บทที่ 5

อภิปรายผลการทดลอง

1. ผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของไคโตซานต่อการเติบโตของต้นกระเจี๊ยบเขียว จำนวน และคุณภาพของฝักกระเจี๊ยบเขียว

ไคโตซานมีผลต่อการเติบโตของต้นกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 และพันธุ์ญี่ปุ่น Yamato Green ที่ปลูกในปี พ.ศ. 2547 และ ปี พ.ศ. 2548 แตกต่างกันออกไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความแตกต่างของขนาดพอลิเมอร์ ความเข้มข้นของไคโตซานที่ให้ และพันธุ์ของกระเจี๊ยบเขียว ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าการตอบสนองของกระเจี๊ยบเขียวต่อไคโตซานที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้มีรูปแบบที่ไม่ชัดเจน และแสดงให้เห็นถึงปัจจัยของสิ่งแวดล้อมในการเพาะปลูก เช่น สภาพของดิน น้ำ แสงแดด และสภาพพื้นที่เพาะปลูกว่า อาจเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่มีผลกระทบต่อการตอบสนองของกระเจี๊ยบเขียวต่อไคโตซาน สำหรับรูปแบบและกลไกการชักนำของไคโตซานที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับเซลล์นั้นยังไม่ปรากฏว่ามีรายงานการศึกษาเชิงลึก จึงทำให้ยากต่อการอธิบายถึงกลไกการทำงานของไคโตซานที่มีต่อการเติบโตของกระเจี๊ยบในการทดลองนี้

1.1 ผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของไคโตซานที่มีต่อการเติบโตของกระเจี๊ยบเขียว

จากผลการทดลองพบว่าการแช่เมล็ดของกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 และพันธุ์ญี่ปุ่น Yamato Green ในไคโตซานมีผลทำให้ต้นกล้ากระเจี๊ยบเขียวมีความสูงมากกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับไคโตซาน ในช่วงสัปดาห์ที่ 1 และ 2 โดยเมล็ดกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 ที่แช่ในไคโตซาน P80 ที่ 50 ppm (พ.ศ. 2547) และเมล็ดกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ญี่ปุ่น Yamato Green ที่แช่ในไคโตซาน UCC ที่ 50 ppm (พ.ศ. 2547) และ P80 และ O80 ที่ 25 และ 100 ppm (พ.ศ. 2548) เมื่องอกและเติบโตในสัปดาห์ที่ 1 และ 2 พบว่ามีความสูงมากกว่าชุดควบคุมของแต่ละพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลดังกล่าวคล้ายคลึงกับงานวิจัยอื่น ๆ ที่พบว่าการแช่เมล็ดพืชจำนวน 30 ชนิด ด้วยไคโตซาน 60 %DD ที่ความเข้มข้น 1000 ppm ช่วยเพิ่มอัตราการงอก และลดระยะเวลาการงอกของเมล็ดพืชได้ (ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์, 2543) มีรายงานการศึกษาการแช่เมล็ดของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ด้วยไคโตซานแบบ P80 และ O80 ที่ความเข้มข้น 100 ppm พบว่าสามารถเพิ่มอัตราการงอกของเมล็ด และการรอดชีวิตของต้นกล้าได้เช่นกัน (Wongchai et al., 2004) เช่นเดียวกับการแช่เมล็ดข้าวฟ่างในไคโตซานสูตร Elexa™ ที่ความเข้มข้นประมาณ 2,000 ppm นานเป็นเวลา

6 ชั่วโมง มีผลทำให้เมล็ดข้าวฟ่างมีอัตราการงอก และมีความมีชีวิต (Vigour index) สูงกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับไคโตซาน (Sharathchandra et al., 2004) ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากไคโตซานช่วยยับยั้งการเติบโตของเชื้อโรคที่อยู่ภายนอกเมล็ด ขณะที่เมล็ดกำลังงอก (Wongchai et al., 2004) และอาจมีผลต่อการแบ่งเซลล์ของเนื้อเยื่อเจริญบริเวณรากได้ ดังเช่นที่มีรายงานกล่าวถึงสารพวก lipochitosaccharide (Nod factors) ซึ่งเป็นอนุพันธุ์ของ chitin ที่อยู่ร่วมกับกรดไขมัน ที่สร้างโดยแบคทีเรียพวก Rhizobium ที่เป็น symbionts ของพืชวงศ์ถั่ว (Promé et al., 2002) ซึ่งสามารถชักนำให้โครงสร้างทางกายวิภาคของรากเปลี่ยนไป โดย lipochitosaccharide ดังกล่าวจะกระตุ้นให้เซลล์ในชั้น cortex ของรากแบ่งเซลล์และเจริญไปเป็นปมราก (Geurts, Fedorova, and Bisseling, 2005) นอกจากนี้ยังมีรายงานที่กล่าวถึงผลของไคโตซานที่สามารถกระตุ้นการงอกของรากในกล้วยไม้เอื้องเงินหลวง (พัชรา ลิมปนะเวช, 2548) และกล้วยไม้รองเท้านารีลูกผสมระหว่าง *P. bellatulum* (Rchb.f) และ *P. angthong* (ชนัสพร เกลี้ยงแก้ว, สุวลี จันทร์กระจ่าง, และพัลภา เสวตศิลา, 2546) ซึ่งหากรากเจริญได้ดี การดูดซึมแร่ธาตุจะดีตามไปด้วย และต้นกล้าก็จะตั้งตัวได้เร็วขึ้น (Taiz and Zeiger, 1998)

เมื่อผ่านระยะการงอกเข้าสู่ระยะที่มีการเติบโตแบบ vegetative และ reproductive ของต้นกล้าในสัปดาห์ต่อ ๆ มา พบว่าการให้ไคโตซานทางใบเมื่อการเจริญเติบโตครบ 3 สัปดาห์ และ 6 สัปดาห์ มีผลต่อความสูงของต้นกระเจี๊ยบเขียวทั้งสองพันธุ์แตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของไคโตซาน โดยต้นกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 ที่ได้รับ UCC ที่ 100 ppm (พ.ศ. 2547) และ O80 ที่ 25 ppm (พ.ศ. 2548) และต้นกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ญี่ปุ่น Yamato Green ที่ได้รับ O80 ที่ 25 ppm (พ.ศ. 2548) จะมีความสูงมากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญในบางช่วงของการทดลอง ซึ่งผลดังกล่าวคล้ายคลึงกับการพ่นไคโตซานสูตร Elexa™ ที่ความเข้มข้น 2,000 ppm ทางใบให้แก่ข้าวฟ่างแล้วส่งผลให้ลำต้นข้างฟ่างสูงกว่าชุดควบคุม (Sharathchandra et al., 2004) อย่างไรก็ดีชนิด และความเข้มข้นของไคโตซานที่ใช้ในข้าวฟ่างนั้นแตกต่างจากกระเจี๊ยบเขียวในการศึกษานี้ ส่วนต้นกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 ที่ได้รับ P80 ที่ 25 ppm (พ.ศ. 2547) และต้นกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ญี่ปุ่น Yamato Green ที่ได้รับ P80 ที่ 100 ppm และ O80 ที่ 50 และ 100 ppm (พ.ศ. 2547) จะเตี้ยกว่าชุดควบคุม ซึ่งผลของการให้ไคโตซานแก่ต้นกระเจี๊ยบเขียวแล้วทำให้ต้นกระเจี๊ยบเขียวเตี้ยกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้รับไคโตซานนั้นคล้ายคลึงกับการใช้สารเคมีที่อยู่ในกลุ่ม plant growth regulator เช่น Alar (*N*-dimethylaminosuccinamic acid) และ ethephon (2-chloroethyl phosphonic acid) ในการฉีดพ่นทางใบให้กับกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ Clemson Spineless (Marsh, Jones, and Ellersieck. 1990) อย่างไรก็ดีจากการค้นคว้าไม่พบรายงานการวิจัยใด ๆ ที่ศึกษาถึงผลขนาดพอลิเมอร์ของไคโตซานที่มีต่อความสูงของพืช ซึ่งจากการทดลองครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่าปัจจัยดังกล่าวน่าจะมีผลต่อความสูงของต้นกระเจี๊ยบเขียว แต่ทั้งนี้จากผลการทดลองยังไม่สามารถสรุปรูปแบบการตอบสนองของกระเจี๊ยบเขียวต่อไคโตซานที่มีขนาดโมเลกุลต่างกันได้

เนื่องจากพบว่าการให้ไคโตซานขนาดเดียวกันที่ต่างความเข้มข้นก็มีผลต่อความสูงต่างกันออกไปด้วย นอกจากนี้ยังมีปัจจัยของสิ่งแวดล้อมดังที่กล่าวข้างต้นมามีผลร่วมอีกปัจจัยหนึ่ง ดังนั้นหากต้องการที่จะศึกษาถึงผลของขนาดพอลิเมอร์ก็ต้องทำการทดลองที่ความเข้มข้นที่คงที่ และในภาวะที่มีการควบคุมสิ่งแวดล้อมให้มีความสม่ำเสมอ เป็นต้น เพื่อลดปัจจัยที่จะมาบดบังอิทธิพลของขนาดพอลิเมอร์ของไคโตซานที่จะมีต่อกระเจี๊ยบเขียว

อย่างไรก็ดีมีผู้รายงานถึงผลของไคโตซานชนิด UCC ที่มีต่อการเติบโตของพริกในแปลงปลูก โดยทำการฉีดพ่นทางใบ ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน พบว่าการให้ UCC ที่ความเข้มข้นต่ำ (≤3.75 ppm) มีแนวโน้วที่ทำให้ต้นพริกสูงกว่าต้นที่ไม่ได้รับไคโตซาน และต้นที่ได้รับไคโตซานที่ความเข้มข้นที่สูง โดยพบแนวโน้มเช่นนี้ได้ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ของการปลูกพริกเป็นต้นไป (สุวลี จันทร์กระจ่าง, เพ็ญใจ สมพงษ์ชัยกุล, และสมชาย ต่วนต่าย, 2546) นอกจากนี้ยังมีการทดลองในองุ่นที่ได้รับไคโตซานที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน แต่ที่ความเข้มข้น 1.75 % (v/v) เท่านั้นที่มีผลทำให้ยอดองุ่นที่เพาะในหลอดทดลองมีความยาวมากที่สุด และที่ความเข้มข้นของไคโตซานที่สูงขึ้นกลับทำให้ต้นองุ่นเตี้ยลง (Barka et al., 2004) แสดงให้เห็นว่าการให้ไคโตซานที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมเท่านั้นจึงจะทำให้พืชมีการเติบโตดีขึ้น

จากผลการทดลองพบว่าการให้ไคโตซานมีผลต่อจำนวนใบสะสมเฉลี่ยต่อต้นของกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 และพันธุ์ญี่ปุ่น Yamato Green อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในบางช่วงของการทดลอง แม้ว่าจะมีความแตกต่างกันของผลการทดลองที่ได้จากแต่ละปี ซึ่งแสดงให้เห็นถึงผลของสิ่งแวดล้อมต่อการตอบสนองของกระเจี๊ยบเขียวที่มีต่อไคโตซานเช่นเดียวกัน นอกจากนี้ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนใบสะสมของกระเจี๊ยบเขียวกับขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของไคโตซานที่ให้ก็ยังไม่สามารถสรุปเป็นรูปแบบที่ชัดเจนได้ จากผลการทดลองพบว่าการทดลองแช่เมล็ดกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 ด้วยไคโตซานแบบ O80 ที่ 100 ppm (พ.ศ. 2547) ก่อนการปลูก จะทำให้จำนวนใบของต้นกล้าในสัปดาห์ที่ 1 มีแนวโน้มสูงกว่าชุดควบคุม เช่นเดียวกับการฉีดพ่น UCC ที่ 100 ppm ที่ทำให้จำนวนใบสะสมของกระเจี๊ยบเขียวดังกล่าวสูงกว่าชุดควบคุมหลังการเจริญเติบโตครบ 3 และ 6 สัปดาห์ และต้นกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ญี่ปุ่น Yamato Green ที่ได้รับ O80 ที่ 25 ppm (พ.ศ. 2547) ที่ทำให้มีจำนวนใบสะสมที่สูงกว่าชุดควบคุม ซึ่งพบเฉพาะสัปดาห์ที่ 7 เท่านั้น อย่างไรก็ดีต้นกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 ที่ได้รับ O80 ที่ 25 ppm (พ.ศ. 2548) และกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ญี่ปุ่น Yamato Green ที่ได้รับ P80 ที่ 50 ppm (พ.ศ. 2548) พบว่ามีจำนวนใบสะสมสูงกว่าชุดควบคุมหลังเติบโตได้ 3 สัปดาห์ ผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าไคโตซานอาจมีผลให้ในกระเจี๊ยบเขียวทั้งสองพันธุ์มีจำนวนใบสะสมมากขึ้น ซึ่งคล้ายคลึงกับเยอบีร่าที่ได้รับไคโตซาน (Biochem 2) ในระยะ vegetative growth แล้วทำให้มีจำนวนใบสูงมากกว่าต้นที่ไม่ได้รับไคโตซานอย่างมีนัยสำคัญ (Wanichpongpan, Suriyachan and Chandkrachang, 2000) อีกทั้งยังคล้ายกับผลการทดลองแช่กล้วยไม้รองเท้านารีลูกผสมด้วยไคโตซานก่อนทำการย้ายปลูกร่วมกับการพ่นทางใบ

ทุก ๆ 7 วัน เป็นเวลา 2 เดือน ที่พบว่าไคโตซานสามารถกระตุ้นให้กล้วยไม้ชนิดดังกล่าว สร้างใบใหม่ได้มากกว่าชุดควบคุม (ชนัสพร เกลี้ยงแก้ว สุวลี จันทร์กระจ่าง และพัลภา เศวตศิลา, 2546)

การให้ไคโตซานทั้งสามชนิด ที่แต่ละความเข้มข้นมีผลต่อจำนวนดอกสะสมเฉลี่ยต่อต้นของต้นกระเจี๊ยบเขียวทั้งสองพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่ากระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 ที่ได้รับ UCC ที่ 100 ppm (พ.ศ. 2547) และ O80 ที่ 25 ppm (พ.ศ. 2548) มีแนวโน้มที่จะมีจำนวนดอกสะสมมากกว่าชุดควบคุมนับแต่เริ่มออกดอกจนตลอดระยะเวลาการทดลอง แนวโน้มของไคโตซาน O80 ที่ 25 ppmในการกระตุ้นการออกดอกดังกล่าวยังพบในกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ญี่ปุ่น Yamato Green (พ.ศ. 2547 และ พ.ศ. 2548) แม้ว่าความแตกต่างกับชุดควบคุมจะไม่มากเท่ากับในกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 ผลของไคโตซานในการกระตุ้นการออกดอกเช่นนี้คล้ายคลึงกับรายงานการทดลองที่พบว่าการให้ไคโตซานชนิด P70 ที่ความเข้มข้น 100 ppm และ O80 ที่ความเข้มข้น 10 ppm ที่สามารถกระตุ้นให้กล้วยไม้สกุลหวาย (*Dendrobium* 'EISKUL') มีจำนวนดอกเพิ่มมากขึ้น (Limpanavetch et al., 2004) เช่นเดียวกับการให้ไคโตซานในรูป soil treatment mixture แก่ Lisianthus (Ohta et al., 1999) และการฉีดพ่นไคโตซานทางใบแก่ต้นเยอบีร่า (Wanichpongpan, Suriyachan and Chandkrachang, 2000) อย่างไรก็ดีจะเห็นว่าผลการทดลองมีความแตกต่างกันในแต่ละปีของกระเจี๊ยบพันธุ์อินเดีย 9701 และระหว่างกระเจี๊ยบเขียวทั้ง 2 พันธุ์ แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมและพันธุกรรมของพืชว่ามีบทบาทสำคัญต่อรูปแบบการตอบสนองอีกด้วย

สำหรับผลของความเข้มข้นของไคโตซานที่มีต่อการออกดอกพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ O80 ให้สูงขึ้นจะมีผลต่อการลดลงของจำนวนดอกสะสมกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ญี่ปุ่น Yamato Green ในทั้งสองปีของการปลูก แสดงให้เห็นถึงผลของความเข้มข้นของไคโตซานที่มีต่อระดับการตอบสนองของพืช ผลในเชิงลบของไคโตซานที่มีต่อจำนวนดอกกระเจี๊ยบเขียวนี้ยังพบได้ในไคโตซานชนิดและความเข้มข้นอื่น ๆ เช่นกัน เช่น การให้ P80 ที่ 25 ppm แก่กระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 (พ.ศ. 2547) มีผลให้มีแนวโน้มที่จะมีจำนวนดอกต่อต้นน้อยกว่าชุดควบคุม ตลอดระยะเวลาทดลอง แต่อย่างไรก็ดีโดยรวมแล้วความสัมพันธ์ระหว่างรูปแบบการตอบสนองของพืชกับชนิดและความเข้มข้นของไคโตซานยังไม่ชัดเจนพอที่จะสรุปได้แน่ชัดในกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์นี้

ในปี พ.ศ. 2547 น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยต่อต้นของกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 และพันธุ์ญี่ปุ่น Yamato Green มีความแปรผันระหว่างชุดการทดลองค่อนข้างมาก แต่อย่างไรก็ดีไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับในปี พ.ศ. 2548 จะพบว่าไคโตซานทั้งสามชนิดมีผลต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยต่อต้นของกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 โดยพบว่าการให้ไคโตซานชนิดและความเข้มข้นต่าง ๆ แก่กระเจี๊ยบเขียวพันธุ์นี้ ส่วนใหญ่มีผลให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งต่ำกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้น P80 ที่ 100 ppm และ O80 ที่ 25 ppm ที่ส่งผลให้กระเจี๊ยบเขียวมีน้ำหนักสดและแห้งสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งคล้ายกับการให้ไคโตซานที่ความเข้มข้นต่ำ (3.75 ppm) แก่คะน้า ที่พบว่าตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 ของการ

ปลูก ไคโตซานยังมีผลทำให้น้ำหนักสดของคะน้าสูงขึ้นกว่าชุดควบคุมที่ไม่ได้ให้ไคโตซาน (สุวลี จันทร์กระจ่าง, เพ็ญใจ สมพงษ์ชัยกุล, และสมชาย ต่วนต่าย, 2546) ส่วนในกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ญี่ปุ่น Yamato Green ผลที่มีต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งเฉลี่ยต่อต้นมีแนวโน้มไม่ชัดเจน อย่างไรก็ดีมีรายงานการวิจัยหลายฉบับแสดงให้เห็นว่าไคโตซานสามารถส่งเสริมการเติบโตของพืชได้ เช่น การศึกษาถึงผลของไคโตซานที่สามารถส่งผลให้ต้นอ่อนที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองที่ได้รับไคโตซานในรูปของไคโตเจล (Barka et al., 2004) และข้าวและข้าวสาลี ที่ปลูกในสารละลายไฮโดรพอนิกส์ที่ได้รับการผสมไคโตซาน (Tham et al., 2001) มีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งสูงกว่าชุดควบคุม เป็นต้น

สำหรับความสัมพันธ์ระหว่างชนิดและความเข้มข้นของไคโตซานต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของไคโตซานพบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างกระเจี๊ยบเขียวทั้งสองพันธุ์และระหว่างปีที่ทำการทดลองทั้งสองปี ซึ่งแสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของสิ่งแวดล้อมและพันธุกรรมพืช ทั้งนี้ส่วนใหญ่แล้วรูปแบบความสัมพันธ์ไม่ชัดเจนพอที่จะสรุปได้ แต่มีข้อสังเกตว่าการให้ไคโตซานแบบ P80 O80 (พ.ศ. 2547) และ UCC (พ.ศ. 2548) ที่ความเข้มข้นต่ำ (25 ppm) มีแนวโน้มทำให้กระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 มีน้ำหนักสดสูงกว่าชุดการทดลองที่ให้ไคโตซานแบบเดียวกันที่ความเข้มข้นสูง ($\geq$ 50 ppm) อย่างไรก็ดีแนวโน้มเช่นนี้ไม่ได้พบในทั้ง 2 ปี ที่ทำการทดลอง และไม่มีความชัดเจนในพันธุ์ญี่ปุ่น Yamato Green

ในการศึกษานี้ ค่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของกระเจี๊ยบเขียวทั้งสองพันธุ์ที่วัดได้เป็นเพียงน้ำหนักของต้นกระเจี๊ยบเขียวส่วนที่อยู่เหนือดิน ซึ่งไม่ได้รวมน้ำหนักของส่วนที่เป็นรากที่อยู่ใต้ดินไว้ด้วย เนื่องจากการปลูกในแปลงไม่เอื้อต่อการเก็บผลน้ำหนักของราก ดังนั้นการเก็บผลในลักษณะนี้จึงทำให้ไม่อาจทราบถึงผลของไคโตซานที่มีต่อรากกระเจี๊ยบเขียว

การให้ไคโตซานมีผลต่อเปอร์เซ็นต์ปริมาณน้ำภายในต้นต่อน้ำหนักสดเฉลี่ยต่อต้นอย่างมีนัยสำคัญในกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 โดยมีความคล้ายคลึงกันทั้ง 2 ปี ที่ทำการทดลอง โดยชุดการทดลองที่ให้ไคโตซานมีแนวโน้มที่จะมีปริมาณน้ำภายในต้นต่อน้ำหนักสดต่ำกว่าชุดควบคุม โดยเฉพาะอย่างยิ่งในปี พ.ศ. 2548 ที่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ยกเว้นชุดการทดลองที่ให้ O80 ที่ 100 ppm) สำหรับผลของไคโตซานที่มีต่อปริมาณน้ำภายในต้นต่อน้ำหนักสดเฉลี่ยต่อต้นของกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ญี่ปุ่น Yamato Green ไม่แสดงความแตกต่างที่ชัดเจนในปี พ.ศ. 2547 แต่ในปีถัดมาการให้ไคโตซาน P80 ที่ 100 ppm และ O80 ที่ 50 ppm ส่งผลให้กระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ญี่ปุ่นมีแนวโน้มเปอร์เซ็นต์ปริมาณน้ำภายในต้นต่อน้ำหนักสดเฉลี่ยต่อต้นสูงกว่าชุดควบคุม ในขณะที่การให้ O80 ที่ 100 ppm กลับส่งผลในทางตรงกันข้าม

การที่กระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 ที่ได้รับไคโตซานแสดงแนวโน้มที่จะมีปริมาณน้ำภายในต้นต่อน้ำหนักสดเฉลี่ยต่ำกว่าต้นที่ไม่ได้รับไคโตซาน อาจเป็นผลส่วนหนึ่งจากการเปลี่ยนแปลงของ stomatal aperture ทั้งนี้มีรายงานว่าพืชที่ได้รับไคโตซานนั้นปากใบจะปิด

แคบกว่าพืชที่ไม่ได้รับไคโตซาน เนื่องจากไคโตซานจะกระตุ้นให้พืชมีการสร้าง H_2O_2 เพิ่มขึ้นในเซลล์คุมของปากใบ ส่งผลกระทบถึงระดับแคลเซียมไอออนภายในที่สูงขึ้นตามไปด้วย จึงทำให้แรงดันเต่ง (turgor pressure) ภายในเซลล์คุมลดลง ดังนั้นปากใบจึงปิดแคบลงมากกว่าต้นที่ไม่ได้รับไคโตซาน (McAinsh et al., 1996) ดังเช่น การใช้ไคโตซานฉีดพ่นทางใบให้กับพริก (*Capsicum* sp.) ที่สามารถช่วยให้เกิดการลดการคายน้ำ (Antitranspiration) ภายในใบได้ถึง 26-43 % ในขณะที่ยังคงรักษาน้ำหนักมวลชีวภาพไว้ได้ และต้นพริกที่ได้รับไคโตซานจะมีอัตราส่วนของมวลชีวภาพต่อปริมาณน้ำภายในต้นสูงมากกว่าต้นที่ไม่ได้รับไคโตซาน (Bittelli et al., 2001)

เมื่อพิจารณาถึงปริมาณน้ำที่ต้นกระเจี๊ยบเขียวที่ได้รับในแต่ละปีพบว่ามีความแตกต่างกัน โดยในปีแรกทำการให้น้ำโดยใช้บัวรดน้ำซึ่งมีขีดจำกัดมากกว่าการทดลองในปีที่สอง ที่ให้น้ำผ่านทางสายยางซึ่งเชื่อมต่อกับระบบกักเก็บน้ำสำรองที่มีปริมาณน้ำที่เพียงพอต่อการเพาะปลูก ดังนั้นผลของการให้น้ำที่แตกต่างกันนี้อาจส่งผลให้กระเจี๊ยบเขียวทั้งสองพันธุ์ ที่ปลูกในแต่ละปี มีปริมาณน้ำสะสมภายในต้นที่แตกต่างกันออกไป และอาจส่งผลกระทบต่อผลของไคโตซานที่มีต่อกระเจี๊ยบเขียวในด้านอื่นๆ นอกจากนี้ในการทดลองนี้ ไม่ได้ทำการวัดการปิดเปิดปากใบและวัดปริมาณน้ำที่ใช้ไปของกระเจี๊ยบเขียวทั้งสองพันธุ์ จึงไม่อาจสรุปได้แน่ชัดว่าไคโตซานมีผลต่อการลดการคายน้ำและ/หรือลดการใช้น้ำในการเติบโตของกระเจี๊ยบเขียวหรือไม่

เมื่อดูในภาพรวมของทุก ๆ growth parametors ที่ทำการวัด จะเห็นได้ว่าการให้ไคโตซาน O80 ที่ 25 ppm และ UCC ที่ 100 ppm มีแนวโน้มที่จะส่งเสริมการเติบโตของกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 มากที่สุด เนื่องจากมีแนวโน้มที่จะทำให้กระเจี๊ยบเขียวพันธุ์นี้มีความสูง จำนวนใบสะสมเฉลี่ยต่อต้น จำนวนดอกสะสมเฉลี่ยต่อต้น และจำนวนฝักเฉลี่ยต่อต้นสูงกว่าต้นในชุดการทดลองควบคุม สำหรับกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ญี่ปุ่น การให้ O80 ที่ 25 ppm ดูเหมือนจะมีผลที่คล้ายคลึงกันกับในพันธุ์อินเดีย 9701

จะเห็นได้ว่าการศึกษาถึงผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของไคโตซานที่มีต่อการเติบโตของกระเจี๊ยบเขียวในแปลงปลูกภายนอกห้องทดลองที่ไม่สามารถควบคุมสภาวะแวดล้อมได้จะได้รับผลกระทบของสภาวะแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงอยู่ตลอดเวลา ซึ่งส่งผลให้การตอบสนองของพืชที่มีต่อไคโตซานชนิดและความเข้มข้นต่าง ๆ มีความแปรผันสูง ไม่สามารถสรุปรูปแบบได้ชัดเจน ซึ่งต่างจากการทดลองที่ทำภายในห้องปฏิบัติการหรือภายในหลอดทดลองที่มีสภาพแวดล้อมคงที่ ที่จะสามารถเห็นรูปแบบการตอบสนองได้ชัดเจนกว่า ดังเช่นมีรายงานการศึกษาในกล้วยไม้ (พัชรา ลิมปนะเวช, 2548; สุวลี จันทร์กระจ่าง และ คิน เล งี, 2547; ชนัสพร เกลี้ยงแก้ว สุวลี จันทร์กระจ่าง และพัลภา เศวตศิลา, 2546) องุ่น (Barka et al., 2004) และ lisianthus (Uddin et al., 2004) เป็นต้น ดังนั้นการทำการทดลองภายใต้ภาวะแวดล้อมที่ควบคุมให้คงที่อาจทำให้เข้าใจถึงผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของไคโตซานที่มีต่อการเติบโตของกระเจี๊ยบเขียวได้ดียิ่งขึ้น

1.2 ผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของไคโตซานที่มีต่อจำนวน และคุณภาพของฝักกระเจี๊ยบเขียว

จากผลการทดลองพบว่าในปี พ.ศ. 2547 การให้ไคโตซานแก่กระเจี๊ยบเขียวทั้งสองพันธุ์ไม่มีผลต่อจำนวนฝักสดเฉลี่ยต่อต้นอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ดีในปีต่อมากระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 ที่ได้รับไคโตซานแบบ P80 ที่ 50 ppm จะมีจำนวนฝักสดเฉลี่ยต่อต้นน้อยกว่ากระเจี๊ยบเขียวที่ได้รับ O80 ที่ 25 ppm อย่างมีนัยสำคัญ แต่ไม่ต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่กระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ญี่ปุ่นในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้จำนวนฝักเฉลี่ยต่อต้นของกระเจี๊ยบเขียวทั้งสองพันธุ์ยังสอดคล้องกับจำนวนดอกสะสมเฉลี่ยต่อต้นในทั้งสองปี แสดงให้เห็นว่าการให้ไคโตซานอาจไม่มีผลให้กระเจี๊ยบเขียวมีการติดฝักดีขึ้นหรือลดการหลุดร่วงของฝักแต่อย่างใด

ไคโตซานมีผลต่อน้ำหนักฝักสดเฉลี่ยต่อฝักต่อต้นของกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งสองปี โดยส่วนใหญ่ไคโตซานที่ให้มีผลทำให้กระเจี๊ยบเขียวมีน้ำหนักสดลดลง ยกเว้น O80 ที่ 25 ppm (ทั้ง 2 ปี) และ P80 ที่ 100 ppm (พ.ศ. 2548) สำหรับผลของไคโตซานที่มีต่อน้ำหนักฝักแห้งของกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 ไม่มีความแตกต่างที่ชัดเจนระหว่างชุดการทดลองทุกชุดเฉพาะในปีแรก ส่วนในปีที่สอง พบว่าการให้ P80 ที่ 100 ppm และ O80 ที่ 25 ppm ทำให้น้ำหนักแห้งฝักของกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์นี้สูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้พบว่ามีรายงานที่กล่าวถึงผลของไคโตซานที่ให้กับข้าวฟ่างแล้วส่งผลให้น้ำหนักของเมล็ดข้าวฟ่างสูงกว่าข้าวฟ่างในชุดการทดลองควบคุมที่ไม่ได้รับไคโตซานอย่างมีนัยสำคัญ (Sharathchandra et al., 2004) สำหรับกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ญี่ปุ่น Yamato Green การให้ไคโตซานในปีแรกไม่มีผลต่อทั้งน้ำหนักฝักสดและฝักแห้งเฉลี่ยต่อฝักต่อต้นอย่างมีนัยสำคัญ แต่มีแนวโน้มว่าต้นกระเจี๊ยบเขียวที่ได้รับไคโตซานจะมีน้ำหนักฝักสดเฉลี่ยต่อฝักต่อต้นมากกว่าต้นที่ไม่ได้รับไคโตซาน ส่วนในปีต่อมาการให้ไคโตซานไม่มีผลต่อน้ำหนักฝักสดอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่การให้ P80 ที่ 25 ppm ทำให้กระเจี๊ยบเขียวมีน้ำหนักแห้งฝักสูงกว่าต้นที่ได้รับ P80 และ UCC ที่ 100 ppm อย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ดีเมื่อดูผลโดยรวมพบว่าการตอบสนองของกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ญี่ปุ่น Yamato Green ที่มีต่อไคโตซาน ขนาดและความเข้มข้นต่าง ๆ มีรูปแบบที่แตกต่างกันมากในระหว่างสองปีที่ทำการทดลอง แสดงให้เห็นถึงผลของสิ่งแวดล้อมที่มีต่อการตอบสนองของกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์นี้

สำหรับผลของไคโตซานที่มีต่อการสูญเสียน้ำหนักสดของกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701(พ.ศ. 2547) หลังการเก็บเกี่ยว โดยรวมตลอดการทดลองพบว่าฝักกระเจี๊ยบเขียวที่เก็บมาจากต้นกระเจี๊ยบเขียวที่ได้รับไคโตซานในทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มที่จะสามารถรักษาน้ำหนักสดของฝักได้ดีกว่าฝักที่เก็บมาจากชุดการทดลองควบคุมที่ไม่ได้รับไคโตซาน แม้ว่าจะไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

จากผลการทดลองดังกล่าวนี้ทำให้เห็นว่าการพ่นไคโตซานให้แก่ต้นกระเจี๊ยบเขียวอาจมีผลต่อการลดลงของอัตราการคายน้ำในฝักกระเจี๊ยบเขียวด้วยซึ่งแสดงออกมาในรูปของการสูญเสียน้ำหนักฝักสดที่น้อยกว่าชุดการทดลองควบคุมที่ไม่ได้รับไคโตซาน ผลดังกล่าวคล้ายคลึงกับการนำไคโตซานที่ผลิตได้จากเปลือกกุ้งมาทำการฉีดพ่นให้แก่ต้นสตอเบอรี่ (*Fragaria* × *ananassa* Duchesne) พันธุ์ Seascape ที่สามารถรักษาคุณภาพและยืดอายุการเก็บรักษาผลสตอเบอรี่ได้นานกว่าต้นที่ไม่ได้รับไคโตซาน (Reddy et al., 2000) นอกจากนี้ยังพบว่าการให้ไคโตซานโดยตรงกับผลของพืช โดยการเคลือบผลด้วยไคโตซานนั้นยังสามารถช่วยลดการคายน้ำของผลและลดการสูญเสียน้ำหนักได้ดังเช่นใน การใช้ไคโตซานจากกระดองปูที่ความเข้มข้น 1 % (w/v) หรือ 2 % (w/v)ในการเคลือบผิวของผลลิ้นจี่ (*Litchi chinensis* Sonn. cv. Huaizhi) (Zhang and Quantick, 1997) หรือการใช้ไคโตซานเคลือบผลฝรั่ง (*Psidium guajava* L.) พันธุ์กลมสาลี่ (มนตรี กลิ่นระรวย, วิษณุ นิยมเหลา, และศิริชัย กัลยาณรัตน์, 2546) และผลมะละกอสายพันธุ์ Marado (Bautista-Baños et al., 2003) เป็นต้น

2. ผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของไคโตซานต่อการติดเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองในกระเจี๊ยบเขียว

จากผลการทดลองพบว่าต้นกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 ไม่แสดงอาการของโรคไวรัสเส้นใบเหลืองตลอดระยะเวลาการทดลอง (พ.ศ.2547) ทั้งนี้เนื่องจากเป็นพันธุ์ที่ต้านทานต่อโรคไวรัสเส้นใบเหลือง (เกษตรและสหกรณ์, 2545ก) แต่สำหรับพันธุ์ญี่ปุ่น Yamato Green นั้นพบอาการของโรคไวรัสเส้นใบเหลืองตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 หลังทำการปลูก (พ.ศ. 2547) และพบว่าจำนวนของต้นกระเจี๊ยบเขียวที่ปลอดโรคในชุดการทดลองที่ได้รับและไม่ได้รับไคโตซานมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ในช่วงสัปดาห์ที่ 4-8 สำหรับในปี พ.ศ. 2548 ไม่พบการระบาดของโรคไวรัสเส้นใบเหลืองในพื้นที่ที่ทำการเพาะปลูกและในพื้นที่การเกษตรใกล้เคียงจึงไม่สามารถดำเนินการทดลองได้

จากผลการทดลองพบว่าไคโตซานทุกชนิดที่ทุกความเข้มข้น ไม่สามารถป้องกันต้นกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ญี่ปุ่น Yamato Green จากการเป็นโรคได้ แต่พบว่าไคโตซานบางชนิด ที่บางความเข้มข้นนั้น อาจช่วยชะลอการติดโรคให้ช้าลงได้ โดยพบว่าต้นกระเจี๊ยบเขียวที่ได้รับไคโตซานแบบ UCC ที่ความเข้มข้น 25 ppm และ O80 ที่ 50 ppm ปลอดโรคไวรัสมากกว่าชุดควบคุม ในระหว่างสัปดาห์ที่ 4-6 และ 5-6 หลังปลูกตามลำดับ อย่างไรก็ดีต้นกระเจี๊ยบเขียวที่ได้รับไคโตซานแบบ P80 และ O80 ที่ความเข้มข้น 25 ppm มีแนวโน้มที่จะแสดงอาการของโรคไวรัสเส้นใบเหลืองสูงกว่าชุดควบคุมขึ้นในช่วงสัปดาห์ที่ 6-8 ของการปลูก เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าต้นกระเจี๊ยบเขียวที่ปลอดโรคในแต่ละชุดการทดลองที่เหลือมีประมาณ 45-75 % เท่านั้น

ในการศึกษาครั้งนี้มุ่งหวังที่จะศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่ออัตราการติดเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองเท่านั้น โดยไม่ได้มุ่งเน้นที่จะศึกษาถึงผลของไคโตซานที่อาจมีต่อปัจจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องเช่น ผลของไคโตซานที่มีต่อการดูดกินน้ำเลี้ยงของแมลงหวี่ขาวซึ่งเป็นพาหะของไวรัสชนิดนี้ รวมไปถึงการเปลี่ยนแปลงระดับโมเลกุลภายในเซลล์กระเจี๊ยบเขียว ดังนั้นจึงไม่อาจสรุปได้แน่ชัดว่าการที่ต้นกระเจี๊ยบเขียวชะลอการติดโรคไวรัสนั้นเป็นผลมาจากไคโตซานไปลดการดูดกินน้ำเลี้ยงของแมลงหวี่ขาว หรือไปกระตุ้นความต้านทานโรคของกระเจี๊ยบเขียว หรือทั้งสองประการ

สำหรับการทดลองเพื่อตรวจสอบการติดเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองโดยวิธี Southern blot hybridization โดยใช้ DNA-A ของ *Dicliptera yellow mottle virus* เป็น probe นั้น จากผลการทดลองเบื้องต้นโดยใช้ตัวอย่างใบกระเจี๊ยบเขียวที่ได้จากต้นที่ปลอดโรคกับตัวอย่างใบกระเจี๊ยบเขียวที่ได้จากแปลงปลูกของเกษตรกรที่แสดงอาการติดโรคไวรัสเส้นใบเหลือง พบว่าใบกระเจี๊ยบเขียวที่แสดงอาการติดโรคไวรัสเส้นใบเหลืองนั้น จะพบไวรัสเส้นใบเหลืองในทุกตัวอย่างที่ทำการทดสอบ ในขณะที่ต้นที่ไม่แสดงอาการของโรคดังกล่าวจะไม่พบการปนเปื้อนเชื้อไวรัสชนิดนี้ในทุกตัวอย่างเช่นกัน แต่จากการทดลองในแปลงทดลองครั้งนี้ ไม่สามารถทำการตรวจสอบการติดเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองโดยวิธี Southern blot hybridization ได้ เนื่องจากประสบปัญหาการสกัด DNA ของไวรัสดังกล่าวจากใบของกระเจี๊ยบเขียว เพราะกระเจี๊ยบเขียวเป็นพืชที่มีเมือกมากทำให้การสกัด DNA ทำได้ยาก ได้ DNA ในปริมาณน้อยและคุณภาพต่ำไม่เพียงพอที่จะทำการตรวจสอบได้ แต่อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาเบื้องต้นทำให้คาดว่าต้นกระเจี๊ยบเขียวที่แสดงอาการของโรคไวรัสเส้นใบเหลืองน่าจะติดเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองในทุกตัวอย่าง แต่ไม่อาจสรุปได้ว่าการให้ไคโตซานแก่กระเจี๊ยบเขียวจะช่วยบรรเทาความรุนแรงของโรคได้หรือไม่ เช่น ติดเชื้อไวรัสแต่ไม่แสดงอาการ เป็นต้น

มีรายงานการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่าไคโตซานสามารถกระตุ้นให้พืชมีความต้านทานต่อการติดเชื้อไวรัสบางชนิด โดยพบว่าการให้ไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.005 % (w/v) และ 0.001 % (w/v) ที่สามารถทำให้ถั่วแขก (*Phaseolus vulgaris* L. var. Saxa) ไม่แสดงอาการของการติดเชื้อ *Alfalfa mosaic virus* (ALMV)ได้ (Pospieszny and Atabekov, 1989) นอกจากนี้ยังพบว่าการพ่นหรือการทาไคโตซานที่ความเข้มข้นดังกล่าวบนใบพืชชนิดต่าง ๆ สามารถยับยั้งการเกิด local และ systemic infection ที่เกิดจากการติดเชื้อไวรัสชนิดต่าง ๆ ได้แก่ ALMV *Tobacco necrosis virus* (TNV) *Tobacco mosaic virus* (TMV) *Peanut stunt virus* (PSV) *Cucumber mosaic virus* (CMV) และ *Potato virus X* (PVX) ที่พบในถั่วแขกพันธุ์อื่น ๆ เช่น cv. Saxa cv. Fana และ cv. Signal รวมไปถึง ถั่วลันเตา (*P. sativum* L.) และพืชในวงศ์ Solanaceae เช่น ยาสูบใบใหญ่ var. Samsun NN และ var. Xanthi nc ยาสูบป่า (*Nicotiana glutinosa* L.) ยาสูบ (*Nicotiana paniculata* L.) มะเขือเทศ (L. *esculentum* L.) และ *Chenopodium quinoa* Willd ซึ่งประสิทธิภาพในการยับยั้งโรคนั้นแตกต่างกันออกไปเป็น 3 ระดับ คือ 25-50 % 50-75 % และ 75-100 % ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับของชนิดพืชอาศัยและ

ชนิดของเชื้อไวรัสที่ใช้ในการทดลอง (Pospieszny, Chirkov, and Atabekov, 1991) อย่างไรก็ดีเชื้อไวรัสต่าง ๆ ที่กล่าวมาข้างต้นเป็น RNA virus แต่ไวรัสสาเหตุของโรคเส้นใบเหลืองจะเป็น DNA virus (เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์, อำนวย อรรถลังรอง และ พิสสวรรณ เจียมสมบัติ, 2542-2543.) ดังนั้นผลของไคโตซานที่ได้อาจต่างกันออกไป โดยความต้านทานต่อไวรัสที่ถูกกระตุ้นด้วยไคโตซานนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากไคโตซานสามารถชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ mRNA ภายในเซลล์ โดยไปกระตุ้นให้ยีนที่มีความเกี่ยวข้องต่อระบบการป้องกันตนเองของพืชมีการแสดงออก (Mason and Davis, 1997) จึงส่งผลต่อการยับยั้งการเกิดติดเชื้อไวรัสชนิดต่าง ๆ (Pospieszny, Chirkov, and Atabekov, 1991) หรือช่วยลดอาการของโรคได้ (Pospieszny, 1997) ซึ่งในอนาคตควรต้องทำการทดลองศึกษาชนิดและปริมาณของ mRNA ภายในเซลล์ของกระเจี๊ยบเขียวที่ได้รับและไม่ได้รับไคโตซานว่าแตกต่างกันหรือไม่ อย่างไรต่อไป นอกจากนี้ยังควรต้องทำการตรวจสอบการติดเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองด้วยวิธี Southern Blot Hybridization เพื่อให้ทราบถึงผลของไคโตซานที่มีต่อระดับอาการและความรุนแรงของโรคไวรัสเส้นใบเหลืองต่อไป

3. ผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของไคโตซานต่อการกัดกินของหนอนกระทู้หอม และปริมาณ Proteinase inhibitor ในกระเจี๊ยบเขียว

3.1 ผลของขนาดพอลิเมอร์ของไคโตซานต่อการกัดกินของหนอนกระทู้หอมในกระเจี๊ยบเขียว

จากผลการทดลองพบว่าปริมาณเนื้อเยื่อใบของกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 ที่ถูกกัดกินโดยหนอนกระทู้หอม (*Lyphygma exigua* (Hübner)) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญหลังจากการพ่นไคโตซานครั้งที่ 1 แต่หลังจากได้รับไคโตซานในครั้งที่ 2 ไปแล้ว 13 และ 21 วัน และหลังจากการพ่นไคโตซานครั้งที่ 3 ไปแล้ว 5 13 และ 17 วัน นั้น พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าปริมาณเนื้อเยื่อใบของกระเจี๊ยบเขียวที่ให้ UCC จะถูกกัดกินโดยหนอนกระทู้หอมมีแนวโน้มสูงกว่าชุดควบคุมตั้งแต่ช่วงวันที่ 9-21 หลังการพ่นครั้งที่ 2 แล้วลดลง หลังการพ่นครั้งที่ 3 จนสิ้นสุดการทดลองโดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในวันที่ 5 และ 13 สำหรับเนื้อเยื่อใบกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 ที่ได้รับ P80 และ O80 พบว่าปริมาณเนื้อเยื่อที่ถูกกัดกินโดยหนอนกระทู้หอมมีการแปรผันแตกต่างกันในแต่ละครั้งค่อนข้างมาก และไม่มีแนวโน้มที่ชัดเจนและต่อเนื่องเหมือนกับชุดการทดลองที่ให้ UCC เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของระดับ proteinase inhibitor activity ภายในกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 จะเห็นว่าในชุดควบคุมที่ไม่ได้รับไคโตซาน ปริมาณของ proteinase inhibitor จะสูงขึ้นเรื่อย ๆ นับจากการเก็บตัวอย่างครั้งแรกไปจนอยู่ที่ระดับ 92-100 % จนเกือบตลอดระยะเวลาการทดลอง ซึ่งอาจแสดงให้เห็นถึงการชักนำให้มีการ

สร้าง proteinase inhibitor โดยบาดแผลที่เกิดจากการเก็บตัวอย่าง หรือบาดแผลอื่น ๆ ที่เกิดขึ้นอย่างไม่ได้ตั้งใจระหว่างการทดลอง อย่างไรก็ดีเมื่อพิจารณาในอีก 3 ชุดการทดลองที่ได้รับไคโตซานกลับไม่พบแนวโน้มที่ชัดเจนเช่นนี้ โดยระดับ proteinase inhibitor activity ใน 3 ชุดการทดลองนี้จะมีความผกผันค่อนข้างสูง โดยรูปแบบไม่มีความคล้ายคลึงกัน จึงไม่อาจสรุปได้ว่า ความผกผันที่เกิดขึ้นเป็นผลมาจากไคโตซานหรือไม่

สำหรับกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ญี่ปุ่น Yamato Green นั้นแม้จะพบว่าปริมาณเนื้อเยื่อของใบกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ดังกล่าว ที่ถูกกัดกินโดยหนอนกระทู้หอมจะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญภายหลังการพ่นไคโตซานครั้งที่ 1 ไปแล้ว 21 วัน หลังการพ่นครั้งที่ 2 ไปแล้ว17 วัน และหลังการพ่นครั้งที่ 3 ไปแล้ว 9 วัน แต่โดยภาพรวมจะเห็นว่ามีความแปรผันค่อนข้างสูงในการทดลองแต่ละครั้งและไม่เห็นแนวโน้มที่ชัดเจน เช่นเดียวกับในกรณีของกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701 ทั้งนี้มีปัจจัยหลายประการที่มีผลกระทบต่อการกัดกินกระเจี๊ยบเขียวของหนอนกระทู้หอมนอกเหนือจากการให้ไคโตซาน ซึ่งอาจชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาภายในใบพืช หรือชักนำให้พืชสร้าง proteinase inhibitor สูงขึ้น ปัจจัยอื่น ๆ นั้น ได้แก่ ผลกระทบของไคโตซานที่ตกค้างบนใบต่อตัวหนอนเอง ความแตกต่างของหนอนแต่ละชุดที่ใช้ และผลของสิ่งแวดล้อมที่มีต่อตัวหนอน ซึ่งการที่จะทำการศึกษาให้เห็นรูปแบบของผลของไคโตซานที่มีต่อการกัดกินของหนอนกระทู้หอมอาจต้องมีการควบคุมปัจจัยเหล่านี้ให้มีการแปรผันน้อยที่สุด เช่น ทำในห้องที่มีการควบคุมอุณหภูมิและพยายามใช้หนอนที่มีความแตกต่างกันน้อยที่สุด เช่น ทำการทดลองทั้งหมดในคราวเดียวกัน แม้ว่าอาจจะต้องประสบปัญหาอื่น ๆ ตามมา เช่น การปลูกกระเจี๊ยบเขียว และการเลี้ยงหนอนในจำนวนมากเพื่อให้ได้ตัวอย่างมาทดลองในคราวเดียวกัน หรืออาจทำการศึกษาในเชิงลึกถึงการเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์หรือเนื้อเยื่อใบกระเจี๊ยบเขียวที่อาจส่งผลถึงการกัดกินของหนอนต่อไป

3.2 ผลของขนาดพอลิเมอร์ของไคโตซานต่อปริมาณ Proteinase inhibitor จำเพาะ ในกระเจี๊ยบเขียว

วิธีที่ใช้ในการวัดปริมาณ Proteinase inhibitor จำเพาะ ในใบกระเจี๊ยบเขียวครั้งนี้ได้ดัดแปลงมาจากวิธีของ Stout และคณะ (1998) ซึ่งแนะนำให้วัดจาก Protein ที่สกัดจากใบพืชโดยตรง แต่จากผลการทดลองที่ได้ พบว่ามี Proteinase inhibitor activity ในหลายตัวอย่างอยู่ในระดับที่สูงมาก โดยเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Proteinase inhibitor บริสุทธิ์แล้วพบว่าอยู่ในช่วงที่ปฏิกิริยาอิ่มตัว (มากกว่า 95 % inhibition) ดังนั้นค่า Proteinase inhibitor activity ที่วัดได้ในตัวอย่างเหล่านี้จึงไม่สามารถนำมาคำนวณเป็นปริมาณ (μg) ได้อย่างถูกต้องเนื่องจากอาจทำให้ได้ค่าที่ต่ำกว่าความเป็นจริง สำหรับในตัวอย่างที่มี Proteinase inhibitor activity ไม่อยู่ในช่วงที่ปฏิกิริยาอิ่มตัว ได้นำค่า % activity ที่วัดได้มาคำนวณหาปริมาณเป็น μg โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน อย่างไรก็ดี ค่าที่คำนวณได้ก็อาจยังมีความคลาดเคลื่อนจากความเป็นจริงอยู่บ้าง

เนื่องจากไม่ได้ทำการวัด activity ของ Proteinase inhibitor บริสุทธิ์ ในช่วงปริมาณที่ต่ำกว่า 2.5 µg ซึ่งเป็นช่วงที่มีอัตราของปฏิกิริยาเป็นเส้นตรงบนกราฟมาตรฐาน

อย่างไรก็ดีจากผลการทดลองพบว่า กระเจี๊ยบเขียวพันธุ์อินเดีย 9701ที่ได้รับไคโตซาน P80 และ O80 แสดงแนวโน้มที่จะมีปริมาณ Proteinase inhibitor จำเพาะสูงกว่าชุดควบคุม และชุดที่ได้รับ UCC ในวันที่ 1 หลังการพ่นไคโตซานครั้งแรก ในขณะที่ต้นที่ได้รับ UCC จะมีปริมาณ Proteinase inhibitor จำเพาะต่ำกว่าชุดควบคุมในช่วงเวลาเดียวกัน อย่างไรก็ดีปริมาณ Proteinase inhibitor ที่สูงขึ้นนี้ปรากฏอยู่เพียงช่วงเวลาสั้นๆ โดยจะพบแนวโน้มการลดลงของปริมาณ Proteinase inhibitor จำเพาะ ในชุดการทดลองที่ได้รับ P80 และ O80 จนต่ำกว่าชุดควบคุมในช่วง 2 ถึง 5 วันต่อมา หลังการพ่นไคโตซาน แม้ว่าจะไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แนวโน้มของไคโตซานที่จะสามารถกระตุ้นกระเจี๊ยบเขียวให้มีปริมาณ Proteinase inhibitor จำเพาะให้สูงขึ้นเมื่อเทียบกับต้นที่ไม่ได้รับไคโตซานนี้ยังพบได้ในพันธุ์ญี่ปุ่น Yamato Green โดยพบว่าหลังจากได้รับไคโตซานครั้งที่ 1 ไปแล้ว 1-5 วัน ต้นกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์นี้ที่ได้รับไคโตซานทั้ง 3 ชนิดแสดงแนวโน้มที่จะมีปริมาณ Proteinase inhibitor จำเพาะสูงกว่าชุดควบคุม ผลเช่นนี้ยังพบได้ภายหลังการให้ไคโตซานทั้ง 3 ชนิด ในครั้งที่ 3 ไปแล้ว 9-13 วัน อย่างไรก็ดีปริมาณ Proteinase inhibitor ที่สูงมากจนอยู่ในช่วงอิ่มตัวของปฏิกิริยาในตัวอย่างกระเจี๊ยบเขียวพันธุ์ญี่ปุ่นทำให้ไม่อาจทำการเปรียบเทียบทางสถิติได้ว่ามีความแตกต่างระหว่างชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญหรือไม่ ทั้งนี้ควรต้องทำการทดลองซ้ำอีกครั้งโดยลดปริมาณ Protein สกัดจากใบพืชที่ใช้ในปฏิกิริยาให้น้อยลงจึงจะสามารถวัด Proteinase inhibitor activity ในกระเจี๊ยบเขียวทั้งสองพันธุ์ได้อย่างแม่นยำมากขึ้น

ผลของไคโตซานในการกระตุ้นปริมาณ proteinase inhibitor จำเพาะ ให้สูงขึ้นนี้อาจคล้ายคลึงกับการให้ไคโตซานที่ปริมาณ 5.0 µg ต่อต้น แก่มะเขือเทศ สายพันธุ์ Castlemart ที่สามารถกระตุ้นให้ใบสดของมะเขือเทศสร้าง Proteinase Inhibitors I ให้สูงขึ้นได้ โดยผ่านทาง Octadecanoid pathway (Doares et al., 1995) จากรายงานการศึกษาเชิงลึกพบว่าไคโตซานสามารถกระตุ้นพืชให้เกิดการสร้าง jasmonic acid (JA) ขึ้นภายในเซลล์ในระดับที่สูงกว่าปกติถึง 2-3 เท่าภายในเวลาเพียง 2 ชั่วโมง (Doares et al., 1995) ซึ่งสารดังกล่าวจัดเป็นสารสำคัญในกระบวนการถ่ายทอดสัญญาณเพื่อสร้าง Proteinase Inhibitors ภายในเซลล์พืช โดย Proteinase Inhibitors ที่พืชสร้างขึ้นนี้เป็นโปรตีนในระบบป้องกันตนเองของพืชแบบ Systemic acquired resistance (SAR) แต่อย่างไรก็ดีปริมาณของ Proteinase inhibitor ในพืชจะแตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับชนิดพืช และช่วงเวลาของการเจริญเติบโตของพืช (Sasikiran, Rekha and Padmaja, 2002) หรืออาจเกิดขึ้นได้จากการชักนำของการเกิดบาดแผลของพืช และการได้รับตัวกระตุ้นชนิดต่าง ๆ (Moura and Ryan, 2001) เช่นที่พบในพริก (Moura and Ryan, 2001) และมันเทศ (Sasikiran, Rekha and Padmaja, 2002) เป็นต้น

อย่างไรก็ดีรูปแบบความสัมพันธ์ที่ไม่ชัดเจนระหว่างไคโตซานและปริมาณ Proteinase inhibitor ในการศึกษานี้ อาจเป็นผลจากปัจจัยต่าง ๆ ต่อไปนี้ก็เป็นได้ เช่น ความแตกต่างของพันธุกรรมของกระเจี๊ยบเขียวแต่ละต้น เนื่องจากพันธุ์ที่ใช้ปลูกเป็นลูกผสมชั่วที่ 1 จึงอาจมีความแปรผันแตกต่างกันของยีนในจีโนมได้ในระดับสูง การชักนำให้เกิด Proteinase inhibitor ที่เกิดจากบาดแผลในธรรมชาติ (Agrios, 1997) และการเก็บตัวอย่างครั้งก่อนหน้านี้ และสิ่งแวดล้อมที่แปรเปลี่ยนเป็นต้น อย่างไรก็ดีหากได้มีการปรับวิธีการเก็บตัวอย่างโดยไม่ให้ซ้ำต้นกันเพื่อลดการชักนำการสร้าง Proteinase inhibitor และทำการวัดระดับ Proteinase inhibitor ให้ถี่ขึ้น ร่วมกับการวัดการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนอื่น ๆ ในระบบ SAR เช่น เอนไซม์ไคติเนส และเอนไซม์ไคโตซานเนส (Hirano et al., 1991; Muzzarelli, 1976) เอนไซม์ PAL (Brodelius et al., 1989) และ Peroxidase (Flocco, Pitta-Alvarez, and Giulietti, 2001) ก็อาจจะทำให้เห็นผลของไคโตซานที่มีต่อระบบป้องกันตัวเองของกระเจี๊ยบเขียวได้ชัดเจนขึ้น

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณเนื้อเยื่อใบที่ถูกกัดกินโดยหนอนกระทู้หอมกับปริมาณ Proteinase inhibitor จำเพาะ ไม่พบความสัมพันธ์ที่ชัดเจน แต่ทั้งนี้อาจมีปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลกระทบนอกเหนือจากที่กล่าวไปแล้ว ในกรณีของการกัดกินของหนอน และการสร้าง proteinase inhibitor เช่น การที่หนอนที่กินใบกระเจี๊ยบเขียวเพิ่มขึ้น แม้ว่าในใบจะมีปริมาณ proteinase inhibitor สูงขึ้นด้วย อาจเป็นผลมาจากสภาพจำยอมเนื่องจากขาดแหล่งอาหารอื่น หรืออาจเนื่องมาจากการที่หนอนดังกล่าวสร้างความต้านทานต่อ proteinase inhibitor ที่มีอยู่ในใบพืช (Broadway, 1994)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย