ผลของไคโตซานต่อการงอกของเมล็ดข้าวพันธุ์หลวงสันป่าตอง และการยับยั้งเชื้อราที่ติดมากับเมล็ด

Effect of Chitosan on Seed Germination of Rice (cv. Luang San Pah-Tawng) and Inhibition of Some Rice Seed Fungi

จุพารัตน์ ไชยนันท์ และ ศศิธร วงศ์เรือง

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

155 หมู่ 2 ต. แม่เหียะ อ. เมือง จ. เชียงใหม่ 50100

บทคัดย่อ

ไคโตซานเป็นโพลิเมอร์ธรรมชาติที่นำมาใช้เพิ่มผลผลิต และเพื่อลดความรุนแรงในการเกิดโรคพืช การศึกษาผลของไคโตซานต่อการงอกและการเจริญของข้าวพันธุ์หลวงสันป่าตอง โดยแช่เมล็ดข้าวก่อนนำไปเพาะในสารละลายไคโตซานเข้มข้น 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8 และ 10 กรัมต่อลิตร พบว่าข้าวที่แช่สารละลายไคโตซานเข้มข้น 8 กรัมต่อลิตร มีอัตราการงอกสูงสุด คือ 94.6% ส่วนระดับความเข้มข้นของไคโตซานที่มีผลทำให้ความยาวรากและความยาวลำต้นสูงสุดคือที่ 10 กรัมต่อลิตร และ 2 กรัมต่อลิตรตามลำดับ เมื่อทำการตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์เบต้า 1,3–กลูคาเนส ในต้นกล้า พบกิจกรรมของเอนไซม์สูงสุดในวันที่ 3 นับจากวันที่เพาะ การแยกเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดข้าวพบว่ามีจำนวน 5 ไอโซเลตได้แก่ KLSPT 1, KLSPT 2, KLSPT 3, KLSPT 4 และ KLSPT 5 เชื้อราเหล่านี้ไม่มีผลต่ออัตราการงอกของเมล็ด แต่การเจริญของต้นกล้าจะถูกยับยั้งโดยเชื้อราบางไอโซเลต จากการทดลองยังพบว่าการเจริญของเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลตจะถูกยับยั้งเมื่อใช้ไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.5, 2, 6 และ 10 กรัมต่อลิตร

คำสำคัญ: ไคโตซาน, การงอกของเมล็ด

Abstract

Chitosan is a natural polymer that can be applied for increasing yield and for decreasing plant disease severity in many crops. The effects of chitosan on seed germination and growth of rice (*Oryza sativa* L.) cv. Luang San Pah-Tawng were studied by soaking the rice seeds in chitosan solution at 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8 and 10 g/l. The result showed that chitosan at 8 g/l gave the highest germination rate of 94.6%. It was found that the longest root length and the longest shoot were obtained at 10 g/l and 2 g/l chitosan, respectively. Activity of β 1, 3-glucanase was monitored in the rice seedling and it was shown that the enzyme activity was the highest at 3

days after germination. In this study, there were 5 isolates of fungal from the rice seed designated as KLSPT 1, KLSPT 2, KLSPT 3, KLSPT 4 and KLSPT 5. The result showed no effect of these fungal isolates on the rice seed germination. However, the growth and development of the rice seedling were reduced by some isolates of fungi. It was also found that chitosan at 0.5, 2, 6, 10 g/l could inhibit the fungal growth.

Keywords: Chitosan, Seed Germination

บทนำ

ไคโตซาน เป็นโพลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติ มีองค์ประกอบสำคัญอยู่ในรูปของ D – glucosamine พบมากในเปลือกนอกของสัตว์พวก กุ้ง ปู แมลง และผนังเซลล์ของเชื้อรา ไคโตซานจัดเป็นวัสดุชีวภาพ (Biometerials) คือสามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ มีความปลอดภัยในการนำมาใช้กับมนุษย์ และปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม การใช้ประโยชน์จากไคโตซานยังช่วยลดปริมาณของเสียที่เกิดจากอุตสาหกรรมเกษตรโดยเฉพาะการแปรรูปอาหารทะเลอีกด้วย [1]

ประโยชน์ของไคโตซานในทางการเกษตรมีหลายลักษณะ เช่น ช่วยยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์สาเหตุของโรคพืช และสร้างความต้านทานโรคให้กับพืช เนื่องจากไคโตซานมีคุณสมบัติที่สามารถออกฤทธิ์เป็นตัวกระตุ้น (elicitor) ทำให้พืชผลิตเอนไซม์ไคติเนส [2] และสารเคมีที่เป็นส่วนประกอบของกลไกป้องกันตนเอง [3] ไคโตซานสามารถส่งเสริมการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในดิน เช่น เชื้อ *Actiomycetes* sp. และ *Trichoderma* spp. ส่งผลให้ปริมาณของจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรคพืช เช่น เชื้อ *Furarium* และ *Phythophthora* spp. ลดลง นอกจากนั้นไคโตซานยังทำให้พืชมีความต้านทานต่อแมลงศัตรูพืชมากขึ้น โดยการกระตุ้นให้พืชสร้าง phytoalexin ยับยั้งการเจริญของเชื้อรารวมถึงป้องกันการเกิดโรคจากเชื้อรา [4] ช่วยป้องกันการกัด – ดูดทำลายของแมลงศัตรูพืช และมีการใช้ไคโตซานเป็นสารเคลือบเมล็ดพืชเพื่อป้องกันการเสียหายของเมล็ดพันธุ์ เนื่องจากฟิล์มไคโตซานมีลักษณะยืดหยุ่นแข็งแรง ยึดเกาะกับผิวเมล็ดพันธุ์ได้ดี [1]

การศึกษาผลของไคโตซานต่อข้าว (*Oryza sativa* L.) โดยศึกษาในสภาพเซลล์แขวนลอย พบว่าไคโตซานกระตุ้นให้เกิดการสร้างเอนไซม์ไคติเนสและปล่อยออกจากเซลล์ของพืช และย่อยผนังเซลล์ของเชื้อราก่อโรคได้ ไคโตซานยังมีผลทำให้พืชมีผนังเซลล์ที่หนาขึ้น [2] นอกจากนั้น พบว่าไคโตซานสามารถกระตุ้นการสร้างกลไกป้องกันตัวเองในข้าว โดยจะไปกระตุ้นการสร้าง ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์, phenylalanine ammonia-lyase (PAL), และ ทำให้พืชมีการสร้างและสะสม pathogen-related protein (PR1) มากขึ้น [3]

ข้าวหลวงสันป่าตอง (Luang San-Pah-Tawng) ได้รับการรับรองพันธุ์โดยกรมวิชาการเกษตรในปี พ.ศ. 2547 ให้ผลผลิตสูงเฉลี่ย 582 กิโลกรัมต่อไร่ คุณภาพการหุงต้มดี ข้าวสุกเหนียวนุ่ม รสชาติดี ตรงตามความต้องการของเกษตรกร และผู้บริโภคระดับท้องถิ่น เป็นข้าวเจ้าที่ทนทานอากาศหนาวเย็น จึงเหมาะที่จะปลูกในพื้นที่สูงได้จนถึง 1,000 เมตรเหนือระดับน้ำทะเล ซึ่งเป็นลักษณะของพื้นที่ราบตามภูเขาในภาคเหนือ [5] การศึกษาผลของไคโตซานต่อการงอกของข้าวหลวงสันป่าตอง เป็นแนวทางหนึ่งใน

การเพิ่มผลผลิตและการกำจัดศัตรูพืชโดยวัสดุชีวภาพ ซึ่งจะปลอดภัยต่อผู้ผลิต ผู้บริโภคและช่วยลดต้นทุนในการผลิต ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการงอกของเมล็ด ความยาวลำต้นและความยาวราก กิจกรรมของเอนไซม์ในกระบวนการงอก รวมถึงประสิทธิภาพของไคโตซานในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดข้าวเพื่อเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้ประโยชน์จากไคโตซานในการเพิ่มและพัฒนาผลผลิตทางการเกษตร

วิธีการทดลอง

ผลของไคโตซานต่อการงอกของเมล็ดข้าวหลวงสันป่าตอง

แช่เมล็ดข้าวในน้ำ 1 คืน จากนั้นนำมาแช่ในสารละลายไคโตซานเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, และ 10.0 กรัมต่อลิตร ที่ pH 6.5 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยใช้เมล็ดข้าว 100 เมล็ดในแต่ละความเข้มข้น จากนั้นนำไปเพาะโดยใช้ขี้เถ้าแกลบเป็นวัสดุเพาะ บันทึกผลการทดลองโดยดูอัตราการงอก เป็นเวลา 9 วัน และวัดความยาวของลำต้นและราก

ผลของไคโตซานต่อเอนไซม์ เบต้า 1,3-กลูคาเนสในต้นกล้า

แช่เมล็ดข้าวในน้ำ จากนั้นนำมาแช่ในสารละลายไคโตซานเข้มข้น 0, 0.5, 2.0, 6.0, และ 10.0 กรัมต่อลิตร ที่ pH 6.5 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเพาะโดยใช้ขี้เถ้าแกลบเป็นวัสดุเพาะ ตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ เบต้า 1,3-กลูคาเนสในต้นกล้าวันที่ 1, 3, 5 และ 7 วันหลังการงอก โดยนำต้นกล้า 1 กรัม บดใน 0.05 M acetate buffer pH 5 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปเหวี่ยงที่ความเร็ว 12000 rpm นาน 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำส่วน supernatant มาตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ เบต้า 1,3-กลูคาเนส โดยวิธี colorimetrically assay [6] วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 500 nm โดยใช้ UV-Spectrophotometer

ตรวจหาเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดข้าวหลวงสันป่าตองและผลของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดข้าวต่อการงอก

ตรวจหาเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดข้าวโดยวิธีแช่ข้าวในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้ว spread plate ลงบนอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) และโดยวิธีเพาะบนกระดาษชื้น (blotter method) ตามวิธีของ International Seed Testing [7] โดยวางกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 บนกระดาษทิชชูขนาดเท่ากัน จำนวน 3 แผ่น ในจานเพาะเชื้อ เทน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 10 มิลลิลิตร ลงบนกระดาษ นำเมล็ดข้าวมาวางในจานเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ จำนวน 20 เมล็ดต่อจาน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-7 วัน เขี่ยเส้นใยของเชื้อราที่เจริญในจานมาเพาะเลี้ยงและแยกให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ โดยใช้อาหาร PDA

ตรวจสอบผลของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดข้าวต่อการงอกของเมล็ดโดยเพาะเมล็ดข้าวหลวงสันป่าตองในจานเพาะ [8] นำเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดที่แยกได้มาทำ spore suspension ให้ได้ความเข้มข้น 10^5 สปอร์ต่อมิลลิลิตร นำเมล็ดข้าวจำนวน 20 เมล็ดมาฆ่าเชื้อด้วย sodium hypochlorite แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 2 ครั้ง ผึ่งให้แห้งแล้วนำเมล็ดไปแช่ใน spore suspension ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด นาน 1 ชั่วโมง แล้วผึ่งให้แห้งนาน 1-2 ชั่วโมง ก่อนนำไปเพาะบนกระดาษชื้นในจานเลี้ยงเชื้อ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ตรวจผลการงอกและลักษณะของต้นกล้า

ทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายไคโตซานในการยับยั้งเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดข้าว

นำเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดข้าวจาก stock culture มาเลี้ยงเพื่อเพิ่มปริมาณบนอาหาร PDA จากนั้นใช้ cork borer เจาะบริเวณขอบนอกของเส้นใยวางลงในจานอาหาร PDA ที่ผสมไคโตซานที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 2, 6 และ 10 กรัมต่อลิตร ที่ pH 6.2 จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีและหาค่าเฉลี่ย จากการทดลอง 3 ซ้ำ คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อรา

$$\text{เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง} = \frac{Dc - Dt}{Dc} \times 100$$

Dc = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของชุดควบคุม

Dt = เส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนีของชุดทดลอง

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองโดยวิธี Completely Random Design (CRD) แล้วนำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรม ANOVA, STATGRAPHICS Plus 3.0

ผลและวิจารณ์

ผลของไคโตซานต่อการงอกของเมล็ดข้าวหลวงสันป่าตอง

การทดสอบผลของไคโตซานที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.5, 2, 4, 6, 8, 10 กรัมต่อลิตร ต่ออัตราการงอก ความยาวลำต้น และความยาวรากของข้าวหลวงสันป่าตอง เป็นเวลา 9 วัน จากรูปที่ 1 พบว่าในวันแรกของการงอกมีอัตราการงอกของข้าวดีขึ้นในทุกกรรมวิธีที่กระตุ้นด้วยไคโตซาน และในวันที่ 3 ไคโตซานที่ความเข้มข้น 8 กรัมต่อลิตร ทำให้อัตราการงอกของข้าวสูงสุดและจากกราฟจะสังเกตได้ว่าความเข้มข้นไคโตซานสูง คือ 4, 6, 8 กรัมต่อลิตร มีผลให้ข้าวมีอัตราการงอกดีกว่าไคโตซานที่ความเข้มข้นต่ำในช่วง 0.5, 1, 1.5, 2 กรัมต่อลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม อย่างไรก็ตามเมื่อดูผลการงอกในวันที่ 9 พบว่าไคโตซานที่ความเข้มข้น 8 กรัมต่อลิตร ให้อัตราการงอกของข้าวสูงสุด คือ 94.6% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีอัตราการงอก 89.6% แต่เป็นที่น่าสังเกตว่าไคโตซานที่ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตรนั้นทำให้อัตราการงอกของข้าวลดลง นอกจากนี้พบว่าการแช่ไคโตซานทุกความเข้มข้นมีผลต่อความยาวรากโดยไคโตซานที่ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร ทำให้ต้นกล้ามีความยาวรากสูงสุดที่ 8.24 เซนติเมตรแตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อความเข้มข้นไคโตซานสูงขึ้นทำให้ความยาวรากมากขึ้นตามความเข้มข้น และผลของไคโตซานต่อความสูงลำต้นพบว่าไคโตซานทุกความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยที่ความสูงลำต้นในชุดควบคุมคือ 14.4 เซนติเมตร ความสูงลำต้นของไคโตซานทุกความเข้มข้นจะอยู่ในช่วง 14.8-16.1 เซนติเมตร (ตารางที่ 1) อย่างไรก็ตามพบว่ากลุ่มของไคโตซานที่ความเข้มข้นสูงจะมีลักษณะของลำต้นจะแข็งแรงกว่ากลุ่มทดลองชุดควบคุม

ตารางที่ 1 ผลของไคโตซานที่ส่งผลต่ออัตราการงอก ความสูง และความยาวรากของข้าวหลวงสันป่าตอง

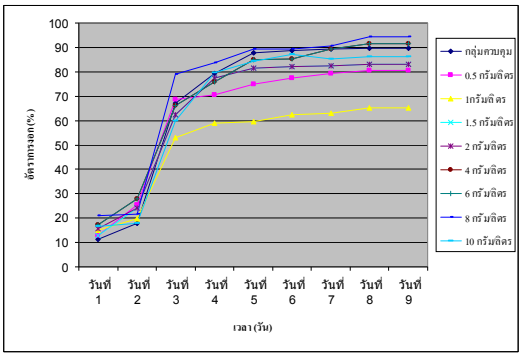
ความเข้มข้นไคโตซาน (กรัมต่อลิตร)	อัตราการงอก[1](%)	ความสูงของต้นข้าว[2] (เซนติเมตร)	ความยาวราก[2] (เซนติเมตร)
0	89.6bcd	14.4a	4.72a
0.5	82.6b	14.8abc	5.21ab
1	75.6a	16.1c	5.11a
1.5	87.3c	15.9bc	4.82a
2	83.6bcd	16.2c	5.04a
4	91.6cd	14.7ab	4.86a
6	94.0d	15.2abc	5.87b
8	96.3d	16.1c	7.26c
10	88.3bcd	15.4abc	8.24d

ตัวอักษรต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

[1] อัตราการงอกของข้าว ณ วันที่ 9

[2] ความสูงของต้นข้าวและความยาวราก ณ วันที่ 20

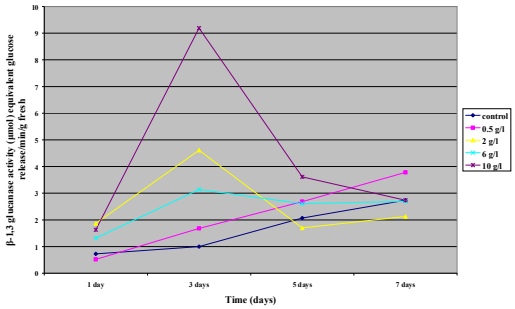
มีรายงานการทดลองใช้ไคโตซานในเมล็ดข้าวสาลีพันธุ์ Norseman และพันธุ์ Max พบว่าไคโตซานที่ความเข้มข้นมากกว่า 4 mg/ml นั้นทำให้อัตราการงอกดีขึ้นกว่า 85% และทำให้ต้นข้าวสาลีทั้งสองพันธุ์แข็งแรงต้านทานกับเชื้อ *Fusarium graminearum* การใช้ไคโตซานที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมกับชนิดของพืชจึงเป็นแนวทางหนึ่งในการเพิ่มอัตราการงอกของเมล็ด [9]



รูปที่ 1 อัตราการงอกของข้าวหลวงสันป่าตองที่แช่ในสารละลายไคโตซานแต่ละความเข้มข้น

การตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์เบต้า 1, 3-กลูคาเนส

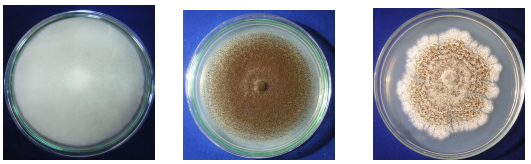
ตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ในต้นกล้าวันที่ 1, 3, 5 และ 7 หลังจากการงอก พบการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์เบต้า 1, 3-กลูคาเนสตั้งแต่วันแรกของการงอก โดยข้าวที่แช่ไคโตซานความเข้มข้น 0.5, 2, 6 และ 10 กรัมต่อลิตรมีการสร้างเอนไซม์สูงสุดในวันที่ 3 คือ 0.2123, 0.5709, 0.3883 และ 1.1734 U/ml ตามลำดับ (รูปที่ 2) และเริ่มลดลงในวันที่ 5 ผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการงอกของเมล็ดกับการสร้างเอนไซม์เบต้า 1, 3-กลูคาเนส เนื่องจากเมล็ดพืชหลายชนิด เช่น ข้าวบาร์เลย์ ข้าว และมะเขือเทศ เป็นต้น มีเบต้า 1, 3-กลูแคนเป็นส่วนประกอบหลักของผนังเซลล์ ดังนั้นกิจกรรมของเอนไซม์กลูคาเนส (glucanase) ที่ช่วยย่อย เบต้า1,3-กลูแคน ในระหว่างกระบวนการงอกของเมล็ด [10] นอกจากนั้นเบต้า 1,3-กลูคาเนสยังมีผลทำให้เอนโดสเปิร์มอ่อนตัวลงเกิดการแทงรากขึ้น [11]



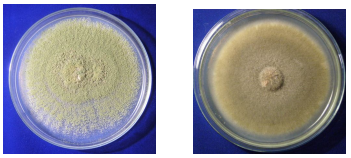
รูปที่ 2 กิจกรรมของเอนไซม์เบต้า 1, 3-กลูคาเนสของข้าวหลวงสันป่าตอง

ตรวจหาเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดข้าวหลวงสันป่าตองและผลของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดข้าวต่อการงอก

ในการแยกเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดข้าวพันธุ์หลวงสันป่าตอง โดยทำการแยกเชื้อทั้งวิธีเพาะบนอาหารชื้น (Blotter method) และ spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อรา PDA สามารถแยกเชื้อราได้ 5 ไอโซเลตได้แก่ KLSPT 1, KLSPT 2, KLSPT 3 KLSPT 4 และ KLSPT 5 (รูปที่ 3) ในขณะที่ จากการทดลองแยกเชื้อที่ติดมากับเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยวิธีเดียวกันนี้พบเชื้อรา ได้แก่ *Aspergillus* sp, *Bipolaris sp., Cervularia sp., Peicellium sp., Trichocois sp., Xylaria sp.* รวมทั้งเชื้อราที่ทำให้เกิดโรคถอดฝักดาบ ได้แก่ *Fusarium moniliforme* [8] ในเมล็ดพืชโดยทั่วไปส่วนใหญ่จะพบเชื้อราที่ติดมากับเมล็ด โดยเชื้อที่ติดมากับเมล็ดนั้นอาจจะส่งผลดีหรือผลเสียต่อการเจริญของพืชก็ได้ เช่น มีรายงานพบว่า *Ulocladium charatarum*, *Apiospora montagnei* และ *Cladosporium sp.* ช่วยให้อัตราการงอกของเมล็ดสตรอเบอร์รี่ดีขึ้นเพราะเชื้อราเหล่านี้ช่วยย่อยเปลือกหุ้มเมล็ด แต่ก็ทำให้เกิดความเสียหายในระยะต้นอ่อนของสตรอเบอร์รี่ตามมา [12] ในขณะที่เชื้อราชนิด *F. graminearum* ที่แยกได้จากเมล็ดไม่มีผลต่ออัตราการงอกของเมล็ดข้าวโพด[13] ผลการทดสอบการงอกของข้าวเมื่อบ่มกับเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดข้าวทั้ง 5 ไอโซเลต พบว่า KLSPT 1, KLSPT 2, KLSPT 3, KLSPT 4 และ KLSPT 5 ทั้ง 5 ไอโซเลตนั้นไม่มีผลต่ออัตราการงอกของข้าว (รูปที่ 4) แต่จะมีผลต่อการรอดชีวิตของต้นข้าวตั้งแต่วันที่ 7 โดยการเจริญของต้นกล้าจะถูกยับยั้งโดยเชื้อราทั้ง 3 ไอโซเลต คือ KLSPT 2, KLSPT 3, KLSPT 4 (รูปที่ 5)



(A) KLSPT 1 (B) KLSPT 2 (C) KLSPT 3



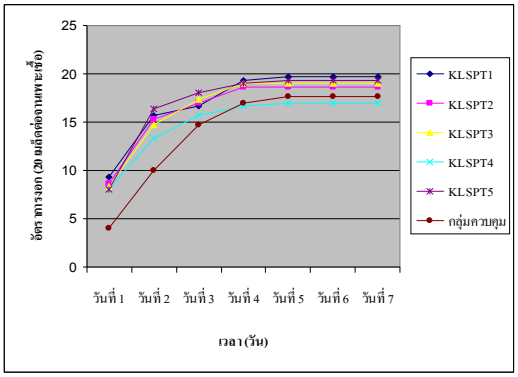
(D) KLSPT 4 (E) KLSPT 5

รูปที่ 3 เชื้อที่แยกได้จากเมล็ดข้าวพันธุ์หลวงสันป่าตอง

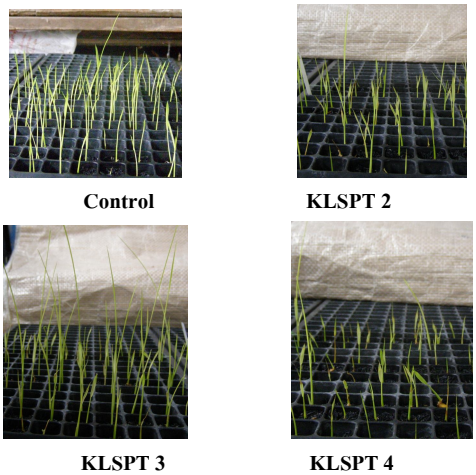
ทดสอบประสิทธิภาพของสารละลายไคโตซานในการยับยั้งเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดข้าว

จากการทดสอบประสิทธิภาพไคโตซานในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดข้าวโดยใช้ไคโตซานที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 2, 6 และ 10 กรัมต่อลิตร พบว่าขนาดของโคโลนีลดลง เมื่อใช้ความเข้มข้นของไคโตซานสูงขึ้น และพบว่าที่ความเข้มข้นของไคโตซานที่ 10 กรัมต่อลิตรให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ดีที่สุด 94.44% เมื่อทดลองกับเชื้อ KLSPT 1 ซึ่งเป็นเชื้อที่ไคโตซานสามารถยับยั้งการเจริญได้ดีที่สุดเชื้อที่สามารถทนต่อไคโตซานทุกความเข้มข้นได้ดี ได้แก่ KLSPT 3 โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสูงสุด

26.19% เมื่อทดสอบโดยใช้ไคโตซานที่ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร (ตารางที่ 2) ไคโตซานสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดข้าวโดยที่ความเข้มข้นของไคโตซานยิ่งสูงขึ้นก็ยิ่งจะเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ดีขึ้น เช่นมีรายงานการใช้ไคโตซานในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Colletotrichum sp.*ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค anthracnose ในพริกโดยไคโตซานความเข้มข้น 0.8% สามารถควบคุมการเจริญของเส้นใยได้ดี และเมื่อศึกษาเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นอ่อนและพบว่าที่ความเข้มข้นไคโตซาน 0.8% เช่นกันมีผลทำให้อัตราการรอดชีวิตสูงถึง 77% ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีอัตราการรอดชีวิตเพียง 33% [14]



รูปที่ 4 อัตราการงอกของข้าวหลวงสันป่าตองที่ทำการปลูกเชื้อราทั้ง 5 ชนิดลงบนเมล็ดข้าว ระยะเวลา 7 วัน



รูปที่ 5 การงอกของข้าวที่ปลูกเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลตที่แยกได้จากเมล็ดข้าว ณ วันที่ 14

ผลของไคโตซานในการควบคุมเชื้อราโรคพืชอธิบายได้ว่าไคโตซานอาจมีผลต่อการยอมให้สารผ่านเข้าออกเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อราและกระตุ้นให้เกิดการรั่วไหลของโปรตีนภายในเซลล์ อีกทั้งยังส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเชื้อ เช่น เส้นใยจะมีรูปร่างที่ผิดปกติ บวม โค้งงอ บิดเบี้ยว หรือแตกกิ่งก้านมากกว่าปกติ [15] ดังนั้นจึงทำให้ไคโตซานที่มีความมากับเข้มข้นสูงขึ้นนั้นมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อที่ติดเมล็ดข้าวได้ดีกว่าความเข้มข้นต่ำ อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพของไคโตซานขึ้นอยู่กับชนิดและการเจริญเติบโตของเชื้อรา การงอกของสปอร์และระยะการเจริญของเส้นใย [16, 17]

ตารางที่ 2 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดข้าวโดยไคโตซาน

เชื้อรา	ความเข้มข้นของไคโตซาน (กรัมต่อลิตร)			
	0.5	**2**	**6**	**10**
KLSPT 1	47.03de	84.44f	78.89f	94.44g
KLSPT 2	18.89abc	14.72ab	44.14d	58.37e
KLSPT 3	11.90a	21.42abc	23.80abc	26.19bc
KLSPT 4	18.17abc	20.08abc	19.01abc	49.40de
KLSPT 5	15.71ab	28.55c	46.97de	52.10de

ตัวอักษรต่างกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

สรุป

จากผลการศึกษาผลของไคโตซานต่อการงอกของข้าวพันธุ์หลวงสันป่าตอง สามารถสรุปได้ว่า การแช่เมล็ดข้าวในสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 8 กรัมต่อลิตร มีผลให้อัตราการงอกของข้าวสูงสุดคือ 94.6 % ในขณะที่ไคโตซานความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร มีผลทำให้ความยาวรากสูงสุด คือ 8.24 เซนติเมตร พบว่าความสูงลำต้นข้าวที่กระตุ้นด้วยไคโตซานไม่มีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์เบต้า 1,3-กลูคาเนส พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์เบต้า 1,3-กลูคาเนสสูงสุดในวันที่ 3 และจากการแยกเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดข้าว พบเชื้อราที่ติดมากับเมล็ดข้าวจำนวน 5 ไอโซเลต เชื้อทั้งหมดไม่มีผลต่ออัตราการงอกของเมล็ด ผลการทดสอบประสิทธิภาพองไคโตซานในการยับยั้งเชื้อราทั้ง 5 ไอโซเลต พบว่าไคโตซานที่ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตร ให้เปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้สูงสุด โดยเชื้อที่ถูกยับยั้งได้มากที่สุด คือ KLSPT 1 ส่วนเชื้อที่ถูกยับยั้งได้น้อยที่สุด คือ KLSPT 3 จะเห็นได้ว่าไคโตซานช่วยเพิ่มอัตราการงอกของเมล็ด เพิ่มความแข็งแรงแก่ต้นข้าวและยังช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตจากเชื้อราสาเหตุโรคในพืชบางชนิดในระยะต้นกล้า ดังนั้นการศึกษาในอนาคตควรมุ่งศึกษาถึงการทดสอบประสิทธิภาพไคโตซานต่อปริมาณผลผลิตในสภาพแปลงปลูก ซึ่งนอกจากจะช่วยเพิ่มผลผลิตข้าวแล้วยังจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยลดการใช้สารเคมีในนาข้าวและต้นทุนการผลิตข้าวของเกษตรกร

เอกสารอ้างอิง

[1] ศูนย์ชีวภาพไคติน-ไคโตซาน, การประยุกต์ใช้ไคตินและไคโตซาน (ระบบออนไลน์), แหล่งข้อมูล www.material.chula.ac.th/chitosan (27 กันยายน 2549), 2548

[2] Masuta, C., Van den Bulcke M., Bauw G., Van Montagu M., and Caplan A. B., Differential Effects of Elicitors on the Viability of Rice Suspension Cells, Plant Physiol., Vol. 97, pp. 619–629, 1991.

[3] Lin W., Hu X., Zhang W., Rogers W.J. and Cai W, Hydrogen Peroxide Mediates Defence Responses Induced by Chitosans of Different Molecular Weights in Rice, Plant Physiol., Vol.162, pp. 937-944, 2005.

[4] Hadwiger L.A. and Beckman J.M, Chitosan as a Component of Pea-*Fusarium solani* Interactions. Plant Physiol., Vol.66, pp. 205-211, 1980.

[5] กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, ข้าวหลวงสันป่าตอง (ระบบออน์ไลน์), แหล่งข้อมูล www.ricethailand.go.th/rkb/data_002/a1/rice_xx2_03_ricebreed_Luang_sapahtung.html, (25 ธันวาคม 2549), 2549.

[6] Saikia, R., Singh B. P., Kumar R. and Arora D. K., Detection of Pathogenesis-related Proteins-Chitinase and β -1,3-glucanase in Induced Chickpea, Current Science, Vol. 89, pp. 659-662, 2005.

[7] ISTA, International Rules for Seed Testing: Rules 1999. Seed Science and Technology 27, Supplement, pp. 201–244, 1999.

[8] สายชล โนชัย, ประสิทธิภาพของไคโตซานน้ำมันหอมระเหย และเชื้อราที่คัดเลือกจากเมล็ดข้าว เพื่อการป้องกันกำจัดเชื้อรา *Fusarium moniliforme* Sheldon และผลต่อคุณภาพของข้าวขาวดอกมะลิ105, วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2548.

[9] Bhaskara R. M.V., Arul J., Angers P. and Couture L. J, Chitosan Treatment of Wheat Seeds Induces Resistance to *Fusarium graminearum* and Improves Seed Quality, Agric Food Chem., Vol. 47, pp. 1208-1216, 1999.

[10] Simmons C.R, The Physiology and Molecular Biology of Plant β -1,3-glucanase and 1,3; 1,4-β –glucanases, Critical Reviews in Plant Sciences, Vol.13, pp. 325-387, 1994.

[11] Leubner-Metzger G., Frundt C., Vogeli-Lange R., and Meins F., Class I β 1,3-glucanase in the Endosperm of Tobacco During Germination, Plant Physiol, Vol. 109, pp. 751–759, 1995.

[12] Guttridge C. G., Shan Woodley E. and Huter T., Accelerating Strawberry Seed Germination by Fungal Infection, Annuals of Botany, Vol. 54, pp. 223-230, 1984.

[13] Munkvold, G.P. and O'Mara J.K, Laboratory and Growth Chamber Evaluation of Fungicidal Seed Treatments for Maize Seedling Blight Caused by *Fusarium* Species, Plant Disease, Vol. 86, pp. 143-150, 2002.

[14] Photchanachai S., Singkaew J. and Thamthong J., Effects of Chitosan Seed Treatment on *Colletotrichum* sp. and Seedling Growth of Chili cv. JINDA, International Society for Horticultural Science, ISHS Acta Horticulturae 712: IV International Conference on Managing Quality in Chains - The Integrated View on Fruits and Vegetables Quality, 2006.

[15] Yu, H.S. and Chen Y.X., Effect of Chitosan on *Fusarium moniliforme* and *Sclerotinia sclerotiorum*, Acta Phytophylacica Sinica, Vol. 29, pp. 295-299, 2002.

[16] EI Ghaouth A., Arul J., Wilson C. and Benhamou N.. Biochemical and Cytochemical Aspects of the Interaction of Chitosan and *Botrytis cinerea* in Bell Pepper Fruit, Postharv.Biol.Technol., Vol. 12, pp. 183-194, 1997.

[17] Benhamou, N., Lafontaine P.J. and Nicole M., Induction on Systemic Resistance to *Fusarium* Crown and Root Rot in Tomato Plants by Seed Treatment with Chitosan, Phytopathology, Vol. 84, pp. 1432-1444, 1994.