



รายงานการวิจัย

การทดสอบไคโตซานจากปูน้ำจืดเพื่อส่งเสริมการเจริญและควบคุม
เชื้อที่ก่อโรคโคนเน่าของข้าวและพืชผัก

**The experiment on extract chitosan from freshwater crabs as
a growth enhancer and inhibitor root rot diseased for rice and
vegetation**

พวงผกา แก้วกรม และคณะ

หลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ประจำปีงบประมาณ 2560

รหัสโครงการสัญญา PCRU_2560_L007

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การทดสอบไคโตซานจากปูน้ำจืดเพื่อส่งเสริมการเจริญและควบคุม
เชื้อที่ก่อโรคโคนเน่าของข้าวและพืชผัก

The experiment on extract chitosan from freshwater crabs as
a growth enhancer and inhibitor root rot diseased for rice and
vegetation

พวงผกา แก้วกรม	หลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
นุชจรินทร์ แก้วกล้า	ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
จิราวรรณ อุ๋นเมตตาอารี	หลักสูตรวิทยาศาสตรการอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา
สุรางค์รัตน์ พันแสง	หลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
ปอแก้ว พรหมเพชร	หลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
แสงจันทร์ สอนสว่าง	หลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
สมเพียร พักทอง	หลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ทุนอุดหนุนโดยงบประมาณแผ่นดินที่พิจารณาจากโดยผ่านความเห็นชอบจากสำนักงาน

คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ประจำปีงบประมาณ 2560

ชื่องานวิจัย	การทดสอบไคโตซานจากปูน้ำจืดเพื่อส่งเสริมการเจริญและความคมชัด ที่ก่อโรคโคนเน่าของข้าวและพืชผัก The experiment on extract chitosan from freshwater crabs as a growth enhancer and inhibitor root rot diseased for rice and vegetation
ผู้วิจัย	พวงผกา แก้วกรม
ผู้ร่วมวิจัย	สุรางค์รัตน์ พันแสง นุชจรินทร์ แก้วกล้า จิราวรรณ อุ่นเมตตาอารี ปอแก้ว พรหมเพชร แสงจันทร์ สอนสว่าง และสมเพียร พักทอง
สาขาวิชา	ชีววิทยา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ปีเสร็จงานวิจัย 2561

บทคัดย่อ

การวิจัยในครั้งนี้ได้ทำการทดสอบคุณสมบัติและผลผลิตของไคโตซานจากปูน้ำจืด 3 ชนิด คือ *Larnaudia* sp., *Esanthephusa* sp. และ *Thaipotamon holthuisi* โดยการตรวจสอบคุณลักษณะภายนอกของไคโตซานภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และการทดสอบประสิทธิภาพของไคโตซานในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราก่อโรคโคนเน่าจากเชื้อ *Sclerotium* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อฟิციเอและในสภาพเรือนทดลอง นอกจากนี้ยังทำการทดสอบผลของการฉีดพ่นโอลิโกไคโตซานที่มีการเจริญของข้าวและคะน้า ผลการทดลองพบว่าลักษณะโครงสร้างภายนอกของไคโตซานในระดับจุลภาคโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่าไคโตซานที่ได้จากปูน้ำจืดชนิด *Larnaudia* sp. และ *Esanthephusa* sp. มีความแตกต่างอย่างชัดเจนกับไคโตซานที่ได้จากปูชนิด *T. holthuisi* ในด้านผลผลิตของไคโตซานพบว่าไคโตซานที่ได้จากปูชนิด *Larnaudia* sp. มีปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือ ไคโตซานที่ได้จากปูชนิด *Esanthephusa* sp. และ *T. holthuisi* ตามลำดับ ในการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยของเชื้อ *Sclerotium* sp. บนอาหารสำเร็จรูปฟิციเอด้วยเทคนิค Poisoned food technique พบว่าไคโตซานที่ได้จากปูชนิด *T. holthuisi* สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใยราก่อโรคชนิดนี้ได้ดีที่สุด ในวันที่ 2 หลังเริ่มการทดสอบ แล้วเมื่อนำไปทดสอบต่อในสภาพเรือนทดลองโดยทำการทดสอบการติดโรคโคนเน่าที่มีต่อข้าวและคะน้า พบว่าไคโตซานสามารถป้องกันโรคโคนเน่าสเคลอโรเทียมได้ อีกทั้งยังส่งเสริมให้ข้าวและคะน้าที่ได้รับไคโตซานมีการเจริญเติบโตได้ดีขึ้น ในการเปรียบเทียบผลการฉีดพ่นสารละลายโอลิโกไคโตซานที่ใบของข้าวและคะน้า ผลการศึกษาพบว่าการฉีดโอลิโกไคโตซาน

มีผลทำให้มวลชีวภาพทั้งส่วนเหนือผิวดินและใต้ผิวดินของพืชสูงกว่าชุดทดลองที่มีการฉีดพ่นด้วยไคโตซานและไม่มีการฉีดพ่นสารใดๆ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าไคโตซานและโพลิโกไคโตซานที่สกัดจากปุน้ำจืดเป็นสารชีวภาพออกฤทธิ์ในกลุ่มอิมิซิเตอร์ที่สามารถส่งเสริมการเจริญของข้าวและคะน้าได้อีกทั้งยังช่วยป้องกันการติดโรคโคนเน่าสเคลอโรเทียมได้อีกด้วย

คำสำคัญ : ไคโตซาน ปุน้ำจืด สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช โรคโคนเน่า

Title	The experiment on extract chitosan from freshwater crabs as a growth enhancer and inhibitor root rot diseased for rice and vegetation
Researcher	Puangpaka Kaewkrom
Co-researcher	Nutcharin Kaewkha Jirawan Oonmetta-aree Porkaew Promphet Sangjan Sonsawang and Sompian Fagtong
Major	Biology
	Phetchabun Rajabhat University Year of research completed 2018

Abstract

This research were to study the properties and yields of chitosan, which were produced from three species of freshwater crabs *i.e.* *Larnaudia* sp., *Esanthephusa* sp. and *Thaipotamon holthuisi*, investigated the morphological structure of chitosan under scanning microscope, examined their inhibitory effect on sclerotium mycelial growth both on agar plate by using poisoned food technique and in nursery level by pouring the chitosan on soil, finally monitored the effected of oligochitosan on the growth of rice and kale by spraying the oligochitosan onto the plant leaves. It was showed that morphological and microstructure of chitosan from *Larnaudia* sp. and *Esanthephusa* sp. were obviously differenced from *T. holthuisi*. Highest % yield of chitosan from various freshwater crabs showed that *Larnaudia* sp., *Esanthephusasp* and *T. holthuisi*, respectively. Inhibitory effect of these chitosans by using Potato Dextrose Agar against the growth of *Sclerotium* sp. found that only chitosan from *T. holthuisi* had effective at two day after testing. For the study in nursery level, chitosan was able to protectto sclerotium rot and enhance the growth of rice and kale. Whereas the oligochitosan, which sprayed onto rice and kale folia, increased the above and below ground biomass of plants. It showed better effectiveness than no spraying (control). Therefore, we concluded that chitosan and oligochitosan from freshwater crabs were the elicitor that can be use for the growth enhancement and protect sclerotium rot in rice and kale.

Key words : Chitosan, freshwater crab, plant growth enhancer, root rot disease

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยคำแนะนำต่าง ๆ จากคณาจารย์ในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ และความร่วมมือช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากบุคคลหลายฝ่ายที่สละเวลาให้คำแนะนำคำปรึกษา รวมถึงข้อเสนอแนะต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

ผู้วิจัยขอขอบคุณ อาจารย์ ดร. อุดมศักดิ์ เลิศสุชาตวนิช ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อราสำหรับงานวิจัย ขอขอบคุณ คุณสุมาริน กับคำ ที่มีส่วนร่วมในการดำเนินงานวิจัยในการเก็บตัวอย่างภาคสนาม ขอขอบคุณศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ และขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ที่เป็นผู้ประสานงานและพิจารณาทุนสนับสนุนการวิจัยครั้งนี้มา ณ ที่นี้ด้วย

พวงผกา แก้วกรม และคณะ

28 มีนาคม 2561

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ.....	ง
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป.....	ซ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย	2
1.4 กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย.....	2
1.5 ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย.....	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	5
2.1 สัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียน.....	5
2.2 ไคตินและไคโตซาน.....	8
2.3 เชื้อราก่อโรคโคนเน่าและรากเน่าในพืช.....	12
2.4 ข้อมูลทางชีววิทยาของข้าวและคะน้า.....	17
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	24
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	27
3.1 การสำรวจและเก็บตัวอย่างปฏุน้ำจืด	27
3.2 การสกัดไคตินและไคโตซานจากโครงร่างภายนอกของปฏุน้ำจืด.....	28
3.3 การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อโรคโคนเน่าจากเชื้อรา <i>Sclerotium</i> sp.....	29
3.4 การทดสอบประสิทธิภาพของไคโตซานในการยับยั้งโรคโคนเน่า ในสภาพเรือนทดลอง.....	29
3.5 การผลิตโอลิโกไคโตซานและการทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริม	

การเจริญของพืช.....	31
---------------------	----

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.6 การวิเคราะห์ผลการวิจัย และจัดทำรายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์.....	33
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	34
4.1 การสกัดไคตินและไคโตซานจากโครงร่างภายนอกของปูน้ำจืด.....	34
4.2 การทดสอบประสิทธิภาพของไคโตซานในการยับยั้งเชื้อโรคโคนเน่า.....	38
4.3 การศึกษาผลของไคโตซานในการควบคุมโรคโคนเน่าและการส่งเสริม การเจริญเติบโตของพืชในสภาพเรือนทดลอง.....	43
4.4 การศึกษาผลของโอลิโกไคโตซานที่มีต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโต ของข้าวและคะน้า.....	50
บทที่ 5 สรุป อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ.....	57
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	57
5.1 อภิปรายผล.....	58
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	61
บรรณานุกรม.....	62
ภาคผนวก.....	67
ภาคผนวก ก (การวิเคราะห์ถั่ว).....	68
ภาคผนวก ข (หลักฐานหนังสือการนำไปใช้ประโยชน์).....	70
ภาคผนวก ค (การเผยแพร่ผลงานวิจัย).....	73
ประวัติคณะผู้วิจัย.....	82

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2-1 ผลผลิตข้าวโลก ปี พ.ศ.2554-2557	24
4-1 ปริมาณไคติน ไคโตซาน และเถ้าที่ได้จากไคโตซานของปูน้ำจืด 3 ชนิด	38
4-2 ผลการยับยั้งของไคโตซานจากปูน้ำจืดต่อการเจริญของเชื้อราชนิด <i>Sclerotium</i> sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปพีดีเอ	39
4-3 ผลของไคโตซานที่มีต่อน้ำหนักแห้งของลำต้น ราก และน้ำหนักแห้งทั้งหมดของข้าว ภายหลังการปลูก 4 สัปดาห์	43
4-4 ผลของไคโตซานที่มีต่อน้ำหนักแห้งของลำต้น ราก และน้ำหนักแห้งทั้งหมด ของคะน้าภายหลังการปลูก 4 สัปดาห์	46
4-5 อัตราการรอดตายของข้าวหลังจากการปลูก 4 สัปดาห์	49
4-6 อัตราการรอดตายของคะน้าหลังจากปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์	50
4-7 ผลของโพลิไคโตซานที่มีต่อน้ำหนักแห้งของลำต้น ราก และน้ำหนักแห้ง ทั้งหมดของข้าวภายหลังการปลูก 4 สัปดาห์	51
4-8 ผลของโพลิไคโตซานที่มีต่อน้ำหนักแห้งของลำต้น ราก และน้ำหนักแห้ง ทั้งหมดของคะน้าภายหลังการปลูก 4 สัปดาห์	54

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
1-1 กรอบแนวความคิดของการวิจัย.....	3
2-1 ลักษณะครัสเตเซียนขนาดเล็ก	6
2-2 ลักษณะครัสเตเซียนขนาดใหญ่	7
2-3 โครงสร้างทางเคมีของไคติน	8
2-4 โครงสร้างการเรียงตัวของไคติน	9
2-5 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน	10
2-6 ลักษณะการเจริญของเส้นใยรา <i>Sclerotium</i> sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปฟีดเอ.....	13
2-7 ลักษณะเส้นใยและเม็ดสเคลอเทียมที่เชื้อรา <i>Sclerotium</i> sp. สร้างขึ้นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปฟีดเอ	14
2-8 ลักษณะเส้นใยและเม็ดสเคลอโรเทียมที่เชื้อรา <i>Sclerotium</i> sp. สร้างขึ้นที่โคนต้นพืช.....	14
2-9 ส่วนประกอบของรวงข้าว	22
2-10 ส่วนประกอบของข้าวเปลือก	22
2-11 ส่วนประกอบของเมล็ดข้าว	23
3-1 ปูน้าจืดที่นำมาใช้สกัดไคตินและไคโตซาน	27
3-2 การทดสอบประสิทธิภาพของไคโตซานในการยับยั้งการติดโรคโคนเน่าจากเชื้อ <i>Sclerotium</i> sp. ในสภาพเรือนทดลองของข้าวและคะน้า.....	31
3-3 การทดสอบประสิทธิภาพของโอลิโกไคโตซานในการส่งเสริมการเจริญของข้าวและคะน้าในสภาพเรือนทดลอง	33
4-1 ภาพถ่ายของไคโตซานจากปูน้าจืดชนิด <i>Larnaudia</i> sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	35
4-2 ภาพถ่ายของไคโตซานจากปูน้าชนิด <i>Esanthephusa</i> sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	36

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4-3 ภาพถ่ายของไคโตซานจากปุ๋ยน้ำจืดชนิด <i>T. holthuisi</i> ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ อิเล็กตรอนแบบส่องกราด	37
4-4 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อราชนิด <i>Sclerotium</i> sp. โดยไคโตซานที่ระดับ ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปพีดีเอในวันที่ 1	40
4-5 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อราชนิด <i>Sclerotium</i> sp. โดยไคโตซานที่ระดับ ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปพีดีเอในวันที่ 2	41
4-6 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อราชนิด <i>Sclerotium</i> sp. โดยไคโตซานที่ระดับ ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปพีดีเอในวันที่ 3	42
4-7 ผลของไคโตซานที่มีต่อความสูงเฉลี่ยของข้าวที่ทำการเพาะปลูก เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	44
4-8 ผลของไคโตซานที่มีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางระดับโคนต้นเฉลี่ยของข้าว ที่ทำการเพาะปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์	44
4-9 ผลของไคโตซานที่มีต่อจำนวนใบเฉลี่ยของข้าวที่ทำการเพาะปลูก เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	45
4-10 ผลของไคโตซานที่มีต่อการเจริญของข้าวภายหลังปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	45
4-11 ผลของไคโตซานที่มีต่อความสูงเฉลี่ยของกระน้ำที่ทำการเพาะปลูก เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	47
4-12 ผลของไคโตซานที่มีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางระดับโคนต้นเฉลี่ยของกระน้ำ ที่ทำการเพาะปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์	47
4-13 ผลของไคโตซานที่มีต่อจำนวนใบเฉลี่ยของกระน้ำที่ทำการเพาะปลูก เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	48
4-14 ผลของไคโตซานที่มีต่อการเจริญของกระน้ำภายหลังปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์	48
4-15 ผลของโอลิโกไคโตซานที่มีต่อการเจริญเติบโตของข้าวเมื่อทำการปลูก เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	51

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4-16 ผลของโพลิโกไคโตซานที่มีต่อความสูงเฉลี่ยของข้าวที่ทำการเพาะปลูก เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	52
4-17 ผลของโพลิโกไคโตซานที่มีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางระดับโคนต้นเฉลี่ยของข้าว ที่ทำการเพาะปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์	52
4-18 ผลของโพลิโกไคโตซานที่มีต่อจำนวนใบเฉลี่ยของข้าวที่ทำการเพาะปลูก เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	53
4-19 ผลของโพลิโกไคโตซานที่มีต่อการเจริญเติบโตของกระน้ำเมื่อทำการปลูก เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	54
4-20 ผลของโพลิโกไคโตซานที่มีต่อความสูงเฉลี่ยของกระน้ำที่ทำการเพาะปลูก เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	55
4-21 ผลของโพลิโกไคโตซานที่มีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางระดับโคนต้นเฉลี่ยของกระน้ำ ที่ทำการเพาะปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์	55
4-22 ผลของโพลิโกไคโตซานที่มีต่อจำนวนใบเฉลี่ยของกระน้ำที่ทำการเพาะปลูก เป็นเวลา 4 สัปดาห์.....	56

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปูน้ำจืด (Freshwater crabs) เป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่มีความสำคัญโดยเป็นทั้งแหล่งอาหารโปรตีนของประชาชน เป็นตัวชี้วัดทางนิเวศวิทยา และสามารถเพาะขยายพันธุ์เชิงพาณิชย์ได้จากรายงานของ Cumberlidge และคณะ (2009) จังหวัดเพชรบูรณ์เป็นจังหวัดที่มีรายงานว่ามีการพบปูน้ำจืดหลายสกุล เช่น สกุล *Launardia* สกุล *Esanthelphusa* หรือสกุล *Thaipotamon* ซึ่งเป็นบางชนิดเป็นปูเฉพาะถิ่นที่มีการกระจายพันธุ์อยู่ในแถบอำเภอหล่มสัก และหล่มเก่า จังหวัดเพชรบูรณ์ ปูชนิดนี้จะพบได้ทั่วไปโดยอาศัยอยู่ในดินตามพื้นที่สวนที่มีความชื้นในดินสูง บางชนิดมีการกระจายพันธุ์ทั่วไปพบในแหล่งน้ำทั้งลำธาร ลำห้วย และน้ำตก ประชาชนในพื้นที่นิยมจับปูเหล่านี้มาบริโภคเป็นอาหาร ซึ่งจะเหลือทิ้งส่วนของโครงสร้างภายนอกที่ไม่ได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ แต่จากรายงานวิจัยหลายฉบับระบุว่า โครงสร้างแข็งภายนอกของปูจะมีสารประกอบประเภทโพลีเมอร์กลุ่มคาร์โบไฮเดรตหรือโพลีแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) ที่เรียกว่า ไคติน ซึ่งเป็นสารที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในเปลือกนอกของสัตว์พวก กุ้ง ปู แมลง (Yen et al., 2009) ไคโตซานเป็น ไบโอฟิลิเมอร์ธรรมชาติอย่างหนึ่ง ซึ่งมีองค์ประกอบสำคัญในรูปของ D-glucosamine พบได้ในธรรมชาติ ลักษณะโดดเด่นเฉพาะตัว คือ ที่เป็นวัสดุชีวภาพ (Biomaterials) ที่ย่อยสลายตามธรรมชาติจึงไม่เกิดผลเสียและปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมไม่เป็นพิษต่อพืช ในเมื่อโครงสร้างภายนอกของกุ้ง ปู มักจะถูกนำมาทิ้งกลายเป็นของเสียที่ก่อให้เกิดปัญหาด้านมลภาวะ ดังนั้นหากมีการนำเอาของเสียเหล่านี้มาสกัดเพื่อนำมาใช้ประโยชน์จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการลดปัญหาสิ่งแวดล้อม และการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรธรรมชาติอย่างคุ้มค่า ไคโตซานถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างมากมายทั้งในด้านเกษตรกรรม อุตสาหกรรมด้านอาหาร สิ่งทอ เกษษกรรม และด้านความงาม โดยมีการนำเอาไคโตซานมาใช้ในรูปของวัสดุชีวภาพ (Biomaterials) ในรูปของเจลผลิตในรูปฟิล์มที่รับประทานได้ (Edible film) แผ่นนาโนเมมเบรน (Nano-membrane) (Tonhi and Plepis, 2002) มีผลการศึกษาวิจัยที่ระบุว่าไคตินและไคโตซานมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ไนโตรเจนจะถูกปลดปล่อยออกจากโมเลกุลอย่างช้าๆ รวมทั้งช่วยตรึงไนโตรเจนจากอากาศและดิน จึงใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ นอกจากนี้ยังช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของพืช และกระตุ้นการเจริญของรากทำให้พืชนำแร่ธาตุไปใช้ได้ดีขึ้นส่งผลทำให้สามารถเพิ่มผลผลิตและคุณภาพการผลิตพืช นอกจากนี้สารไคโตซานยังมีศักยภาพใช้เป็นสารควบคุมโรคพืชได้หลายชนิด ที่มีสาเหตุจากเชื้อไวรัส แบคทีเรีย และราสาเหตุโรคพืช เช่น การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ชนิด *Fusarium* sp. (Reddy et al., 1999) เชื้อราชนิด *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani* และ *Sclerotia rolfsii* สาเหตุโรคโคนเน่า (Kareem et al., 2006) ซึ่งโรครากเน่า

และโคนเน่า (Root and stem rot disease) มักมีสาเหตุจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* เป็นโรคหนึ่งที่สำคัญ และก่อให้เกิดความเสียหายต่อผลผลิตของพืชเป็นอย่างมาก การใช้สารเคมีในการควบคุมโรคดังกล่าวนี้มีข้อจำกัด คือ หากมีการใช้ติดต่อกันเป็นระยะเวลานาน จะทำให้เชื้อราสาเหตุโรคเกิดความต้านทานต่อสารเคมีชนิดนั้น ๆ เป็นผลให้การควบคุมโรคกระทำได้ยากขึ้น นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดปัญหาสารพิษตกค้างอีกด้วย ดังนั้นการควบคุมเชื้อราสาเหตุโรคโคนเน่าด้วยการใช้สารชีวภาพจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่ดีและปลอดภัยสำหรับเกษตรกร

ด้วยเหตุผลที่กล่าวมาทั้งหมดนี้ จึงเป็นที่มาของโครงการวิจัยซึ่งมีเป้าหมายเพื่อหาแนวทางการใช้ประโยชน์จากไคโตซานจากปูน้ำจืด การศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *S. rolfsii* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคโคนเน่าโคนเน่าบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (in vitro) และในดินพืช (in vivo) และพยายามเพิ่มประสิทธิภาพของสารไคโตซาน เพื่อนำไปสู่การค้นคว้าแนวทางหรือความเป็นไปได้ใน การนำเอาสารไคโตซานในรูปของโอลิโกไคโตซานมาใช้เป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช ทั้งนี้จะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรทั้งในด้านการเพิ่มผลผลิตของพืชและการอนุรักษ์ทรัพยากรดินจากการทำเกษตรกรรม

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

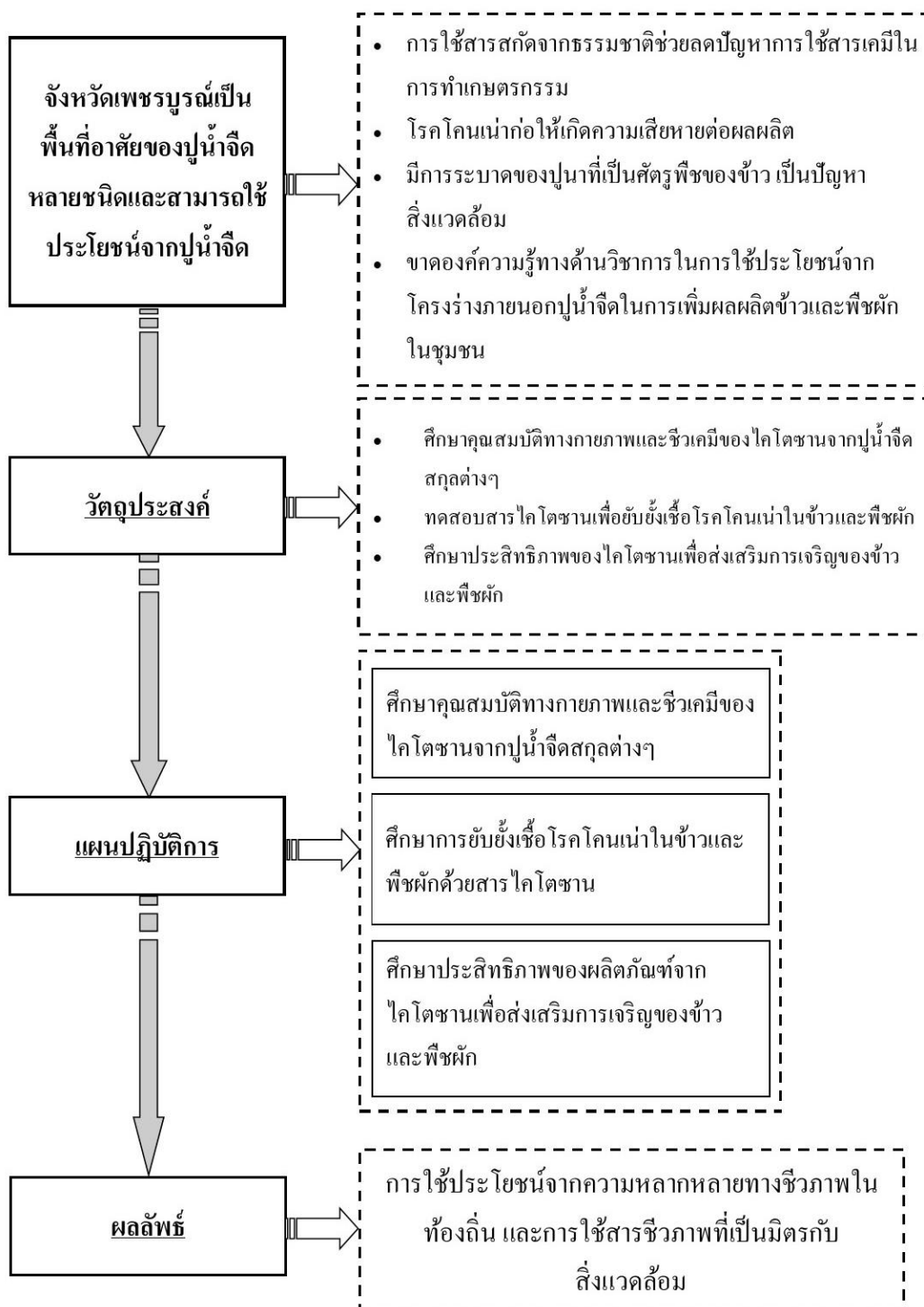
1. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณไคโตซานจากปูสกุล *Esanthelphusa*, *Thaipotamon* และ *Larnaudia*
2. ทดสอบสารไคโตซานเพื่อยับยั้งเชื้อโรคโคนเน่าในข้าวและพืชผัก
3. ศึกษาประสิทธิภาพของไคโตซานเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวและพืชผัก

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

วิเคราะห์และตรวจสอบคุณสมบัติและโครงสร้างทางชีวเคมีของไคโตซานจากปูน้ำจืดสกุลต่างๆ ทดสอบสารไคโตซานเพื่อยับยั้งเชื้อโรคโคนเน่าที่ก่อโรคในข้าวและพืชผัก และหาแนวทางการใช้สารไคโตซานเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวและพืชผัก

1.4 กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

โครงการวิจัยนี้มีกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย สรุปไว้ดังแสดงในรูปที่ 1-1



รูปที่ 1-1 กรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

1.5 ประโยชน์ที่ได้รับจากงานวิจัย

มีข้อมูลพื้นฐานด้านคุณสมบัติและโครงสร้างทางชีวเคมีของไคโตซานจากปูน้ำจืดสกุลต่างๆ ซึ่งเป็นแนวทางที่จะนำไปสู่การผลิตสารไคโตซาน เพื่อควบคุมเชื้อโรคโคนเน่าและการหาแนวทางผลิตไคโตซานในรูปของโพลิเมอร์ไคโตซานเพื่อใช้เป็นสารส่งเสริมการเจริญของข้าวและพืชผัก

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โครงการวิจัยเรื่อง การทดสอบไคโตซานจากปูน้ำจืดเพื่อส่งเสริมการเจริญและควบคุมเชื้อที่ก่อโรคโคนเน่าของข้าวและพืชผัก ได้มีการค้นคว้าข้อมูลงานวิจัยและเอกสารที่เกี่ยวข้องที่สำคัญดังแสดงต่อไปนี้

- 2.1 สัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียน
- 2.2 ไคตินและไคโตซาน
- 2.3 เชื้อราก่อโรคโคนเน่าและรากเน่าในพืช
- 2.4 ข้อมูลทางชีววิทยาของข้าวและคะน้า
- 2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียน

สัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียนโดยทั่วไปจะมีลำตัวแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนหัว (Head) ส่วนอก (Thorax) และส่วนท้อง (Abdomen) ส่วนหัวจะมีรยางค์ที่สำคัญ 5 คู่ ปล้องที่มีทวารหนัก (Anal) เรียกว่า Telson หรือ Caudal rami ระบบขับถ่ายประกอบด้วย Antenal หรือ Maxillary glands มีตา 2 ประเภท คือ Nauplius eye อยู่กลางหัว 1 ตา และตารวม (Compound eye) 1 คู่ อยู่ทางด้านข้างของหัว เพศผู้และเพศเมียแยกกัน ส่วนใหญ่จึงมีการสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ โดยมากมีตัวอ่อน เรียกว่า Nauplius จากรายงานการค้นพบสัตว์ในกลุ่มครัสเตเชียนมีมากถึง 75,000 ชนิด (ลัดดา วงศ์รัตน์, 2543) ตัวอย่างสัตว์ที่สำคัญในกลุ่มนี้ได้แก่

2.1.1 โคพีพอด

โคพีพอด (Copepod) ลำตัวส่วนใหญ่มี 11 ปล้อง โดยมีจำนวนปล้องตั้งแต่ 16-17 ปล้อง ลำตัวแบ่งออกเป็น 2 ส่วน เรียกว่า Prosome และ Urosome ส่วนของ Prosome บนสุดเรียกว่า Frontal plate ประกอบด้วยส่วนหัว 1-5 ปล้อง และส่วนอก 1-5 ปล้อง แต่ละปล้องมีรยางค์ 1 คู่ เรียกว่า Pereiopods ซึ่งมักจะเชื่อมกัน เรียกว่า Cephalothorax

2.1.2 ไรน้ำ

ไรน้ำ (Water fleas) ลักษณะทั่วไปจะมีลำตัวแบ่งเป็น 3 ส่วน คือ ส่วนหัว ส่วนอก และส่วนท้อง ออกและท้องมีฝา 2 ฝา คลุมตลอด ส่วนหัวค่อนข้างจะมีขนาดเล็กและไม่สามารถแยกออกจากส่วนอกได้

ชัดเจน บนส่วนหัวมีตา 2 ประเภท ทำหน้าที่ในการรับแสง คือ ตาประกอบและตาเดี่ยว ส่วนมากจะมี
หนวด 2 คู่

2.1.3 ออสตราคอด

ออสตราคอด (Ostracod, Mussel, Seed shrimp) ออสตราคอดมีฝาหุ้มลำตัว เรียกว่า Bivalved carapace 2 ฝา ลำตัวมีลักษณะกลมหรือรูปไข่ มีส่วนประกอบของแคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO_3) ส่วน
ลำตัวแบ่งออกเป็นสามส่วนหัวและส่วนลำตัว ลำตัวยาวประมาณ 1-7 มิลลิเมตร ส่วนหัวจะมีหนวด 2 คู่ มี
ขากรรไกร (Mandible) 1 คู่ และรยางค์คู่ที่ 4 (Maxillules) แต่ละข้างประกอบด้วยแผ่นเหงือกและก้าน
เหงือก ออสตราคอดมีตาหลายประเภท

2.1.4 กุ้งและปู

กุ้ง (Shrimps, Lobster) และปู (Crabs) เป็นครัสเตเชียนขนาดใหญ่ มีขา รวม 10 ขา จึงจัดอยู่ใน
กลุ่ม Decapod มีรยางค์อก 5 คู่ ใช้เป็นขาซึ่งใช้เดิน โดยบางชนิดขาคู่แรกมีการพัฒนาเป็นก้ามที่ขนาด
ใหญ่กว่าคู่อื่นๆ เรียกว่า Cheliped ส่วนหัวและอกจะเชื่อมรวมกัน เรียกว่า Cephalothorax ด้านหลังมี
Carapace หุ้ม ช่องว่างด้านหลังของ Cephalothorax และ Carapace มีช่องเหงือก ลำตัวแบ่งเป็น 2 ส่วน
คือ Cephalothorax กับ Abdomen โดยส่วน Cephalothorax มีรยางค์ภายนอก 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 ได้แก่
หนวด 2 คู่ กลุ่มที่ 2 ได้แก่ ปาก และกลุ่มที่ 3 ได้แก่ ขาเดิน (Pereiopod) ส่วนของท้องประกอบด้วยปล้อง
7 ปล้อง ด้านข้างของส่วนท้องขยายใหญ่เรียกว่า Pleura แต่ละปล้องมีขาว่ายน้ำ 1 คู่ เรียกว่า Pleopod
ปล้องสุดท้าย เรียกว่า Uropod พัฒนาเป็นแพนหาง (Tail fan) เพศเมียจะมี Thelyum ใช้เก็บสเปิร์ม เพศผู้
มี Petasma อยู่ที่ขาอกคู่ที่ 1 ครัสเตเชียนในกลุ่มนี้จะมีการเจริญเติบโตโดยการลอกคราบ ตัวอ่อนจะมี 4
ระยะ คือ Nauplius, Protozoea, Zoea หรือ Mysis และ Postlarva



รูปที่ 2-1 ลักษณะครัสเตเชียนขนาดเล็ก ไรน้ำ (ซ้าย) โคพีพอด (กลาง) และออสตราคอด (ขวา)

ที่มา: Wikipedia (2017)



รูปที่ 2-2 ลักษณะครัสเตเชียนขนาดใหญ่

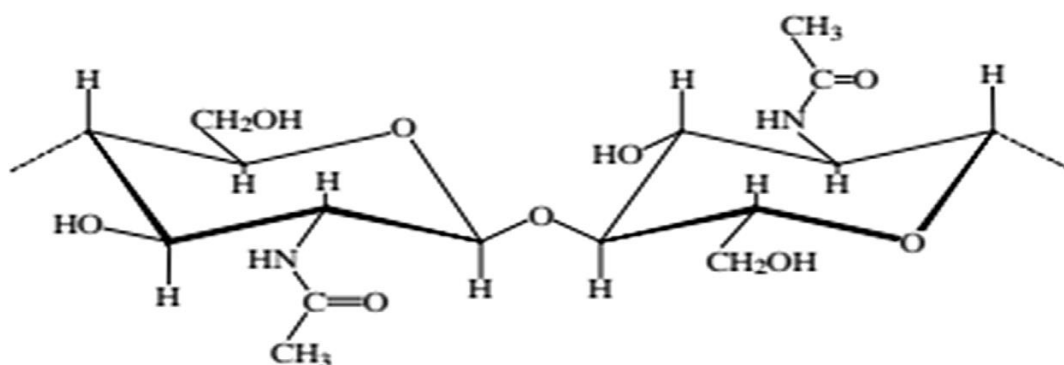
ปูน้ำจืด (Freshwater crab) ซึ่งเป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังที่สำคัญที่มีการกระจายพันธุ์ในแถบเอเชีย พบอาศัยอยู่ตามแหล่งน้ำจืด ลำธารในภูเขา แม่น้ำ และพื้นที่ที่มีน้ำขัง (Yeo et al., 2008) ส่วนใหญ่แล้วปูน้ำจืดเป็นสัตว์ประเภทที่หากินกลางคืน โดยจะมีบทบาทเป็นทั้ง Scavenger และ Predators ซึ่งจัดได้ว่าเป็นสัตว์ที่มีความสำคัญทั้งทางเศรษฐกิจและนิเวศวิทยา (Yeo et al., 2008) ประเทศไทยมีรายงานการค้นคว้าที่แสดงให้เห็นว่าประเทศไทยมีความหลากหลายของชนิดพันธุ์ปูน้ำจืดสูงมากที่สุดโดยพบมากถึง 107 ชนิด 36 สกุล และ 2 วงศ์ ในจังหวัดเพชรบูรณ์พบปูน้ำจืดชนิด *Indochinamon bhumibol* เป็นปูน้ำจืดที่จัดได้ว่ามีสถานภาพที่เสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ เนื่องจากการดำรงชีวิตอยู่ในลำธารที่เป็นส่วนต้นน้ำของระบบนิเวศป่าไม้ในเขตพื้นที่อุทยานแห่งชาติเขาค้อ เขตอุทยานแห่งชาติน้ำหนาว ดังนั้นหากพื้นที่ป่าไม้ถูกรบกวนจากมนุษย์โดยการบุกรุกแผ้วถางป่าซึ่งจะทำให้สภาพของระบบนิเวศเปลี่ยนแปลงไป รวมไปถึงการเพิ่มขึ้นของมลภาวะทางน้ำ อาจจะมีสาเหตุมาจากการใช้สารเคมีในพื้นที่เกษตรกรรมที่เป็นพื้นที่เชื่อมต่อกับลำธารที่เป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของปูน้ำจืดชนิดนี้ การกระจายตัวของประชากรปูน้ำจืดชนิดนี้มีค่อนข้างจำกัด จึงส่งผลให้ปูน้ำจืดชนิดนี้มีความเสี่ยงมากที่สูญพันธุ์ไปจากพื้นที่ป่าไม้ในธรรมชาติ รายงานการสำรวจของ Yeo et al. (2008) รายงานไว้ว่าปูน้ำจืดในพื้นที่วิกฤตทางความหลากหลายทางชีวภาพในแถบอินโดจีน มีบทบาทที่สำคัญทั้งในแง่ของเศรษฐศาสตร์และนิเวศวิทยา โดยในด้านนิเวศวิทยานั้นปูหินชนิด *I. bhumibol* จะมีแหล่งอาศัยในแหล่งน้ำที่สะอาดและมีคุณภาพน้ำดี ดังนั้นหากพื้นที่ใดพบปูหินชนิดนี้ก็สามารถบ่งบอกได้ว่าระบบนิเวศแหล่งน้ำบริเวณนั้นมีคุณภาพที่ดี จึงจัดได้ว่าปูหินชนิดนี้เป็นตัวชี้วัดคุณภาพน้ำทางด้านนิเวศวิทยาได้ประการหนึ่ง

2.2 ไคตินและไคโตซาน

ไคติน (Chitin) และไคโตซาน (Chitosan) เป็นพอลิเมอร์ชีวภาพ (Biopolymers) ที่เกิดในธรรมชาติ เป็นสารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตผสมที่ประกอบไปด้วยอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคสที่มีธาตุไนโตรเจนอยู่ในโครงสร้างทำให้มีคุณสมบัติที่โดดเด่นและหลากหลาย ไคตินและไคโตซานสามารถย่อยสลายได้ในธรรมชาติไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม

2.2.1 ไคติน

ไคติน คือ พอลิเมอร์ธรรมชาติ เป็นพหุโมเลกุลสายตรงของโพลีแซคคาไรด์ ที่มีหน่วยย่อยเป็นน้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine (รูปที่ 2-3) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ 1,4- β -glycoside ที่เป็นสายยาวที่มีมากไคตินมีปริมาณมากเป็นอันดับสองของโลกรองจากเซลลูโลสที่เป็นส่วนประกอบของเนื้อไม้ ไคตินพบเป็นองค์ประกอบของเปลือกแข็งที่หุ้มเซลล์ของรา ยีสต์ และจุลินทรีย์หลายชนิด หรือพบเป็นโครงสร้างแข็งของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง จำพวกแมลง กุ้ง ปู หมึก (Kumar, 2000)



รูปที่ 2-3 โครงสร้างทางเคมีของไคติน

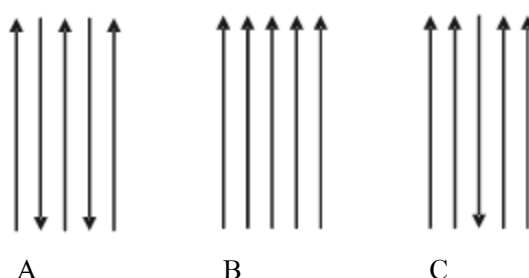
ที่มา: Sedaghata et al. (2017)

ไคตินสามารถละลายได้ในกรดอินทรีย์ เช่น กรดเกลือ กรดฟอสฟอริก กรดกำมะถัน และกรดฟอร์มิกที่ปราศจากน้ำ แต่จะไม่ละลายในสารละลายจำพวกด่างเจือจาง แอลกอฮอล์ หรือตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ ไคตินที่ได้จากแต่ละแหล่งจะมีโครงสร้างและสมบัติแตกต่างกัน โดยสามารถแบ่งตามลักษณะการเรียงตัวของเส้นใยได้ 3 แบบ คือ

1. โครงสร้างแบบแอลฟา (α -chitin) ลักษณะการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลจะเป็นในลักษณะสวนทางกัน มีความแข็งแรงสูง ได้แก่ ไคตินจากเปลือกกุ้ง และกระดองปู ดังรูปที่ 2-4 A

2. โครงสร้างแบบเบตา (β -chitin) ลักษณะการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลจะเป็นในลักษณะทิศทางเดียวกัน จึงจับกันไม่ค่อยแข็งแรง มีความไวต่อปฏิกิริยาเคมีมากกว่าแบบแอลฟา ได้แก่ ไคตินจากแกนหมึก ดังรูปที่ 2-4 B

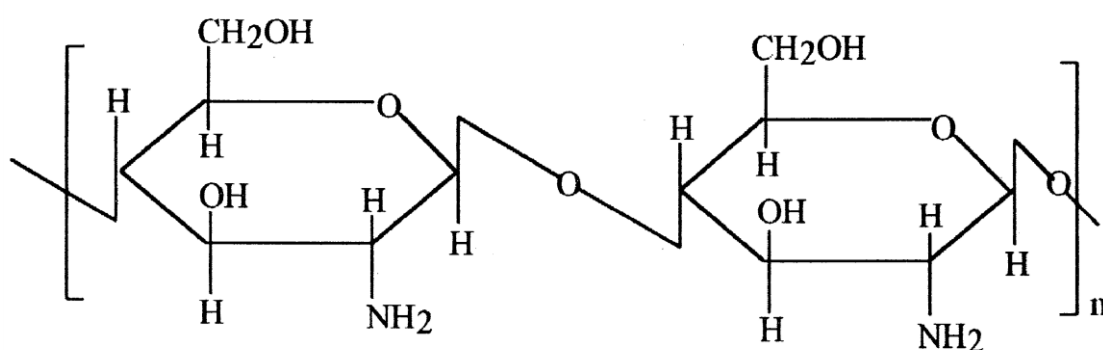
3. โครงสร้างแบบแกมมา (γ -chitin) ลักษณะการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลจะลักษณะที่ไม่แน่นอน อาจจะมีสวนทางสลับกับทิศทางเดียวกัน มีความแข็งแรงรองจากโครงสร้างแบบแอลฟา ได้แก่ ไคตินจากเห็ดรา และพืชชั้นต่ำ ดังรูปที่ 2-4 C



รูปที่ 2-4 โครงสร้างการเรียงตัวของไคติน

2.2.2 ไคโตซาน

ไคโตซานเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่เป็นโพลิเมอร์ของหน่วยย่อยที่เรียกว่า D-glucosamine มากกว่าร้อยละ 60 ขึ้นไป ซึ่งต่อกันด้วยพันธะ 1,4- β -glycoside ในธรรมชาติ (รูปที่ 2-5) ผลิตขึ้นเป็นครั้งแรกตั้งแต่ ปี ค.ศ.1859 ไคโตซานเกิดจากปฏิกิริยาการกำจัดหมู่อะซีติล (Deacetylation) ของไคติน ด้วยด่างเข้มข้นทำให้โครงสร้างของไคตินบางส่วนเปลี่ยนแปลงไป โดยมีการเปลี่ยนหมู่ฟังก์ชันที่มีหมู่ $-\text{NHCOCH}_3$ เปลี่ยนไปอยู่ในรูปหมู่เอมิโน ($-\text{NH}_2$) ที่ตำแหน่งคาร์บอนตัวที่ 2 โครงสร้างของไคโตซานแสดงไว้ในรูปที่ 2-5 สมบัติทางกายภาพและทางเคมีของไคโตซานเป็นโพลิเมอร์สีขาว มีประจุบวกเนื่องจากเกิดโปรตอนดหมู่เอมิโนในรูปของ $-\text{NH}_3^+$ ปกติไคโตซานละลายได้ดีในกรดอินทรีย์ เช่น กรดอะซิติก กรดโพรพานอิก กรดแลกติก เป็นต้น ค่าคงที่การแตกตัวของกรด (Acid dissociation constant, pK_a) ของไคโตซานขึ้นอยู่กับความหนาแน่นของโพลิเมอร์ขอบเขตของความสะเทินของประจุ และค่าระดับการกำจัดหมู่อะซีติล (%DD) เนื่องจากไคโตซานเป็นสารอินทรีย์ที่ไม่มีพิษเป็นสารย่อยสลายได้ในธรรมชาติ ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม ละลายได้ในสารละลายที่เป็นกรดอ่อน และมีคุณสมบัติจำเพาะทางชีวภาพ ได้รับการรับรองให้เป็น Functional food ในประเทศญี่ปุ่นและเกาหลี และอนุพันธ์ของไคโตซาน (ไคโตซานไฮโดรคลอไรด์) ได้รับการยอมรับให้อยู่ในรายชื่อทางเภสัชกรรมของสมาคมเภสัชกรรมยุโรป ตั้งแต่ปี ค.ศ. 2002 (European Pharmacopoeia, 2002)



รูปที่ 2-5 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน

ที่มา: Kumar (2000)

เปลือกปูเป็นวัตถุดิบที่สำคัญแหล่งหนึ่งในการผลิตไคตินและไคโตซาน (Youn et al., 2009) ไคตินในธรรมชาติ แบ่งเป็น 2 ชนิด คือ อัลฟาไคติน และเบต้าไคติน โดยเปลือกปูและเปลือกกุ้งเป็นชนิดอัลฟาไคติน ส่วนไคตินจากแกนปลาหมึกเป็นชนิดเบต้าไคติน เปลือกกุ้งจะประกอบด้วยไคตินประมาณร้อยละ 14-30 ของน้ำหนักแห้ง ปูมีสารพวกไคตินประมาณร้อยละ 13-15 ของน้ำหนักแห้งในการเปรียบเทียบปริมาณของไคโตซานที่ได้จากปูแต่ละชนิดมีรายงานว่าเปลือกของปูนา มีสารไคตินสูงถึงร้อยละ 19.27 ในสภาพน้ำหนักแห้ง ในขณะที่เปลือกของปูทะเลมีเพียงร้อยละ 14.14 เท่านั้น ดังนั้นเปลือกของปูนาจึงมีประโยชน์ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิต ไคโตซานได้ เป็นอย่างดีกว่าสัตว์จำพวกครัสเตเชียนอย่างอื่น ไคโตซานเป็นสารสัณฐานเคมีที่สกัดได้จากเปลือกปูเป็นสารที่ไม่มีอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต และสามารถย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ ในปัจจุบันได้มีการนำเอาไคโตซานไปประยุกต์ใช้ในงานด้านต่างๆ มากมาย (Kumar, 2000) โดยมีการนำเอาไคโตซานไปใช้ตกตะกอนโปรตีนนม กำจัดอื้อของโลหะ ลดปริมาณสีย้อมผ้าที่ถูกทิ้งในอุตสาหกรรมสิ่งทอ ไคโตซานที่ได้จากเปลือกปูนา มีคุณสมบัติในการป้องกันการแข็งตัวของเลือด และยังมีคุณสมบัติเป็นสารยับยั้งการสะสมไขมัน โดยการกำจัดอนุมูลอิสระในรูปของไฮดรอกซิล (Hydroxyl) (Yen, Yang and Mau, 2008)

ประโยชน์ไคโตซาน และไคติน

ในปัจจุบันนิยมนำไคโตซาน และไคตินทั้งสองรูปแบบมาใช้ประโยชน์ แต่ส่วนมากจะใช้ประโยชน์ในรูปของไคโตซานมากกว่า

1. ทางการแพทย์

- ไคโตซานเป็นสารที่มีคุณสมบัติที่ดีที่สามารถนำมาใช้ในทางการแพทย์ได้หลายรูปแบบ สามารถเตรียมได้ในรูปแบบเม็ดเจล แผ่นฟิล์มฟองน้ำ เพลเลต แคปซูล และยาเม็ด เป็นต้น
- ไคโตซาน และอนุพันธ์ใช้ป้องกันฟันผุ เช่น เอชลิโนไกลคอน-ไคติน คาบอซิเมทิล-ไคติน

ซัลเฟตเตด ไคโตซาน และฟอสโฟไลเลตเตด ไคติน สามารถยับยั้งการจับ และก่อตัวของแบคทีเรียบนผิวพื้นที่เป็นสาเหตุของฟันผุได้ดี

– ไคตินหรือไคโตซานซัลเฟตสามารถยับยั้งการแข็งตัวของเลือด และปลดปล่อย Lipoprotein lipase โดยนำมาประยุกต์ใช้ในขั้นตอนการฟอกเลือดเพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด นอกจากนี้ยังใช้สำหรับรักษาแผล และป้องกันการติดเชื้อของแผลได้ดี

2. การเกษตร ด้านการเกษตรนิยมใช้ไคติน ไคโตซานในหลายด้านด้วยกัน อาทิ

– การใช้เคลือบเมล็ดพันธุ์พืช ป้องกันโรค แมลง การเน่าเสียจากจุลินทรีย์ และยืดอายุการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์

– ใช้เร่งการเจริญเติบโตของพืช ทำให้น้ำที่เป็นฮอร์โมนกระตุ้นการเกิดราก

– ใช้สำหรับปรับปรุงดิน เพิ่มธาตุอาหารในดิน ปรับปรุงดินเค็ม ปรับปรุงดินที่เป็นกรดเป็นด่าง

3. ยา ไคโตซานที่ใช้เป็นส่วนผสมในยานิเวศต่างๆ จะใช้ทำหน้าที่ป้องกันการย่อยสลายของยาบริเวณกระเพาะอาหาร ซึ่งเป็นสารควบคุมการปล่อยยาหรือเป็นตัวนำส่งยาเข้าสู่ระบบไหลเวียนโลหิต

4. อุตสาหกรรมอาหาร

– ใช้เป็นอาหารเสริมที่สามารถให้พลังงาน และช่วยลดปริมาณคอเลสเตอรอลชนิด LDL รวมถึงไขมันจำพวกไตรกลีเซอไรด์ในเลือดได้ดี ด้วยการจับตัวกับกลุ่มไขมันทำให้ลดการดูดซึมบริเวณลำไส้จึงนิยมนำไคโตซาน ผสมเป็นอาหารเสริมเพื่อลดน้ำหนัก

– ป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร ด้วยคุณสมบัติของไคติน และไคโตซานที่สามารถจับกับเซลล์เมมเบรนของจุลินทรีย์ ทำให้เกิดการรั่วไหลของโปรตีน และสารอื่นๆออกนอกเซลล์จนจุลินทรีย์ไม่สามารถเติบโต และลดจำนวนลง

– แผ่นฟิล์มบรรจุอาหาร ด้วยการใส่แผ่นฟิล์มพลาสติกชนิดโพลิเอทิลีนมีข้อเสียทำให้อาหารเน่าเสียเร็ว เนื่องจากกักเก็บความชื้นไว้ภายใน แต่แผ่นฟิล์มจากไคโตซานสามารถยืดอายุอาหารได้ดีกว่าเนื่องจากสามารถถ่ายเทความชื้นจากอาหารสู่ภายนอกได้ดีกว่า

– สารเติมแต่งในน้ำผลไม้ ด้วยการเติมสารไคโตซานช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการเป็น Fining agent และควบคุมสภาพความเป็นกรดของน้ำผลไม้ได้ดี

5. เครื่องสำอาง ด้วยคุณสมบัติของไคติน และไคโตซานที่สามารถอุ้มน้ำได้ดี และการเป็นฟิล์มบางๆ กลุ่มผิวหนังป้องกันการเสียน้ำของผิว รวมถึงฤทธิ์ในการต้านเชื้อจุลินทรีย์จึงนิยมนำมาเป็นส่วนผสมของเครื่องสำอาง หลายชนิด เช่น แป้งทาหน้า แป้งผัดหน้า สบู่ ยาสีฟัน ยาสระผม ครีมกันแดด ครีมบำรุงผิว ยาขี้มอด ยาเคลือบผม เป็นต้น

6. ทางด้านสิ่งแวดล้อม ด้วยคุณสมบัติของไคติน และไคโตซานที่สามารถดูดซับ และจับกับสารอินทรีย์จำพวกไนโตรเจน สี รวมถึงสารจำพวกโลหะหนักได้ดีจึงนิยมนำมาประยุกต์ใช้สำหรับเป็นสารกรองหรือ ตัวดูดซับสารมลพิษในระบบบำบัดน้ำเสีย

2.3 เชื้อราก่อโรคโคนเน่าและรากเน่าในพืช

เชื้อราก่อโรคโคนเน่า รากเน่า หรือโรคน้ำระดับดิน (Damping-off) ของกล้าพืชที่สำคัญชนิดหนึ่ง คือ เชื้อราสกุล *Sclerotium* ซึ่งเป็นเชื้อราที่เป็นสาเหตุโรคน้ำระดับดินและโรคต้นกล้าไหม้ (Seedling blight) ของพืชหลายชนิด โดยความรุนแรงของโรคจะแตกต่างกันไปตามชนิดของพืชและสภาพแวดล้อม โรคน้ำระดับดินส่วนใหญ่จะแสดงอาการบริเวณส่วนของพืชที่อยู่ใต้ดินหรือระดับดินจะมีผลทำให้ต้นพืชตายอย่างรวดเร็ว ส่วนต้นที่ไม่ตายพืชจะมีร่องรอยแผลที่ถูกทำลายที่บริเวณโคนต้นหรือบริเวณราก นอกจากนี้พืชยังจะชะงักการเจริญเติบโต และมีผลผลิตที่ลดลง

2.3.1 ลักษณะของเชื้อรา *Sclerotium* sp.

เชื้อรา *Sclerotium* sp. สามารถจำแนกทางอนุกรมวิธานโดยปรับปรุงจากวิธีการของ Hawksworth et al. (1995) และ Von (1981) ดังนี้

Kingdom Fungi

Phylum Deteromycota

Form-Class Hyphomycetes (Hyphales)

Form-order Agronomycetales

(Mycelia sterilia)

Form-family Agronomycetaceae

Genus *Sclerotium*

เชื้อราสกุล *Sclerotium* มีหลายชนิด เช่น *S. cepivorum*, *S. rolfsii*, *S. tuliparum*, *S. delphinii* และ *S. wakkeri* โดยเฉพาะชนิด *S. rolfsii* เป็นเชื้อราสาเหตุของโรคพืชที่อาศัยในดิน (Soilborne) เชื้อราชนิดนี้มีพืชอาศัยมากกว่า 500 ชนิด โดยมีรายงานวิจัยของ Farr et al. (1989) ที่รายงานไว้ว่ามีพืชมากกว่า 270 สกุลในประเทศสหรัฐอเมริกาที่เป็นพืชอาศัยของ *S. rolfsii* พืชที่อ่อนแอต่อเชื้อรา *S. rolfsii* เช่น มันเทศ พริกทอง ข้าวโพด ข้าวฟ่าง ถั่วลิสง นาซีซัส (Narcissus) ไอริส (Iris) ลิเลียม (Lilium) เบญจมาศ และบานชื่น

ลักษณะของรา *S. rolfsii* คือ สร้างเส้นใยสีขาวหรือสีอ่อน (รูปที่ 2-6) มีความวาวคล้ายไหม มี Camp connection เจริญได้อย่างรวดเร็ว เส้นใยราเมื่อมีอายุมากขึ้นความวาวจะลดลงเรื่อยๆ จนกระทั่งกลายเป็นสีดำด้านๆ ภายในเส้นใยมีผนังกั้นเซลล์ (Septum) ขนาดเส้นใยกว้าง 2-8 ไมครอน

โดยที่ Main hyphae จะมีขนาดของเส้นใยกว้างที่สุด คือ 4.5-8 ไมครอน ส่วน Secondary branch และ Tertiary branch มีขนาดเล็กและไม่มี Camp connection (Townsend and Willetts, 1954) เชื้อราจะไม่สร้าง Asexual spore แต่จะสร้างเม็ดสเคลอโรเทียม (Sclerotium) (รูปที่ 2.7) ที่เกิดจากเส้นใยมาเรียงตัวกันเป็นกลุ่ม (Hyphal stand) ประมาณ 3-12 เส้น มีการแตกแขนงสั้น ออกมาสานกันเป็นร่างแห และเป็นเนื้อเยื่อแบบ Pseudoparenchyma และพัฒนาไปเป็นเม็ดสเคลอโรเทียม เมื่อเริ่มแรกเม็ดสเคลอโรเทียมจะมีสีขาวเป็นเม็ดกลมขนาดเล็ก จากนั้นจะขยายใหญ่ขึ้นและเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลดำ เม็ดสเคลอโรเทียมมีองค์ประกอบ 4 ชั้น คือ Cuticle, Rind, Cortex และ Medulla โดยในเซลล์ 2 ชั้นแรกจะมีผนังหนา แต่เซลล์ในชั้น Cortex และ Medulla จะมีผนังบางและยังมีชีวิตอยู่ สามารถเจริญออกเป็นเส้นใยได้ใหม่เมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสม (Townsend and Willetts, 1954)

เชื้อราจะสร้างเม็ดสเคลอโรเทียมหลังจากเส้นใยเจริญได้ประมาณ 4-7 วัน สเคลอโรเทียมอาจอยู่อย่างอิสระที่ผิวดิน หรืออยู่บนซากพืช อาจถูกฝังลึกลงไปในดิน สามารถทนต่อความแห้งแล้ง การขาดแคลนอาหาร และสารเคมีได้ดีกว่าสภาพเส้นใย มีชีวิตอยู่ข้ามฤดูในดินได้นานหลายปี ดังนั้นการไถพรวนดินจนลึกเป็นวิธีการอย่างหนึ่งที่ควบคุมการเจริญของเชื้อราชนิดนี้ได้ สเคลอโรเทียมที่เกิดขึ้นใช้เป็นลักษณะที่ใช้ในการจำแนกโรคนี้ออกจากโรคลำต้นเน่าและโรคเหี่ยวที่เกิดจากเชื้อราชนิดอื่นได้ โดยเชื้อราชนิดนี้จะสามารถเจริญได้อย่างรวดเร็วในชั้นส่วนพืชหรือในอาหารสังเคราะห์ ลักษณะการเจริญของเส้นใยราจะมีลักษณะการเจริญที่เส้นใยแผ่ออกไปคล้ายพัด



รูปที่ 2-6 ลักษณะการเจริญของเส้นใยรา *Sclerotium* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปพีดีเอ



รูปที่ 2-7 ลักษณะเส้นใยและเม็ดสเคลอโรเทียมที่เชื้อรา *Sclerotium* sp. สร้างขึ้นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปพีดีเอ



รูปที่ 2-8 ลักษณะเส้นใยและเม็ดสเคลอโรเทียมที่เชื้อรา *Sclerotium* sp. สร้างขึ้นที่โคนต้นพืช

ที่มา: Southern blight (2012)

2.3.2 การเข้าทำลายและการแพร่ระบาดของเชื้อรา *Sclerotium* sp.

เชื้อรา *Sclerotium* sp. เข้าทำลายพืชได้ทั้งระยะที่เป็นเมล็ด และต้นกล้า โดยเฉพาะต้นกล้าเมื่อเชื้อราชนิดนี้เข้าทำลายต้นพืชเชื้อราจะทำการหลั่งสารที่ชื่อว่า กรดออกซาลิก (Oxalic acid) กรดเพคติก (Pectic acid) และเอนไซม์เซลลูโลสไลติก (Cellulolytic enzyme) เมื่อพืชได้รับสารนี้จะแสดงอาการไหม้ (Seedling blight) แล้วต้นพืชจะตายอย่างรวดเร็ว (Agrios, 1978) โดยเฉพาะถ้าบริเวณแปลงปลูกมีความชื้นสูงบริเวณพื้นที่ติดเชื่อมมักจะพบเส้นใยราสีขาวเจริญคลุมอยู่ ต่อมาจะมีการสร้างเม็ดสเคลอโรเทียม (Agrios, 1978, 2005)

การเข้าทำลายของเชื้อรา *Sclerotium* sp. นั้นจะทำให้ใบของพืชในส่วนที่อยู่ด้านล่างของลำต้นเหลืองและเหี่ยวตาย ต้นแคระแกรน บริเวณโคนต้นที่ติดกับดินจะพบว่าเนื้อเยื่อของพืชจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลและมีเส้นใยขาวๆ หยิบๆ ปกคลุมอยู่ ในกรณีที่สภาพอากาศมีความเหมาะสมจะพบเม็ดสเคลอโรเทียมของเชื้อราสีขาว หรือสีน้ำตาลคล้ายเม็ดผักกาดปะปนอยู่กับดินบริเวณโคนต้นพืช ในกรณีการติดโรคมีอาการรุนแรงอาจทำให้รากพืชเน่า โคนเน่า ผลเน่า และพืชตายได้ เชื้อราชนิดนี้จะไม่สร้างสปอร์แต่สร้างเส้นใยและเม็ด สเคลอโรเทียม แพร่ระบาดโดยติดไปกับดิน หรือติดไปกับลำพืช หรือถูกพัดพาไปด้วยน้ำ สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการแพร่ระบาด คือ สภาพแปลงที่มีความชื้นสูง การระบายน้ำไม่ดี อากาศร้อนอุณหภูมิประมาณ 27-30 องศาเซลเซียส และดินมีสภาพเป็นกรด เม็ดสเคลอโรเทียมของเชื้อราชนิดนี้สามารถมีชีวิตอยู่ในเศษซากพืชได้นานมากกว่า 1 ปี ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม (Holliday, 1980, Agrios, 2005)

2.3.3 การควบคุมโรค

รายงานของพรทิพย์ พิทักษ์นพกุล (2555) อธิบายวิธีการควบคุมเชื้อโรค *Sclerotium* sp. ไว้ดังนี้

1. หมั่นทำความสะอาดแปลงปลูกพืชอย่างสม่ำเสมอ เก็บเผาทำลายผลหรือส่วนของพืชที่เน่าเสีย เพื่อลดการสะสมของเชื้อโรค
2. ปรับสภาพดินให้เป็นกลาง ด้วยการเติมปูนขาว
3. ให้น้ำพอเหมาะสำหรับพืชแต่ละชนิด อย่าให้ดินแฉะนานๆ หลีกเลี่ยงการให้น้ำในตอนเย็น โดยเฉพาะเวลาที่มีการระบาดของโรค
4. เลือกซื้อเมล็ดพันธุ์พืชจากแหล่งที่เชื่อถือได้ว่าไม่มีการระบาดของโรค และควรคลุกเมล็ดด้วยสารเคมีควบคุมเชื้อรา

5. เมื่อพบต้นที่เป็นโรค ให้นำไปเผาทำลายทิ้ง แล้วคลุกดินบริเวณที่เป็นโรคด้วยสารเคมีควบคุมเชื้อรา

6. เพาะกล้าในดินหรือวัสดุปลูกที่สะอาด และผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

7. แปลงปลูกที่ยังไม่เคยมีปัญหาของโรคระบาดมาก่อน ควรระมัดระวังการเคลื่อนย้ายดิน และควรทำความสะอาดเครื่องมือทางการเกษตร ก่อนนำมาใช้

8. ในแปลงที่เคยมีการระบาดมาก่อน อาจใช้วิธีไถพลิกหน้าดินตากแดดนานๆ และพรวนดินให้เมล็ดสเคลอโรเทียมขึ้นมาสัมผัสกับอากาศ และงอกในช่วงที่ไม่มีพืชปลูกอยู่ ซึ่งเส้นใยราที่ถูกแสงแดดจะแห้งตาย หรืออาจใช้ชีวภัณฑ์มาคลุมดินเพื่อลดปริมาณเชื้อก่อนปลูกพืชรุ่นต่อไป

นอกจากนี้ยังมีรายงานการวิจัยหลายฉบับที่อธิบายถึงวิธีการป้องกันและควบคุมการแพร่ระบาดของเชื้อรา *Sclerotium* sp. ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. การควบคุมด้วยวิธีเขตกรรม

การปรับปรุงดินด้วยการเติมฟางข้าว หรือซังข้าวโพดในดินสามารถจำกัดการเกิดโรคเนื่องจากเชื้อราชนิดนี้ได้ ดังนั้นการปลูกพืชหมุนเวียน เช่น ข้าวโพด อาจช่วยลดการเกิดโรคของพืชบางชนิดได้ หรือว่าการไถพรวนเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่จะช่วยลดการเจริญของเชื้อ โดยทำให้ส่วนของเชื้อฝังจมดิน ซึ่งหากลึกเกินกว่า 12 เซนติเมตร เชื้อจะไม่สามารถเจริญได้ หรือหากเกิดโรคมามากควรใช้วิธีการไถกลับ ร่วมกับการใส่ปุ๋ยในโตรเจน สารเคมี หรือหลีกเลี่ยงการปลูกพืชในแปลงปลูกนั้น (Punja, 1985)

2. การควบคุมด้วยสารเคมี

สารเคมีที่ใช้ควบคุมเชื้อรา *Sclerotium* sp. เป็นสารเคมีที่ใช้ออบหรือรมดิน เช่น Methyl bromide หรือ Chloropicrin (Punja, 1985) แต่อาจจะเสียค่าใช้จ่ายสูง การใช้สารเคมีกลุ่มคาร์บอกซิน (Carboxin) ก็สามารถใช้ควบคุมเชื้อราชนิดนี้ได้

3. การควบคุมด้วยจุลินทรีย์

มีรายงานการใช้เชื้อรากลุ่มไตรโคเดอร์มา (*Trichoderma* spp.) ซึ่งเป็นเชื้อราที่มีคุณสมบัติในการเป็นปรสิตของเชื้อรา *Sclerotium* sp. โดยเชื้อราไตรโคเดอร์มาจะสามารถเข้าทำลายด้วยการใช้เส้นใยตัวเองพันรอบเส้นใยเชื้อรา *Sclerotium* sp. แล้วทำการย่อยผนังเซลล์แล้วเข้าไปเจริญภายในเส้นใยของเชื้อรา *Sclerotium* sp. โดยตรง (Elad et al., 1983) ซึ่งเอนไซม์ที่สร้างขึ้นจากเชื้อราไตรโคเดอร์มามีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อรา

นอกจากนี้เชื้อราไตรโคเดอร์มายังสามารถเข้าทำลายเมล็ดสเคลอโรเทียมโดยการแทงผ่านชั้น Rind และ Cortex เข้าไปในชั้น Medulla ที่ถูกย่อยสลายแล้วทำการสร้าง Chlamadospore อยู่ภายใน และสร้าง Conidia อยู่ภายนอกเมล็ดสเคลอโรเทียม (Henis et al., 1983)

มีรายงานอื่นที่ระบุไว้ว่า เชื้อราชนิด *T. viride*, *Penicillium* sp., *Laetisaria arvalis* หรือแบคทีเรีย เช่น *Bacillus* spp. และ *Pseudomonas fluorescens* สามารถสร้างเอนไซม์ หรือสารปฏิชีวนะที่สามารถทำลายและยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Sclerotium* sp. ได้ (Holliday, 1980, Cook and Baker, 1983, Conway, 1986)

2.4 ข้อมูลทางชีววิทยาของข้าวและคะน้า

2.4.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของผักคะน้า

ชื่อไทย ผักคะน้า ชื่อสามัญ Chinese Kale

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Brassica oleracea* L วงศ์ Cruciferae

ผักคะน้าเป็นผักที่นิยมปลูกเพื่อบริโภคกันมากทั่วทุกภาคของประเทศไทย และมีความสำคัญทางเศรษฐกิจอยู่ในหลายประเทศของทวีปเอเชีย ผักคะน้ามีถิ่นกำเนิดในเอเชียและมีการแพร่กระจายเข้าสู่ประเทศอินเดียและสาธารณรัฐประชาชนจีน ทำให้มีการปลูกคะน้ากันมากในแถบเอเชียและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ใต้หวัน สาธารณรัฐประชาชนจีน สาธารณรัฐสิงคโปร์ มาเลเซีย สาธารณรัฐสังคมนิยมเวียดนาม และประเทศไทย เป็นต้น คะน้าเป็นพืชที่ปลูกเพื่อบริโภคส่วนของใบและลำต้น สามารถนำมาประกอบอาหารได้หลายชนิด ปลูกง่าย มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้น สามารถเก็บเกี่ยวได้ตั้งแต่ต้นกล้าขนาดเล็กจนถึงโตเต็มที่อายุประมาณ 60 วัน ลักษณะทั่วไป ผักคะน้าเป็นผักอายุ 2 ปี แต่นิยมปลูกเป็นผักอายุปีเดียว อายุตั้งแต่หว่านหรือหยอดเมล็ดจนถึงเก็บเกี่ยวประมาณ 45 - 55 วัน ผักคะน้าสามารถปลูกได้ตลอดปี (อุดม โกสยสุก, 2537)

ช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการปลูกคะน้าได้ดีที่สุด คือ ตั้งแต่เดือนตุลาคม - เมษายน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในระหว่างเดือนพฤศจิกายน - มกราคม จะปลูกได้ผลผลิตดีที่สุด แต่จะเป็นช่วงที่ผักคะน้ามีราคาต่ำที่สุด เนื่องจากว่ามีผลผลิตออกมาสู่ตลาดมากพร้อม ๆ กัน ส่วนช่วงระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงกันยายน ซึ่งเป็นช่วงฤดูร้อนและฤดูฝนสามารถปลูกได้ดีเช่นกัน (สุนทร เรืองเกษม, 2539)

สายพันธุ์ของผักคะน้าที่นิยมปลูกในประเทศไทยเป็นคะน้าดอกขาว โดยส่งเมล็ดพันธุ์จากต่างประเทศ เช่น ประเทศญี่ปุ่น เกาหลี ออสเตรเลีย และสาธารณรัฐประชาชนจีน เป็นต้น นำเข้ามาปลูกและปรับปรุงพันธุ์ปัจจุบันพันธุ์คะน้าที่นิยมปลูกในประเทศไทยมีอยู่ 3 พันธุ์ด้วยกัน ได้แก่

1. **พันธุ์ใบกลม** เป็นพันธุ์ที่มีลักษณะใบกว้างใหญ่ ปล้องสั้น ปลายใบมน และผิวใบเป็นคลื่นเล็กน้อย ได้แก่ พันธุ์ฝางเบอร์ 1

2. **พันธุ์ใบแหลม** เป็นพันธุ์ที่มีลักษณะใบแคบกว่าพันธุ์ใบกลม ปลายใบแหลม ข้อห่าง ผิวใบเรียบ ได้แก่ พันธุ์ P.L. 20

3. พันธุ์ยอดหรือก้าน เป็นพันธุ์ที่มีลักษณะใบเหมือนกับคะน้ำใบแหลม แต่จำนวนใบต่อต้นมีน้อยกว่า ปล้องยาวกว่า ได้แก่ พันธุ์แม่โจ้ 1

ทั้งสามพันธุ์ เป็นพันธุ์ที่มีลักษณะตรงกับความต้องการของผู้บริโภค ลำต้นเดี่ยว อวบ ส่วนกลางป่องใหญ่ ใบเรียบ ปลายใบแหลมตั้งชี้ขึ้น ก้านใบบาง ช่วงข้าวมีน้ำหนักร้อยละ 15-20 ลำต้นและก้านมากกว่าใบ ให้ผลผลิตสูง ปลุกได้ทุกภาคตลอดปี อายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 45-48 วัน ลำต้นสูงเฉลี่ย 33 - 40 เซนติเมตร ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้นส่วนที่ใหญ่ที่สุด คือ 2 เซนติเมตร จำนวนใบเฉลี่ย 9 ใบ น้ำหนักเฉลี่ยต่อต้น 143 กรัม อายุตั้งแต่ปลุกถึงออกดอกประมาณ 50-55 วัน ให้ผลผลิตประมาณ 1,500-2,000 กิโลกรัมต่อไร่

2.4.2 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าว

ข้าวเป็นพืชตระกูลหญ้า (Gramineae) ซึ่งจัดอยู่ในสกุล (Genus) *Oryza* ข้าวมีชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name) ว่า *Oryza sativa* L. ชื่อสามัญ (Common name) คือ Rice โดยการจำแนกทางอนุกรมวิธาน (Taxonomic classification) ของข้าวมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

ชั้น (Class) : Angiospermae

ชั้นย่อย (Subclass) : Monocotyledoneae

อันดับ (Order) : Graminales

วงศ์ (Family) : Gramineae

วงศ์ย่อย (Sub-family) : Pooideae

เผ่า (Tribe) : Oryzeae

สกุล (Genus) : *Oryza*

ชนิด (Species) : *Oryza sativa*

ข้าวในสกุล *Oryza* ประกอบด้วยชนิด (Species) ต่าง ๆ ถึง 25 ชนิด แต่ชนิดที่เพาะปลูกเป็นอาหารมีเพียง 2 ชนิด คือ *Oryza sativa* และ ชนิด *O. glaberrima* พันธุ์ข้าวที่มนุษย์เพาะปลูกในปัจจุบันพัฒนามาจากข้าวป่า (*O. glaberrima*) ข้าวสามารถเจริญเติบโตได้ตั้งแต่พื้นที่ที่มีความสูงระดับน้ำทะเลถึง 2,500 เมตรหรือสูงกว่า ทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่น ทั้งในที่ราบลุ่มจนถึงที่สูง ครอบคลุมพื้นที่ตั้งแต่เส้นรุ้งที่ 53 องศาเหนือถึง 35 องศาใต้ ข้าวชนิด *O. sativa* มีการเพาะปลูกทั่วไปในเขตต่าง ๆ ของโลก ซึ่งปลูกอยู่บ้างในแอฟริกาตะวันตก ข้าวชนิด *O. sativa* มีการปรับตัวเข้ากับสภาพท้องถิ่นต่าง ๆ สามารถจำแนกได้เป็น 3 ชนิดย่อย (Sub-species) คือ ชนิดย่อย *indica*, *japonica* และ *javanica* ความแตกต่างของข้าวชนิด *O. glaberrima* และ *O. sativa* คือ ลักษณะการแตก Secondary

branch ของรวงข้าว (Panicle) และมีความแตกต่างเล็กน้อยในส่วนของขนบนเปลือกดอกใหญ่ (Lemma) และความยาวของลิ้นใบหรือเยื่อเกี่ยวพันน้ำฝน (Ligule)

ลักษณะทั่วไปทางพฤกษศาสตร์ของข้าว มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. ลำต้น (Culm)

ลำต้นของข้าวประกอบด้วยชุดของข้อ (Node) และปล้อง (Internode) ตรงส่วนของข้อจะเป็นที่เกิดของใบและตา ตาอาจเจริญขึ้นเป็นแขนง (Tiller) เยื่อที่อยู่ภายในข้อ (Nodal septum) จะแบ่งปล้องออกจากกัน ปล้องของลำต้นที่เจริญเติบโตเต็มที่แล้วจะกลวง ความยาวของปล้องจะแตกต่างกันโดย ปล้องที่อยู่บน ๆ จะยาวกว่าปล้องที่อยู่ล่าง ๆ ปล้องล่าง ๆ หลายปล้องอยู่ติด ๆ กัน ทำให้ลำต้นส่วนล่างมีลักษณะตัน ส่วนของแขนงจะแตกออกจากลำต้นหลัก (Main culm) โดยรูปแบบการแตกแขนงจะเป็นลักษณะสลับข้างกัน (Alternate pattern)

2. ใบ (Leaf)

ใบจะประกอบด้วยกาบใบ (Sheath) และแผ่นใบ (Blade) กาบใบจะหุ้มส่วนของลำต้นไว้ บริเวณฐานของกาบใบมีลักษณะพองนูนเรียกว่า Sheath pulvinus แผ่นใบจะอยู่ต่อจากกาบใบมีความยาว ความกว้าง รูปร่าง สี และขนบนใบแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ ใบที่อยู่บนสุดที่อยู่ถัดลงมาจากรวงเรียกว่า ใบธง (Flag leaf) ใบธงมักมีลักษณะผิวด้านบนใบจากใบ อื่น ๆ ในต้น ในเรื่องของรูปร่าง ขนาด และมุมใบ ข้าวสายพันธุ์ที่ต่างกันจะมีจำนวนใบแตกต่างกันไปด้วย บริเวณแผ่นใบด้านบนจะมีสันเล็ก ๆ จำนวนมาก ซึ่งเป็นส่วนของเส้นใบที่ขนานกัน (Parallel veins) และสันที่ใหญ่ที่สุดอยู่ตรงแนวกลางของผิวใบด้านล่างเป็นส่วนของเส้นกลางใบ (Midrib) บริเวณส่วนของฐานใบจะปรากฏหูใบหรือเขี้ยวใบ (Auricles) ซึ่งเป็นระยางค์มีขนลักษณะรูปเคียว จะติดอยู่กับฐานของแผ่นใบทั้ง 2 ขอบ รอยต่อระหว่างแผ่นใบและกาบใบจะเป็นแถบสีขาว ๆ ซึ่งเรียกว่า Collar หรือ Junctura และที่รอยต่อนี้จะมีเยื่อบาง ๆ ผิวเกลี้ยงเรียบ หรือมีขนตอนปลายเยื่ออยู่เรียกว่า เยื่อเกี่ยวพัน (Ligule)

3. ช่อดอก (Inflorescence, panicle)

ช่อดอกข้าวหรือรวงข้าวจะเกิดอยู่เหนือปล้องสุดท้ายของลำต้น (Uppermost internode) ช่อดอกข้าวเป็นแบบ Panicle เจริญมาจากตายอด (Terminal bud) โดยมีลักษณะเป็นช่อดอกที่ดอกย่อยที่อยู่ส่วนล่างบานก่อนส่วนบน (Racemose type) ในระยะเวลา 2-3 วันหลังการเริ่มกำเนิดช่อดอก (Panicle initiation) ช่อดอกจะมีขนาดยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร ซึ่งอาจสังเกตเห็นได้ด้วยตาเปล่า หรือด้วยแว่นขยายเมื่อผ่าต้นข้าวตามยาวถึงปลายยอด

4. ดอกข้าว (Spikelet)

ดอกข้าวมีขนาดเล็กเกิดเป็นกลุ่มเรียกว่า Spikelet โดยจะเกิดอยู่บนก้านดอก (Pedicel) ปลายของก้านดอกจะพองเป็นปมมนซึ่งเป็นเปลือกนอก (Glume) กลีบดอกที่หุ้มดอกข้าวมี 2 กลีบ ได้แก่ กลีบด้านนอก (Outer glume) และกลีบด้านใน (Inner glume)

ภายในดอกประกอบด้วยของพืชในสกุล *Oryza* จะประกอบด้วยดอกย่อย (Floret) จำนวน 3 ดอก แต่มีดอกย่อยเพียงดอกเดียวที่มีการเจริญ เรียกว่า Flowering glume ส่วนดอกย่อยที่ไม่เจริญ 2 ดอกนั้นเหลือเฉพาะส่วน Lemma ที่เรียกว่า Sterile lemma หรือ Non-flowering glume จำนวน 2 กลีบ ที่มีความยาวไม่เกิน 1/3 ของดอกย่อยที่มีการเจริญ กลีบทั้งสองนี้ยังคงปรากฏให้เห็นอยู่พื้นฐานของเมล็ด เมื่อเมล็ดสุกแก่แล้ว ภายในดอกย่อยที่มีการเจริญจะประกอบด้วย เกสรเพศผู้ (Stamen) 6 อัน และเกสรเพศเมีย (Pistill) ที่ประกอบด้วยรังไข่ (Ovary) ที่มี 1 ออวูล (Ovule) เกสรเพศเมียจะมีก้านชูเกสรตัวเมีย (Style) ตื้น และยอดเกสรเพศเมีย (Stigma) แยกเป็น 2 แฉก มีลักษณะคล้ายขนนกเรียกว่า Plumose stigma เยื่อรองรับรังไข่ (Lodicule) มี 2 อัน ขนาดเล็ก ใส อยู่ในส่วนฐานของรังไข่

ดอกข้าวเริ่มบานจากส่วนปลายช่อลงมา ดอกในช่อหนึ่งๆ จะบานหมดภายใน 6-7 วัน แต่ละดอกจะบานนานตั้งแต่ประมาณ 6 นาทีจนถึงมากกว่า 1 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับความชื้นของอากาศ อุณหภูมิ และแสงแดด

5. เมล็ดข้าว (Rice fruit, Rice grain, Rice seed)

เมล็ดข้าวเป็นผลที่มีเยื่อหุ้มผล (Pericarp) เชื่อมรวมกับเยื่อหุ้มเมล็ด (Seed coat) เรียกผลแบบ Caryopsis เมล็ดข้าวประกอบด้วยรังไข่ที่สุกแล้วพร้อมทั้งมี เปลือกนอกแผ่นใหญ่ (Lemma) เปลือกนอกแผ่นเล็ก (Palea) Rachilla, Sterile lemmas และหนวดข้าวซึ่งอาจจะมีหรือไม่มีก็ได้ติดอยู่ ส่วนที่เป็นเปลือกคือ Lemma, Palea, Sterile lemma, Rachilla และหนวดข้าว รวมเรียกว่า แกลบ (Hull หรือ Husk)

เมล็ดข้าวที่แยกส่วนแกลบออกเรียกว่า Caryopsis หรือ ข้าวกล้อง (Brown rice) ชั้นนอกสุดของข้าวกล้องคือชั้นของ Pericarp ซึ่งแบ่งย่อยออกได้เป็น 3 ชั้น คือ Epicarp, Mesocarp และ Endocarp ถัดจาก Pericarp เข้ามาจะเป็นชั้นของ Tegmen หรือ Seed coat ถัดจาก tegment เข้ามาจะเป็นชั้นของ Aleurone layer ซึ่ง Aleurone layer จะเป็นเยื่อชั้นในสุดที่ห่อหุ้มเอนโดสเปิร์ม (Endosperm) และคัพภะ (Embryo)

คัพภะที่อยู่ทางด้านล่างของเมล็ดทางด้าน Lemma จะประกอบด้วยส่วนที่จะเจริญเป็นต้น เรียกว่า Plumule และส่วนที่จะเจริญเป็นราก เรียกว่า Radicle ส่วนเอนโดสเปิร์มจะประกอบด้วยแป้งเป็นส่วนใหญ่อยู่ปะปนกับโปรตีน ข้าวเหนียวจะมีแป้งชนิด Amylopectin เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายไอโอดีน-โพตัสเซียม ไอโอไดค์ จะให้สีน้ำตาลแดง ส่วนแป้งข้าวเจ้าจะมีทั้ง Amylose และ Amylopectin ซึ่งเมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายไอโอดีน-โพตัสเซียม ไอโอไดค์ จะให้

สิ้นน้ำเงินเข้ม ในเอนโดสเปิร์มนอกจากจะประกอบด้วยแป้งและโปรตีนแล้วยังประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิด ไขมัน เยื่อใย และสารอนินทรีย์

6. ราก (Root)

ข้าวมีรากเป็นระบบรากฝอย (Fibrous root system) รากอันแรกที่เจริญมาจากส่วนของแรดิเคิล (Radicle) เรียกว่า Primary seminal root ซึ่งรากนี้จะทำหน้าที่เป็นรากชั่วคราว นอกจากรากชั่วคราวที่เจริญจากแรดิเคิล แล้ว ยังมีรากชั่วคราวอันอื่นอีก 2-3 ราก ซึ่งเกิดตามมา เรียกว่า Secondary seminal roots ซึ่งจะพัฒนาไปเป็นรากแขนง (Lateral roots) รากชั่วคราวเหล่านี้จะเน่าเปื่อยไป และถูกแทนที่ด้วยระบบรากชุดที่สองที่เรียกว่า รากพิเศษ (Adventitious roots) ซึ่งเกิดจากส่วนของข้อของลำต้นที่อยู่ใต้ดิน ข้าวขึ้นน้ำ (Floating rice varieties) สามารถเกิดรากที่ข้อของ ลำต้นที่อยู่สูงขึ้นมา แต่อยู่ได้ระดับผิวน้ำ รากพิเศษอาจเกิดจากส่วนอื่น ๆ ของลำต้นได้ เช่น เกิดที่ข้อเหนือดินก็เป็นรากค้ำจุน (Prop roots) หรืออาจจะเกิดตามปล้องของต้นข้าว เช่น Mesocotyl roots ซึ่งเกิดจากปล้อง Mesocotyl และเกิดเฉพาะเมื่อเมล็ดถูกฝังไว้ก่อนข้างลึก หรือเมื่อเมล็ดถูกอบหรือคลุกด้วยสารเคมีบางอย่าง

รากพิเศษ (Adventitious roots) แต่ละอันจะมีการแตกแขนงออกไปเป็นลำดับ จาก Primary root เป็น Secondary root จาก Secondary root แตกออกเป็น Tertiary root และในสภาพที่มีน้ำขัง รากอาจแตกแขนงออกได้ถึง 6 ลำดับ

ลักษณะพิเศษประการหนึ่งของรากข้าวคือ การที่มีช่องอากาศขนาดใหญ่ในรากที่เติบโตเต็มที่แล้ว เรียกว่า Lysigenous intercellular space ซึ่งช่องอากาศนี้จะเชื่อมต่อกับช่องอากาศในลำต้นและใบ ทำให้อากาศส่งผ่านจากส่วนยอดมาสู่ส่วนรากได้

การขยายพันธุ์ของข้าว

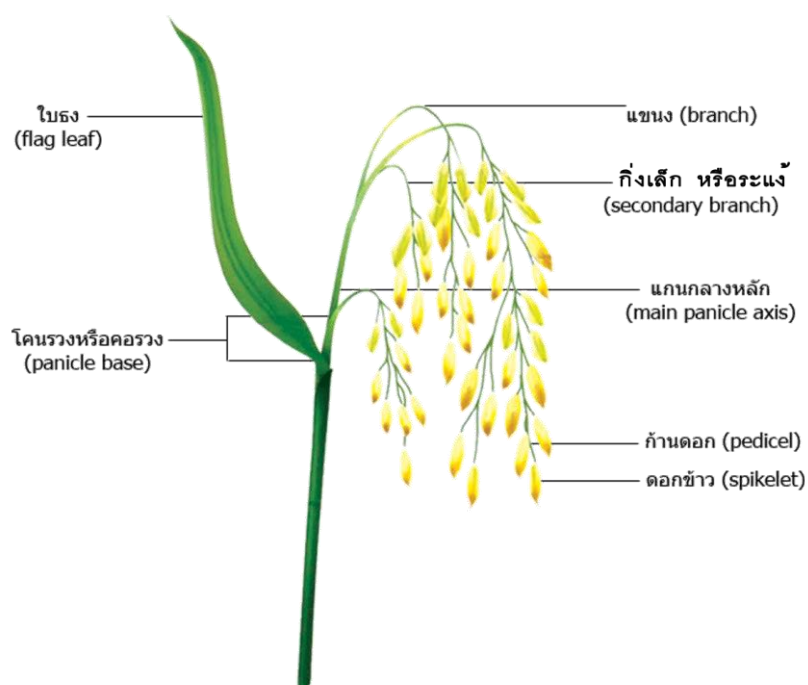
ข้าวจะขยายพันธุ์ด้วยเมล็ดซึ่งเกิดจากการปฏิสนธิจากเซลล์สืบพันธุ์จากเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมีย ดังนั้นลักษณะสำคัญที่เกี่ยวกับการขยายพันธุ์ คือ รวง ดอกข้าว และเมล็ดข้าว (สถาบันวิจัยข้าว, 2542) ซึ่งมีรายละเอียดที่สำคัญดังนี้

1. รวงข้าว (Panicle) (รูปที่ 2-9) หมายถึง ช่อดอกของข้าว (Inflorescence) ซึ่งเกิดขึ้นที่ข้อของปล้องอันสุดท้ายของต้นข้าว ระยะระหว่างข้อบนของปล้องสุดท้ายกับข้อต่อของใบธง เรียกว่า คอรวง

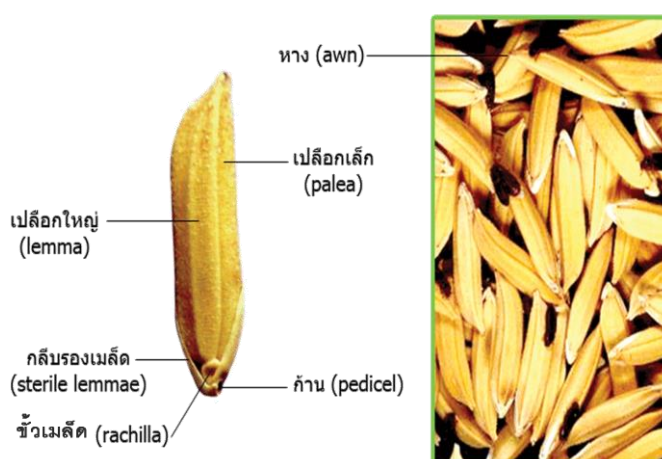
2. ดอกข้าว หมายถึง ส่วนที่เกสรเพศผู้และเกสรเพศเมียจะเกิดกระบวนการผสมพันธุ์ ส่วนประกอบของดอกข้าว ประกอบไปด้วยเปลือกนอกใหญ่สองแผ่นประสานกัน เพื่อห่อหุ้มส่วนที่อยู่ภายในไว้ เปลือกนอกใหญ่แผ่นที่นอกสุด เรียกว่า เลมมา (Lemma) ส่วนเปลือกนอกใหญ่แผ่นที่อยู่ด้านในจะเรียกว่า พาเลีย (Palea) เปลือกนอกทั้งสองนี้อาจมีขนหรือไม่มีก็ได้

3. เมล็ดข้าว (รูปที่ 2-10 และ 2-11) หมายถึง ส่วนที่เป็นแป้งที่เรียกว่า เอนโดสเปิร์ม (Endosperm) ส่วนนี้จะเป็นแป้งที่มนุษย์นำมาบริโภค และส่วนที่เป็นคัพภะ (Germ) ซึ่งจะเป็นส่วนที่มี

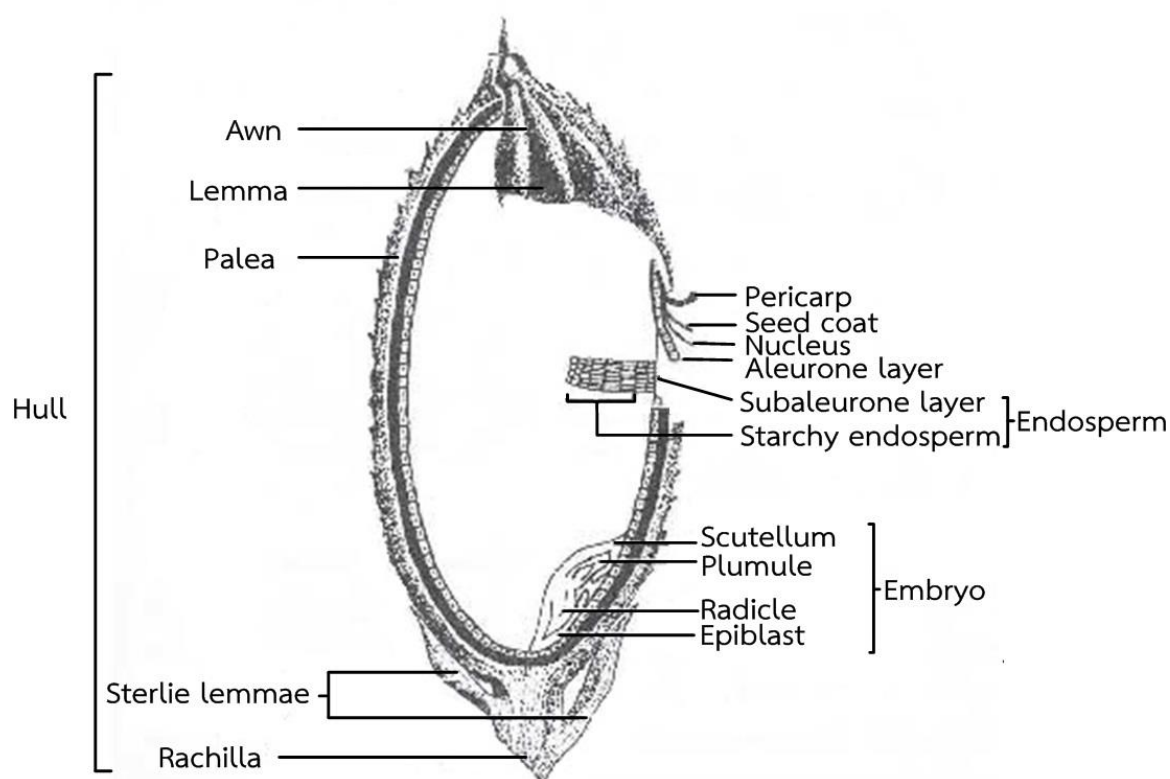
ชีวิตและงอกออกมาเป็นต้นข้าว ทั้งเอนโดสเปิร์มและคัพภะจะถูกห่อหุ้มไว้โดยเปลือกนอกใหญ่สองแผ่น



รูปที่ 2-9 ส่วนประกอบของรวงข้าว (Panicle)
ที่นา (กรมการข้าว, มปป)



รูปที่ 2-10 ส่วนประกอบของข้าวเปลือก (Whole grain rice)
ที่นา (กรมการข้าว, มปป)



รูปที่ 2-11 ส่วนประกอบของเมล็ดข้าว

ที่มา (Juliano, 1993)

ผลผลิตข้าว

ในปัจจุบันนี้ประเทศผู้ผลิตข้าวส่วนใหญ่มีผลผลิตข้าวสารรวมเพิ่มขึ้น โดยในปี 2554/55 ผลผลิตข้าวโลกมีจำนวน 467.0 ล้านตันข้าวสาร ในปี 2555/56 ผลผลิตข้าวโลกมีจำนวน 471.9 ล้านตันข้าวสาร และในปี 2556/57 ผลผลิตข้าวโลกมีจำนวน 476.4 ล้านตันข้าวสาร (ตารางที่ 2-1) ซึ่งกล่าวได้ว่าสถานการณ์ข้าวในตลาดโลกยังมีความสำคัญ จากรายงานจากสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2557) ระบุว่าผลผลิตข้าวในปี การเพาะปลูก 2557/58 นั้นเนื้อที่ในการปลูกข้าวน้อยลงจากปีการเพาะปลูก 2556/57 เนื่องจากมีการปรับเปลี่ยนนโยบายของรัฐบาล อีกทั้งราคาข้าวยังมีแนวโน้มลดลง เกษตรกรบางส่วนจึงหันไปปลูกอ้อยโรงงานที่มีผลตอบแทนที่ดีกว่า และมีแหล่งรับซื้อที่แน่นอน ในส่วนการผลิตข้าวในปีนั้นพื้นที่การผลิตในภาคตะวันออกเฉียงเหนือได้รับผลกระทบจากภาวะฝนแล้ง ทำให้ผลผลิตของข้าวเสียหาย ส่วนการปลูกข้าวนาปรัง ก็พบว่าเนื้อที่ในการเพาะปลูกลดลงเช่นกัน เนื่องจากปริมาณน้ำในเขื่อนมีน้อย จึงไม่เพียงพอต่อการปลูกข้าวนาปรัง

ตารางที่ 2-1 ผลผลิตข้าวโลก ปี พ.ศ.2554-2557 (หน่วย: ล้านตันข้าวสาร)

ประเทศ	ปี 2554/55	ปี 2555/56	ปี 2556/57
จีน	140.7	143.0	142.5
อินเดีย	105.3	105.2	106.5
อินโดนีเซีย	36.5	36.6	36.0
บังคลาเทศ	33.7	33.8	34.4
เวียดนาม	27.2	27.5	28.0
ไทย	20.5	20.2	20.5
ฟิลิปปินส์	10.7	11.4	11.9
เมียนมาร์	11.5	11.7	12.0
อื่นๆ	80.9	82.5	84.6
รวม	467.0	471.9	476.4

ที่มา: คัดแปลงจาก สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (2557)

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ศุภิรัตน์ สิมะเคื้อ พรพิมล อธิปัญญาคม และอภิรัชต์ สมฤทธิ์ (2553) ทำการสำรวจ และเก็บตัวอย่างโรคพืชในประเทศไทย ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2550 ถึง กันยายน 2553 ได้ตัวอย่างโรคพืชที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium* sp. ทั้งหมด 61 ตัวอย่าง จากพืช 21 ชนิด ได้แก่ โรคโคนเน่าของพริก โรคโคนเน่าและผลเน่าของมะเขือเทศ โรคโคนเน่าของกระชายดำ โรคลำต้นของถั่วเหลือง โรคลำต้นเน่าของถั่วลิสง โรคลำต้นเน่าของข้าวโพด โรคเน่าแห้งของกล้วยไม้ *Ascocenda* กล้วยไม้ *Mokara* กล้วยไม้ช้าง กล้วยไม้ *Vanda* กล้วยไม้รองเท้านารี และกล้วยไม้เอื้องดินใบหมาก โรคโคนเน่าของเฟิร์นฮาวาย โรคลำต้นเน่าของทานตะวัน โรคลำต้นเน่าของกวนอิม โรคโคนเน่าของเศรษฐีเรือนนอก โรคโคนเน่าของพลับพลึง โรคโคนเน่าของแอสเตอร์ โรคโคนเน่าของแก้วหน้าม้า และโรคโคนเน่าของบัวสวรรค์ จากการจำแนกเชื้อชนิดพบว่าทุกตัวอย่าง เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*

สรพงศ์ เบญจศรี บุษกร อุดรรักษาดี และ สกฤตกานต์ สิมลา (2557) ทำการศึกษาเปรียบเทียบการเกิดโรครากโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ของพริกภายใต้ 2 ระบบปลูก คือ ระบบเกษตรอินทรีย์ และระบบเกษตรเคมี พบว่าพริกพันธุ์ Labmeunang และ Top star มีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคมากที่สุดภายใต้ระบบเกษตรอินทรีย์ โดยมีเปอร์เซ็นต์การติดโรคเท่ากับ 37.50% และภายใต้ระบบเกษตร

เคมีมีเปอร์เซ็นต์การติดโรคเท่ากับ 31.25% ส่วนพริก Chee มีเปอร์เซ็นต์การติดโรคน้อยที่สุดทั้งการปลูกภายใต้ระบบเกษตรอินทรีย์และเกษตรเคมี โดยมีเปอร์เซ็นต์การติดโรค 6.25% และ 2.08% ตามลำดับ

ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล และ ชนิดภา นวะพิฒ (2555) ได้ทำการศึกษาศักยภาพการควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ด้วยเชื้อแอคติโนมัยสิท *Streptomyces hygroscopicus* PACCH24 ที่สร้างเอนไซม์ไคติเนส ผลการศึกษาพบว่าการคัดแยกเชื้อจากแปลงเกษตรกรรมในจังหวัดอุบลราชธานีและศรีสะเกษด้วยอาหาร EMCA สามารถคัดแยกเชื้อได้จำนวน 283 ไอโซเลท ซึ่งเชื้อที่สามารถสร้างเอนไซม์ไคติเนสมีจำนวน 68 ไอโซเลท และเมื่อนำมาทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ EMCA พบว่าเชื้อแอคติโนมัยสิทที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อราสาเหตุก่อโรคได้ดีมีจำนวน 13 ไอโซเลท เมื่อนำเชื้อแอคติโนมัยสิทมาทดสอบประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดโรคนต้นพริก พบว่าเชื้อแอคติโนมัยสิทสามารถลดการเกิดโรคได้เท่ากับ 90 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างจากชนิดของเชื้อแอคติโนมัยสิทที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าประสิทธิภาพในการควบคุมการเกิดโรคในต้นพริกกับประสิทธิภาพการยับยั้งบนอาหารเลี้ยงเชื้อไม่มีความสัมพันธ์กัน และจากผลการทดลองกล่าวได้ว่าเชื้อแอคติโนมัยสิท *S. hygroscopicus* PACCH24 เป็นเชื้อที่มีศักยภาพสูงเหมาะสำหรับการนำไปพัฒนาเป็นสารชีวภัณฑ์เพื่อควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริก รวมทั้งการพัฒนา ร่วมกับปุ๋ยอินทรีย์รูปแบบต่างๆ เพื่อประโยชน์ในการควบคุมโรคและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นพืช

นฤมล สุขวิบูลย์ และคณะ (2558) ศึกษาเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* Sacc. สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าที่พบในประเทศไทย: ความสามารถในการก่อโรคนกกล้วยไม้และสายพันธุ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งโรค โดยผลการศึกษาพบเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* Sacc. จำนวน 43 ไอโซเลท สาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าของกล้วยไม้ ไม้ดอกไม้ประดับ และพืชอื่นๆ เมื่อแยกเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์และทดสอบความสามารถการก่อโรคกับกล้วยไม้สกุลหวายลูกผสม พบว่าสามารถก่อให้เกิดโรคด้วยระดับความรุนแรงแตกต่างกัน 41 ไอโซเลท และเมื่อทำการทดสอบแบคทีเรียปฏิปักษ์เพื่อใช้ควบคุมโรคด้วยการทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเส้นใยรา *Sclerotium rolfsii* Sacc. และประสิทธิภาพในการควบคุมโรคด้วยวิธี Dual culture technique บนอาหารเลี้ยงเชื้อพีดีเอ พบเชื้อที่มีความสามารถในการเป็นเชื้อปฏิปักษ์ คือ *Bacillus* spp. โดยเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่ดีที่สุดสามารถยับยั้งการสร้างเส้นใยได้ประมาณ 61.66-69.23%

Dutta, Dutta and Tripathi (2004) รายงานผลการวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและการนำไปใช้ประโยชน์ไว้ว่า ไคตินและไคโตซานเป็นสารชีวภาพที่มีประโยชน์หลากหลายด้าน โดยเฉพาะการนำไปใช้ผลิตสารโพลีเมอร์จากวัชพืชธรรมชาติ เนื่องจากไคตินและไคโตซานมี

องค์ประกอบของหมู่อะมิโนที่มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีได้ง่ายจึงถูกนำมาใช้ประโยชน์ในวงการอุตสาหกรรมและสารชีวภัณฑ์ทางการแพทย์ ไคตินและไคโตซานสามารถย่อยสลายได้ดีในธรรมชาติจึงไม่ก่อมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม

Tsahouridou and Thanassouloupoulos (2002) ทดลองใช้เชื้อรา *Trichoderma koningii* ควบคุมเชื้อราโรครากเน่าและโคนเน่าจากเชื้อ *Sclerotium rolfii* ในมะเขือเทศ ผลการศึกษารายงานว่าโรครากเน่าและโคนเน่ามีสาเหตุจากเชื้อราชนิด *S. rolfii* อาการของโรคจะมีลักษณะโคนต้นเป็นแผลสีน้ำตาล มีเส้นใยสีขาว หรือมีเม็ดกลมคล้ายเม็ดผักกาดสีขาวหรือน้ำตาล ทำให้พืชแคระแกรน ใบเหลืองหลุดร่วง รากหลุดร่วง การป้องกันกำจัดด้วยการใช้จุลินทรีย์จึงทางเลือกหนึ่ง ผลการทดสอบการใช้เชื้อราปฏิปักษ์ คือ *T. koningii* เคลือบเมล็ดของมะเขือเทศพบว่าเมล็ดเคลือบด้วยเชื้อราปฏิปักษ์จะสามารถเก็บรักษาได้นานถึง 4 เดือน โดยที่ *T. koningii* สามารถยับยั้งการเจริญของรา *S. rolfii* ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้มีการเคลือบ อีกทั้งสภาวะแวดล้อมในการเก็บรักษาเมล็ดพืช คือ อุณหภูมิ ยังมีผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคของ *T. koningii* อีกด้วย ผลการทดลองสรุปได้ว่า *T. koningii* มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคดังกล่าวนี้ได้ผลดี

Ewel, et al. (2006) ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของไคโตซานและอนุพันธ์ของไคโตซาน (Thiourea derivative, TUCS) ในการยับยั้งการเจริญของเส้นใย การสร้างสปอร์ และการงอกของโคนิเดียของเชื้อก่อโรคในผักกาดฝรั่ง (*Beta vulgaris*) ได้แก่ *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfii* และ *Fusarium solani* โดยผลการศึกษาพบว่าอนุพันธ์ของไคโตซานมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการพัฒนาของเชื้อราในแต่ละระยะของการเจริญแตกต่างกัน โดยระดับความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราอยู่ในช่วง 5-1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร นอกจากนี้ผลการวิจัยยังระบุว่าการยับยั้งการงอกและระดับการกำจัดหมู่อะซีติล (Degree of deacetylation) ของไคโตซานและอนุพันธ์ของไคโตซานมีความสำคัญต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค

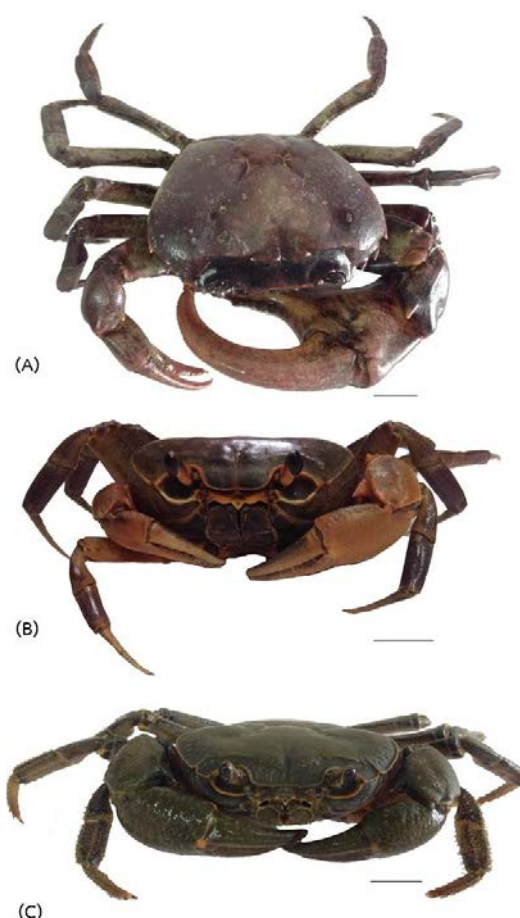
Qing, et al. (2015) ศึกษาผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคในพืช คือ *Sclerotinia sclerotiorum* ที่ก่อโรคลำต้นเน่าจากเชื้อสเคอโรเตียม (Sclerotium stem rot) ในแครอท ผลการศึกษาพบว่าไคโตซานมีผลทำให้การเจริญของเส้นใย (Mycelium) และมวลชีวภาพของเชื้อราลดลง ผลการศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์แบบฟลูออเรสเซนซ์ระบุว่าส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อราชนิดนี้ได้รับความเสียหายเมื่อมีการใช้ไคโตซาน นอกจากนี้ยังพบการรั่วไหลของโปรตีนและยับยั้งปฏิกิริยา Lipid peroxidation ในชุดทดลองที่มีการใช้ไคโตซานมากกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการใช้ไคโตซาน ผลการศึกษารูปได้ไคโตซานมีผลในการทำลายส่วนของเยื่อหุ้มเซลล์และกระบวนการ Lipid peroxidation ของเชื้อรา *Sclerotinia sclerotiorum* อีกทั้งยังส่งเสริมกลไก Elicitation ซึ่งส่งผลต่อการต้านทานต่อโรคของแครอทอีกด้วย

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

ส่วนที่ 1 การสำรวจและเก็บตัวอย่างของปูน้ำจืด

ทำการสำรวจปูน้ำจืดที่มีการกระจายพันธุ์ในพื้นที่เพชรบูรณ์โดยพยายามเลือกชนิดที่ไม่มี ความสำคัญทางเศรษฐกิจหรือเป็นศัตรูพืช และมีปริมาณที่มากพอที่จะนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการ เตรียมไคตินและไคโตซาน โดยจากการสำรวจได้ทำการเก็บตัวอย่างปูน้ำจืดแล้วทำการตรวจสอบชนิด โดยอ้างอิงจาก Naiyanetr, P. (1992), Ng and Naiyanetr (1993) และ Naiyanetr and Yeo (2010) ใน การศึกษาครั้งนี้ใช้ปูน้ำจืด 3 สกุล ได้แก่สกุล *Esanthelphusa*, *Thaipotamon* และ *Larnaudia* จำนวน 3 ชนิด ได้แก่ ปูนาชนิด *Esanthelphusa* sp., ปูป่าชนิด *Thaipotamon holthuisi* และปูน้ำจืดชนิด *Larnaudia* sp. (รูปที่ 3-1) โดยทำการเก็บตัวอย่างเปลือกปูสดน้ำหนักประมาณ 1-2 กิโลกรัม เพื่อนำมาใช้ในการ ศึกษาคุณลักษณะของไคโตซาน



รูปที่ 3-1 ปูน้ำจืดที่นำมาใช้สกัดไคตินและไคโตซาน (Scale bar = 1 cm.) (A) *Esanthelphusa* sp.

(B) *Thaipotamon holthuisi* (C) *Larnaudia* sp.

ส่วนที่ 2 การสกัดไคตินและไคโตซานจากโครงร่างภายนอกของปูน้ำจืด

3.2.1 การเตรียมตัวอย่างปูน้ำจืด

นำตัวอย่างสดของโครงร่างภายนอกหรือเปลือกปูแต่ละชนิดมาแกะเอาเนื้อและอวัยวะภายในออกจากกระดอง ตำตัว ก้าม และขาเดิน ล้างให้สะอาด แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 70°C จนเปลือกปูแห้งสนิท จากนั้นนำไปบดละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร จะได้ตัวอย่างเปลือกปู

3.2.2 การเตรียมไคติน

ในการเตรียมสารไคตินและไคโตซานดัดแปลงมาจากศราวูท ธแสอุไร (2549) ซึ่งการสกัดไคตินจะมีขั้นตอนทั้งหมด 3 ขั้นตอน คือ

- 1) การกำจัดเกลือแร่ในเปลือกปู (Demineralization)
- 2) การกำจัดโปรตีน (Deproteinization)
- 3) การกำจัดรงควัตถุ (Decolorization)

โดยมีขั้นตอนดังนี้ ชั่งเปลือกปูแห้งตัวอย่างละ 50 กรัม ใส่ในแต่ละบีกเกอร์ จำนวน 3 บีกเกอร์ เพื่อเป็นตัวแทนของการทดลอง 3 ซ้ำ เริ่มต้นด้วยกระบวนการกำจัดเกลือแร่ โดยเติมกรดไฮโดรคลอริก (HCl) 1 N ในอัตราส่วนเปลือกปูต่อกรดในอัตราส่วน 1 : 10 (w/v) แช่เปลือกปูทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นเทกรดทิ้งแล้วเติมกรดลงไปใหม่แล้วแช่ต่ออีก 1 ชั่วโมง ทำซ้ำจนหมดฟองล้างตัวอย่างจน pH เป็นกลาง จากนั้นเข้าสู่กระบวนการกำจัดโปรตีน โดยเติมโซเดียม ไฮดรอกไซด์ (NaOH) 1 N ลงในอัตราส่วนเปลือกปูต่อสารละลายในอัตราส่วน 1 : 20 (w/v) แล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ล้างตัวอย่างที่ได้ และเข้าสู่กระบวนการกำจัดรงควัตถุโดยแช่ตัวอย่างในเมทานอลในอัตราส่วนเปลือกปูต่อเมทานอล 1 : 10 (w/v) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วเทเมทานอลทิ้ง จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปแช่ในสารละลายอะซิโตนในอัตราส่วนเปลือกปูต่ออะซิโตนเท่ากับ 1 : 10 (w/v) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ล้างตัวอย่าง แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ส่วนที่ได้ คือ ไรโคติน ทำการชั่งน้ำหนักแล้วนำมาคิดเป็นร้อยละต่อน้ำหนักแห้งของเปลือกปู

3.2.3 การเตรียมไรโคติน

นำไรโคตินที่ได้มาผ่านกระบวนการกำจัดหรือลดหมู่อะซีติล (Deacetylation) เป็นการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่ใช้ในการกำจัดหรือลดหมู่อะซีติล (CH_3CO) โดยนำสารไรโคตินที่ได้จากตัวอย่างปูแต่ละชนิดไปต้มในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 50 (w/w) ที่อุณหภูมิ 100°C ในอัตราส่วนไรโคตินต่อด่างเท่ากับ 1 : 20 ใช้เวลาต้ม 2 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งให้เย็นแล้วล้างตัวอย่างจนกระทั่ง pH เป็นกลาง นำตัวอย่างที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักไรโคตินที่ได้แล้วนำมาคิดเป็นร้อยละต่อน้ำหนักแห้งของเปลือกปูและร้อยละต่อน้ำหนักแห้งของไรโคติน

3.2.4 การศึกษาคุณลักษณะของไรโคตินที่ได้จากโครงร่างภายนอกของปู

- ปริมาณเถ้า วิเคราะห์โดยวิธีมาตรฐานของ AOAC (2000)
- ลักษณะทางกายภาพ ใช้วิธีถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope, SEM)

ส่วนที่ 3 การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อโรโคนเน่าจากเชื้อรา *Sclerotium* sp.

ทำการทดสอบหาบริเวณการยับยั้ง (Inhibition zone) เชื้อด้วยวิธี Poisoned food technique โดยการนำสารละลายไรโคตินไปทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราด้วยวิธีการแพร่สารละลายในวุ้น ดัดแปลงจากวิธีของ Ahmad and Beg (2001) โดยทำการเติมสารละลายไรโคตินในการทดลองนี้เลือกใช้ไรโคตินจากปูน้ำจืดชนิด *T. holthuisi* ปริมาตร 400 ไมโครลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปพีดีเอ

(Potato dextrose agar, PDA) ปริมาตร 30 มิลลิลิตร ในการทดลองนี้ใช้ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซาน 4 ระดับ คือ 0, 500, 1,000 และ 2,000 ppm ทดสอบจำนวน 3 ซ้ำ รอให้ผิวหน้าอาหารแห้งประมาณ 5 นาที ใช้คีบคีบปลอดเชื้อ (Sterile forcep) คีบเอาเมล็ดสเคลอโรเทียมวางตรงกลางของอาหารเพาะเชื้อ นำเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิห้องประมาณ 35-37 องศาเซลเซียส ตรวจสอบบริเวณการยับยั้งที่ระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง บันทึกข้อมูลขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการเจริญของเชื้อราด้วยเวอร์เนียร์ คาลิเปอร์ (Vernier caliper)

ส่วนที่ 4 การทดสอบประสิทธิภาพของไคโตซานในการยับยั้งโรคโคนเน่าในสภาพเรือนทดลอง

4.1 การเตรียมหัวเชื้อและดินสำหรับทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อก่อโรคโคนเน่า

ทำการปลูกเชื้อร่วมกับพืชโดยเริ่มจากการเพาะเลี้ยงเชื้อราที่ก่อโรคโคนเน่าในพืชคือ *Sclerotium* sp. ซึ่งได้รับการอนุเคราะห์จากภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อพีดีเอประมาณ 5-7 วัน จากนั้นนำเชื้อราที่ได้ไปปลูกเชื้อสู่ดิน โดยใช้ดินร่วนผสมกับเมล็ดข้าวโพดป่นในอัตราส่วน 9 : 1 คลุกเข้าให้เข้ากันดี บรรจุลงในถุงพลาสติกแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แล้วนำมาปลูกเชื้อรา เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน จนเชื้อเจริญเต็มถุง จากนั้นนำดินที่มีเชื้อราไปทำให้ร่วนแล้วผสมกับดินที่ทำให้ร่วนซุยซึ่งอบฆ่าเชื้อแล้ว ใช้ดินที่มีเชื้อ 1 ส่วนผสมกับดิน 9 ส่วน โดยปริมาตร ผิดน้ำเป็นฟอยลงบนกองดิน ใช้พลาสติกคลุมให้มิดชิดทิ้งไว้นาน 2 วัน จากนั้นนำดินไปใส่ภาชนะปลูกแล้วทำการทดสอบกับพืชต่อไป

4.2 การทดสอบผลของไคโตซานในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการยับยั้งการก่อโรคโคนเน่าของข้าวและคะน้า

นำสารไคโตซานละลายในกรดอะซิติก 1 N ปรับสารละลายไคโตซานให้ได้ความเข้มข้น 1,000 ppm ปรับค่า pH ประมาณ 6.0 จากนั้นนำไปทดสอบประสิทธิภาพการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวและคะน้า รวมถึงการยับยั้งการติดโรคโคนเน่าจากเชื้อราที่ก่อโรคชนิด *Sclerotium* sp. ในระดับห้องปฏิบัติการโดยการทดสอบในสภาพเรือนทดลอง วางแผนการทดลองแบบกลุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) โดยการใช้ชุดทดลองทั้งหมด 5 ชุดทดลอง แต่ละชุดทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำ รายละเอียดของชุดทดลอง คือ

ชุดทดลองที่ 1 ใส่กากลันนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุมลบ, T1)

ชุดทดลองที่ 2 ใส่สารกำจัดเชื้อรา Dithiocarbamate ความเข้มข้น 1,000 ppm

(ชุดควบคุมบวก, T2)

ชุดทดลองที่ 3 ใส่สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1,000 ppm (T3)

ชุดทดลองที่ 4 ใส่สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1,000 ppm ร่วมกับสารกำจัด

เชื้อรา Dithiocarbamate ความเข้มข้น 1,000 ppm อัตราส่วน 1 : 1 (T4)

ชุดทดลองที่ 5 ใส่สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 1,000 ppm ร่วมกับสารกำจัด

เชื้อรา Dithiocarbamate ความเข้มข้น 1,000 ppm อัตราส่วน 3 : 1 (T5)

ปลูกกล้าข้าวพันธุ์ กข 6 ที่มีอายุ 30 วัน ลงในภาชนะปลูกจำนวน 5 ต้น (รูปที่ 3-2 A) หลังจากปลูกกล้าข้าวใส่สารละลายไคโตซานและสารกำจัดเชื้อราในรูปแบบต่างๆ ทุกสัปดาห์ เมื่อครบ 4 สัปดาห์ หาน้ำหนักแห้งเฉลี่ยต่อต้นของส่วนลำต้น ส่วนราก และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยทั้งหมด พร้อมทั้งวัดอัตราการรอดตายและบันทึกลักษณะการติดโรคโคนเน่า

สำหรับคณะจะปลูกกล้าคณะที่มีอายุ 7 วัน (รูปที่ 3-2 B) ลงในภาชนะปลูกจำนวน 5 ต้น จากนั้นดำเนินการเช่นเดียวกับการทดสอบข้าว





รูปที่ 3-2 การทดสอบประสิทธิภาพของไคโตซานในการยับยั้งการติดโรโคนเน่าจากเชื้อ *Sclerotium* sp. ในสภาพเรือนทดลองของข้าว (A) และคะน้า (B)

ส่วนที่ 5 การผลิตโอลิโกไคโตซานและการทดสอบประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญของพืช

5.1 การตัดสายพันธุ์ไคโตซานด้วยเอนไซม์

เลือกไคโตซานสำหรับผลิตโอลิโกไคโตซาน คือ ไคโตซานจากปูชนิด *Esanthephusa* sp. จากนั้นเตรียม Chitosan stock solution (CSS) ความเข้มข้น 1% โดยน้ำหนัก ในสารละลายโซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ ที่มี pH 4.5 จากนั้นเติมเอนไซม์ด้วยอัตราส่วน ดังนี้ เอนไซม์เพคตินเนส : CSS เท่ากับ 1 : 4 นำไปทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 50°C ใน Shaker water bath เก็บตัวอย่างในการทำปฏิกิริยา 180 นาที จากนั้นต้มที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 10 นาที เพื่อทำการยุติการทำงานของเอนไซม์ ตักตะกอนโดยเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 10 โมลาร์ ลงในสารละลายที่ได้ 10% โดยน้ำหนัก จากนั้นนำของแข็งที่ได้ไปกรองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 93 ล้างออกด้วยน้ำกลั่นเพื่อให้ได้สารที่มี pH 7 เก็บตัวอย่างของแข็งผึ่งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

5.2 การทดสอบประสิทธิภาพของโอลิโกไคโตซานและไคโตซานในการส่งเสริมการเจริญของพืช

นำสารโอลิโกไคโตซานพัฒนาเป็นสารชีวภาพรูปแบบน้ำโดยใช้สารพา โดยการเตรียมดังนี้ นำน้ำกลั่นหนึ่งภาชนะละลายโอลิโกไคโตซาน และไคโตซาน ซึ่งจะได้สารละลายโอลิโกไคโตซานที่มีความเข้มข้น 40 ppm สารละลายไคโตซานความเข้มข้น 40 และ 20 ppm จากนั้นนำไปทดสอบประสิทธิภาพการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชที่ใช้เป็นตัวแทน 2 ชนิด คือ ผักคะน้าและข้าว ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยทดสอบในสภาพเรือนทดลอง โดยทำการวางแผนการทดลองแบบ

กลุ่มสมบรูณ์โดยการใช้ ชุดทดลองทั้งหมด 4 ชุดทดลอง แต่ละชุดทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำ รายละเอียดของชุดทดลอง คือ

ชุดทดลองที่ 1 น้ำกลั่น จำนวน 20 ml. (เดิมสารจับใบ) (ชุดควบคุม, T1)

ชุดทดลองที่ 2 โอลิโกไคโดซานความเข้มข้น 40 ppm. จำนวน 20 ml.

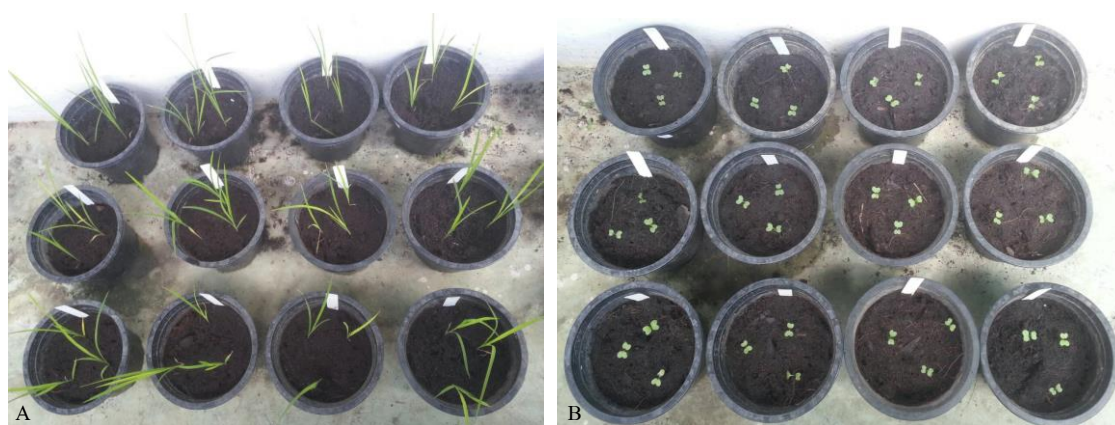
(เดิมสารจับใบ) (T2)

ชุดทดลองที่ 3 ไคโตซานความเข้มข้น 40 ppm. จำนวน 20 ml. (เดิมสารจับใบ) (T3)

ชุดทดลองที่ 4 ไคโตซานความเข้มข้น 20 ppm. จำนวน 20 ml. (เดิมสารจับใบ) (T4)

ปลูกกล้าข้าวพันธุ์ กข 6 ที่มีอายุ 30 วัน ลงในภาชนะปลูกจำนวน 3 ต้น (รูปที่ 3-3 A) หลังจากปลูกกล้าข้าวใส่สารละลายโอลิโกไคโดซานและไคโตซานในรูปแบบต่างๆ ทุกสัปดาห์ รดน้ำทุกวันพอชุ่มตลอดระยะเวลาทำการทดลอง เมื่อครบ 4 สัปดาห์จะทำการเก็บเกี่ยวต้นพืชเพื่อนำไปหาน้ำหนักแห้งเฉลี่ยต่อต้นของส่วนลำต้น ส่วนราก และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยทั้งหมด พร้อมทั้งวัดความยาวและความกว้างของใบ ความยาวราก ความสูงของลำต้น และน้ำหนักแห้ง

สำหรับคะแนนจะปลูกกล้าคะแนนที่มีอายุ 7 วัน (รูปที่ 3-3 B) ลงในภาชนะปลูกจำนวน 3 ต้น จากนั้นดำเนินการเช่นเดียวกับการทดสอบข้าว



รูปที่ 3-3 การทดสอบประสิทธิภาพของโอลิโกไคโดซานในการส่งเสริมการเจริญของของข้าว (A) และคะแนน (B) ในสภาพเรือนทดลอง

ส่วนที่ 6 การวิเคราะห์ผลการวิจัย และจัดทำรายงานวิจัยฉบับสมบรูณ์

นำเสนอข้อมูลโดยการวิเคราะห์เชิงเปรียบเทียบ และข้อมูลในเชิงปริมาณ โดยแสดงผลในรูปแบบของตาราง กราฟ แผนภูมิ และทำการวิเคราะห์ข้อมูลความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) และ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) และจัดทำรายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

บทที่ 4

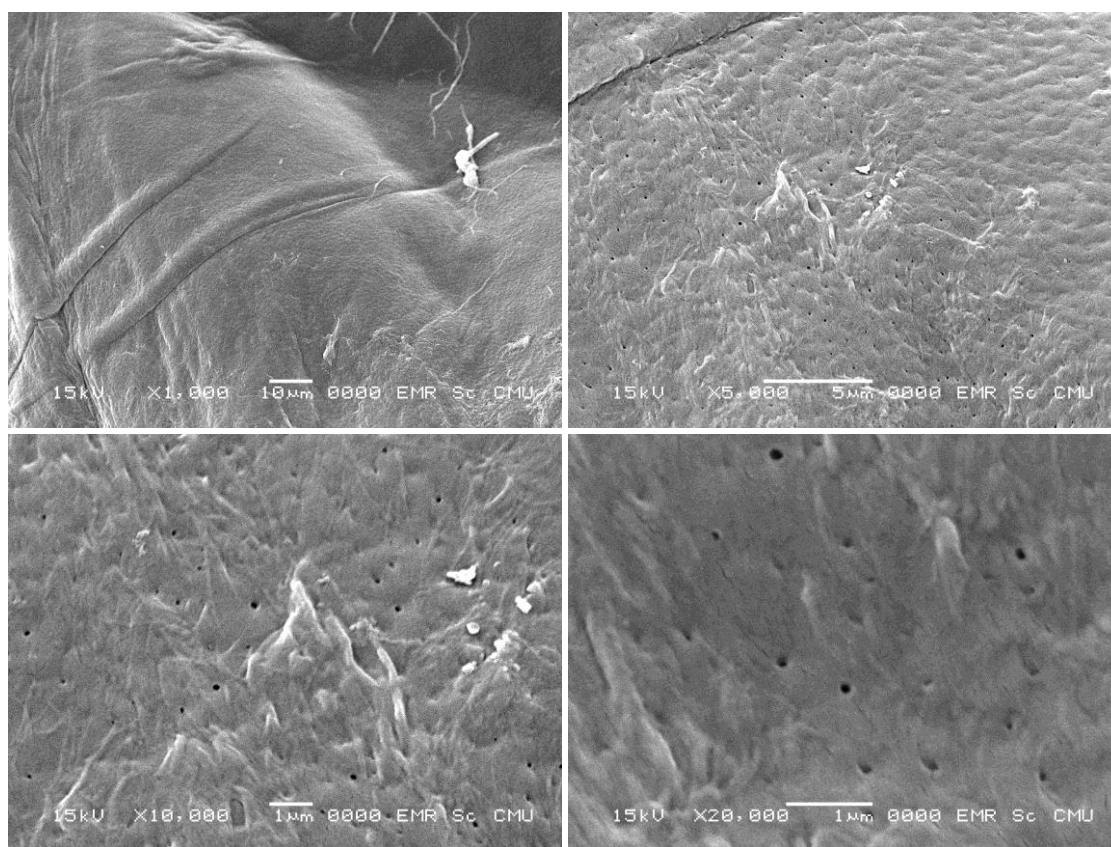
ผลการวิจัย

4.1 การสกัดไคตินและไคโตซานจากโครงร่างภายนอกของปูน้ำจืด

ผลการศึกษาด้วย Scanning electron microscopy (SEM) ซึ่งเป็นเทคนิคที่ทำให้เห็นถึงลักษณะพื้นฐานวิทยา หรือ โครงสร้างทางจุลภาค โดยจะให้ข้อมูลลักษณะทางกายภาพ คือ ลักษณะพื้นผิว (Surface) และความเป็นรูพรุน (Porosity) ของไคโตซานที่ผลิตได้จากปูน้ำจืด 3 ชนิด โดยลักษณะทางกายภาพของไคโตซานที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค SEM แสดงดังรูปที่ 4-1 ถึง 4-3 เมื่อพิจารณาลักษณะพื้นผิวพบว่าไคโตซานที่ได้จากปูน้ำจืดชนิด *Larnaudia* sp. จะมีลักษณะเรียบ ปรากฏเส้นใยเกาะติดอยู่บ้างเล็กน้อย ที่ผิวของแผ่นไคโตซานมีรูพรุนจำนวนเล็กน้อย ส่วนไคโตซานที่ผลิตได้จากปูน้ำจืดชนิด *Esanthephusa* sp. จะมีลักษณะผิวเป็นลอนคลื่น ไม่ปรากฏเส้นใยเกาะติดที่ผิวของ

A ฐาน เมื่อเพิ่มกำลังขยายมากขึ้นจะเห็นรูพรุน **B** นมาก ในขณะที่ไคโตซานที่ได้จากปูน้ำจืดชนิด *T. holthuisi* ลักษณะผิวจะเป็นลอนคลื่นคล้ายกับชนิด *Esanthelphusa* sp. แต่ที่ผิวของไคโตซานไม่มีรูพรุนและยังพบสิ่งเกาะติดอยู่ที่ผิวของไคโตซานเป็นจำนวนมาก

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณไคตินที่สกัดได้จากปูน้ำจืด 3 ชนิด พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณไคตินที่สกัดได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยค่าเฉลี่ยของปริมาณไคตินที่สกัดได้จากปูนาชนิด *Esanthelphusa* sp. (ES) มีปริมาณไคตินสูงที่สุด รองลงมาคือ ปริมาณไคตินที่สกัดได้จากปูน้ำจืดชนิด *Larnaudia* sp. (LN) และปูป่าชนิด *T. holthuisi* (TP) ตามลำดับ (ตาราง **C**) แต่เมื่อเปรียบเทียบปริมาณไคโตซานที่สกัด **D** พบว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณไคโตซานที่สกัดได้ในทุกชุดทดลองความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยปริมาณไคโตซานที่ผลิตได้สูงสุด คือ ไคโตซานที่สกัดได้จากปูน้ำจืดชนิด *Larnaudia* sp. รองลงมา คือ ไคโตซานที่สกัดได้จากปูน้ำจืดชนิด *Esanthelphusa* sp. และชนิด *T. holthuisi* ตามลำดับ ส่วนปริมาณเถ้า พบว่าไคโตซานที่ได้จากปูน้ำจืดชนิด *Larnaudia* sp. มีปริมาณค่าเฉลี่ยของเถ้าสูงกว่าปูน้ำจืดชนิด *Esanthelphusa* sp. และ *T. holthuisi* อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ



รูปที่ 4-1 ภาพถ่ายของไคโตซานจากปูน้ำจืดชนิด *Larnaudia* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

A แบบส่องกราด

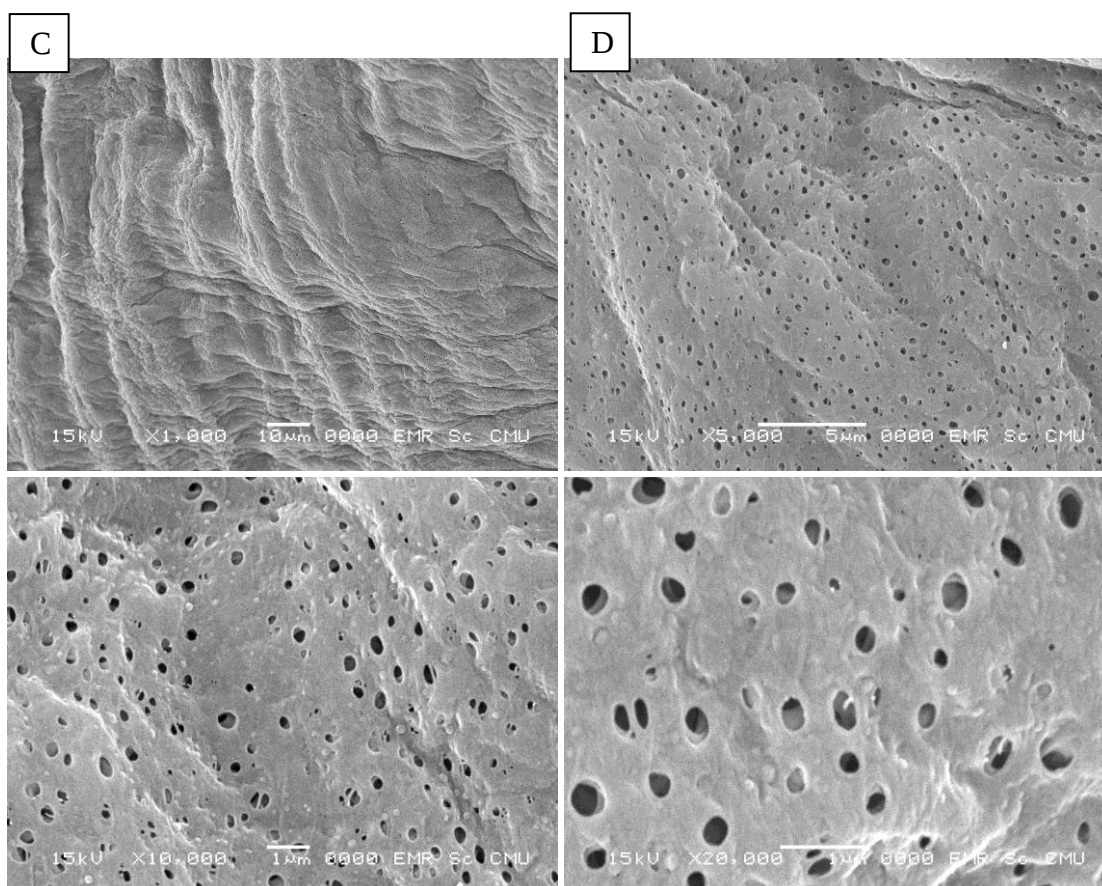
B

A: 1,000 เท่า

B: 5,000 เท่า

C: 10,000 เท่า

D: 20,000 เท่า



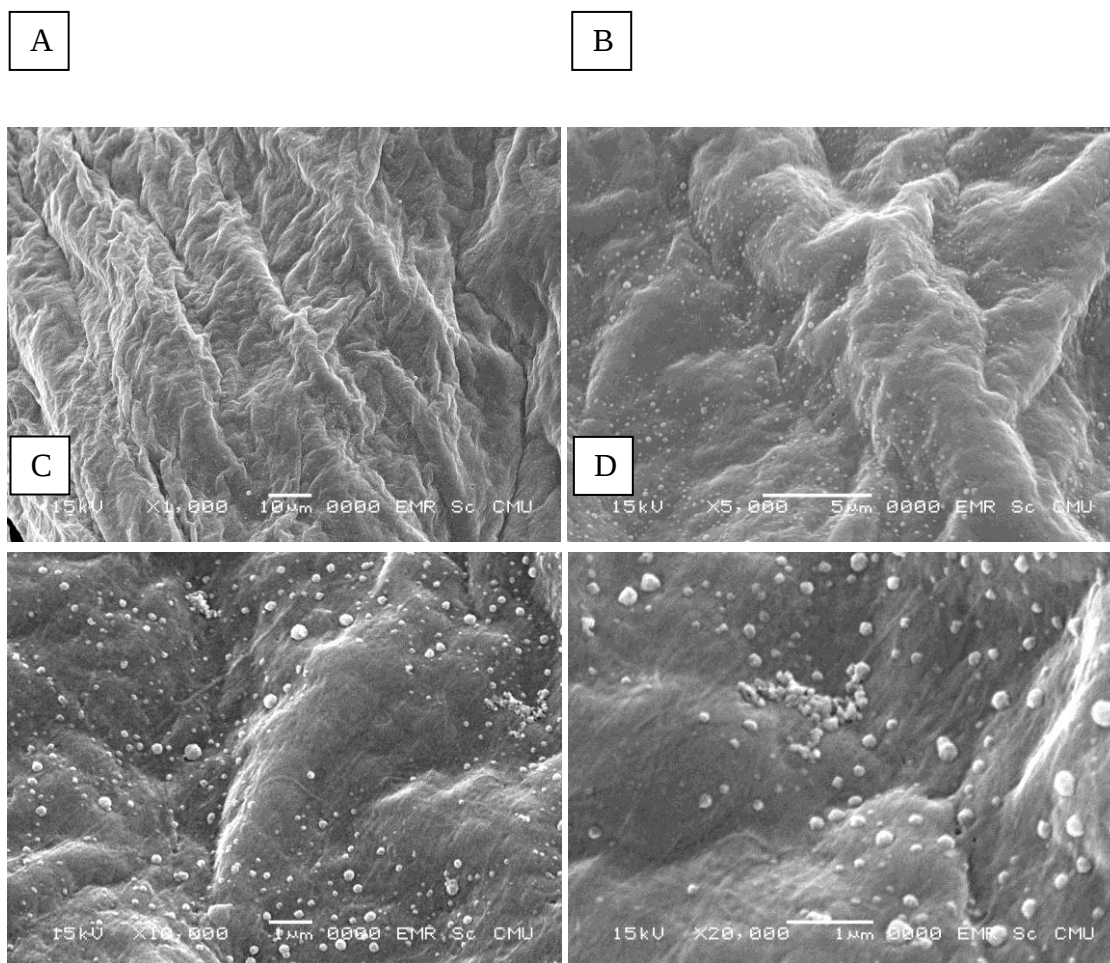
รูปที่ 4-2 ภาพถ่ายของไคโตซานจากปูนาชนิด *Esanthephusa* sp. ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

A: 1,000 เท่า

B: 5,000 เท่า

C: 10,000 เท่า

D: 20,000 เท่า



รูปที่ 4-3 ภาพถ่ายของไคโตซานจากปุ๋ยน้ำจืดชนิด *T. holthuisi* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

A: 1,000 เท่า

B: 5,000 เท่า

C: 10,000 เท่า

D: 20,000 เท่า

ตารางที่ 4-1 ปริมาณไคติน ไคโตซาน และเถ้าที่ได้จากไคโตซานของปูน้ำจืด 3 ชนิด

หน่วย: เปอร์เซ็นต์

ชนิด	ปริมาณไคติน	ปริมาณไคโตซาน	ปริมาณเถ้า
LN	7.27±0.05 ^a	79.29±0.27 ^a	2.00±0.11 ^a
ES	8.14±0.24 ^b	45.40±0.27 ^b	0.45±0.09 ^b
TP	6.52±0.33 ^c	20.02±4.74 ^c	0.63±0.40 ^b
F-test	*	*	*

* Significant at P 0.05

ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)

4.2 การทดสอบประสิทธิภาพของไคโตซานในการยับยั้งเชื้อโรคน้ำจืด

ผลการทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเชื้อราชนิด *Sclerotium* sp. ที่ก่อโรคน้ำจืดในพืช โดยทำการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อฟิเคอสำเร็จรูป แสดงผลในตารางที่ 4-2 และรูปที่ 4-4 ถึง 4-6 พบว่าในวันที่ 1 และวันที่ 3 ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อราก่อโรคโดยไคโตซานที่ได้จากโครงสร้างภายนอกของปูน้ำจืดทั้ง 3 ชนิด คือ *Larnaudia* sp. (LN), *Esantheaphusa* sp. (ES) และ *T. holthuisi* (TP) ไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางที่ 4-2) ส่วนในวันที่ 2 ผลการทดสอบพบว่าการเจริญของเส้นใยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ซึ่งไคโตซานในชุดทดลอง TP ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm. มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคน้ำจืดได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับชุดทดลองอื่นๆ แต่เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพในการยับยั้งของไคโตซานเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าสารละลายไคโตซานของปูน้ำจืดทั้ง 3 ชนิด ทุกระดับความเข้มข้นไม่สามารถยับยั้งการเจริญของเส้นใย *Sclerotium* sp. ได้ ถึงแม้ในชุดทดลอง TP เส้นใยจะมีการเจริญได้น้อยที่สุด

ตารางที่ 4-2 ผลการยับยั้งของไคโตซานจากปูน้ำจืดต่อการเจริญของเชื้อราชนิด *Sclerotium* sp.
บนอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปฟิโด

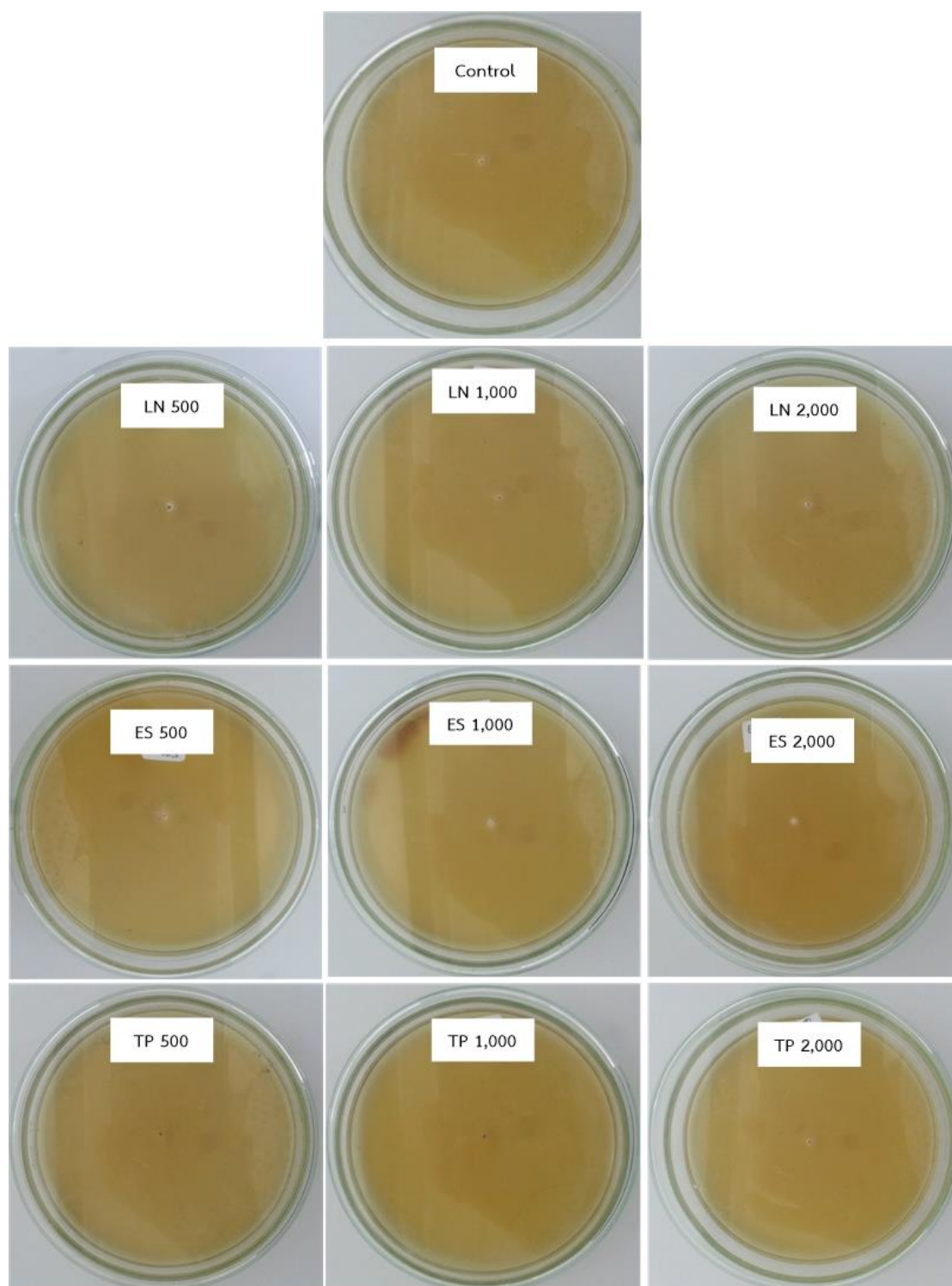
หน่วย: เซนติเมตร

ชุดทดลอง	ความเข้มข้น	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
ชุดควบคุม	-	0.18±0.20	2.36±1.32 ^{ab}	4.78±2.51
LN	500	0.15±0.40	2.45±1.46 ^{ab}	4.92±2.74
	1,000	0.24±0.11	3.18±0.20 ^b	6.42±0.45
	2,000	0.20±0.35	2.58±0.81 ^{ab}	5.73±0.98
TP	500	0.16±0.23	1.20±0.53 ^a	2.92±1.76
	1,000	0.18±0.35	1.75±0.80 ^{ab}	3.13±2.13
	2,000	0.22±0.20	2.20±1.39 ^{ab}	3.63±2.31
ES	500	0.22±0.65	2.80±0.82 ^{ab}	5.12 ±1.64
	1,000	0.18±0.42	2.33±1.24 ^{ab}	4.63±2.72
	2,000	0.20±0.24	2.93±0.40 ^{ab}	6.10±0.36
F-test		ns	*	ns

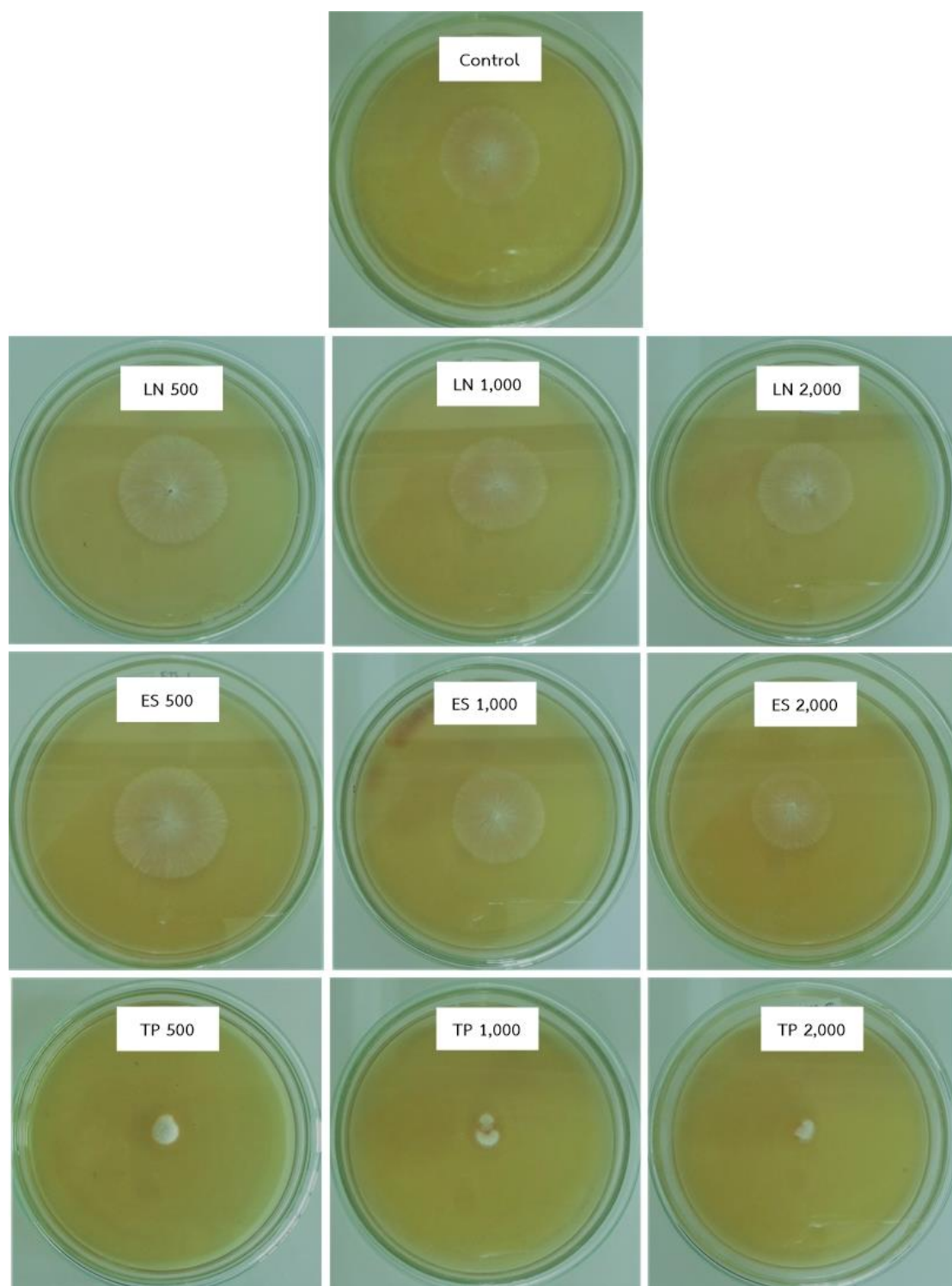
ns Not significant

* Significant at P 0.05

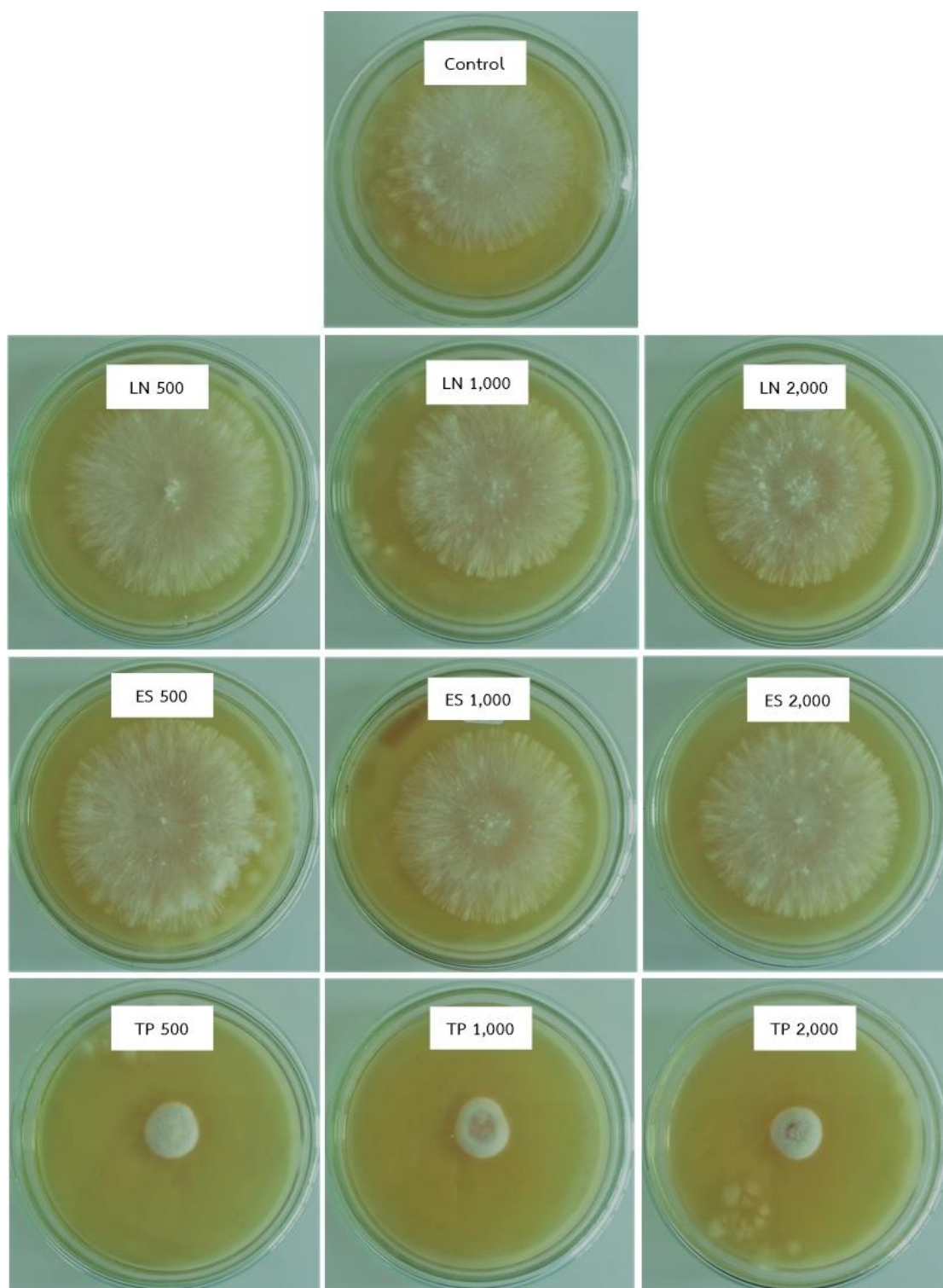
ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (p < 0.05)



รูปที่ 4-4 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อราชนิด *Sclerotium* sp. โดยไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปพีดีเอในวันที่ 1



รูปที่ 4-5 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อราชนิด *Sclerotium* sp. โดยไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปพีดีเอในวันที่ 2



รูปที่ 4-6 ผลการยับยั้งการเจริญของเชื้อราชนิด *Sclerotium* sp. โดยไคโตซานที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปฟิโดเอในวันที่ 3

4.3 การศึกษาผลของไคโตซานในการควบคุมโรคโคนเน่าและการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในสภาพเรือนทดลอง

4.3.1 การศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการเจริญเติบโตของข้าว

เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยต่อต้านของน้ำหนักแห้งของลำต้น ราก และน้ำหนักแห้งทั้งหมด พบว่าการเจริญเติบโตในส่วนของลำต้นของข้าวมีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างกัน ส่วนน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของรากและน้ำหนักแห้งทั้งหมด ผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าค่าเฉลี่ยในทุกชุดทดลองมีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าชุดทดลองที่ T3 มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งทั้งหมดและน้ำหนักแห้งของรากสูงที่สุด (ตารางที่ 4-3, ภาพที่ 4-7 ถึง 4-10) รองลงมา คือ ชุดทดลองที่ T4 และ T2 ตามลำดับ

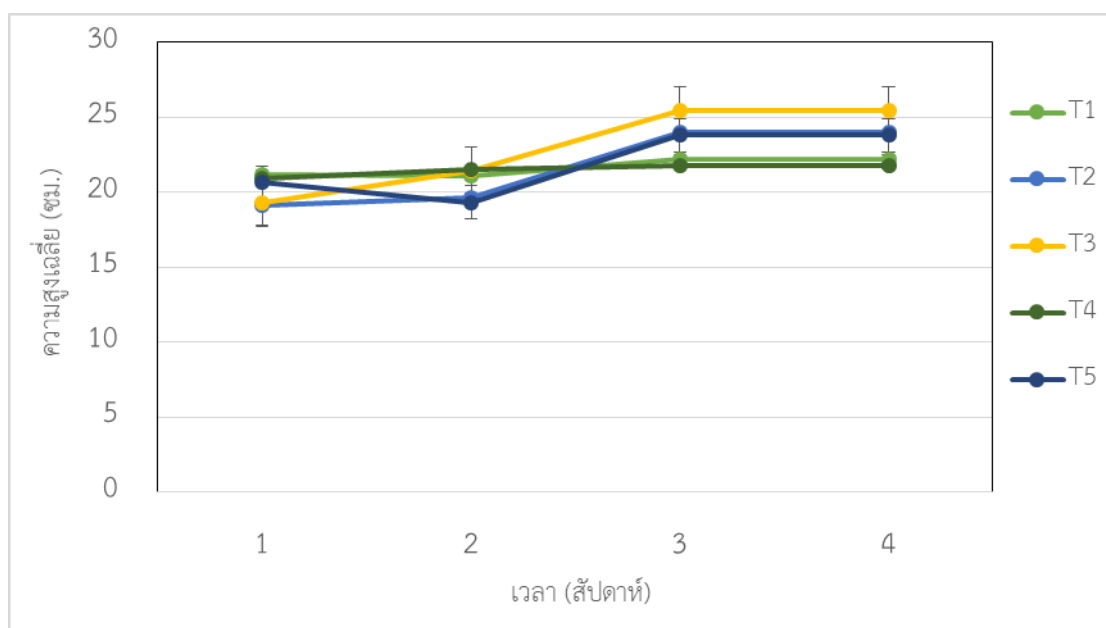
ตารางที่ 4-3 ผลของไคโตซานที่มีต่อน้ำหนักแห้งของลำต้น ราก และน้ำหนักแห้งทั้งหมดของข้าว
ภายหลังการปลูก 4 สัปดาห์

หน่วย: กรัม (g)			
ชุดทดลอง	ลำต้น	ราก	น้ำหนักแห้งทั้งหมด
T1 (ชุดควบคุมลบ)	0.104±0.10	0.022±0.02 ^b	0.126±0.13 ^b
T2 (ชุดควบคุมบวก)	0.156±0.16	0.037±0.04 ^{ab}	0.193±0.19 ^{ab}
T3	0.204±0.20	0.059±0.06 ^a	0.263±0.26 ^a
T4	0.138±0.14	0.057±0.06 ^a	0.194±0.19 ^{ab}
T5	0.125±0.15	0.026±0.03 ^b	0.151±0.15 ^b
F-test	ns	*	*

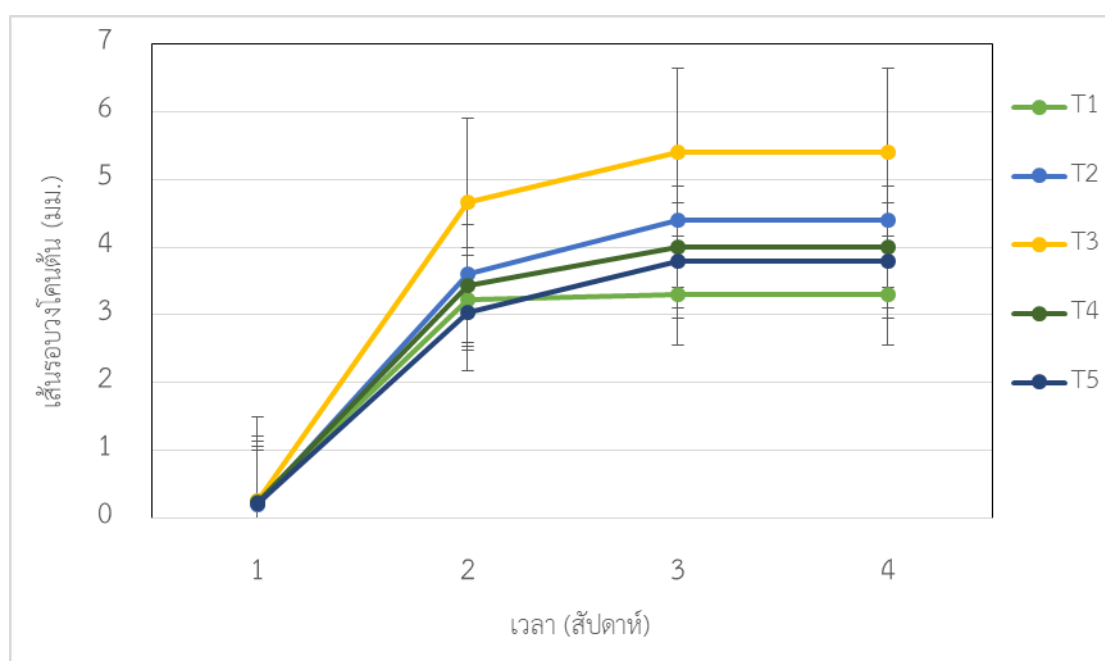
ns Not significant

* Significant at P 0.05

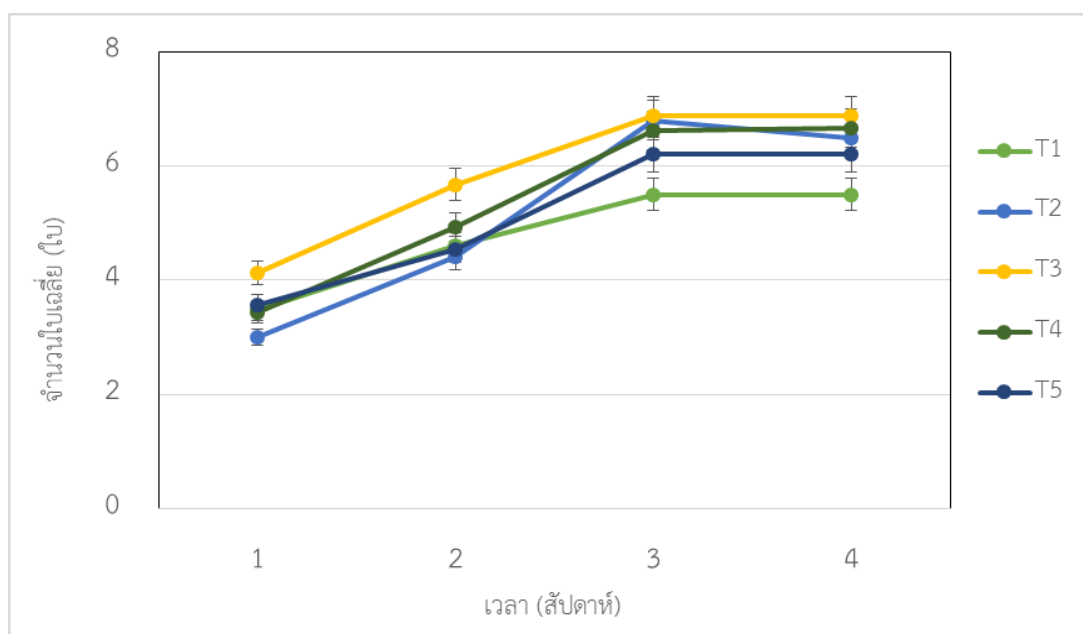
ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)



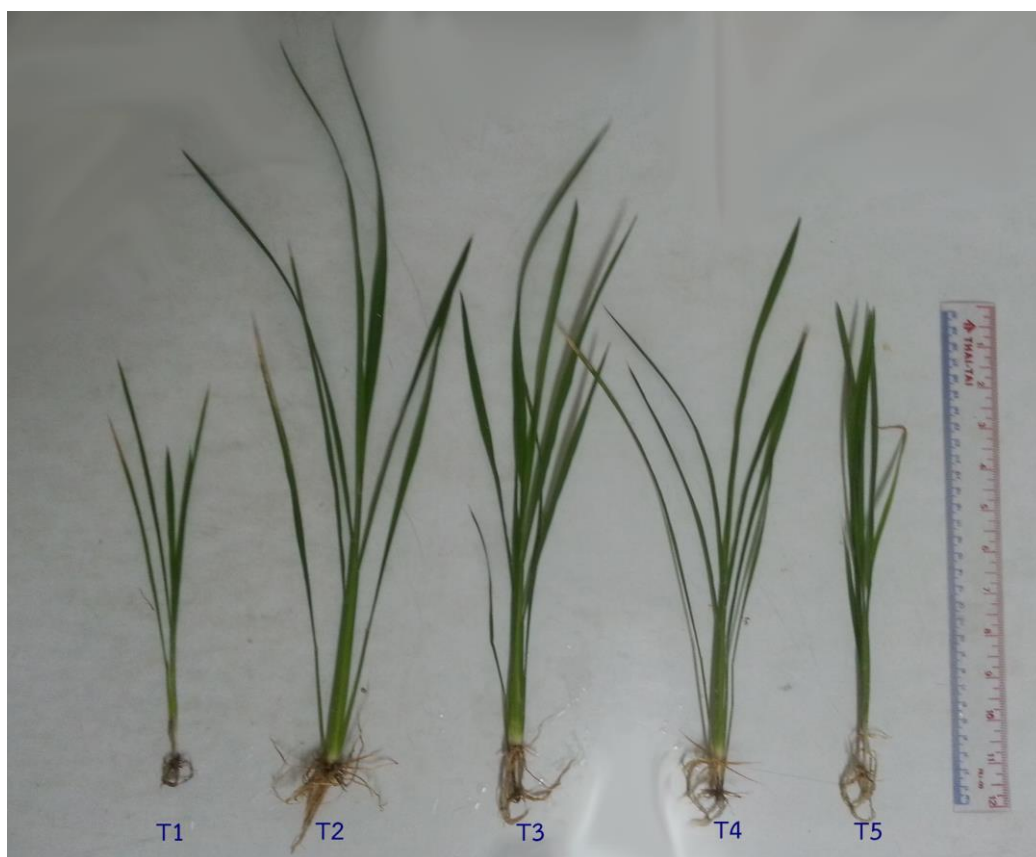
รูปที่ 4-7 ผลของไคโตซานที่มีต่อความสูงเฉลี่ยของข้าวที่ทำการเพาะปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4-8 ผลของไคโตซานที่มีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางระดับโคนต้นเฉลี่ยของข้าวที่ทำการเพาะปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4-9 ผลของไคโตซานที่มีต่อจำนวนใบเฉลี่ยของข้าวที่ทำการเพาะปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4-10 ผลของไคโตซานที่มีต่อการเจริญของข้าวภายหลังปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์

4.3.2 การศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการเจริญเติบโตของคะน้า

เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยต่อต้านของน้ำหนักแห้งของลำต้น ราก และน้ำหนักแห้งทั้งหมด พบว่าการเจริญเติบโตในส่วนของรากของคะน้ามีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของลำต้นและน้ำหนักแห้งทั้งหมด ผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าค่าเฉลี่ยในทุกชุดทดลองมีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าชุดทดลองที่ T3 มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งของลำต้นและน้ำหนักแห้งทั้งหมดสูงที่สุด (ตารางที่ 4-4, รูปที่ 4-11 ถึง 4-14) รองลงมา คือ ชุดทดลองที่ T4 และ T5 ตามลำดับ

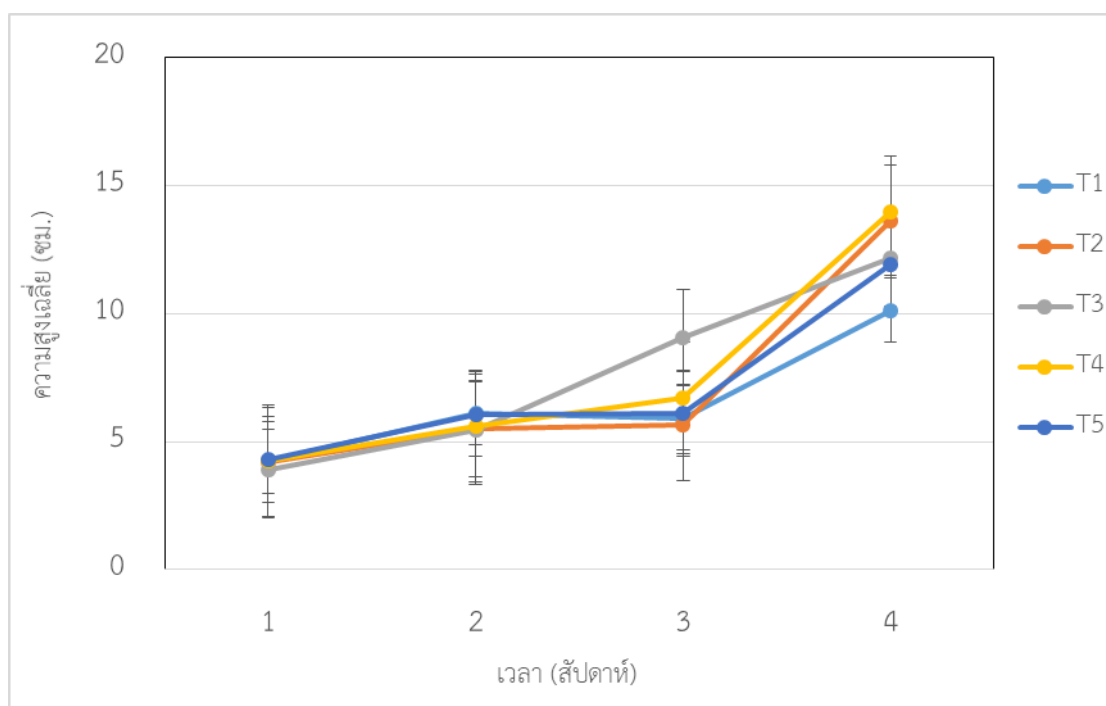
ตารางที่ 4-4 ผลของไคโตซานที่มีต่อน้ำหนักแห้งของลำต้น ราก และน้ำหนักแห้งทั้งหมดของคะน้า
ภายหลังการปลูก 4 สัปดาห์

หน่วย: กรัม (g)			
ชุดทดลอง	ลำต้น	ราก	น้ำหนักแห้งทั้งหมด
T1 (ชุดควบคุมลบ)	0.023±0.02 ^a	0.031±0.01	0.035±0.02 ^a
T2 (ชุดควบคุมบวก)	0.037±0.01 ^{ab}	0.010±0.00	0.047±0.01 ^{ab}
T3	0.084±0.02 ^d	0.012±0.00	0.096±0.02 ^d
T4	0.073±0.01 ^{cd}	0.010±0.00	0.083±0.01 ^{cd}
T5	0.053±0.01 ^{bc}	0.011±0.00	0.064±0.02 ^{bc}
F-test	*	ns	*

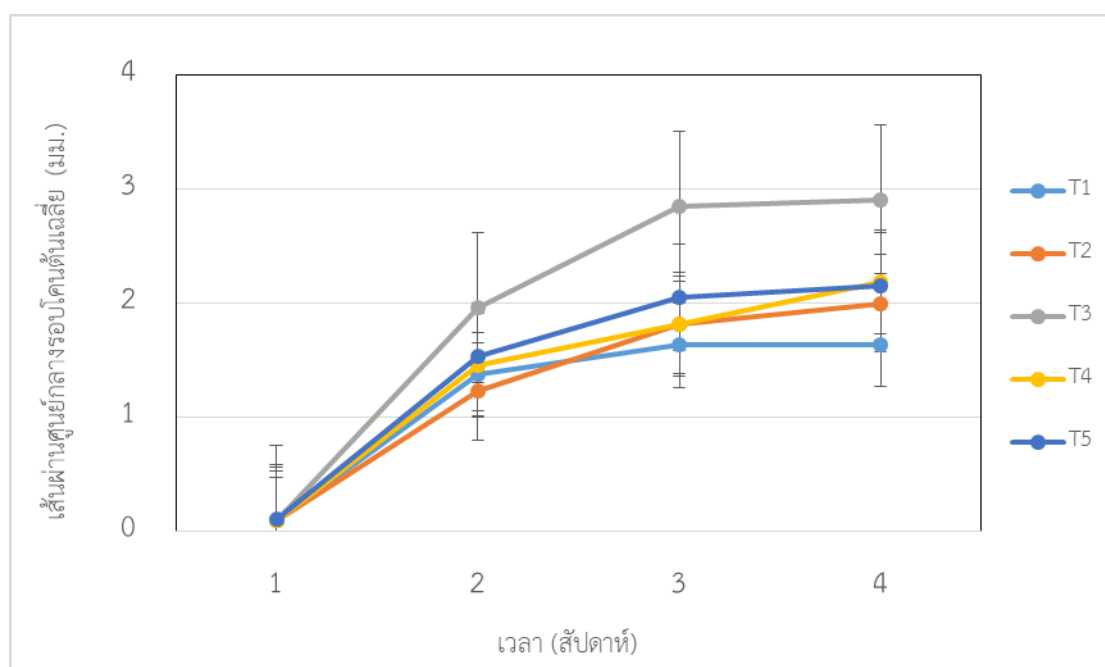
ns Not significant

* Significant at P 0.05

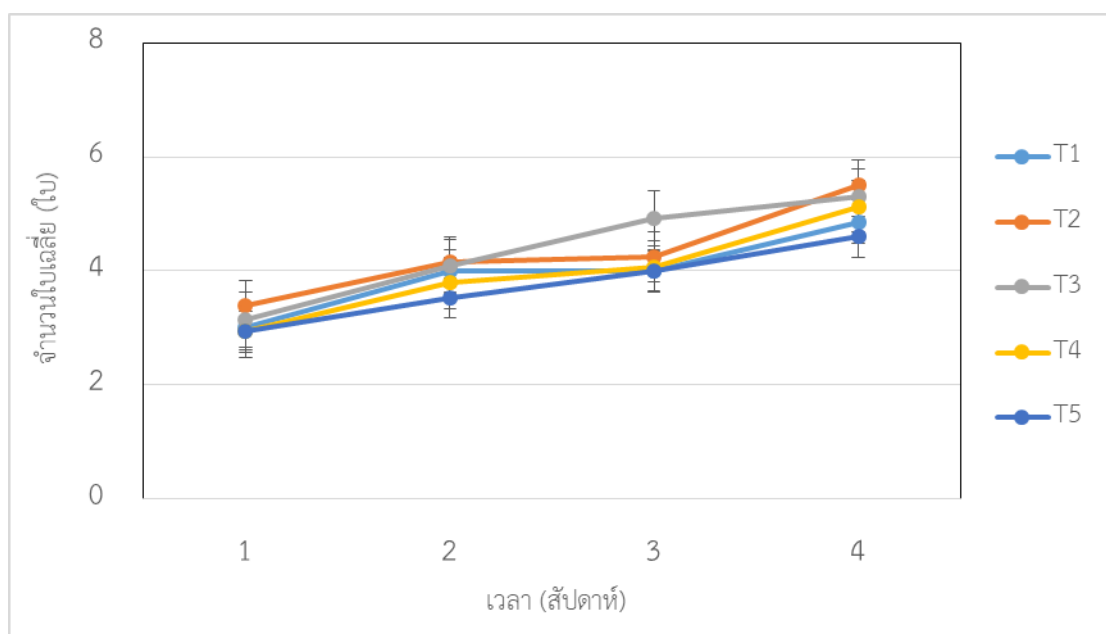
ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)



รูปที่ 4-11 ผลของไคโตซานที่มีต่อความสูงเฉลี่ยของคะน้ำที่ทำการเพาะปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4-12 ผลของไคโตซานที่มีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางระดับโคนต้นเฉลี่ยของคะน้ำที่ทำการเพาะปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4-13 ผลของไคโตซานที่มีต่อจำนวนใบเฉลี่ยของคะน้าที่ทำการเพาะปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4-14 ผลของไคโตซานที่มีต่อการเจริญของคะน้าภายหลังปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์

4.3.3 การศึกษาผลของไคโตซานต่อการยับยั้งติดโรคโคนเน่าจากเชื้อ *Sclerotium* sp. ในข้าว

จากการศึกษาผลของไคโตซานต่อการติดเชื้อและอัตราการตายของข้าวที่เกิดจากการติดเชื้อโรคโคนเน่าจากเชื้อราชนิด *Sclerotium* sp. พบว่าค่าเฉลี่ยของอัตราการรอดตายของกล้าข้าวที่เวลา 4 สัปดาห์ มีอัตราสูงโดยทุกชุดทดลองมีอัตราการรอดตายร้อยละ 100 ยกเว้นชุดทดลอง T4 ที่มีอัตราการรอดตายของกล้าข้าวเฉลี่ยร้อยละ 90 (ตารางที่ 4-5) เมื่อตรวจลักษณะภายนอกของกล้าข้าวในชุดทดลองที่ 2-5 ไม่พบรอยช้ำสีน้ำตาลบริเวณโคนต้น และเนื้อเยื่อบริเวณโคนต้นไม่คอดลงซึ่งเป็นลักษณะอาการของพืชที่ติดเชื้อโรคโคนเน่าจากเชื้อราชนิด *Sclerotium* sp. แต่พบว่าต้นกล้าข้าวในชุดทดลองที่ T1 ที่เป็นชุดควบคุมมีลักษณะอาการของโรคโดยจะมีขนาดแฉะแฉกรน บริเวณโคนต้นคอดเล็ก แต่ไม่พบรอยช้ำสีน้ำตาล และการสร้างเส้นใยบริเวณโคนต้น

ตารางที่ 4-5 อัตราการรอดตายของข้าวหลังจากการปลูก 4 สัปดาห์

ชุดทดลอง	อัตราการรอดตาย (%)
T1 (ชุดควบคุมลบ)	100.0±0.00
T2 (ชุดควบคุมบวก)	100.0±0.00
T3	100.0±0.00
T4	90.0±0.02
T5	100.0±0.00
F-test	ns

ns Not significant

4.3.4 การศึกษาผลของไคโตซานต่อการยับยั้งติดโรคโคนเน่าจากเชื้อ *Sclerotium* sp. ในคะน้า

จากการศึกษาผลของไคโตซานต่อการติดเชื้อและอัตราการตายของคะน้าที่เกิดจากการติดเชื้อโรคโคนเน่าจากเชื้อราชนิด *Sclerotium* sp. พบว่าค่าเฉลี่ยของอัตราการรอดตายของกล้าคะน้า ที่เวลา 4 สัปดาห์ มีอัตราสูงโดยทุกชุดทดลองมีอัตราการรอดตายเท่ากับ 80.00-93.33% ยกเว้นชุดทดลอง T1 ที่มีอัตราการรอดตายของกล้าคะน้าเฉลี่ย 66.67% (ตารางที่ 4-6) เมื่อตรวจลักษณะภายนอกของกล้าคะน้าในชุดทดลองที่ 2-5 ไม่พบรอยช้ำสีน้ำตาลบริเวณโคนต้น และเนื้อเยื่อบริเวณโคนต้นไม่คอดลงซึ่งเป็น

อาการติดเชื้อโรคโคนเน่าจากเชื้อราชนิด *Sclerotium* sp. ส่วนชุดทดลองที่ 1 กระน้ำแสดงอาการของโรคคือ ลำต้นแฉะแกรน รากหลุดร่วง แต่ไม่แสดงอาการคอดเว้าบริเวณโคนต้น และไม่มีการสร้างเส้นใยราก่อโรคบริเวณโคนต้น

ตารางที่ 4-6 อัตราการรอดตายของกระน้ำหลังจากปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์

ชุดทดลอง	อัตราการรอดตาย (%)
T1 (ชุดควบคุมลบ)	66.67±11.55
T2 (ชุดควบคุมบวก)	86.67±11.55
T3	86.67±11.55
T4	80.00±0.00
T5	93.33±11.55
F-test	ns

ns Not significant

4.4 การศึกษาผลของโอลิโกไคโตซานที่มีต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวและกระน้ำ

4.4.1 การศึกษาผลของโอลิโกไคโตซานที่มีต่อการเจริญเติบโตของข้าว

การทดสอบประสิทธิภาพของโอลิโกไคโตซานและไคโตซานในการฉีดพ่นเพื่อใช้เป็นสารส่งเสริมการเจริญของข้าว โดยมีชุดทดลองทั้งหมด 4 ชุดทดลอง คือ T1 เป็นชุดทดลองที่ไม่มีการฉีดพ่นสารส่งเสริมการเจริญชนิดใดเลย T2 เป็นชุดทดลองที่มีการฉีดพ่นโอลิโกไคโตซาน ความเข้มข้น 20 ppm ซึ่ง T3 เป็นชุดทดลองที่มีการฉีดพ่นไคโตซาน ความเข้มข้น 20 ppm และ T4 เป็นชุดทดลองที่มีการฉีดพ่นไคโตซาน ความเข้มข้น 40 ppm ผลการทดลองพบว่า เมื่อทำการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าทุกชุดทดลองมีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งของลำต้น ราก และน้ำหนักแห้งทั้งหมดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยต้นกล้าข้าวที่มีการฉีดพ่นสารละลายโอลิโกไคโตซาน (T2) มีน้ำหนักแห้งสูงสุด รองลงมาคือ T1, T3 และ T4 ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 4-7 และรูปที่ 4-15 ถึง 4-18 และเมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวในด้านความสูง เส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น และจำนวนใบ พบว่า T2 มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ยสูงสุดตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 ถึงสัปดาห์ที่ 4

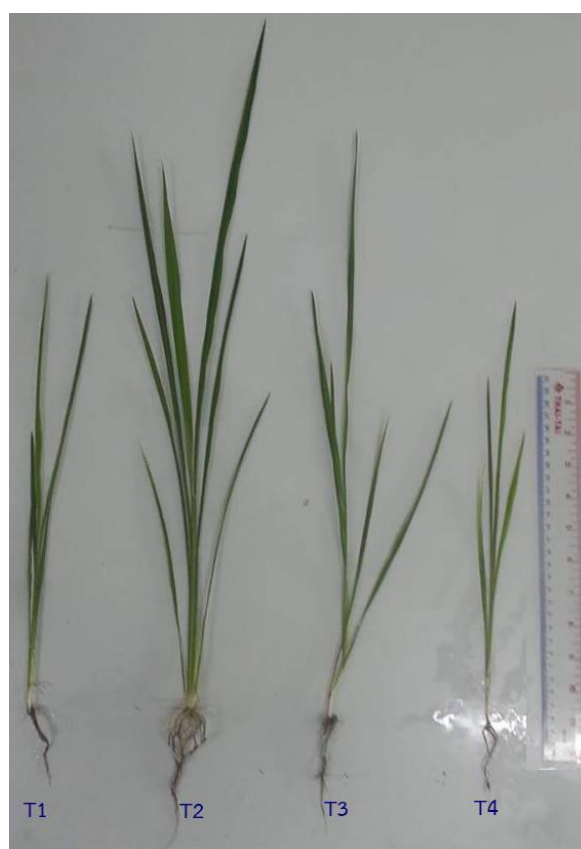
ตารางที่ 4-7 ผลของโพลิโกไคลโตซานที่มีต่อน้ำหนักแห้งของลำต้น ราก และน้ำหนักแห้งทั้งหมดของข้าวภายหลังการปลูก 4 สัปดาห์

หน่วย: กรัม (g)

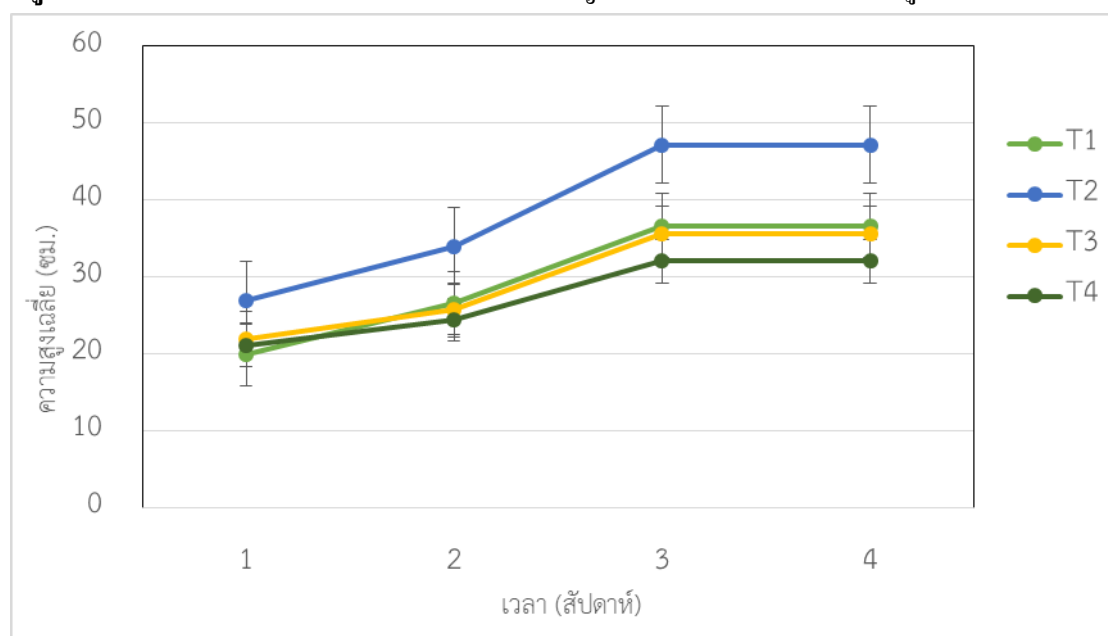
ชุดทดลอง	ลำต้น	ราก	น้ำหนักแห้งทั้งหมด
T1 (ชุดควบคุม)	0.163±0.07 ^b	0.032±0.01 ^b	0.195±0.08 ^b
T2	0.266±0.03 ^c	0.060±0.02 ^c	0.326±0.04 ^c
T3	0.143±0.02 ^{ab}	0.030±0.09 ^b	0.173±0.03 ^b
T4	0.088±0.03 ^a	0.013±0.01 ^a	0.102±0.04 ^a
F-test	*	*	*

* Significant at P 0.05

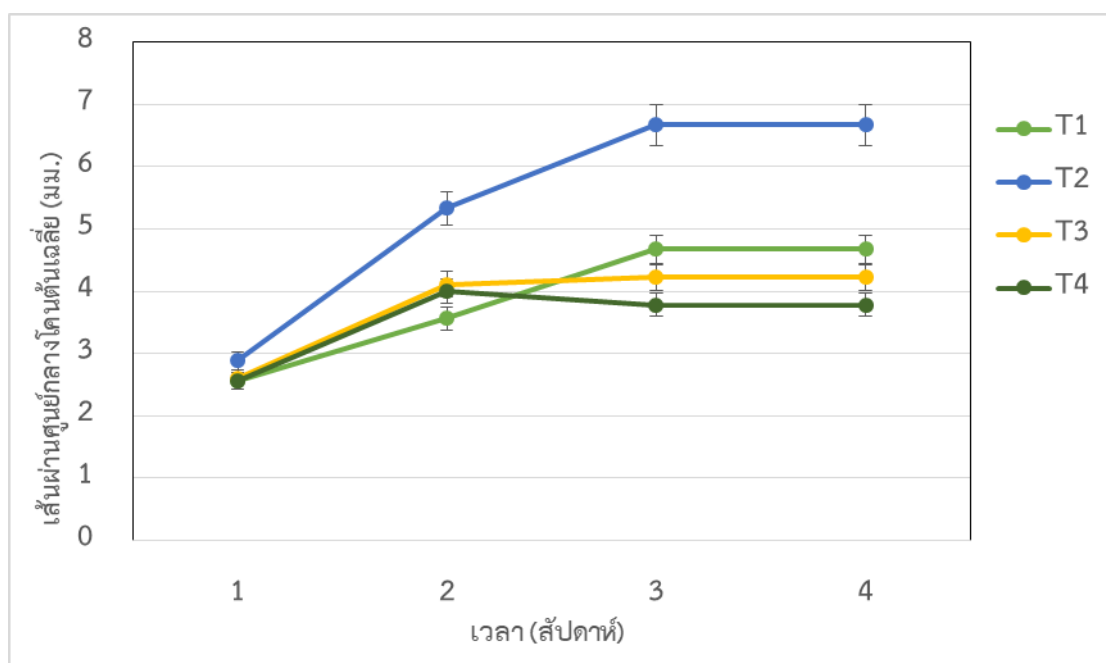
ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)



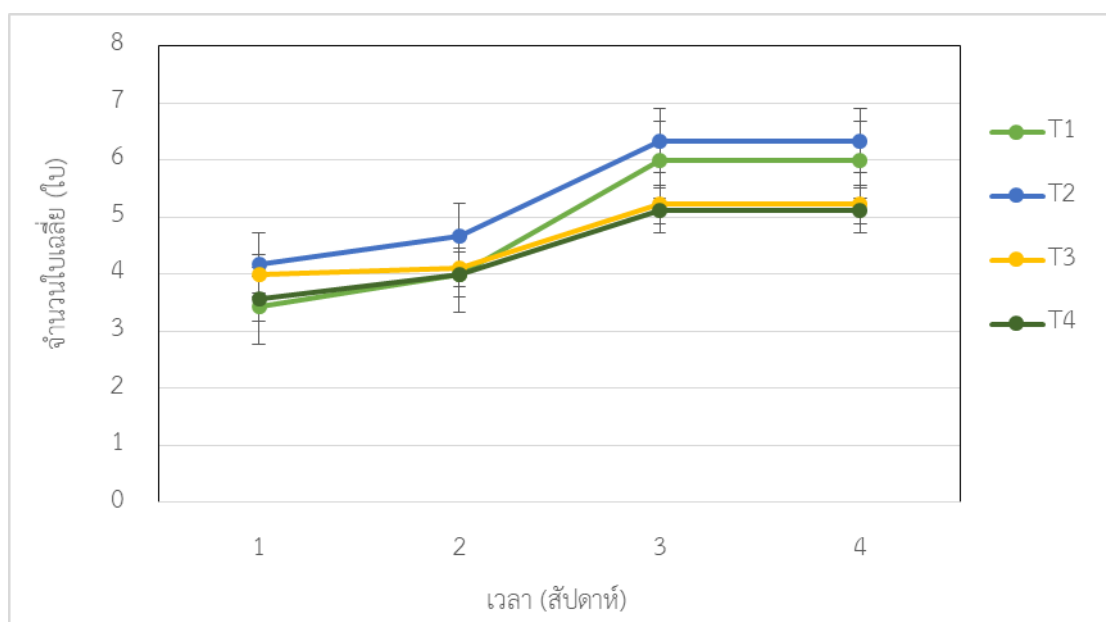
รูปที่ 4-15 ผลของโอลิโกไคโตซานที่มีต่อการเจริญเติบโตของข้าวเมื่อทำการปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4-16 ผลของโอลิโกไคโตซานที่มีต่อความสูงเฉลี่ยของข้าวที่ทำการเพาะปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4-17 ผลของโอลิโกไคโดซานที่มีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางระดับโคนต้นเฉลี่ยของข้าวที่ทำการเพาะปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4-18 ผลของโอลิโกไคโดซานที่มีต่อจำนวนใบเฉลี่ยของข้าวที่ทำการเพาะปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์

4.4.2 การศึกษาผลของโอลิโกไคโดซานที่มีต่อการเจริญเติบโตของคณะ

การทดสอบประสิทธิภาพของโพลิโกไคโตซานและไคโตซานในการฉีดพ่นเพื่อใช้เป็นสารส่งเสริมการเจริญของต้นกล้าคะน้า พบว่าเมื่อผลการวิเคราะห์ทางสถิติค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งของลำต้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยต้นกล้าคะน้าที่มีการฉีดพ่นสารละลายโพลิโกไคโตซาน ความเข้มข้น 20 ppm (T2) มีน้ำหนักแห้งของลำต้นเฉลี่ยสูงที่สุด รองลงมาคือ T1, T3 และ T4 ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 4-8 และรูปที่ 4-19 ถึง 4-22 ส่วนผลการวิเคราะห์ทางสถิติของค่าเฉลี่ยน้ำหนักแห้งของราก และน้ำหนักแห้งทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกัน

เมื่อพิจารณาด้านการเจริญเติบโตของกล้าคะน้าตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 หลังปลูกจนถึงสัปดาห์ที่ 4 ซึ่งได้แสดงไว้ในรูปที่ 4-19 พบว่า T2 มีค่าความสูงเฉลี่ย ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1-4 สูงที่สุด ส่วนเส้นผ่านศูนย์กลางโคนต้นเฉลี่ยและจำนวนใบเฉลี่ยนั้น T2 จะมีค่าสูงที่สุดในสัปดาห์ที่ 1, 2 และ 4 ในขณะที่ค่าความสูงเฉลี่ย และจำนวนใบเฉลี่ยของ T1, T3 และ T4 มีค่าใกล้เคียงกันตลอด 4 สัปดาห์ ในขณะที่เส้นผ่านศูนย์กลางที่โคนต้นของทั้ง 3 ชุดทดลองนี้มีค่าค่อนข้างผกผัน แต่เมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 3-4 พบว่า T3 มีค่าเฉลี่ยสูงกว่า T1 และ T4 กล่าวโดยสรุปชุดทดลอง T2 มีอัตราการเจริญเติบโตดีที่สุดทั้งในด้านความสูงเฉลี่ย เส้นผ่านศูนย์กลางโคนต้นเฉลี่ยและจำนวนใบเฉลี่ย ในขณะที่ชุดทดลอง T1 และ T3 พืชมีการเจริญเติบโตใกล้เคียงกัน แต่เมื่อระดับความเข้มข้นของไคโตซานเพิ่มขึ้นในชุดทดลอง T4 (40 ppm.) คะน้ามีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด

ตารางที่ 4-8 ผลของโพลิโกไคโตซานที่มีต่อน้ำหนักแห้งของลำต้น ราก และน้ำหนักแห้งทั้งหมดของคะน้าภายหลังการปลูก 4 สัปดาห์

หน่วย: กรัม (g)			
ชุดทดลอง	ลำต้น	ราก	น้ำหนักแห้งทั้งหมด
T1 (ชุดควบคุม)	0.028±0.01 ^{ab}	0.007±0.01	0.035±0.01
T2	0.037±0.01 ^b	0.012±0.01	0.048±0.02
T3	0.028±0.02 ^{ab}	0.007±0.01	0.034±0.02
T4	0.016±0.01 ^a	0.010±0.01	0.026±0.01
F-test	*	ns	ns

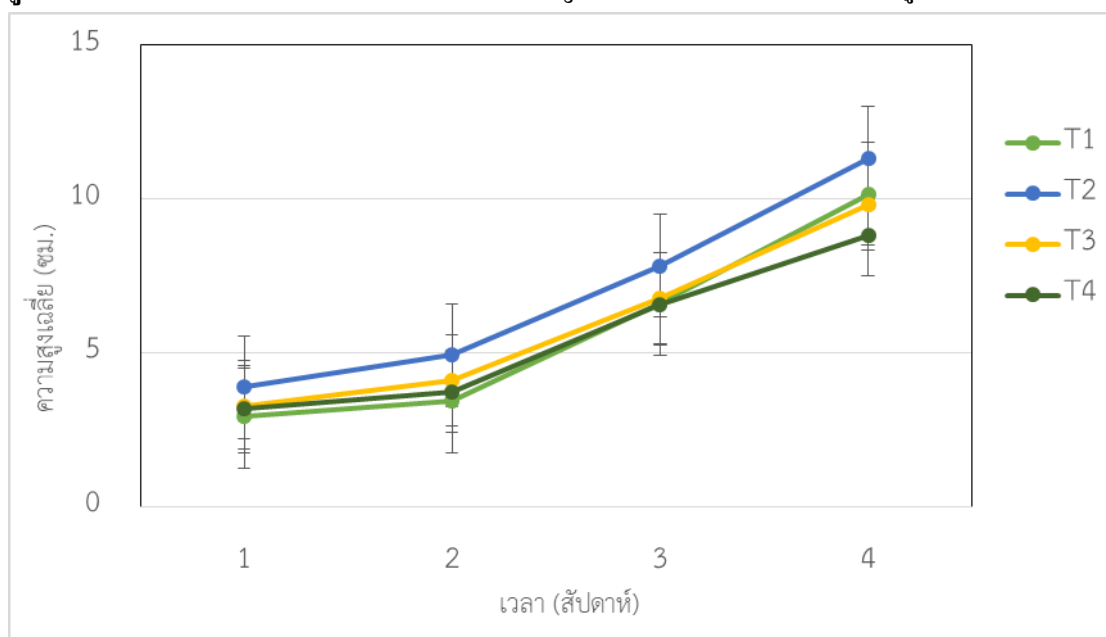
ns Not significant

* Significant at P 0.05

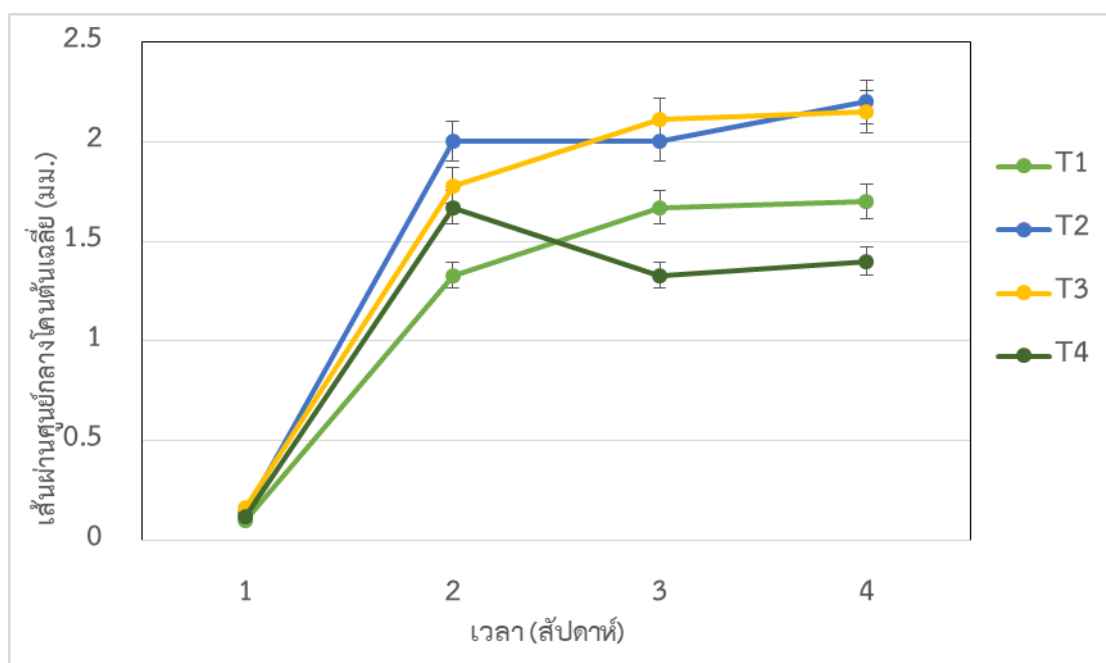
ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p < 0.05$)



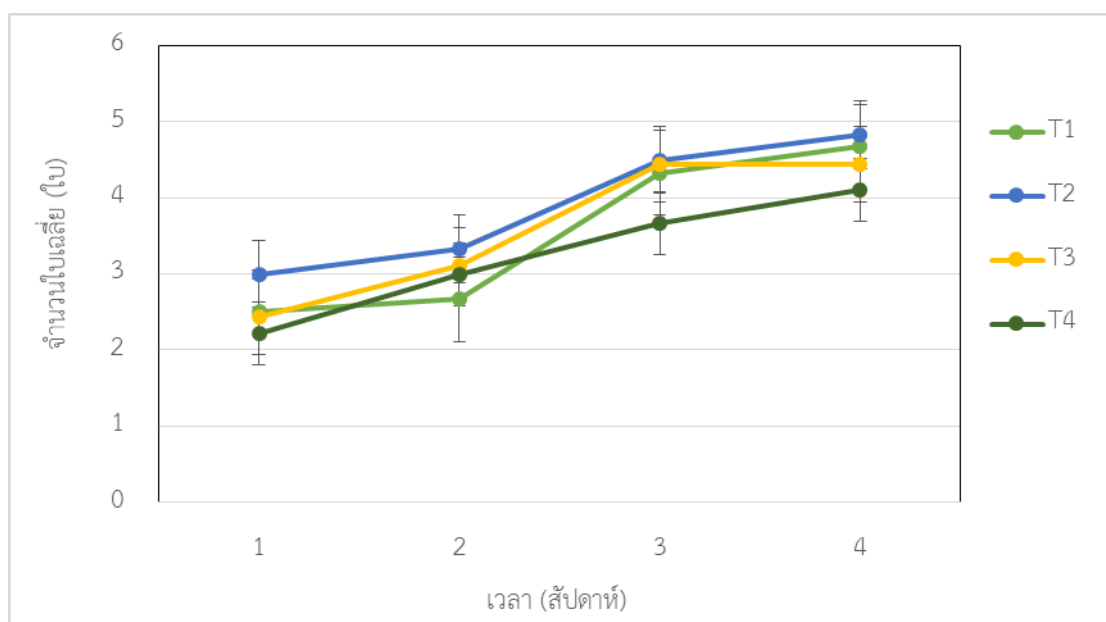
รูปที่ 4-19 ผลของโอดีโกไคโตซานที่มีต่อการเจริญเติบโตของกระน้ำเมื่อทำการปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4-20 ผลของโอดีโกไคโตซานที่มีต่อความสูงเฉลี่ยของกระน้ำที่ทำการเพาะปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4-21 ผลของโอดีโกโคโตซานที่มีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางระดับโคนต้นเฉลี่ยของคะน้ำที่ทำการเพาะปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์



รูปที่ 4-22 ผลของโอดีโกโคโตซานที่มีต่อจำนวนใบเฉลี่ยของคะน้ำที่ทำการเพาะปลูกเป็นเวลา 4 สัปดาห์

บทที่ 5

สรุปผล อภิปรายผล และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

ด้านคุณสมบัติทางกายภาพและผลผลิตของไคโตซานและไคตินที่ได้จากปูน้ำจืด 3 สกุล จำนวน 3 ชนิด สรุปได้ว่าลักษณะทางกายภาพของไคโตซานที่ได้จากปูทั้ง 3 ชนิดมีลักษณะที่แตกต่างกันเมื่อนำมาวิเคราะห์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด ผลผลิตของไคตินมีปริมาณที่ใกล้เคียงกัน แต่เมื่อนำมาสกัดต่อผลผลิตไคโตซานที่ได้พบว่าปูน้ำจืดชนิด *Larnaudia* sp. ให้ผลผลิตไคโตซานสูงที่สุด ส่วนปูน้ำจืดชนิด *T. holthuisi* จะให้ผลผลิตไคโตซานต่ำที่สุด

ด้านการยับยั้งการเจริญของเชื้อราก่อโรคชนิด *Sclerotium* sp. บนอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป PDA พบว่าไคโตซานที่สกัดจากปูน้ำจืดชนิด *T. holthuisi* ที่ระดับความเข้มข้น 500 ppm และ 1,000 ppm มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อราสูงที่สุด แต่หากพิจารณาผลการยับยั้งเชื้อราก่อโรคโคนเน่าตลอดระยะเวลาทดลองจะเห็นว่าไคโตซานไม่แสดงผลในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยราชนิด

Sclerotium sp. ได้ ในการทดลองการยับยั้งการติดเชื้อราก่อโรคโคนเน่าชนิด *Sclerotium* sp. ในข้าวและค่น้ำในสภาพเรือนทดลอง ซึ่งผลการศึกษาดังกล่าวได้พบว่าไคโตซานที่สกัดได้จากปูน้ำจืดชนิด *T. holthuisi* ที่ระดับความเข้มข้น 1,000 ppm มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวและค่น้ำ อีกทั้งยังสามารถลดปัญหาการติดเชื้อราโคนเน่าจากเชื้อราก่อโรคชนิด *Sclerotium* sp. แต่สารละลายไคโตซานไม่ควรใช้ร่วมกับสารกำจัดเชื้อรา เพราะจะทำให้หน้าหนักแห้งของข้าวลดลง

ในการศึกษาประสิทธิภาพของโอลิโกไคโตซานในการใช้เป็นสารฉีดพ่นใบเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวและค่น้ำ ผลการทดลองสรุปได้ว่าโอลิโกไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 20 ppm มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวและค่น้ำ ในขณะที่ที่สารละลายไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 20 และ 40 ppm ไม่ส่งผลดีในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวและค่น้ำในรูปแบบของสารฉีดพ่นใบ

ผลการศึกษาทั้งหมดสามารถกล่าวได้ว่าการใช้สารละลายไคโตซานจะช่วยลดการติดเชื้อของโรคโคนเน่าจากเชื้อ *Sclerotium* sp. และสารละลายโอลิโกไคโตซานสามารถใช้เป็นสารฉีดพ่นใบเพื่อส่งเสริมการเจริญของพืชได้ ซึ่งจะช่วยลดปริมาณการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม

5.2 อภิปรายผล

5.2.1 การสกัดไคตินและไคโตซานจากโครงร่างภายนอกของปูน้ำจืด

ผลการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพของไคโตซานที่ได้จากการวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค SEM พบว่าไคโตซานที่ได้จากปูน้ำจืดชนิด *Larnerdia* sp., *Esantheaphusa* sp. และ *T. holthuisi* จะมีโครงสร้างทางกายภาพแตกต่างกันอย่างชัดเจน ซึ่งอาจจะสามารถนำมาใช้เป็นเกณฑ์ในการจำแนกสกุลของปูน้ำจืดได้ ส่วนผลผลิตของไคตินและไคโตซานที่ได้จากปูน้ำจืดทั้ง 3 ชนิดนั้น พบว่าปูน้ำจืดชนิด *Larnerdia* sp. ให้ผลผลิตของไคโตซานสูงที่สุด ลักษณะโครงสร้างทางกายภาพและปริมาณของไคตินและไคโตซานที่แตกต่างกันนี้อาจเป็นผลมาจากแหล่งที่อยู่อาศัยที่ต่างกันเนื่องจากปูชนิด *Larnerdia* sp. และ *Esantheaphusa* sp. ดำรงชีวิตในลำธารและนาข้าว จึงมีแหล่งอาหารเป็นพวกครัสเตเชียน รวมไปถึงปลาขนาดเล็ก และอาจได้รับแร่ธาตุที่ปะปนอยู่ในแหล่งน้ำทำให้สามารถผลิตไคโตซานได้ดีกว่า จึงส่งผลให้การสร้างโครงสร้างภายนอกของร่างกายเกิดขึ้นได้ดีกว่าปูชนิด *T. holthuisi* ซึ่งเป็นปูน้ำจืดที่อาศัยอยู่และอยู่บนบกเป็นส่วนใหญ่ ดังนั้นแหล่งอาหารที่สำคัญของปูชนิดนี้จึงเป็นสัตว์ในดินและอินทรีย์สาร โดยมีข้อมูลทางวิชาการรายงานไว้ว่าองค์ประกอบของไคตินและไคโตซานก็คือโพลีเมอร์

ของ N-acetyl-G-D-glucosamine และ D-glucosamine โดยสัดส่วนของหน่วยย่อยเหล่านี้จะส่งผลต่อคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และชีวภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกลุ่มนี้ (Pichyangkura and Chadchawan, 2015)

5.2.2 ผลของไคโตซานต่อการป้องกันโรคโคนเน่าจากเชื้อ *Sclerotium* sp. และการเจริญเติบโตของพืช

จากการศึกษาผลของไคโตซานต่อการติดเชื้อและอัตราการตายของข้าวและคะน้าที่เกิดจากการติดเชื้อโรคโคนเน่าจากเชื้อราชนิด *Sclerotium* sp. พบว่าค่าเฉลี่ยของอัตราการรอดตายของกล้าข้าวและคะน้าที่เวลา 4 สัปดาห์ หลังการปลูกมีอัตราสูง โดยทุกชุดทดลองมีอัตราการรอดตายร้อยละ 90-100 สำหรับการปลูกข้าว และร้อยละ 80-90 สำหรับการปลูกคะน้า เมื่อตรวจสอบลักษณะภายนอกของกล้าข้าวและคะน้าในชุดทดลองที่มีการเติมสารฆ่าเชื้อราและสารละลายไคโตซานจะไม่พบรอยช้ำสีน้ำตาลบริเวณโคนต้น และเนื้อเยื่อบริเวณโคนต้นไม่คอดคลั่งซึ่งเป็นอาการติดเชื้อโรคโคนเน่าจากเชื้อราชนิด *Sclerotium* sp. แต่พบว่าต้นกล้าข้าวและคะน้าในชุดทดลองที่ T1 ที่เป็นชุดควบคุมจะมีลักษณะแฉะ แกร่น มีขนาดเล็ก พบการหลุดร่วงของรากพืชเป็นลักษณะอาการของโรคโคนเน่า ซึ่งผลการยับยั้งการติดเชื้อของทั้งข้าวและคะน้าสอดคล้องกับผลการวิจัยของ Hirano and Nagao (1989) อธิบายไว้ว่าไคโตซานและโอลิโกไคโตซานมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเส้นใยรา และกระบวนการทางสรีรวิทยาของเชื้อราได้ นอกจากนี้ Meng et al. (2010) ศึกษาผลของไคโตซานและโอลิโกไคโตซานในการควบคุมการเจริญของราและคุณสมบัติทางสรีรวิทยาของพืช พบว่าไคโตซานและโอลิโกไคโตซานสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์และการเจริญของเส้นใยรา *Alternaria kikuchiana* และ *Physalospora piricola* แต่เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อโรคพบว่าทั้งไคโตซานและโอลิโกไคโตซานจะมีผลต่อการควบคุมการเจริญของเส้นใยรามากกว่าการยับยั้งการงอกของสปอร์ และ Qin et al. (2014) รายงานผลการวิจัยไว้ว่าอนุพันธ์ของไคโตซานที่เรียกว่า Diethyl dithiocarbamate chitosan (EtDTCCS) มีฤทธิ์ในการต่อต้านการทำลายของเชื้อก่อโรคชนิด *Alternaria porri*, *Gloeosporium theae sinensis* และ *Stemphylium solani* โดยใช้ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 0.25, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของไคโตซานและ EtDTCCS พบว่า EtDTCCS ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *G. theae sinensis* ได้สูงถึง 93.2%

เมื่อพิจารณาอัตราการเติบโตของพืชโดยพิจารณาจากค่าเฉลี่ยต่อต้านของน้ำหนักแห้งทั้งหมดของข้าวและคะน้า พบว่าน้ำหนักแห้งทั้งหมดเฉลี่ยของข้าวและคะน้าในชุดทดลองที่มีการใช้สารละลายไคโตซานมีผลแตกต่างจากชุดทดลองที่ไม่มีการใช้สารละลายไคโตซานเลย ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าไคโตซานจากปูน้ำจืดมีผลต่อการควบคุมเชื้อและปริมาณของเชื้อ *Sclerotium* ในดินและส่งผลให้พืช

สามารถเจริญเติบโตได้ดีมีน้ำหนักแห้งรวมมากกว่าชุดทดลองที่ไม่ได้ใส่สารละลายไคโตซาน มีรายงานการวิจัยที่สนับสนุนผลการศึกษานี้คือ รายงานวิจัยของ Chung et al., (2003) ที่รายงานไว้ว่าไคโตซานมีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคพืชโดยเป็นสารในกลุ่มอีลิซิเตอร์ (Elicitor) ที่ออกฤทธิ์ด้วยการเป็นตัวชักนำความสามารถของพืชในการตอบสนองในการป้องกันโรคจากเชื้อชนิดต่างๆ รวมไปถึงการส่งเสริมกลไกที่สำคัญในพืชจึงส่งผลให้พืชมีอัตราการเจริญเติบโตดีขึ้น

5.3.3 ผลของโอลิโกไคโตซานที่มีต่อการเจริญเติบโตของข้าวและคะน้า

สารประกอบโพลีแซคคาไรด์และสารในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์หลายชนิด เช่น ไคติน ไคโตซาน โอลิโกกาแลกทูโรไนด์ (Oligogalacturonide) และโอลิโกไคโตซาน (Darvill et al., 1992) จัดเป็นสารในกลุ่มอีลิซิเตอร์ซึ่งสารอีลิซิเตอร์นี้พืชสามารถชักนำให้พืชสร้างกลไกหรือปฏิกิริยาที่ส่งผลต่อการป้องกันตนเอง รวมถึงการสะสมสารพวกไฟโตอเล็กซิน (Phytoalexins) ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ที่พืชสร้างขึ้นหลังการติดเชื้อ การเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะของเยื่อเลือกผ่านที่ห่อหุ้มเซลล์ รวมถึงเกี่ยวข้องกับการผลิตสารอนุมูลอิสระ (Reactive oxygen species; ROS) (Hahn, 1996) โดยในปีต่อๆ มา Zhao et al. (2007) ได้รายงานผลการวิจัยที่อธิบายถึงกลไกในการป้องกันโรคของพืชที่เกิดจากอิทธิพลของโอลิโกไคโตซานในยาสูบ รวมถึงการเหนี่ยวนำให้มีการสร้างสารทุติยภูมิ เช่น ไนโตรเจนออกไซด์ (NO) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเหล่านี้มีผลต่อกลไกทางสรีรวิทยาของพืชโดยจะทำให้พืชมีความแข็งแรง ทนต่อสภาพเครียดต่างๆ ทั้งจากความแห้งแล้ง ความร้อน ความร้อนหรือหนาวเย็น หรือยังส่งผลให้พืชบางชนิดเพิ่มอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิเพิ่มขึ้น ซึ่งจะทำให้พืชมีอัตราการเติบโตที่ดีกว่าพืชที่ไม่ได้รับสารในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ (Li et al., 2009) ซึ่งผลการวิจัยต่างๆ นี้เป็นข้อมูลที่สนับสนุนผลการทดลองในครั้งนี้ โดยผลการวิจัยสามารถยืนยันได้ว่าข้าวและคะน้าที่ได้รับการฉีดพ่นสารละลายโอลิโกไคโตซานที่ใบมีการเจริญเติบโตได้ดีโดยการเพิ่มน้ำหนักแห้งของลำต้นและรากได้ดีที่สุด เมื่อทำการเปรียบเทียบกับชุดทดลองที่ไม่มีการพ่นสารละลายโอลิโกแซคคาไรด์ การที่โอลิโกไคโตซานมีประสิทธิภาพสูงกว่าไคโตซานเกี่ยวข้องกับขนาดโมเลกุลเนื่องจากสารประกอบโอลิโกไคโตซานจะมีการย่อยโมเลกุลโดยเอนไซม์จึงทำให้ขนาดโมเลกุลเล็กกว่าไคโตซาน ดังนั้นการซึมผ่านเข้าสู่เนื้อเยื่อพืชและการออกฤทธิ์จึงเกิดขึ้นได้ดีกว่า แต่สำหรับสารละลายไคโตซานเมื่อนำมาฉีดพ่นที่ใบพืชไม่แสดงผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชได้ และหากใช้ความเข้มข้นสูงขึ้นจะยิ่งส่งผลให้พืชมีการเจริญเติบโตที่ลดลง นอกจากนี้ยังมีผลการวิจัยที่ระบุไว้ว่าเมื่อเนื้อเยื่อของพืชได้รับความเสียหายโอลิโกไคโตซานจะมีการกระตุ้นให้ผนังเซลล์ของพืชมีการสะสมสารในกลุ่ม Reactive oxygen species (ROS) และ Pathogenesis-related protein (PRAs) ซึ่งจะมีส่วนในการช่วยป้องกันการติดเชื้อจุลินทรีย์ให้กับพืช (Ferrari et al., 2013) ดังนั้นโอลิโกไคโตซานจึงมีส่วนช่วยให้เนื้อเยื่อแข็งแรง สามารถเจริญเติบโตได้ดี อีกทั้งยังป้องกันการติดเชื้อโรคพืชได้อีกด้วย

นอกจากนี้ผลการวิจัยอื่นที่สนับสนุนการแนวความคิดที่ว่าโอลิโกแซคคาไรด์มีผลในการส่งเสริมการเจริญของพืช เช่น งานวิจัยของชัยชนก และคณะ (2556) ที่ทดสอบการเจริญของข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงด้วยเชื้อโอลิโกไคโตซานและไคโตซาน ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าโอลิโกไคโตซานและไคโตซานสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงได้ และ Pichyangkura and Chadchawan (2015) ยังรายงานไว้ในบทความวิชาการที่สนับสนุนหลักการที่ว่าไคโตซานเป็นสารชีวภาพที่ออกฤทธิ์ได้หลากหลายแบบ โดยเฉพาะการนำมาใช้เป็นสารกระตุ้นทางชีวภาพ โดยไคโตซานจะเป็นสารชีวภาพที่เหนี่ยวนำให้มีการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกลไกการป้องกันตัวเอง เช่น กลูคาเนส (Glucanase) และไคทิเนส (Chitinase) โดยสัญญาณหนึ่งที่เชื่อมโยงถึงวงจรดังกล่าวนี้จะเกี่ยวกับปริมาณของไนโตรเจนเปอร์ออกไซด์และไนตริกออกไซด์ ซึ่งน่าจะมีผลโดยตรงในการควบคุมการแสดงออกของยีนซึ่งจะไปมีปฏิกิริยาต่อโครมาติน ดังนั้นจึงทำให้ไคโตซานมีฤทธิ์ทั้งการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช การทนทานต่อสภาวะเครียดจากปัจจัยทางกายภาพ และการชักนำให้เกิดกลไกป้องกันโรคของพืช

5.3 ข้อเสนอแนะ

1. ในการผลิตไคตินและไคโตซานสำหรับปุ๋ยน้ำฉีดแต่ละชนิดควรหาสภาวะที่เหมาะสม ได้แก่ ช่วง pH อุณหภูมิ และช่วงเวลาในการสกัดแต่ละขั้นตอน เพื่อการผลิตไคโตซานให้ได้ผลผลิตที่มากที่สุด
2. ควรเลือกเอนไซม์ชนิดอื่นและหาสัดส่วนที่เหมาะสม เพื่อการผลิตโอลิโกไคโตซานที่มีประสิทธิภาพสูงสุด
3. ควรทดสอบผลการควบคุมเชื้อโรคโคนเน่าและประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชในสภาพไร่นา

บรรณานุกรม

- กรมการข้าว. พันธุ์ข้าว. [online] สถาบันวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว กรุงเทพฯ. มปป. แหล่งที่เข้าถึง : <http://www.brrd.in.th/rkb/varieties/index.php-file=content.php&id=112.htm#2> [11 มกราคม 2560]
- ชนิตรา โพธิ์เกษฐ์ และคณะ. การยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อราด้วย Chitsan-derivatives และนาโนแพลทินัม. ว.วทย์.กษ. 44(2) (พฤษภาคม-สิงหาคม 2556) : 525-528.
- ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล และชนิตาภา นวะพิฒ. การควบคุมโรครากเน่าโคนเน่าของพริกที่มีสาเหตุจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ด้วยเชื้อแอคติโนมัยสีท *Streptomyces hygroscopicus* PACCH24 ที่สร้างเอนไซม์ไคติเนส. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 14(1)

(มกราคม-มีนาคม 2555) : 10-22.

นฤมล สุขวิบูลย์ และคณะ. เชื้อรา *Sclerotium rolfsii* Sacc. สาเหตุรากเน่าโคนเน่าที่พบในประเทศไทย: ความสามารถในการก่อโรคบนกล้วยไม้และสายพันธุ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งโรค. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 54 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ, 2558.

พรทิพย์ พิทักษ์นพกุล. การคัดเลือกและการบ่งเอดลักษณะของเชื้อ *Pseudomonas* spp. จากดินที่สามารถควบคุมเชื้อ *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรคโคนเน่าลำต้นเน่าของมะเขือเทศ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น, 2555.

ลัดดา วงศ์รัตน์. คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2543.

ศราวุธ แสงอุไร. การสกัดแยกพอลิเมอร์ชีวภาพจากครัสเตเชียน การเตรียมอนุพันธ์ และการใช้ดูดซับสารเคมีบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร, 2549.

สุณิรัตน์ สิมะเคื้อ พรพิมล อธิปัญญาคม และอภิรัชต์ สมฤทธิ์. สำรวจ รวบรวม จำแนก และศึกษาพืชอาศัยของรา *Sclerotium* spp. สาเหตุโรคพืช. สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร, 2553.

สุนทร เรืองเกษม. คู่มือการปลูกผัก. กรุงเทพมหานคร สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2539.

สรพงศ์ เบญจศิริ บุญกร อุดรภิชาติ และสกุลกานต์ สิมลา. เปรียบเทียบการเกิดโรครากโคนเน่าที่เกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii* ของพริกภายใต้ 2 ระบบปลูก. แก่นเกษตร 42(3) (กรกฎาคม-กันยายน 2557.): 605-611

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2557. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี พ.ศ.2557. สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร, สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. [ออนไลน์]. http://www.oae.go.th/download/download_journal/2558/yearbook57.pdf (สืบค้นวันที่ 10 ตุลาคม 2558)

อุดม โกสยสุก. การปลูกผักกินใบ กรุงเทพมหานคร บริษัท อักษรวิพัฒน์ จำกัด 34 หน้า, 2537.

Agrios, G.N. **Plant Pathology**. Academic Press. New York. 703p., 1978.

Agrios, G.N. **Plant Pathology**. Academic Press, Inc. New York, 2005.

Anonymous. 2011. Life cycle of didymella bryoniae. (cited 2 July 2017) Available from: URL. www.ces.ncsu.edu/cucurbit/images/i09.jpg.

Ahmad, I. and Beg, A.Z. Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants

- against multi-drug resistant human pathogens. **Journal of Ethnopharmacology** 74 (February 2001) : 113-123.
- Amaya, E., et al. Alternative diets for the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. **Aquaculture** 262 (February 2007) : 419-425.
- A.O.A.C. **Official methods of analysis**. Association of Official Analytical Chemists International. Maryland, USA, 2000.
- Conway, K.E. **Use of fluid drilling gets to deliver biological agent to soil. Plant pathogen**. The Amer. Phytopathol. Soc., St. Paul. Minnesota. 539 p., 1986.
- Cook, R.I. and Baker, K.E. **The nature and practice of biological control of plant Pathogen**. The Amer. Phytopathol. Soc., St. Paul. Minnesota. 539 p., 1983.
- Daly, B., et al. Increasing hatchery production of juvenile red king crabs (*Paralithodes camtschaticus*) through size grading. **Aquaculture** 364-365 (October 2012) : 206-211.
- Darvill, A., et al. Oligosaccharins-oligosaccharides that regulate growth, development and defense responses in plants. **Glycobiology** 2 (June 1992) : 181-198.
- Duarte, S.M., et al. Interpopulational analyses and fluctuating asymmetry in the brackish crab *Cardisoma guanhumi* Latreille (Decapoda, Gecarcinidae), on the Brazilian northeast coastline. **Pan-American Journal of Aquatic Science** 3(3) (August 2008) : 294-303.
- Dutta, P.K., et al. Chitin and chitosan: Chemistry, properties and application. **Journal of Scientific & Industrial Research**. 63 (January 2004) : 20-31.
- Elad, Y., et al. Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* scanning. Electron microscopy and fluorescence microscopy. **Phytopathol.** 73 (January 1983) : 635-639.
- Ewel, M., et al. Antifungal efficacy of chitosan and its thiourea derivatives upon the growth of some sugar-beet pathogen. **International Journal of Biological Macromolecules** 28 (February 2006) : 1-8.
- Farr, D.F., et al. **Fungi on plants and plant products in the United States**. American Phytopathological Society., St. Paul, Minnesota, 1989.
- Ferrari, S., et al. Oligogalacturins: plant damage-associated molecular patterns and regulators of

- growth and development. **Frontiers in Plant Science** (March 2013) (<https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00049>)
- Hahn, M.G. Microbial elicitors and their receptors in plants. **Annual Review of Phytopathology** 34 (September 1996) : 387-412.
- Hawksworth, D. L., et al. **Answorth and Bisty's Dictionary of the fungi**. 7th ed., Commonwealth Mycol. Inst., Kew Surrey, 1983.
- Hawksworth, D. L., et al. **Ainsworth & Bisby' s Dictionary of the Fungi**. 8th ed. CAB International, Wallingford, 1995.
- Henis, Y., et al. Penetration of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma* spp. **Phytopathology** 73 (1983): 1043-1046.
- Holliday, P. **Fungus disease of Tropical crops**. Cambridge University, Cambridge, 607 p., 1980.
- Juliano, B.O. **Rice in Human Nutrition**. FAO/IRRI. FAO Food and Nutrition Series No.26., FAO, Rome, 1993.
- Kareem, F.A.E., et al. Evaluation of different application methods of chitin and chitosan for controlling tomato root rot disease under greenhouse and field condition. **Journal of Agriculture and Biological Science**, 2(5) (January 2006) : 190-195.
- Kumer, M.N.V.R. A review of chitin and chitosan applications. **Reactive Functional Polymer**. 46 (November 2000) : 1-27.
- Li, Y., et al. Oligochitosan induced *Brassica napus* L. production of NO and H₂O₂ and their physiological function. **Carbohydrate Polymers** 75 (February 2009) : 612-617.
- Meng, X., et al. Effects of chitosan and oligochitosan on growth of two fungal pathogens and physiological properties in pear fruit. **Carbohydrate Polymers** 81 (May 2010) : 70-75.
- Micheli, F. Bilateral gynandromorph of fresh-water crab *Potamon fluviatile* herbst (Decapoda: Brachyura). **Journal of Crustacean Biology** 11(4) (November 1991) : 561-568.
- Naiyanetr, P. **Crustacean Fauna of Thailand (Decapoda and Stomatopoda)**. 2nd Ed., Dept. Biol., Fac. Sci., Chulalongkorn Univ., Bangkok., 71 pp., 1992.
- Naiyanetr, P. and Yeo, D.C. J. A new species of *Thaipotamon* Ng and Naiyanetr, 1993 (Brachyura, Potamidae) from Thailand. In: Fransen, C. H. J. M., S. De Grave and P. K. L. Ng (eds.),

- Studies on Malacostraca: Lipke Bijdeley Holthuis Memorial Volume. **Crustaceana Monographs** 14 (2010) : 529–534.
- Ng, P.K.L. and Naiyanetr, P. New and recently described freshwater crabs (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Potamidae, Gecarcinucidae and Parathelphusidae) from Thailand. **Zoologische Verhandelingen** 284 (1993) : 1–117.
- Ng, P.K.L. and Naiyanetr, P. Pudaengon, a new genus of terrestrial crabs (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Potamidae) from Thailand and Laos, with descriptions of seven new species. **Raffles Bulletin of Zoology** 43(2) (1995) : 355–376.
- Pichyangkura, R. and Chadchawan, S. Biostimulant activity of chitosan in horticulture. **Scientia Horticulture**. 196 (November 2015) : 49-65.
- Punja, Z.K. The biology ecology and control of *Sclerotium rolfsii*. **Annual Reviews Phytophthology**. 23 (September 1985) : 97-127.
- Qin, Y. et al. Synthesis of chitosan derivative with diethyldithiocarbamate and its antifungal activity. **International Journal of Biological Macromolecules** 65 (April 2014) : 369-374.
- Qing, W., et al. Inhibitory effect of chitosan on growth of the fungal phytopathogen, *Sclerotinia sclerotiorum*, and sclerotinia rot of carrot. **Journal of Integrative Agriculture** 14(4) (April 2015) : 691-697.
- Reddy, M.V.B., et al. Chitosan treatment of wheat seeds induces resistance to *Fusarium graminearum* and improves seed quality, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 47 (March 1999) : 1208-1216.
- Sedaghata, F., et al. Bioconversion of shrimp waste *Penaeus merguensis* using lactic acid fermentation: An alternative procedure for chemical extraction of chitin and chitosan. **International Journal of Biological Macromolecules**. 104 (November 2017) : 883–888.
- Southern blight**. 2012. [online] Available from from http://www.gardener.wikia.com/wiki/Southern_blight. [December 28, 2017]
- Tsahouridou, P.C. and Thanassouloupoulos, C.C. Proliferation of *Trichoderma koningii* in the tomato rhizosphere and the suppression of damping-off by *Sclerotium rolfsii*. **Soil Biology Biochemistry** 34(6) (June 2002) : 767-776.
- Towsend, B. B. and Willetti-s, H. J.. The development of sclerotia of certain fungi. **Trans. Br. mycol. SOC.** 37 (1954) : 213.

- Von ARX, J.A. **The Gennera of fungi sporulation in pure culture**. 3rd Revised Ed., J. Cramer, Kommandit Gesellschaft, Germany. 422 pp., 1981.
- Yen, M., et al., Antioxidant properties of chitosan from crab shells. **Carbohydrate Polymers**, 78 (November 2008) : 840-844.
- Yeo, D.C.J., et al. Global diversity of crabs (Crustacea: Decapoda: Brachyura) in freshwater. *In*: Balian, E.V., C. Leveque, H. Segers, K. Martens (eds.). **Freshwater Animal Diversity Assessment. Hydrobiologia** 575 (April 2008) : 275–286.
- Yeo, D.C.J. and Naiyanetr, P. A new genus of freshwater crab (Crustacea : Decapoda : Brachyura : Potamidae) from Thailand, with a description of a new species. **Journal of Natural History** 34 (2000) : 1625-1637.
- Youn, D.K., No, H.K. and Prinyawiwatkul, W. Physico-chemical and functional properties of chitosans prepared from shells of crabs harvested in three different years. **Carbohydrate Polymers**, 78 (August 2009) : 41–45.
- Zhao, X.M., et al. Induction of antiviral resistance and stimulatory effect by oligochitosan in tobacco. **Pesticide Biochemistry and Physiology** 87 (January 2007) : 78-84.
- Wikipedia. Crustacean. [Online]. Available : <https://en.wikipedia.org/wiki/Crustacean>. [15 May 2017]

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์ถั่ว

ก1. การวิเคราะห์ถั่ว

วิธีการวิเคราะห์

1. เฝือกด้วยกระเบื้องเคลือบพร้อมฝาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 3 ชั่วโมง ปิดสวิตช์เตาเผา แล้วรอประมาณ 30-45 นาทีเพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาลดลง จากนั้นนำถั่ว

กระเบื้องออกจากเตาเผา ใส่ในโถดูดความชื้น วางทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง (ใช้เวลาประมาณ 15-30 นาที) ชั่งน้ำหนัก บันทึกผล

2. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบซ้ำอีกประมาณครึ่งละ 30 นาที และกระทำเช่นเดียวกับข้อ 1 จนได้น้ำหนักคงที่ (ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 0.001-0.003 กรัม) บันทึกน้ำหนักที่ได้

3. เตรียมตัวอย่างโดยสับหรือบดตัวอย่างอาหารให้มีขนาดเล็ก

4. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 3-5 กรัม (บันทึกเป็นน้ำหนักก่อนเผา) ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบซึ่งทราบน้ำหนักที่แน่นอนแล้ว (ทำซ้ำตัวอย่างละ 3 ซ้ำ)

5. นำถ้วยกระเบื้องเคลือบที่บรรจุตัวอย่างไปเผาบนเตาไฟฟ้า (Hot plate) จนหมดควัน (ทำในตู้ดูดควัน) แล้วจึงนำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส โดยเปิดฝาภาชนะเป็นเวลาประมาณ 3-4 ชั่วโมง จนกระทั่งตัวอย่างกลายเป็นเถ้าสีขาวหรือสีเทาอ่อน

6. เมื่อครบกำหนดเวลา ปิดสวิตช์เตาเผา แล้วรอประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาตกลง จากนั้นนำถ้วยกระเบื้องออกจากเตาเผาเข้าไปใส่ในโถดูดความชื้น โดยปิดฝาด้วยในตัวอย่าง ปล่อยให้ทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง (ใช้เวลาประมาณ 15-30 นาที) ชั่งน้ำหนัก บันทึกผล

8. นำไปเผาซ้ำอีกประมาณครึ่งละ 30 นาที และกระทำเช่นเดิมจนได้น้ำหนักคงที่ (ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่ง 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 0.001-0.003 กรัม) บันทึกน้ำหนักต่ำสุด

9. คำนวณหาปริมาณเถ้า

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละโดยน้ำหนัก)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา (กรัม)}}$$

ภาคผนวก ข

หลักฐานหนังสือการนำไปใช้ประโยชน์

ขอรับรองว่าได้นำผลงานวิจัยหรืองานสร้างสรรค์ดังกล่าวไปใช้ประโยชน์ ดังนี้

✓๑. การนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงสาธารณะ

โครงการวิจัยได้มีการดำเนินงานโดยการมีส่วนร่วมจากหลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ จังหวัดเพชรบูรณ์ โดยร่วมกันดำเนินกิจกรรมในการส่งเสริมให้นักศึกษา เข้ามามีส่วนร่วมในการทดลองประสิทธิภาพของโคโคซานจากปุน้ำจืดในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพริก ซึ่งเป็นการพัฒนาองค์ความรู้จากงานวิจัยที่จะทำให้ผู้ร่วมกิจกรรมได้เรียนรู้เกี่ยวกับการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพในห้องเรียน หาแนวทางในการใช้สารชีวภาพเพื่อลดปัญหาสารเคมีตกค้างในสิ่งแวดล้อม

ปิยนุศ แก้ววิไล

(นางสาวปิยนุศ แก้ววิไล)

ผู้นำไปใช้ประโยชน์

ตำแหน่ง ผู้แทนนักศึกษาที่เข้าร่วมโครงการ

วันที่ให้ข้อมูล ๑๘ เมษายน ๒๕๖๐

ภาคผนวก ค

การเผยแพร่ผลงานวิจัย



มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร
Kasetart University
Chalermphrakiat Sakon Nakhon Province

"INNOVATION AND TECHNOLOGY FOR QUALITY
OF LIFE AND SUSTAINABLE SOCIETY"

KU KASETSART UNIVERSITY

**การประชุมวิชาการระดับชาติ
งานเกษตรแฟร์นนทรีอีสาน ครั้งที่ 5
26 พฤศจิกายน 2560**

■ เรื่องเต็ม Proceeding

“นวัตกรรมและเทคโนโลยีเพื่อคุณภาพชีวิตและสังคมที่ยั่งยืน”
**“INNOVATION AND TECHNOLOGY FOR QUALITY
OF LIFE AND SUSTAINABLE SOCIETY”**

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร
KASETSART UNIVERSITY CHALERMPHRAKIAT SAKON NAKHON PROVINCE CAMPUS
ISBN :



www.csc.ku.ac.th

ผลของไคโตซานจากปูน้ำจืดสกุล *Thaipotamon* ต่อการการเจริญเติบโตและลดปัญหา
โรครากเน่าจากเชื้อ *Sclerotium* sp. ของข้าว

Effect of Chitosan from Freshwater Crab Genus *Thaipotamon* on Growth and
Protection Root Rot disease from *Sclerotium* sp. in Rice

พวงภา แก้วกรม^{1*}, สุรางค์รัตน์ พันแสง¹, นุชจรินทร์ แก้วกล้า², สุรีย์พร ธรรมิกพงษ์³,
ปอแก้ว พรมเพชร¹, อสมเพียร พิกทอง¹ และแสงจันทร์ สอนสว่าง¹
Puangpaka Kaewkeom^{1*}, Surangrat Punsang¹, Nucharin Kaewkla²,
Sureeporn Thummikapong³, Porkaew Pomphet¹, Sompian Fungthong¹ and Sangjun Sonsawang¹

บทคัดย่อ

การศึกษาเพื่อนำไคโตซานมาประยุกต์ใช้เป็นสารส่งเสริมการเจริญเติบโตและป้องกันโรคโคนเน่าของข้าว โดยการนำสารละลายไคโตซานจากเปลือกปูน้ำจืดความเข้มข้น 1,000ppm ทดสอบกับต้นกล้าข้าวที่มีอายุ 30 วัน ทำการทดลองเป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยมีชุดทดลองทั้งหมด 5 ชุดทดลอง คือ ใช้น้ำ (T1, ชุดควบคุมลบ) ใช้สารฆ่าเชื้อรา Dithiocarbamate 1,000 ppm (T2, ชุดควบคุมบวก) ใช้ไคโตซานความเข้มข้น 1,000 ppm (T3) ใช้ไคโตซานความเข้มข้น 1,000 ppm ร่วมกับสารฆ่าเชื้อรา Dithiocarbamate 1,000 ppm อัตราส่วน 1: 1 (T4) และใช้ไคโตซานความเข้มข้น 1,000 ppm ร่วมกับสารฆ่าเชื้อรา Dithiocarbamate 1,000 ppm อัตราส่วน 3: 1 (T5) พบว่าชุดทดลองที่ใช้สารละลายไคโตซาน (T3) สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของกล้าข้าวทำให้น้ำหนักแห้งสูงกว่าชุดควบคุม (T1) โดยกล้าข้าวมีน้ำหนักแห้งส่วนลำต้นสูงกว่าประมาณ 0.5-1 เท่า มวลชีวภาพส่วนรากสูงกว่าประมาณ 1.5-2 เท่า และมวลชีวภาพรวมทั้งหมดสูงกว่าประมาณ 1-2 เท่า และกล้าข้าวไม่แสดงอาการโรคจากเชื้อราชนิด *Sclerotium* sp. ได้

คำสำคัญ: ปูน้ำจืด, ไคโตซาน, ตัวควบคุมการเจริญเติบโต, *Sclerotium* sp.

¹หลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

²ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา

³หลักสูตรสาขาวิชาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏราชชนดิรินทร์

*Corresponding author; e-mail address: kpuangpaka@hotmail.com

Abstract

This research was aimed to apply chitosan for rice seedling growth stimulator and protection from root rot disease. Rice seedling (30 days) was treated with the fresh water crab chitosan at concentration of 1,000 ppm for four weeks. Five treatments included with using water (T1, negative control), fungicide Dithiocarbamate 1,000 ppm (T2, positive control), chitosan at concentration of 1,000 ppm (T3), chitosan at concentration of 1,000 ppm and fungicide Dithiocarbamate 1,000 ppm at 1 : 1 ratio (T4) and chitosan at concentration of 1,000 ppm and fungicide Dithiocarbamate 1,000 ppm at 3 : 1 ratio (T5). The result showed that the rice seedling treated with 1,000 ppm of chitosan (T3) could increase the plants shoot biomass 0.5-1 fold, root biomass 1.5-2 fold and total biomass 1-2 fold higher than the control (T1). Moreover, root rot disease test with 1000 ppm of chitosan clearly indicated that the seedling were no symptom of disease infection and resistance against *Sclerotium* sp.

Keywords: freshwater crab, chitosan, growth regulator, *Sclerotium* sp.

คำนำ

จังหวัดเพชรบูรณ์เป็นจังหวัดที่มีรายงานว่ามีการพบปูน้ำจืดหลายสกุล เช่นสกุล *Launardia*สกุล *Esanthelephusa* หรือสกุล *Thaipotamon* ประชาชนในพื้นที่นิยมจับปูเหล่านี้มาบริโภคเป็นอาหาร ซึ่งจะเหลือทิ้งส่วนของโครงสร้างภายนอกที่ไม่ได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ จากรายงานวิจัยหลายฉบับระบุว่าโครงร่างแข็งภายนอกของปูจะมีสารประกอบประเภทโพลีเมอร์กลุ่มคาร์โบไฮเดรตหรือโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharide) ที่เรียกว่า ไคตินซึ่งเป็นสารที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในเปลือกนอกของสัตว์พวก กุ้ง ปู แมลง (Yen *et al.*, 2009) ไคโตซานเป็นไบโอโพลีเมอร์ธรรมชาติอย่างหนึ่ง ซึ่งมีองค์ประกอบสำคัญในรูปของ D-glucosamine พบได้ในธรรมชาติ ลักษณะโดดเด่นเฉพาะตัว คือ เป็นวัสดุชีวภาพ (Biomaterials) ย่อยสลายตามธรรมชาติไม่เกิดผลเสียและปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมไม่เป็นพิษ (Non-phytotoxic) ต่อพืช โดยปกติโครงสร้างภายนอกของกุ้ง ปู มักจะถูกนำมาทิ้งกลายเป็นของเสียที่ก่อให้เกิดปัญหาด้านมลภาวะ ดังนั้นหากมีการนำเอาของเสียเหล่านี้มาสกัดเพื่อนำมาใช้ประโยชน์จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการลดปัญหาสิ่งแวดล้อม และการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรธรรมชาติอย่างคุ้มค่า ไคตินและไคโตซานมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบไนโตรเจนจะถูกปลดปล่อยออกจากโมเลกุลอย่างช้าๆรวมทั้งช่วยตรึงไนโตรเจนจากอากาศและดิน จึงใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพนอกจากนี้ยังช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของพืช และกระตุ้นการเจริญของรากทำให้พืชนำแร่ธาตุไปใช้ได้ดีขึ้นส่งผลทำให้สามารถเพิ่มผลผลิตและคุณภาพการผลิตพืช นอกจากนี้สารไคโตซาน ยังมีศักยภาพใช้เป็นสารควบคุมโรคพืชได้หลายชนิด ที่มีสาเหตุจากเชื้อไวรัสแบคทีเรียและราสาเหตุโรคพืชเช่น การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ชนิด *Fusarium* sp. (Reddy *et al.*, 1999) เชื้อราชนิด *Rhizoctonia solani*, *Fusarium solani* และ *Sclerotium rolfsii* สาเหตุโรโคนเน่า (Kareem *et al.*, 2006)

การศึกษาค้นคว้านี้มีวัตถุประสงค์เพื่อนำโคโตซานที่สกัดจากเปลือกปุน้ำจืดมาใช้ส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว และช่วยในการยับยั้งการติดโรคโคนเน่าจากเชื้อ *Sclerotium* sp. โดยผลที่ได้จากการศึกษาการใช้ประโยชน์จากโคโตซานจากปุน้ำจืดนี้ อาจใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชและการควบคุมเชื้อก่อโรคในข้าวที่ปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมมากยิ่งขึ้น เนื่องจากสารสกัดจากโคโตซานเป็นสารสกัดชีวภาพ จึงไม่มีความเป็นพิษต่อผู้ใช้และมีผลตกค้างในสิ่งแวดล้อมน้อยกว่าสารเคมีสังเคราะห์

อุปกรณ์และวิธีการ

การสกัดโคตินและโคโตซานจากโครงร่างภายนอกของปุน้ำจืด

นำตัวอย่างสดของปูกุล *Thaipotamon* sp. มาแกะเอาเนื้อและอวัยวะภายในออกจากกระดอง ลำตัว ก้าม และขาเดินให้สะอาด แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 70°C ประมาณ 3 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบดละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 1 มิลลิเมตร วิธีการสกัดโคตินและโคโตซานดัดแปลงมาจากศราวุทธ (2549) โดยตัวอย่างเปลือกปูกุจะนำไปเตรียมโคตินซึ่งจะนำไปเปลือกปูกุมาทำการกำจัดหินปูนในเปลือก (Demineralization) แล้วนำไปกำจัดโปรตีน (Deproteinization) และกำจัดรงควัตถุ (Decolorization) และในการเตรียมโคโตซานนั้นจะนำโคตินที่ได้มาผ่านกระบวนการ Deacetylation นำไปต้มในสารละลายโดยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 50(w/w) ที่อุณหภูมิ 100°C ในอัตราส่วนโคตินต่อตัวทำละลาย 1 : 20 ใช้เวลาต้ม 2 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งให้เย็นแล้วล้างตัวอย่างจนกระทั่ง pH เป็นกลาง นำตัวอย่างที่ได้ไปอบที่ อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมงจะได้โคโตซาน (Figure 1 Left)

การเตรียมหัวเชื้อและดินสำหรับทดสอบประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อก่อโรคโคนเน่า

ทำการปลูกเชื้อร่วมกับพืชโดยเริ่มจากการเพาะเลี้ยงเชื้อราที่ก่อโรคโคนเน่าในพืช คือ *Sclerotium* sp. ซึ่งได้รับการอนุเคราะห์จากภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) ประมาณ 5-7 วัน จากนั้นนำเชื้อราที่ได้ไปปลูกเชื้อสู่ดิน โดยใช้ดินร่วนผสมกับเมล็ดข้าวโพดป่น ในอัตราส่วน 9 : 1 คลุกเข้าให้เข้ากันดี บรรจุลงในถุงพลาสติกแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส แล้วนำมาปลูกเชื้อรา เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน จนเชื้อเจริญเต็มถุง จากนั้นนำดินที่มีเชื้อราไปทำให้ร่วนแล้วผสมกับดินที่ทำให้ร่วนซุยซึ่งอบฆ่าเชื้อแล้ว ใช้ดินที่มีเชื้อ 1 ส่วนผสมกับดิน 9 ส่วน โดยปริมาตร ฉีดน้ำเป็นฝอยลงบนกองดิน ใช้พลาสติกคลุมให้มิดชิดทิ้งไว้นาน 2 วัน จากนั้นนำดินไปใส่ภาชนะปลูกแล้วทำการทดสอบกับข้าว (Figure 1 right)

การทดสอบผลของโคโตซานในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวและการก่อโรคโคนเน่า

นำสารโคโตซานละลายในกรดอะซิติก 1 N ปรับสารละลายโคโตซานให้ได้ความเข้มข้น 1,000ppm ปรับค่า pH ประมาณ 6.0 จากนั้นนำไปทดสอบประสิทธิภาพการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าวและการยับยั้งการติดโรคโคนเน่าจากเชื้อราที่ก่อโรคโคนเน่า *Sclerotium* sp. ในเรือนทดลอง วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยการใช้ชุดทดลองทั้งหมด 5 ชุดทดลอง แต่ละชุดทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำรายละเอียดของชุดทดลอง คือ

- ชุดทดลองที่ 1 ใส่กากล้นนึ่งฆ่าเชื้อ (ชุดควบคุมลบ)
 ชุดทดลองที่ 2 ใส่สารกำจัดเชื้อรา Dithiocarbamate 1,000 ppm (ชุดควบคุมบวก)
 ชุดทดลองที่ 3 ใส่สารละลายโคโตซานความเข้มข้น 1,000 ppm
 ชุดทดลองที่ 4 ใส่สารละลายโคโตซานความเข้มข้น 1,000 ppm ร่วมกับสารกำจัด
 เชื้อรา Dithiocarbamate 1,000 ppm อัตราส่วน 1 : 1
 ชุดทดลองที่ 5 ใส่สารละลายโคโตซานความเข้มข้น 1,000 ppm ร่วมกับสารกำจัด
 เชื้อรา Dithiocarbamate 1,000 ppm อัตราส่วน 3 : 1

ปลูกกล้าข้าวพันธุ์ กข 6 ที่มีอายุ 30 วัน ลงในภาชนะปลูกจำนวน 5 ต้นหลังจากปลูกกล้าข้าวใส่สารละลายโคโตซานและสารกำจัดเชื้อราในรูปแบบต่างๆ ทุกสัปดาห์ เมื่อครบ 4 สัปดาห์หาน้ำหนักแห้งเฉลี่ยต่อต้นของส่วนลำต้น ส่วนราก และน้ำหนักแห้งเฉลี่ยทั้งหมด พร้อมทั้งวัดอัตราการรอดตายและบันทึกลักษณะการติดโรคโคนเน่า จากนั้นนำข้อมูลเชิงปริมาณมาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว One-way analysis of variance (One-way ANOVA) และ Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลของโคโตซานที่มีต่อการเจริญเติบโตของข้าว

เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยต่อต้นของน้ำหนักแห้งของลำต้น ราก และน้ำหนักแห้งทั้งหมด พบว่าการเจริญเติบโตในส่วนของลำต้นของข้าวมีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของรากและน้ำหนักแห้งทั้งหมด ผลการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าค่าเฉลี่ยในทุกชุดทดลองมีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าชุดทดลองที่ T3 ข้าวมีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแห้งทั้งหมดและน้ำหนักแห้งของรากสูงที่สุด (Table 1, Figure 1) รองลงมา คือ ชุดทดลองที่ T4 และ T2 ตามลำดับ ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าโคโตซานจากปุ๋ยน้ำจืดสกุล *Thaipotamon* มีผลต่อการควบคุมเชื้อในดินทำให้ปริมาณของเชื้อ *Sclerotium* ใน T3 น้อยกว่า T1 ส่งผลให้น้ำหนักแห้งรวมมากกว่าซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับงานวิจัยของไพฑูรย์ (2550) ที่ทำการทดสอบผลของโคโตซานต่อข้าวปทุมธานี 1 และยังสามารถสอดคล้องกับงานวิจัยของรัชชนก เกษม และพรณี (2556) ที่ทดสอบการเจริญของข้าวพันธุ์สังข์หยดพันธุ์ด้วยเชื้อออสโตรโคโตซานและโคโตซาน ซึ่งผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าออสโตรโคโตซานและโคโตซานสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของข้าวพันธุ์สังข์หยดพันธุ์ได้

ผลของโคโตซานต่อการติดโรคโคนเน่าจากเชื้อ *Sclerotium* sp.

จากการศึกษาผลของโคโตซานต่อการติดเชื้อและอัตราการตายของข้าวที่เกิดจากการติดเชื้อโรคโคนเน่าจากเชื้อราชนิด *Sclerotium* sp. พบว่าค่าเฉลี่ยของอัตราการรอดตายของกล้าข้าวที่เวลา 4 สัปดาห์ มีอัตราสูงโดยทุกชุดทดลองมีอัตราการรอดตายร้อยละ 100 ยกเว้นชุดทดลอง T4 ที่มีอัตราการรอดตายของกล้าข้าวเฉลี่ยร้อยละ 90 (Table 2) เมื่อตรวจสอบลักษณะภายนอกของกล้าข้าวในทุกชุดทดลองไม่พบรอยข้าสีน้ำตาลบริเวณโคนต้น และเนื้อเยื่อบริเวณโคนต้นไม่คอดลงซึ่งเป็นอาการติดเชื้อโรคโคนเน่าจากเชื้อราชนิด *Sclerotium* sp. และพบว่าต้นกล้าข้าวในชุด

Table 2 Survivor rate of rice after harvest (four weeks).

Treatments	Survivor rate (%)
T1 (Control)	100.0±0.00
T2	100.0±0.00
T3	100.0±0.00
T4	90.0±0.02
T5	100.0±0.00
F-test	ns
C.V. (%)	6.0

ns Not significant

สรุป

ไคโตซานที่สกัดได้จากปูน้ำจืดสกุล *Thaipotamon* sp. ที่ระดับความเข้มข้น 1,000ppm มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของข้าว อีกทั้งยังสามารถลดปัญหาการติดเชื้อโรคโคนเน่าจากเชื้อราก่อโรคชนิด *Sclerotium* sp. และสารละลายไคโตซานไม่ควรใช้ร่วมกับสารกำจัดเชื้อรา เพราะจะทำให้ประสิทธิภาพของข้าวลดลง ซึ่งการใช้สารละลายไคโตซานจะช่วยลดปริมาณการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนโดยงบประมาณแผ่นดินที่พิจารณาผ่านความเห็นชอบจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ปีงบประมาณ พ.ศ.2560 (รหัสโครงการสัญญา PCRU_2560_L007)

เอกสารอ้างอิง

- ชนิตรา โพธิ์เวชฐ์ ผ่องเพ็ญ จิตอารีย์รัตน์ อภิรติ อุทัยรัตนกิจ และทรงศิลป์ พจน์ชนะชัย.2556.การยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อราด้วย Chitsan-derivatives และนาโนแพลทินัม .*ว.กษ.วิทย์*.44(2): 525-528.
- ธัญชนก พูนศิลป์ เกษม อัสวตธีรัตน์กุล และพรณี อัสวตธีรัตน์กุล.2556. ผลของออลิโกไคโตซานต่อการเจริญเติบโตและกลไกการป้องกันตนเองในข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง. *วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ*.

16(3): 21-28.

- ไพฑูรย์ แสงบัวหลวง.2550. ผลของไคโตซานต่อการเติบโตและปริมาณผลผลิตในข้าว *Oryza sativa* L. **พันธุ์ปทุมธานี 1**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- ศราวุธ แสงอุไร.2549. การสกัดแยกพอลิเมอร์ชีวภาพจากครัสเตเชียน การเตรียมอนุพันธ์ และการใช้ **ดูดซับสารเคมีบางชนิด**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- Chung, Y.C., H.L. Wang, Y.M., Chen and S.L. Li.2003. Effect of abiotic factors on the antibacterial activity against waterborne pathogens. **Bioresour. Technol.** 88: 179-184.
- Hirana, S. and N. Nagao.1989. Effects of chitosan, pectic and lysozyme and chitinase on the growth of several phytopathogens. **Agricultural and Biological Chemistry**, 53: 3065-3066.
- Kareem, F.A.E., N.S.E. Mougy and N.E.G. Gamal.2006. Evaluation of different application methods of chitin and chitosan for controlling tomato root rot disease under greenhouse and field condition. **Journal of Agriculture and Biological Science**, 2(5): 190-195.
- Naiyanetr, P.1992.**Crustacean Fauna of Thailand (Decapoda and Stomatopoda)**. 2nd Ed., Dept. Biol., Fac. Sci., Chulalongkorn Univ., Bangkok., 71 pp.
- Reddy, M.V.B., A. Joseph, P. Angers and L. Couture.1999. Chitosan treatment of wheat seeds induces resistance to *Fusariumgraminearum* and improves seed quality, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 47: 1208-1216.
- Yen, M.T., J.H. Yang and J.L. Mau.2009. Physicochemical characterization of chitin and chitosan from crab shells. **Carbohydrate Polymers**. 75: 15-21.

ประวัติคณะผู้วิจัย

1. ประวัติคณะผู้วิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวพวงผกา แก้วกรม
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Ms Puangpaka Kaewkrom
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-6701-01603-53-2
3. ตำแหน่งปัจจุบัน รองศาสตราจารย์
4. หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์ 67000 โทรศัพท์ 056-717100 ต่อ 2709 โทรสาร - e-mail: kpuangpaka@hotmail.com
5. ประวัติการศึกษา วท.บ.(เกษตรศาสตร์) วท.ม. (สัตววิทยา) วท.ด. (วิทยาศาสตร์ชีวภาพ)
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ ชีววิทยา นิเวศวิทยา เกษตรศาสตร์
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุ สถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย
- 7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย :
 1. การอนุรักษ์และใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพของต้นค้อและพืชกลุ่มใกล้เคียง อำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ (2548, ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา, สกอ)
 2. ความหลากหลายทางชีวภาพและนิเวศวิทยาของวงศ์ปาล์ม ในจังหวัดเพชรบูรณ์ (2549, ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากโครงการพัฒนาองค์ความรู้และศึกษานโยบายการจัดการทรัพยากรชีวภาพในประเทศไทย, BRT)
 3. การศึกษาการใช้ประโยชน์ที่ดินแบบมีส่วนร่วมโดยประชาชนในพื้นที่ต้นน้ำของกลุ่มน้ำป่าสัก (The study on community-based participation in landuse in head watershed, Pasak basin) (2550, ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช)
 4. ผลกระทบจากภาวะโลกร้อนต่อพืชเศรษฐกิจในจังหวัดเพชรบูรณ์ (The impact of climate change on economic plants in Phetchabun Province) (2552, ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ งบประมาณแผ่นดิน ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ)

5. การประเมินคุณสมบัติดินและการจัดการในนาข้าวภายหลังการเกิดปรากฏการณ์อุทกภัย (2552, ทุนสนับสนุนงานวิจัยจาก สกอ. ผ่าน เครือข่ายการวิจัยภาคเหนือตอนล่าง)
6. การประเมินการสะสมคาร์บอน และการปลดปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์ในพื้นที่ป่าไม้และพื้นที่เกษตรกรรมบริเวณลำห้วยน้ำก่อ (2551, ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช)
7. นิเวศวิทยาของปูน้ำจืดในวงศ์ Potamidae ในพื้นที่วิกฤตทางความหลากหลายชีวภาพเพื่อการอนุรักษ์ โดยความร่วมมือของชุมชน (2557, ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช)
8. ความหลากหลายของเห็ดไมคอร์ไรซาและการเพาะเชื้อในห้องปฏิบัติการ (2557, ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากสำนักงานบริหารโครงการวิจัยในอุดมศึกษาและพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ)
9. การเปรียบเทียบการปลูกข้าวด้วยเหินแดงสดและปุ๋ยชีวภาพจากเหินแดง (2558, ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์)
10. การหาแนวทางอนุรักษ์ชนิดพันธุ์ปูน้ำจืดวงศ์ Potamidae ชนิดหายากและการเพาะเลี้ยงนอกถิ่นกำเนิด (2559, ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช)

7.2 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน - การเผยแพร่

1. พวงผกา แก้วกรม สุริย์พร ธรรมิกพงษ์ สุรางค์รัตน์ พันแสง และสุภา น้อยจาก. 2550. ความหลากหลายทางชีวภาพของพืชตระกูลปาล์มและความต้องการอนุรักษ์ของชุมชนในอำเภอเขาค้อจังหวัดเพชรบูรณ์ (Biological diversity of Palm Family and the necessary to conservation by local community in Khao Kho District, Phetchabun Province). วารสารวิจัยเพื่อท้องถิ่นมหาวิทยาลัยราชภัฏภาคเหนือ 1: 35-50.
2. Puangpaka Kaewkrom, Sureporn Thummikkaphong and Tussarin Somnountad. 2007. Population Ecology of Some Important Palm Species in Phetchabun Province. **Kasetsart Journal** 41(3): 407-413.
3. พวงผกา แก้วกรม, กฤษมา มีศิริ และพรทิตัน ปิตสม. 2550. เปรียบเทียบผลการใช้สารเคมีและไม่ใช้สารเคมีที่มีต่อคุณสมบัติของดินและประโยชน์ทางสังคมในระบบนิเวศเกษตรกรรม. วารสารวิจัยเพื่อท้องถิ่นมหาวิทยาลัยราชภัฏภาคเหนือ 1 (3) : 15-24.
4. สุรางค์รัตน์ พันแสง, สุริย์พร ธรรมิกพงษ์, พวงผกา แก้วกรม และนันทวรรณ ทองคด. 2552. การบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรด้วยพืชน้ำ. วารสารวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ 1: 55-64.

5. พวงผกา แก้วกรม. 2556. โครงการประเมินผลกระทบจากขยะและการใช้ประโยชน์จากคาร์บอนฟุตพริ้นต์ในชุมชนและโรงเรียน. ใน การประชุมโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษา ครั้งที่ 1 โดยความร่วมมือของ 70 มหาวิทยาลัย. 21-23 มกราคม 2556. ณ ศูนย์วัฒนธรรมภาคเหนือตอนล่าง มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม.
6. พวงผกา แก้วกรม. 2556. โครงการบูรณาการการจัดการพื้นที่ชุ่มน้ำในจังหวัดเพชรบูรณ์. ใน การประชุมโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษา ครั้งที่ 1 โดยความร่วมมือของ 70 มหาวิทยาลัย. 21-23 มกราคม 2556. ณ ศูนย์วัฒนธรรมภาคเหนือตอนล่าง มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม. (Poster)
7. สุริย์พร ธรรมิกพงษ์, พวงผกา แก้วกรม และ ภัทราวุธ พุสิงห์. 2557. การประเมินพื้นที่เสี่ยงภัยน้ำท่วมตำบลน้ำก้อ อำเภอหล่มสัก จังหวัดเพชรบูรณ์. ใน การประชุมวิชาการระดับชาติมหาวิทยาลัยราชภัฏกลุ่มศรีอยุธยา ครั้งที่ 5 วันที่ 21-22 ตุลาคม 2557 หน้า 628-633. (Poster)
8. สุรางค์รัตน์ พันแสง และพวงผกา แก้วกรม. 2558. การเปรียบเทียบปริมาณสารอาหารจากปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพจากเห็ดแครงที่ใช้มูลไก่ มูลสุกร และมูลโค ใน การประชุมวิชาการงานเกษตรนเรศวร ครั้งที่ 13 (เกษตรภาคเหนือตอนล่าง) 2-3 พฤศจิกายน 2558. คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร. (Poster)
9. พวงผกา แก้วกรม จิราวรรณ อุ่นเมตตาอารี สุรางค์รัตน์ พันแสง แสงจันทร์ สอนสว่าง และนุชจรินทร์ แก้วกล้า. 2559. การศึกษาการเพาะเชื้อเห็ดเอกไมคอร์ไรซาสกุล *Russula* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB และ MEB ในห้องปฏิบัติการ. ใน การประชุมวิชาการและการนำเสนอผลการวิจัยระดับชาติ “วิจัยรับใช้ชุมชน สร้างสังคมฐานความรู้” 31 สิงหาคม 2559 ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏธนบุรี. (Poster)
10. พวงผกา แก้วกรม สุรางค์รัตน์ พันแสง นุชจรินทร์ แก้วกล้า ปอแก้ว พรหมเพชร แสงจันทร์ สอนสว่าง และสมเพียร พิภทอง. 2560. สภาพนิเวศวิทยาและแหล่งที่อยู่อาศัยปูป่าสกุล *Thaipotamon* ในจังหวัดเพชรบูรณ์. ใน การประชุมวิชาการและการนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ “พะเยาวิจัย ครั้งที่ 6” 28-29 มกราคม 2560 ณ มหาวิทยาลัยพะเยา. (Poster)
11. พวงผกา แก้วกรม สุริย์พร ธรรมิกพงษ์ ปอแก้ว พรหมเพชร แสงจันทร์ สอนสว่าง สมเพียร พิภทอง และสุรางค์รัตน์ พันแสง. 2560. การศึกษาลักษณะภายนอกและคาร์โบไฮเดรตของปูป่า (*Thaipotamon holthuisi*) ในจังหวัดเพชรบูรณ์. ใน การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระหว่างสถาบัน ครั้งที่ 5 “วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อขับเคลื่อนสู่ประเทศไทย 4.0” 25 พฤษภาคม 2560 ณ โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพมหานคร. (Poster)
12. สุรางค์รัตน์ พันแสง พวงผกา แก้วกรม ปอแก้ว พรหมเพชร สมเพียร พิภทอง และแสงจันทร์ สอนสว่าง 2560. การประเมินคุณสมบัติด้านอนุผลิตอิสระของพืชสมุนไพรไทยบางชนิด. ใน การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระหว่างสถาบัน ครั้งที่ 5 “วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อขับเคลื่อน

สู่ประเทศไทย 4.0” 25 พฤษภาคม 2560 ณ โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพมหานคร.
(Poster)

13. พวงผกา แก้วกรม สุรางค์รัตน์ พันแสง นุชจรินทร์ แก้วกล้า สุรีย์พร ชรรณิกพงษ์ ปอแก้ว พรหมเพชร
แสงจันทร์ สอนสว่าง และสมเพียร พักทอง. 2560. ผลของไคโตซานจากปูน้ำจืดสกุล *Thaipotamon* ต่อ
การเจริญเติบโตและลดปัญหาโรครากเน่าจากเชื้อ *Sclerotium* sp. ของข้าว. ใน การประชุมวิชาการ
ระดับชาติ งานเกษตรแฟร์นนทรีอีสาน ครั้งที่ 5 26 พฤศจิกายน 2560 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร. (Poster)

14. พวงผกา แก้วกรม ปอแก้ว พรหมเพชร สมเพียร พักทอง แสงจันทร์ สอนสว่าง และสุรางค์รัตน์ พัน
แสง. 2560.ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดควายแก้วแม่ (*Hiptage candicans* Hook.f.) ใน การประชุม
วิชาการระดับชาติ งานเกษตรแฟร์นนทรีอีสาน ครั้งที่ 5 26 พฤศจิกายน 2560 ณ
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร. (Poster)

2. ประวัติคณะผู้วิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวนุชจรินทร์ แก้วกล้า

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Ms Nutcharin Kaewkha

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-2103-0014-9398

3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

4. หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ต.แสนสุข อ.เมือง จ.ชลบุรี

โทรศัพท์ 08-1778-3723, 0-3875-4900 ต่อ 3090 โทรสาร 038393489 และ e-mail:

wetland_k@hotmail.com

5. ประวัติการศึกษา วท.บ.(ชีววิทยา) วท.ม. (สัตววิทยา)

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) นิเวศวิทยาพื้นที่ชุ่มน้ำ, สรีรวิทยา

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุ สถานภาพใน

การทำงานวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือ ผู้ร่วมวิจัยในแต่ละ

ข้อเสนอการวิจัย

7.1 หัวหน้าโครงการวิจัย :-

7.2 งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว : ชื่อผลงานวิจัย ปีที่พิมพ์ การเผยแพร่ และแหล่งทุน -

การเผยแพร่

1. พวงผกา แก้วกรม จีราวรรณ อุ่นเมตตาอริ สุรางค์รัตน์ พันแสง แสงจันทร์ สอนสว่าง และนุชจรินทร์ แก้วกล้า. 2559. การศึกษาการเพาะเชื้อเห็ดเอกไมคอร์ไรซาสกุล *Russula* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB และ MEB ในห้องปฏิบัติการ. ใน การประชุมวิชาการและการนำเสนอผลการวิจัยระดับชาติ “วิจัยรับใช้ชุมชน สร้างสังคมฐานความรู้” 31 สิงหาคม 2559 ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏธนบุรี. (Poster)
2. พวงผกา แก้วกรม สุรางค์รัตน์ พันแสง นุชจรินทร์ แก้วกล้า สุรีย์พร ธรรมิกพงษ์ ปอแก้ว พรหมเพชร แสงจันทร์ สอนสว่าง และสมเพียร พิภพทอง. 2560. ผลของไคโดซานจากปูน้ำจืดสกุล *Thaipotamon* ต่อการเจริญเติบโตและลดปัญหาโรครากเน่าจากเชื้อ *Sclerotium* sp. ของข้าว. ใน การประชุมวิชาการระดับชาติ งานเกษตรแฟร์นนทรีอีสาน ครั้งที่ 5 26 พฤศจิกายน 2560 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร. (Poster)

3. ประวัติคณะผู้วิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวสุรางค์รัตน์ พันแสง
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Ms Surangrat Punsang
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-6704-00213-29-9
3. ตำแหน่งปัจจุบัน พนักงานมหาวิทยาลัย สายวิชาการ
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์ 67000 โทรศัพท์ 056-717100 ต่อ 2715 โทรสาร 056-717123 e-mail: surangrat_aejung@hotmail.com
5. ประวัติการศึกษา วท.บ.(ชีววิทยา) วท.ม. (วิทยาศาสตร์การเกษตร)
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ ชีววิทยา เกษตรศาสตร์
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุ สถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนอการวิจัย

7.1 ผู้ร่วมโครงการวิจัย :

1. การศึกษาความพึงพอใจของนักศึกษาที่เรียนรู้แบบร่วมมือ วิชา ชีววิทยาเบื้องต้น (2553, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์)
2. การใช้ไซยาโนแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศมาใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ(2553, รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์)

3. การศึกษาสารสกัดชีวภาพเพื่อการผลิตกล้วยไม้เชิงเศรษฐกิจ (2554, ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์)

4. การพัฒนาปุ๋ยชีวภาพจากผลผลิตทางการเกษตรในท้องถิ่น เพื่อสนองแนวทางพระราชดำริเศรษฐกิจพอเพียง (2554, ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ งบประมาณแผ่นดิน ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช.)

5. การเปรียบเทียบการปลูกข้าวด้วยเห็ดแดงสดและปุ๋ยชีวภาพจากเห็ดแดง (2558, ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์)

6. การบูรณาการความรู้และภูมิปัญญาท้องถิ่นของพืชสมุนไพรประจำถิ่น (2559, ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ งบประมาณแผ่นดิน ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช.) (กำลังดำเนินการ)

7. การประเมินคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ทางภูมิคุ้มกันที่ได้จากสมุนไพรบางชนิดในหนู BALB/cMlac (2560, ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ งบประมาณแผ่นดิน ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช.)

7.2 ผู้ร่วมโครงการวิจัย :

1. การอนุรักษ์และใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพของต้นค้อและพืชกลุ่มใกล้เคียง อำเภอบ้านค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์ (2548, ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการอุดมศึกษา, สกอ)

2. ผลกระทบจากภาวะโลกร้อนต่อพืชเศรษฐกิจในจังหวัดเพชรบูรณ์ (2552, ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ งบประมาณแผ่นดิน ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช.)

3. การประเมินคุณสมบัติดินและการจัดการในนาข้าวภายหลังการเกิดปรากฏการณ์อุทกภัย (2552, ทุนสนับสนุนจาก สกอ. ผ่านเครือข่ายการวิจัยภาคเหนือตอนล่าง)

4. การพัฒนาแหล่งท่องเที่ยวทางธรรมชาติในจังหวัดเพชรบูรณ์อย่างยั่งยืน (2553, ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ งบประมาณแผ่นดิน ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช.)

5. การประยุกต์ใช้ระบบสารสนเทศทางภูมิศาสตร์ในการจัดการพื้นที่นาข้าวและการประเมินศักยภาพข้าวไทยในสภาพภูมิอากาศที่เปลี่ยนแปลงเพื่อมุ่งสู่ระบบการปฏิบัติที่ถูกต้องและเหมาะสม (2553, ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ งบประมาณแผ่นดิน ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช.)

6. โครงการส่งเสริมเครือข่ายเยาวชนเพื่ออนุรักษ์ลุ่มน้ำป่าสัก (2554, ทุนสนับสนุนงานวิจัยจากมหาวิทยาลัย ราชภัฏเพชรบูรณ์ งบประมาณแผ่นดิน ผ่านสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, วช.)

7. การจัดการขยะร่วมกับองค์การบริหารส่วนตำบล (2554, ทุนสนับสนุนจาก สกอ.)

8. การพัฒนาแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศและฟื้นฟูพื้นที่ชุ่มน้ำในจังหวัดเพชรบูรณ์ (2554, ทุนสนับสนุนจาก สกอ.)

การเผยแพร่

1. พวงผกา แก้วกรม สุริย์พร ธรรมิกพงษ์ สุรางค์รัตน์ พันแสง และสุภา น้อยจาก. 2550. ความหลากหลายทางชีวภาพของพืชตระกูลปาล์มและความต้องการอนุรักษ์ของชุมชนในอำเภอเขาค้อจังหวัดเพชรบูรณ์ (Biological diversity of Palm Family and the necessary to conservation by local community in Khao Kho District, Phetchabun Province). วารสารวิจัยเพื่อท้องถิ่นมหาวิทยาลัยราชภัฏภาคเหนือ 1: 35-50.

2. สุรางค์รัตน์ พันแสง, สุริย์พร ธรรมิกพงษ์, พวงผกา แก้วกรม และนันทวรรณ ทองคด. 2552. การบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกรด้วยพืชน้ำ. วารสารวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ 1: 55-64.

3. สุรางค์รัตน์ พันแสง และพวงผกา แก้วกรม. 2558. การเปรียบเทียบปริมาณสารอาหารจากปุ๋ยอินทรีย์ชีวภาพจากเห็ดแครงที่ใช้มูลไก่ มูลสุกร และมูลโค ใน การประชุมวิชาการงานเกษตรนเรศวร ครั้งที่ 13 (เกษตรภาคเหนือตอนล่าง) 2-3 พฤศจิกายน 2558. คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร. (Poster)

4. พวงผกา แก้วกรม จิราวรรณ อุ่นเมตตาอริ สุรางค์รัตน์ พันแสง แสงจันทร์ สอนสว่าง และนุชจรินทร์ แก้วกล้า. 2559. การศึกษาการเพาะเชื้อเห็ดเอกไมคอร์ไรซาสกุล *Russula* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDB และ MEB ในห้องปฏิบัติการ. ใน การประชุมวิชาการและการนำเสนอผลการวิจัยระดับชาติ “วิจัยรับใช้ชุมชน สร้างสังคมฐานความรู้” 31 สิงหาคม 2559 ณ มหาวิทยาลัยราชภัฏธนบุรี. (Poster)

5. พวงผกา แก้วกรม สุริย์พร ธรรมิกพงษ์ ปอแก้ว พรหมเพชร แสงจันทร์ สอนสว่าง สมเพียร พักทอง และสุรางค์รัตน์ พันแสง. 2560. การศึกษาลักษณะภายนอกและคาร์โบไฮเดรตของปูป่า (*Thaipotamon holthuisi*) ในจังหวัดเพชรบูรณ์. ใน การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระหว่างสถาบัน ครั้งที่ 5 “วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อขับเคลื่อนสู่ประเทศไทย 4.0” 25 พฤษภาคม 2560 ณ โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพมหานคร. (Poster)

6. สุรางค์รัตน์ พันแสง พวงผกา แก้วกรม ปอแก้ว พรหมเพชร สมเพียร พักทอง และแสงจันทร์ สอนสว่าง 2560. การประเมินคุณสมบัติด้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรไทยบางชนิด. ใน การประชุมวิชาการ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระหว่างสถาบัน ครั้งที่ 5 “วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อขับเคลื่อนสู่ประเทศไทย 4.0” 25 พฤษภาคม 2560 ณ โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพมหานคร. (Poster)

7. พวงผกา แก้วกรม สุรางค์รัตน์ พันแสง นุชจรินทร์ แก้วกล้า สุรีย์พร ธรรมิกพงษ์ ปอแก้ว พรหมเพชร แสงจันทร์ สอนสว่าง และสมเพียร พักทอง. 2560. ผลของไคโตซานจากปูน้ำจืดสกุล *Thaipotamon* ต่อการเจริญเติบโตและลดปัญหาโรครากเน่าจากเชื้อ *Sclerotium* sp. ของข้าว. ใน การประชุมวิชาการระดับชาติ งานเกษตรแฟร์นนทรีอีสาน ครั้งที่ 5 26 พฤศจิกายน 2560 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร. (Poster)

8. พวงผกา แก้วกรม ปอแก้ว พรหมเพชร สมเพียร พักทอง แสงจันทร์ สอนสว่าง และสุรางค์รัตน์ พันแสง. 2560.ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดควายแก้วแม่ (*Hiptage candicans* Hook.f.) ใน การประชุมวิชาการระดับชาติ งานเกษตรแฟร์นนทรีอีสาน ครั้งที่ 5 26 พฤศจิกายน 2560 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร. (Poster)

4. ประวัติคณะผู้วิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล นางสาวสมเพียร พักทอง

Miss Sompian Fagtong

2. หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน 3670100751040

3. ตำแหน่งปัจจุบัน พนักงานปฏิบัติการ ชีววิทยา

4. ตำแหน่งทางวิชาการ -

5. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

ศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อ.เมือง จ. เพชรบูรณ์ 76000

โทรศัพท์ 056-717100 ต่อ 2709, 089-4619199 E-mail : mai_bio45@hotmail.com

6. ประวัติการศึกษา

วท.บ. (ชีววิทยาประยุกต์)

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

7. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

การตรวจวิเคราะห์อาหาร การตรวจวิเคราะห์น้ำ ทางด้านจุลลินทรีย์ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

8. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย

- วิทยานิพนธ์ เรื่อง เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ดิปลากิ้ง

5. ประวัติคณะผู้วิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล นางสาวแสงจันทร์ สอนสว่าง

Miss Sangjan Sonsawang

2. หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน 3670100389472

3. ตำแหน่งปัจจุบัน พนักงานปฏิบัติการ ชีววิทยา

4. ตำแหน่งทางวิชาการ -

5. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

ศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อ.เมือง จ. เพชรบูรณ์ 76000

โทรศัพท์ 056-717100 ต่อ 2709, E-mail : Sangjanbio@hotmail.com

6. ประวัติการศึกษา

วท.บ. (ชีววิทยาประยุกต์) มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

7. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

การตรวจวิเคราะห์อาหาร เทคนิคทางชีววิทยา การเก็บรวบรวมพันธุ์พืช การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

8. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย -

6. ประวัติคณะผู้วิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล นางสาวปอแก้ว พรหมเพชร

Miss Pokaew Promphet

2. หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน 1670100018338

3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์ประจำพิเศษ

4. ตำแหน่งทางวิชาการ -

5. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

หลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อ.เมือง จ. เพชรบูรณ์ 76000

โทรศัพท์ 056-717100 ต่อ 2709, E-mail : Porkaew@hotmail.com

6. ประวัติการศึกษา

วท.บ. (ชีววิทยา) วท.ม. (เทคโนโลยีชีวภาพ)

7. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

ภูมิคุ้มกันวิทยา

8. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย

8.1 Porkaew Promphet, Sirirat Bunarsa, Manote Sutheerawattananonda, Anupan Kongbangkerd and Duangkamol Kunthalert. 2012. Alteration of lymphocyte subpopulation in mice fed lutein from marigold extract. In The 4th Science Research Conference. Phitsanulok: Faculty of Science, Naresuan University.

8.2 Sirirat Bunarsa, Porkaew Promphet, Manote Sutheerawattananonda and Duangkamol Kunthalert. 2012. Hematological assessments of sericin-derived oligopeptides in BALB/c mice. In The 4th Science Research Conference. Phitsanulok: Faculty of Science, Naresuan University.

8.3 พวงผกา แก้วกรม สุรางค์รัตน์ พันแสง นุชจรินทร์ แก้วกล้า ปอแก้ว พรหมเพชร แสงจันทร์ สอนสว่าง และสมเพียร พักทอง. 2560. สภาพนิเวศวิทยาและแหล่งที่อยู่อาศัยปูป่าสกุล *Thaipotamon* ใน จังหวัดเพชรบูรณ์. ใน การประชุมวิชาการและการนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ “พะเยาวิจัย ครั้งที่ 6” 28-29 มกราคม 2560 ณ มหาวิทยาลัยพะเยา. (Poster)

8.4 พวงผกา แก้วกรม สุริย์พร ธรรมิกพงษ์ ปอแก้ว พรหมเพชร แสงจันทร์ สอนสว่าง สมเพียร พักทอง และสุรางค์รัตน์ พันแสง. 2560. การศึกษาลักษณะภายนอกและคาริโอไทป์ของปูป่า (*Thaipotamon holthuisi*) ในจังหวัดเพชรบูรณ์. ใน การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระหว่างสถาบัน ครั้งที่ 5 “วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อขับเคลื่อนสู่ประเทศไทย 4.0” 25 พฤษภาคม 2560 ณ โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพมหานคร. (Poster)

8.5 สุรางค์รัตน์ พันแสง พวงผกา แก้วกรม ปอแก้ว พรหมเพชร สมเพียร พักทอง และแสงจันทร์ สอนสว่าง 2560. การประเมินคุณสมบัติด้านอนุมูลอิสระของพืชสมุนไพรไทยบางชนิด. ใน การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระหว่างสถาบัน ครั้งที่ 5 “วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเพื่อขับเคลื่อนสู่ประเทศไทย 4.0” 25 พฤษภาคม 2560 ณ โรงแรมมิราเคิล แกรนด์ คอนเวนชั่น กรุงเทพมหานคร. (Poster)

8.6 พวงผกา แก้วกรม สุรางค์รัตน์ พันแสง นุชจรินทร์ แก้วกล้า สุริย์พร ธรรมิกพงษ์ ปอแก้ว พรหมเพชร แสงจันทร์ สอนสว่าง และสมเพียร พักทอง. 2560. ผลของไคโตซานจากปูน้ำจืดสกุล *Thaipotamon* ต่อการเจริญเติบโตและลดปัญหาโรครากเน่าจากเชื้อ *Sclerotium* sp. ของข้าว. ใน การประชุมวิชาการระดับชาติ งานเกษตรแฟร์นนทบุรีอีสาน ครั้งที่ 5 26 พฤศจิกายน 2560 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร. (Poster)

8.7 พวงผกา แก้วกรม ปอแก้ว พรหมเพชร สมเพียร พักทอง แสงจันทร์ สอนสว่าง และสุรางค์รัตน์ พันแสง. 2560. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดควายแก้วแม่ (*Hiptage candicans* Hook.f.) ในการประชุมวิชาการระดับชาติ งานเกษตรแฟร์นนทรีอีสาน ครั้งที่ 5 26 พฤศจิกายน 2560 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร. (Poster)

7. ประวัติคณะผู้วิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวจิราวรรณ อุ่นเมตตาอารี

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Ms Jirawan oonmetta-aree

2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3-1014-0055-7244

3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ติดต่อได้สะดวก พร้อมหมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ e-mail

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา จ.นครราชสีมา 30000 โทรศัพท์ 0-4400-9009 โทรสาร : 0-4427-2939 e-mail: Jirawan_o@yahoo.com

4. โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา ต.ในเมือง อ.เมือง จ.นครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ 0-4400-9009 ต่อ 1325 โทรสาร 0-4427-2939 e-mail: jirawan_o@yahoo.com

5. ประวัติการศึกษา

ระดับปริญญา	สถานศึกษา	ปีที่สำเร็จ
วท.บ. (ชีววิทยา)	มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร	2536
วท.ม. (เภสัชศาสตร์)	มหาวิทยาลัยมหิดล	2540
วท.ด. (เทคโนโลยีอาหาร)	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี	2548

6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

Food Microbiology, Food safety, Natural antimicrobial product, Fermented food

7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัยทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำการวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละผลงานวิจัย

- การประเมินความเสี่ยงจากสิ่งปนเปื้อนในวัตถุดิบและสัมผัสดำรงสำเร็จในเขตพื้นที่จังหวัดนครราชสีมา และกระบวนการลดสิ่งปนเปื้อนในวัตถุดิบสัมผัสดำรง ในชุดโครงการวิจัยการพัฒนา

สัมดำโคราช เพื่อธุรกิจอาหารสุขภาพ ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย พ.ศ.2549 (สกอ.) (ผู้ร่วมโครงการวิจัย)

- การศึกษาวิธีการที่มีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาเชื้อวุ้นมะพร้าว *Acetobacter* sp. พ.ศ. 2551 (หัวหน้าโครงการวิจัย) ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา

- การพัฒนาผลิตภัณฑ์การแปรรูปจากผลผลิตทางการเกษตรภายใต้โครงการหนึ่งตำบลหนึ่งผลิตภัณฑ์ (OTOP) ในจังหวัดนครราชสีมา โดยต่อยอดจากภูมิปัญญาชาวบ้านตามความต้องการของท้องถิ่น พ.ศ. 2551 (ผู้ร่วมโครงการวิจัย) ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2551 มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา

- การพัฒนาชุดสัมดำโคราชพร้อมบริโภคร พ.ศ.2552 (หัวหน้าโครงการวิจัย)

- การผลิตวุ้นสวรรค์จากน้ำแดงโม พ.ศ.2552 (หัวหน้าโครงการวิจัย) ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา

- การใช้เครื่องเทศในกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์ปลาต้ม ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ประจำปีงบประมาณ 2553 มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา

- โครงการการสร้างเสริมศักยภาพกลุ่มแปรรูปไข่เค็มเพื่อขอรับการรับรองมาตรฐาน ออ. (เลขสารบบอาหาร) ได้รับทุนสนับสนุนจากศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ พ.ศ.2553 (ผู้ร่วมโครงการวิจัย)

- การยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์หน่อไม้หนึ่ง (หัวหน้าโครงการวิจัย) ภายใต้ชุดโครงการการใช้ประโยชน์และเพิ่มมูลค่าของวัตถุดิบในท้องถิ่นจังหวัดนครราชสีมา พ.ศ.2556

- ผลของสารสกัดหยาบจากใบหมาน้อยและโซเดียมแอลจินตต่อการรอดชีวิตของเชื้อดั่งรูป *Lactobacillus acidophilus* ในกระบวนการแปรรูปอาหาร พ.ศ.2556 (หัวหน้าโครงการวิจัย)

- การสกัดน้ำมันมะพร้าวบริสุทธิ์โดยใช้สารสกัดจากย่านางพราง พ.ศ.2557 (หัวหน้า

โครงการวิจัย)

การเผยแพร่

1. มาลิน จุลศิริ อรุณี สาระยา ฆรรณิ ดุษฎีเมศวร์ ประเวทย์ ดุษฎีเมศวร์ จิรวรรณ อุ่นเมตตาอารี. การตรวจหาเชื้อ *Escherichia coli* O157:H7 ในน้ำนมดิบ และเนื้อหมูปด ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35 สาขาประมง วิทยาศาสตร์ วิศวกรรมศาสตร์ การจัดการทรัพยากรและสิ่งแวดล้อม คหกรรมศาสตร์ ศึกษาศาสตร์ และเศรษฐศาสตร์ 3-5 กุมภาพันธ์ 2540. กรุงเทพฯ, 2540, หน้า 281 (725 หน้า)

2. Oonmetta-aree, J., Suzuki, T., Eumkeb, G., and Gasaluck, P. (2004). Antimicrobial properties of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*. **10th World Congress on Clinical Nutrition**. November 30-December 3, 2004, Pearl Village, Phuket, Thailand.
3. Oonmetta-aree, J., Suzuki, T., Eumkeb, G., and Gasaluck, P. (2006). Antimicrobial properties and action of galangal (*Alpinia galanga* Linn.) on *Staphylococcus aureus*. **LWT-Food Science and Technology**. 39(10): 1214-1220.
4. Oonmetta-aree, J., Witatan, N., and Lamanee, S. (2008). Effects of tamarind and lemongrass water extract for extended shelf life of Pui-Phai. **The 20th Annual Meeting and International Conference of the Thai Society for Biotechnology. Biotechnology for Global Care, October 14-17, 2008**. Maha Sarakham, Thailand.
5. Jirawan Oonmetta-aree, Tukta Neramitrkhonburi and Nathaporn Singsupan. (2010). Development of a safety in ready to eat Korat Somtam set. **Food Innovation Asia Conference 2010: Indigenous Food Research and Development to Global Market, June 17-18 2010**. BITEC, Bangkok, Thailand.
6. Jirawan Oonmetta-aree, Areerat Tiparak and Pornnarong Puinok. (2012). Antifungal activities of Clove Extract in broth culture and food. **Food Innovation Asia Conference 2012: Green and Sustainable Food Technology for All, June 14-15, 2012**. BITEC, Bangkok, Thailand.
7. Jirawan Oonmetta-aree, Areerat Tiparak and Pornnarong Puinok. (2012). Antifungal activities of Clove Extract in broth culture and food. **The 24th Annual Meeting and International Conference of the Thai Society for Biotechnology. International Conference on Green Biotechnology: Renewable Energy and Global Care, November 29-30, 2012**. Ubon Ratchathani, Thailand.
8. Jirawan Oonmetta-aree, Thitikorn Mahidsanan, Srisalai Plaikhuntod and DuangluedeePromnam. (2013). Effect of spices on fermentation of fish product (Plaasom). **Food Innovation Asia Conference 2013: Empowering SMEs through Science and Technology. June 13-14, 2013**. BITEC, Bangkok, Thailand.
9. Jirawan Oonmetta-aree, Jittra Singtong, Ratchadaporn Oonsivilai. (2013). Effects of Krueo Ma Noy (*Cissampelos pareira*) crude extract as prebiotic on survival of encapsulated *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1338 under acidic and bile salt conditions. **13th Asean Food Conference 2013. Meeting future food demands: security & sustainability. September 9-11, 2013**. Singapore.
10. Jirawan Oonmetta-aree, Tanida Phatisena, Jittra Singthong. (2014). Extraction of coconut oil by

using Yan-Pang-Hom (*Paederia linearis*) extract. **NATPRO 5 The fifth International Conference on Natural Products of Health and Beauty. May 6-8, 2014. Phuket.**

11. Jittra Singthong and Jirawan Oonmetta-aree. (2014). Stability of Yanang leaves (*Tiliacora triandra*) extract encapsulation with calcium alginate hydrogel beads. **NATPRO 5 The fifth International Conference on Natural Products of Health and Beauty. May 6-8, 2014. Phuket. Thailand.**

12. Jittra Singthong, Ratchadaporn Oonsivilai, Jirawan Oonmetta-aree. (2014). Bioactive compounds and encapsulation of Yanang (*Tiliacora triandra*) leaves. **African Journal Complement Alternative Medicine. 11(3): 76-84.**