเพื่อป้องกันตัวเองหลายชนิด เช่น สร้างสารโมเลกุลขนาดเล็ก พวกฟีนอลิก ไฟโตอเล็กซิน (phytoalexin) และสร้าง pathogenesis related proteins (PR protein) ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดที่สำคัญๆ เช่น เอนไซม์ β -1,3-glucanase, peroxidase, chitinase และ superoxide dismutase ส่งผลให้ช่วยลดโอกาสที่จะถูกคุกคามจากศัตรูพืชชนิดต่างๆ ได้ อีกทั้งยังเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ช่วยลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายในการกำจัดศัตรูพืชได้อีกด้วย

จากงานประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 22 ปี 2555

โอลิโกไคโตซาน ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของไคตินที่มีขนาดโมเลกุลเล็กกว่าไคโตซานมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อไฟทอปทอราได้ดีกว่าไคโตซาน แต่มีการยับยั้งในบริเวณที่ต่างกัน [7] สารสร้างปฏิชีวนะซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโรคได้ เรียกว่า ไฟโตเอเล็กซิน โดยจะผลิตโปรตีนขึ้นมาทำลายเชื้อโรค เรียกว่า พาโทเจนซิส รีเลทเต็ด โปรตีน (PR-protein) ได้แก่เอนไซม์ไคตินเนส เอนไซม์ β -1, 3-กลูคาเนส โปรตีนเอสอินฮิบิเตอร์ และเกิดกระบวนการกลืนฟิเคชัน เพื่อกักบริเวณเชื้อโรคไม่ให้ลุกลามต่อไปยังเซลล์ข้างเคียง [1]

เอนไซม์ peroxidase เป็นเอนไซม์ที่ออกซิไดซ์สับสเตรทได้ในสภาวะที่มี H_2O_2 และสามารถใช้อิเล็กตรอนหลายชนิด เช่น สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบในกลุ่มอะโรมาติกเอมีนและสารประกอบอินทรีย์ เอนไซม์ peroxidase สามารถพบได้ในส่วนต่างๆ ของพืช เช่น เมล็ด ราก ลำต้น และใบ เป็นต้น พืชจะมีการสร้างเอนไซม์ peroxidase หลาย ไอโซไซม์ เพื่อประโยชน์ที่แตกต่างกัน เช่น ช่วยซ่อมแซมผนังเซลล์ โดยจะเร่งกระบวนการสังเคราะห์องค์ประกอบของผนังเซลล์ คือ ลิกนินซูเบอร์ิน เพื่อสร้างความแข็งแรงให้กับเนื้อไม้ และการสร้างลิกนินสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของสาหร่าย (Hypha) นอกจากนี้พืชจะถูกกระตุ้นด้วยเชื้อราแล้ว ยังมีการกระตุ้นด้วยสารเคมี การเกิดบาดแผล ซึ่งส่งผลให้พืชสร้างเอนไซม์ peroxidase เพิ่มขึ้น เช่น ในต้น Ebenus cretia ที่ถูกตัดแล้วบ่มด้วยกรด indolic-3-butyric จะพบ peroxidase สูงขึ้นและสามารถชักนำให้รากงอกเร็วขึ้น นอกจากนี้ มีรายงานว่า peroxidase เกี่ยวข้องกับระดับความต้านทานต่อโรคของพืชอีกด้วย [8]

จากที่กล่าวข้างต้น ทำให้เห็นถึงความสำคัญของโอลิโกไคโตซานต่อการป้องกันโรคในต้นยางพารา เพื่อให้ต้นยางพารามีความทนทานต่อการเกิดโรคได้มากขึ้น และอาจจะนำไปสู่การเพิ่มผลผลิตน้ำยางด้วย นอกจากนี้การนำโอลิโกไคโตซานที่ผลิตได้จากเปลือกกุ้ง กระดองปู และหีดยังชีพซึ่งเป็นวัตถุดิบที่มีมากมายในประเทศมาประยุกต์ใช้ในการยับยั้งเชื้อราและสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานโรคในพืช ซึ่งเป็นการนำวัสดุเหลือทิ้งมาใช้ให้เกิดประโยชน์และสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับผลผลิตทางการเกษตร

อุปกรณ์และวิธีการ

สารทดลองและตัวอย่างพืช

สารทดลอง 3 ชนิด คือ โอลิโกไคโตซาน ขนาดโมเลกุล 5,000 (O-5), 45,000 (O-45) และไคโตซานจากกุ้ง (shrimp chitosan : SCS) ที่ใช้กระตุ้นชุดต้นยางพาราพันธุ์ RRIM600 อายุ 1 ปี จำนวน 30 ต้นด้วยการรดสารละลายรอบต้น ห่าง 30 เซนติเมตรจากโคนต้น และต้นยางอายุ 10 ปี จำนวน 15 ต้น ด้วยการฉีดพ่นบนบริเวณหน้ายาง แปลงปลูกยางพาราตั้งอยู่ที่บ้านทรายขาว ต.สะพานไม้แก่น อ. จะนะ จ. สงขลา กลุ่มทดลองจำนวน 3 ซ้ำ ที่กระตุ้นด้วย O-5, O-45 และ SCS ที่ความเข้มข้น 10, 50 และ 100 ppm ทุก 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ โดยเปรียบกับชุดควบคุม

ศึกษาผลการเจริญเติบโตของต้นยางพาราที่ได้รับการกระตุ้นด้วยโอลิโกไคโตซาน

ศึกษาการเจริญเติบโตของต้นยางพาราที่ได้รับการกระตุ้นด้วยโอลิโกไคโตซาน โดยเก็บข้อมูลทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ จากการวัดความสูงของต้นจากขอบบนของต้นตอเดิมจนถึงยอดบนการวัดเส้นรอบวงของลำต้น และการนับจำนวนตาข้าง

ศึกษาผลของโอลิโกไคโตซานต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ peroxidase

ใบยางพาราจากแต่ละชุดการทดลอง นำมาสกัดด้วยบัฟเฟอร์ (0.1 M Tris-HCl pH 7.5, 5% PVP, 0.5 M 2-mercaptoethanol) โดยดัดแปลงวิธีการสกัดจากอามีนาคณะ (2551) นำสารสกัดจากใบมาตรวจวัดความว่องไวของเอนไซม์ peroxidase [9]

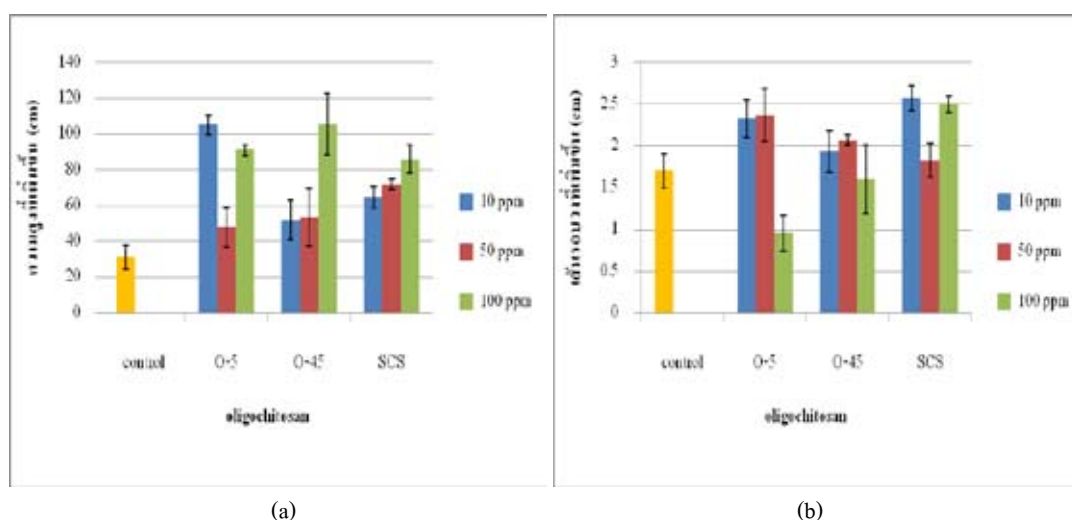
ศึกษาผลของโอลิโกไคโตซานต่อปริมาณเนื้อยางแห้ง (%DRC) ของน้ำยาง

ทำการเก็บตัวอย่างน้ำยางพาราจากกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง(ต้นยางอายุ 10 ปี) ที่ได้รับการกระตุ้นด้วยโอลิโก-ไคโตซาน ทุกๆ 8 วัน จากการกรีดยาง 3 วันเว้น 1 วัน โดยการเก็บน้ำยาง เป็นระยะเวลา 1 เดือน วัดปริมาณของน้ำยางที่เก็บได้ ในเวลา 2 ชั่วโมง และหาน้ำหนักของเนื้อยางแห้งเพื่อคำนวณ %DRC จากความสัมพันธ์ดังนี้ $\%DRC = (\text{น้ำหนักยางแห้ง} \times 100) / \text{น้ำหนักน้ำยางสด}$

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

ผลของโอลิโกไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นยางพารา

จากการศึกษาผลของโอลิโกไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นยางพารา โดยการวัดความสูงของต้นเป็นเวลา 12 สัปดาห์ แล้วทำการเปรียบเทียบกับชุดควบคุม พบว่า ในชุดควบคุมมีความสูงเพิ่มขึ้นเท่ากับ 31.00 ± 6.93 เซนติเมตร ดังภาพที่ 1(a) ต้นยางชุดที่ได้รับโอลิโกไคโตซานที่ความเข้มข้น 10 ppm ที่มีอัตราความสูงมากที่สุดคือ O-5 เท่ากับ 105.07 ± 5.52 เซนติเมตร รองลงมาคือ SCS เท่ากับ 64.63 ± 6.24 เซนติเมตร และ O-45 เท่ากับ 52.05 ± 16.19 เซนติเมตร คิดเป็น 3.39, 2.08 และ 1.68 เท่าของชุดควบคุม ตามลำดับ สำหรับความเข้มข้น 50 ppm ที่มีอัตราความสูงมากที่สุดคือ SCS เท่ากับ 71.85 ± 2.76 เซนติเมตร รองลงมาคือ O-45 เท่ากับ 53.35 ± 16.19 เซนติเมตร และ O-5 เท่ากับ 47.95 ± 10.82 เซนติเมตร คิดเป็น 2.32, 1.72 และ 1.55 เท่าของชุดควบคุม ตามลำดับ และสำหรับความเข้มข้น 100 ppm ที่มีอัตราความสูงมากที่สุดคือ O-45 เท่ากับ 105.25 ± 17.18 เซนติเมตร รองลงมาคือ O-5 เท่ากับ 90.85 ± 3.18 เซนติเมตร และ SCS เท่ากับ 85.85 ± 7.99 เซนติเมตร คิดเป็น 3.40, 2.93 และ 2.77 เท่าของชุดควบคุม ตามลำดับ



ภาพที่ 1 ผลของโอลิโกไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นยางพาราในระยะ 12 สัปดาห์, (a) แสดงความสูงที่เพิ่มขึ้น, (b) แสดงความยาวเส้นรอบวงที่เพิ่มขึ้น

จากงานประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 22 ปี 2555

จากการศึกษาผลของโอลิโกไคโตซานที่มีผลต่อความยาวเส้นรอบวงที่เพิ่มขึ้นของต้นยางพาราเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ในชุดควบคุมมีค่าเท่ากับ 1.70 ± 0.20 เซนติเมตร ดังภาพที่ 1(b) ต้นยางชุดที่ได้รับโอลิโกไคโตซานที่ความเข้มข้น 10 ppm มีความยาวเส้นรอบวงมากที่สุดคือ SCS เท่ากับ 2.57 ± 0.15 เซนติเมตร รองลงมาคือ O-5 เท่ากับ 2.33 ± 0.23 เซนติเมตร และ O-45 เท่ากับ 1.93 ± 0.25 เซนติเมตร คิดเป็น 1.51, 1.37 และ 1.14 เท่าของชุดควบคุม ตามลำดับ สำหรับความเข้มข้น 50 ppm มีความยาวเส้นรอบวงมากที่สุดคือ O-5 เท่ากับ 2.37 ± 0.31 เซนติเมตร รองลงมาคือ O-45 เท่ากับ 2.07 ± 0.06 เซนติเมตร และ SCS เท่ากับ 1.83 ± 0.21 เซนติเมตร คิดเป็น 1.39, 1.22 และ 1.08 เท่าของชุดควบคุม ตามลำดับ และสำหรับความเข้มข้น 100 ppm มีความยาวเส้นรอบวงมากที่สุดคือ SCS เท่ากับ 2.50 ± 0.10 เซนติเมตร รองลงมาคือ O-45 เท่ากับ 1.60 ± 0.42 เซนติเมตร และ O-5 เท่ากับ 0.95 ± 0.21 เซนติเมตร คิดเป็น 1.47, 0.94 และ 0.56 เท่าของชุดควบคุม ตามลำดับ

จากการศึกษาผลของโอลิโกไคโตซานที่มีต่อจำนวนตาข้าง (lateral bud) ของต้นยางพาราเป็นเวลา 12 สัปดาห์ พบว่า ในชุดควบคุมมีค่าเท่ากับ 14.50 ± 3.54 ตา ต้นยางชุดที่ได้รับโอลิโกไคโตซานที่ความเข้มข้น 10 ppm ที่มีจำนวนตาข้างมากที่สุดคือ O-5 และ SCS เท่ากับ 6.00 ± 0.00 ตา และ O-45 เท่ากับ 1.00 ± 0.00 ตา สำหรับความเข้มข้น 50 ppm ที่มีจำนวนตาข้างมากที่สุดคือ SCS เท่ากับ 6.50 ± 0.71 ตา ส่วน O-5 และ O-45 ไม่มีตาข้าง และสำหรับความเข้มข้น 100 ppm ที่มีจำนวนตาข้างมากที่สุดคือ O-45 เท่ากับ 5 ± 4.67 ตา รองลงมาคือ O-5 เท่ากับ 5.00 ± 1.41 ตา และ SCS เท่ากับ 3.00 ± 0.00 ตา จากผลการวิจัยพบว่า ต้นยางพาราที่ถูกกระตุ้นด้วยโอลิโกไคโตซานทุกชนิดและทุกความเข้มข้นจะให้จำนวนตาข้างต่ำกว่าชุดควบคุม

ผลการศึกษาในต้นยางพาราที่ได้รับการกระตุ้นด้วยโอลิโกไคโตซานชนิดต่างๆพบว่า โอลิโกไคโตซานทุกชนิดสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโต ทำให้ต้นยางพารามีลำต้นสูงเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยเฉพาะโอลิโกไคโต-ซานโมเลกุลขนาดเล็ก (O-5) ที่ใช้ความเข้มข้นเพียง 10 ppm จะให้การตอบสนองดีที่สุด ซึ่งโอลิโกไคโตซานโมเลกุลขนาดกลาง (O-45) และขนาดใหญ่ (SCS) จะกระตุ้นความสูงที่เพิ่มขึ้นของลำต้นได้น้อยกว่าและต้องใช้ความเข้มข้นสูงถึง 100 ppm จึงจะตอบสนองได้อย่างมีประสิทธิภาพแสดงว่าโอลิโกไคโตซานสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นยางพารา ซึ่งผลการวิจัยสอดคล้องกับการวิจัยในกล้วยไม้หวายสกุล “เอียสกูล” [10] กล้วยไม้หวายสกุล Phalaenopsis [11] และกล้วยไม้รองเท้านารีชาวดุสิต [12] การที่โอลิโกไคโตซานสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของลำต้นยางพารา อาจจะอาศัยการกระตุ้นกลไกการป้องกันตนเองของพืช ทำให้ต้นยางพารามีความแข็งแรงและเจริญเติบโตได้ดี หรือโอลิโกไคโตซานอาจจะทำหน้าที่เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นยางพารา อย่างไรก็ตามการกระตุ้นด้วย โอลิโกไคโตซานไม่มีผลต่อขนาดของลำต้นและจำนวนตาข้างของต้นยางพารา

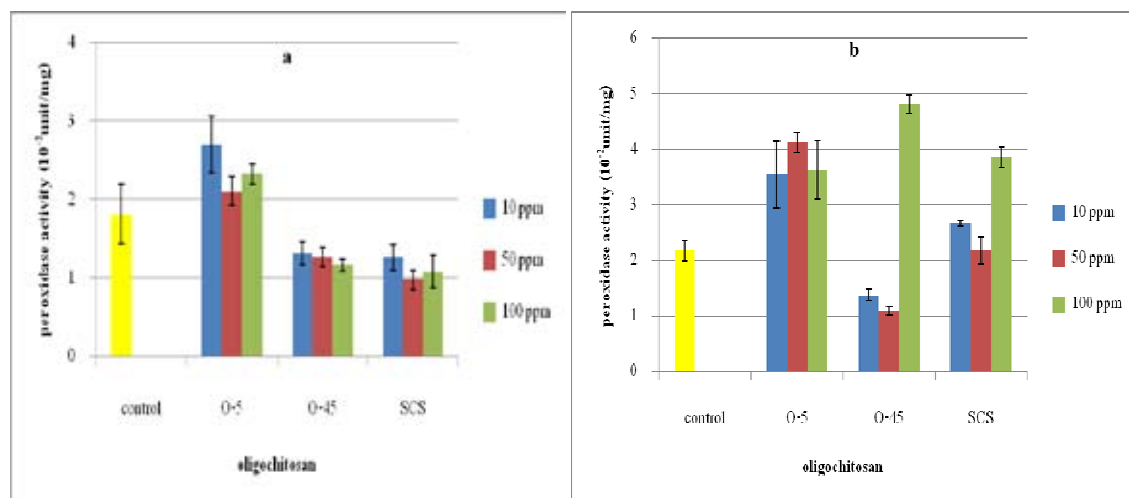
ผลของโอลิโกไคโตซานต่อการเปลี่ยนแปลงระดับเอนไซม์ peroxidase

ผลการศึกษาชนิดและความเข้มข้นของโอลิโกไคโตซานที่มีผลต่อระดับ POD activity ในสารสกัดใบยางพาราที่ถูกกระตุ้นต่อเนื่อง 6 สัปดาห์ ผลการวิจัยพบว่า ต้นยางพาราหลังจากกระตุ้นด้วยโอลิโกไคโตซานโมเลกุลขนาดเล็ก (O-5) ค่าของ POD activity จะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับชุดควบคุม โดยจะให้ POD activity สูงสุดในสัปดาห์ที่ 2 ดังตาราง ที่ 1 หลังจากนั้น จะมีค่าลดลง แต่ยังมีค่า POD activity สูงกว่าชุดควบคุมเล็กน้อย ความเข้มข้นของโอลิโกไคโตซานขนาดเล็ก (O-5) 10 ppm ให้ค่า POD activity สูงสุดเท่ากับ 2.70×10^{-2} Unit/mg โดยสูงเป็น 1.48 เท่าของชุดควบคุม (ภาพที่ 2) สำหรับโอลิโกไคโต-ซานโมเลกุลขนาดกลาง (O-45) และขนาดใหญ่ (SCS) พบว่าหลังการกระตุ้นในช่วง 4 สัปดาห์แรก จะมีค่า POD activity สูงกว่าชุดควบคุมเพียงเล็กน้อย

แต่ในสัปดาห์ที่ 12 ที่ได้รับการกระตุ้นพบว่า O-45 และ SCS สามารถเพิ่มค่า POD activity สูงขึ้นเป็น 1.23-2.21 เท่าเทียบกับชุดควบคุม โดยค่าความเข้มข้นของ O-45 ที่ 100 ppm จะให้การกระตุ้นดีที่สุด(ภาพที่ 2b)

ตารางที่ 1 แสดงค่าการทำงานของเอนไซม์ peroxidase ของสารสกัดใบยางพาราที่ได้รับโอลิโกไคโตซานระยะเวลา 2 สัปดาห์

สารทดลอง	ปริมาณเอนไซม์ peroxidase (10^{-2} unit/mg) ที่ความเข้มข้นต่าง		
	10 ppm	50 ppm	100 ppm
O-5	2.70 ± 0.36	2.11 ± 0.18	2.33 ± 0.13
O-45	1.32 ± 0.15	1.27 ± 0.12	1.17 ± 0.08
SCS	1.27 ± 0.16	0.98 ± 0.13	1.08 ± 0.21
control	1.82 ± 0.38		



ภาพที่ 2 แสดงค่าการทำงานของเอนไซม์เปอร์ออกซิเดสของสารสกัดใบยางพาราที่ได้รับโอลิโกไคโตซานที่ระยะเวลา 2 สัปดาห์ (a) และ 12 สัปดาห์ (b)

จากงานประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 22 ปี 2555

ผลของโอลิโกไคโตซานต่อการกระตุ้น POD activity ในต้นยางพาราในงานวิจัยนี้สอดคล้องกับรายงานของ Cui *et al.* [9] และ Liu *et al.* [13] ที่แสดงให้เห็นถึง activity ที่สูงขึ้นในกล้วยไม้ *Doritaenopsis* และมะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill) ที่ถูกกระตุ้นด้วยไคโตซาน นอกจากนี้จะเห็นได้ว่าต้นยางพาราจะตอบสนองต่อโอลิโกไคโตซานโมเลกุลขนาดเล็ก (O-5) ได้ดีกว่าขนาดกลางและขนาดใหญ่ (SCS) ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่โอลิโกไคโตซานโมเลกุลขนาดเล็กจะถูกดูดซึมเข้าสู่ต้นยางพาราได้ดีกว่าและเข้าไปกระตุ้นกลไกการสร้าง PR Proteins ได้รวดเร็วกว่า โดยใช้ความเข้มข้นเพียง 10 ppm ในขณะที่โอลิโกไคโตซานโมเลกุลขนาดใหญ่จะถูกดูดซึมเข้าสู่ต้นยางพาราได้ช้ากว่า ซึ่งมีการตอบสนองต่อการกระตุ้นได้ช้าและต้องใช้ความเข้มข้นสูงขึ้นถึง 100 ppm

ผลของโอลิโกไคโตซานต่อปริมาณเนื้อยางแห้ง (%DRC) ของน้ำยาง

จากการวัด %DRC เป็นระยะเวลา 1 เดือน พบว่า หลังจากการฉีดพ่นโอลิโกไคโตซานในช่วง 14 วัน ยังไม่มีการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนเมื่อเทียบกับชุดควบคุม แต่เมื่อกระตุ้นเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ชุดควบคุม มีค่าเท่า DRC กับ 44.43% ต้นยางที่ฉีดพ่นด้วย O-5 ที่ความเข้มข้น 10 ppm มีค่า DRC สูงสุดเท่ากับ 46.60% และ O-45 มีค่าเท่ากับ 44.07% สำหรับที่ความเข้มข้น 100 ppm นั้น O-45 มีค่า DRC สูงสุดเท่ากับ 45.60% และ O-5 มีค่าเท่ากับ 41.00% ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงผลของโอลิโกไคโตซานต่อปริมาณเนื้อยางแห้งของน้ำยาง

สารทดลอง	%DRC (g/100 g latex)		
	1 วัน	14 วัน	30 วัน
control	37.23 ± 1.27	39.20 ± 1.87	44.43 ± 0.99
O-5/10	37.13 ± 1.56	39.83 ± 0.67	46.60 ± 0.56
O-45/10	37.17 ± 5.08	37.97 ± 4.27	44.07 ± 2.43
O-5/100	31.47 ± 5.35	35.57 ± 3.91	41.00 ± 3.39
O-45/100	36.57 ± 3.25	38.83 ± 3.01	45.60 ± 1.71

สรุปผลการวิจัย

ผลการวิจัยโอลิโกไคโตซานที่มีต่อกลไกการป้องกันโรคของต้นยางพารา โดยศึกษาอิทธิพลของโอลิโกไคโตซานต่อระดับเอนไซม์ peroxidase (POD) ในต้นยางพาราพันธุ์ RRIM600 พบว่า หลังการกระตุ้นด้วยโอลิโกไคโตซาน 2 สัปดาห์ O-5 ที่ความเข้มข้น 10 ppm สามารถกระตุ้นระดับ POD ได้สูงสุดเป็น 1.48 เท่าของชุดควบคุม ซึ่งสูงกว่าการกระตุ้นด้วย O-45 และ SCS การตรวจสอบความสูงของลำต้นที่เพิ่มขึ้นให้ผลที่สอดคล้องกันคือ O-5 สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตได้มากกว่า SCS และ O-45 (3.39, 2.08 และ 1.68 เท่าตามลำดับ) นอกจากนี้การฉีดพ่นด้วย O-5 ความเข้มข้น 10 ppm สามารถกระตุ้นให้ต้นยางพาราผลิตน้ำยางเพิ่มขึ้น โดยมี %DRC สูงถึง 46.60% สำหรับการศึกษาความต้านทานต่อเชื้อราไฟทอปทอรา อยู่ระหว่างดำเนินการ เพื่อสนับสนุนกลไกการป้องกันโรคด้วยโอลิโกไคโตซานในต้นยางพาราให้มีความชัดเจนยิ่งขึ้น

คำขอบคุณ

งานวิจัยชิ้นนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากกองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยทักษิณ และด้วยความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจาก รองศาสตราจารย์เกษม อัสวตริรัตนกุล ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ อาจารย์ ดร.ปิยาภรณ์ ภาษิตกุล และผู้ช่วยศาสตราจารย์พรณี อัสวตริรัตนกุล ผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณเป็นอย่างสูง

เอกสารอ้างอิง

- [1] สถาบันวิจัยยาง กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (2553). **ข้อมูลวิชาการยางพารา 2553**. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.
- [2] อรรถธรณ์ บุญยะแต่่ง. (2552). **การแสดงออกของ PR-proteins กลุ่มต่างๆ ในเซลล์แขวนลอยยางพาราหลังถูกกระตุ้นด้วยคอปเปอร์ซัลเฟต**. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สงขลา : มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่.
- [3] Chandrakranch, S. (2002). "The applications of chitin and chitosan in agriculture in Thailand", **Advances in Chitin Science**. 5, 458–462.
- [4] ชนัสพร เกลี้ยงแก้ว, สุวลี จันทรกระจ่าง และพัลภา เสวตศิลา. (2546). "การศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการย้ายปลูกและการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีลูกผสม Paphiopedilum bellatulum x PAPH. Angthong ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ," **เอกสารประกอบการประชุมไคติน-ไคโตซานแห่งประเทศไทย**, 17-18 กรกฎาคม 2546 อาคารสถาบัน 3 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- [5] Taiz, L. and Zeiger, E. (2002). **Plant Physiology** (Third edition). Sinauer Associates Inc., Sunderland, USA.
- [6] Albersheim, P. and Anderson-Prouty, A. J. (1975). "Carbohydrates, protein, cell surfaces and Biochemistry of Pathogenesis", **Annu Rev Plant Physiol**. 26, 31-52.
- [7] Junguang, X., Xiaoming, Z., Xiuwen, H., and Yuguang, D. (2007). "Antifungal activity of oligochitosan against Phytophthora capsici and other plant pathogenic fungi in vitro", **Pesticide Biochemistry and Physiology**. 87, 220-228.
- [8] Mohammadi, M. and Karr, A. (2002). "b-1,3-glucanase and chitinase activities in soybean root nodules", **Plant Physiol**. 159, 45-256.

จากงานประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 22 ปี 2555

- [9] Cui, Y-Y., Pandey, D. M., hahn, E. J. and Paek, K. Y. (2004). "Effect of drought on physiological aspect of Crassulaceam acid metabolism in *Doritaenopsis*", **Plant Dis.** 167, 1221.
- [10] Limpanavech, P., Chaiyasuta, S., Vongpromek, R., Pichyangkura, R., Khunwasi, C. and Chadchawan, S. (2008). "Chitosan effect on floral production gene expression and anatomical changes in the *Dendrobium* orchid", **Scientia Horticulturae.** 116, 65-72.
- [11] Lay, K., Chandkrachang, S. and Stevens, W. F. (2006). "Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue culture", **Plant Science.** 170, 1185-1190.
- [12] อามิโน สาเม, พรณี อัสวตริรัตนกุลและเกษม อัสวตริรัตนกุล. (2551). "การกระตุ้น PR Proteins ในกล้วยไม้รองเท้านารีขาวสตูลโดยไคโตซานจากเห็ดพื้นบ้าน", เอกสารประกอบการประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 18, 25-26 กันยายน 2551 โรงแรมกรีนเว็ลด์พาเลซ จ.สงขลา.
- [13] Liu, J., Tian, S., Meng, X. and Xu, Y. (2007). "Effect of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit", **Environmental Sciences.** 44, 300-306.