

ผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของไคโทซานต่อการเติบโตและผลผลิตของผักสลัดพันธุ์  
บัตเตอร์เฮด *Lactuca sativa* L. 'Butterhead' และการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อไคโทซาน

นางสาวกานต์สินี หังสพฤกษ์

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2555

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)  
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

EFFECTS OF POLYMER SIZES AND CONCENTRATIONS OF CHITOSAN ON GROWTH  
AND YIELD OF BUTTERHEAD LETTUCE *Lactuca sativa* L. 'Butterhead' AND  
CHITOSAN-RESPONSIVE GENE EXPRESSION

Miss Kansinee Hungsaprug

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science Program in Botany

Department of Botany

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2012

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของโคโทซาน  
ต่อการเติบโตและผลผลิตของผักสลัดพันธุ์บัตเตอร์เฮด  
*Lactuca sativa* L. 'Butterhead' และการแสดงออก  
ของยีนที่ตอบสนองต่อโคโทซาน

โดย

นางสาวกานต์สินี หังสพฤกษ์

สาขาวิชา

พฤกษศาสตร์

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

รองศาสตราจารย์ ดร.ศุภจิตรา ชัชวาลย์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง  
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์  
(ศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชุมพล คุณวาสี)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก  
(รองศาสตราจารย์ ดร.ศุภจิตรา ชัชวาลย์)

..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กนกวรรณ เสรีภาพ)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พัชรา ลิ้มปะนะเวช)

กานต์สินี ห้างสพฤกษ์ : ผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของไคโทซานต่อการเติบโตและผลผลิตของผักสลัดพันธุ์บัตเตอร์เฮด *Lactuca sativa* L. 'Butterhead' และการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อไคโทซาน. (EFFECTS OF POLYMER SIZES AND CONCENTRATIONS OF CHITOSAN ON GROWTH AND YIELD OF BUTTERHEAD LETTUCE *Lactuca sativa* L. 'Butterhead' AND CHITOSAN-RESPONSIVE GENE EXPRESSION) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์:รศ.ดร. ศุภจิตรา ชัชวาลย์, 159 หน้า

การเติมไคโทซานชนิดโพลิโกเมอร์ หรือ พอลิเมอร์ ที่มีการกำจัดหมู่อะซิทิล 80% (O80 หรือ P80) ความเข้มข้น 5, 10 และ 20 mg/L ลงในสารละลายธาตุอาหารสูตร Hoagland ดัดแปลง สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักสลัดพันธุ์ Butterhead (*Lactuca sativa* L. 'Butterhead') ได้ โดยการทดลองที่ให้ผลดีที่สุดคือ ชุดการทดลองที่สารละลายธาตุอาหารมีการเติมไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L พบว่าหลังจากการปลูกเป็นเวลา 45 วัน ในโรงเรือนตาข่ายที่ได้รับแสงธรรมชาติ ผักสลัดมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้น 8.46-17.91% เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีไคโทซาน และมีการเพิ่มขึ้นของจำนวนใบและน้ำหนักแห้งอีกด้วย และเมื่อทำการเก็บรักษาผักสลัดไว้ที่อุณหภูมิ 8°C เป็นเวลา 10 วัน เพื่อศึกษาผลของไคโทซานต่อคุณภาพของผลผลิตหลังการเก็บรักษา พบว่าผักสลัดที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีน้ำหนักสดหลังการเก็บรักษา มากกว่าชุดการทดลองควบคุม และมีคะแนนลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมสูงที่สุด นอกจากนี้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L ถูกเลือกเพื่อมาศึกษาค่าน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง ปริมาณ ascorbic acid ปริมาณสารสี และปริมาณเส้นใย โดยปลูกเลี้ยงผักสลัดด้วยระบบไฮโดรพอนิกส์แบบ nutrient film technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร พบว่าผักสลัดที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีผลทำให้ผักสลัดมีน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และปริมาณ ascorbic acid เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับผักสลัดที่ไม่ได้รับไคโทซาน แต่อย่างไรก็ดี ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L ไม่มีผลต่อระดับการแสดงออกยีน ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase /oxygenase large subunit (*rbcl*) ในผักสลัดภายในระยะเวลา 2 วันที่ให้ไคโทซาน จากผลการทดลองพบว่าการใช้ไคโทซานที่เหมาะสมทั้งชนิดและความเข้มข้น สามารถเพิ่มผลการผลิตผักสลัดพันธุ์ Butterhead ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ภาควิชา.....พฤกษศาสตร์.....

ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา.....พฤกษศาสตร์.....

ลายมือชื่อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์.....

##5373801023 : MAJOR BOTANY

KEYWORDS: CHITOSAN/LETTUCE/BUTTERHEAD/GROWTH/GENE EXPRESSION

KANSINEE HUNGSAPRUG : EFFECTS OF POLYMER SIZES AND CONCENTRATIONS OF CHITOSAN ON GROWTH AND YIELD OF BUTTERHEAD LETTUCE *Lactuca sativa* L. 'Butterhead' AND CHITOSAN-RESPONSIVE GENE EXPRESSION. ADVISER : ASSOC. PROF. SUPACHITRA CHADCHAWAN, Ph.D., 159 pp.

The addition of oligomeric chitosan or polymeric chitosan with 80% degree of deacetylation (O80 or P80) at the concentrations of 5, 10, or 20 mg/L, into modified Hoagland nutrient solution enhanced growth of 'Butterhead' lettuce (*Lactuca sativa* L. 'Butterhead'). The best productivity enhancement by chitosan was detected when 5 mg/L O80 was added to the nutrient solution. After growing for 45 days in the netted greenhouse under natural light, the harvested lettuce showed 8.46-17.91% increase in fresh weight, compared to the control plants, which were grown in nutrient solution without chitosan addition. They also showed the increase in leaf number and dry weight. After storage at 8°C for 10 days, Butterhead lettuce which treated with 5 mg/L O80 could maintain higher fresh weight, when compared to those control plants and showed the highest score of overall appearance. Moreover, chitosan O80 5 mg/L was selected for studying fresh weight, dry weight, ascorbic acid, photosynthetic pigment and fiber of this lettuce by growing in nutrient film technique (NFT) system. The results showed that 5 mg/L O80 increased fresh weight, dry weight and ascorbic acid content. However, chitosan O80 5 mg/L did not affect ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (*rbcL*) gene expression within 2 days of chitosan treatment. These data indicated that the appropriate use of chitosan molecule and concentration can efficiently enhance Butterhead lettuce productivity.

Department :.....Botany.....

Student's Signature.....

Field of Study :.....Botany.....

Adviser's Signature.....

Academic Year :...2012.....

## กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ศุภจิตรา ชัชวาลย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ คำปรึกษา และข้อคิดเห็นอันเป็นประโยชน์อย่างยิ่ง ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์นี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี อีกทั้งความกรุณาดูแลห่วงใยและให้กำลังใจ

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชุมพล คุณวาสี ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กนกวรรณ เสรีภาพ และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ พัชรา ลิมปะนะเวช กรรมการผู้ตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รัฐ พิชญางกูร ที่ให้ความอนุเคราะห์สารโคโทซานชนิดต่างๆ ที่ใช้ในการทดลองนี้

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษาคณะพยาบาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อเฉลิมฉลองวโรกาสที่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวทรงเจริญพระชนมายุครบ 72 พรรษา

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่และครอบครัว สำหรับความรัก ความเข้าใจ กำลังใจ และการสนับสนุนต่างๆ ที่มีให้ตลอดมา

ขอขอบคุณบริษัท เอซีเค ไฮโดรฟาร์ม จำกัด สำหรับคำแนะนำต่างๆ ในการปลูกเลี้ยงผักสลัดและเชื้อเพื่อสถานที่ในการทำวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่เชื้อเพื่อสถานที่ในการทำวิจัย และขอขอบคุณ คุณจุฑามาศ บุญชัย คุณนนทลี ชำนาญมบุญธรรม คุณภูมิพงศ์ ชูช่วยสุวรรณ คุณธเนศ จิระพรประเสริฐ คุณศรียรัตน์ รอดดวงรงค์ คุณไพบูลย์ หม่อมมาศ คุณธนิกานต์ อุดมชโลธร คุณนพวิชญพงศ์ เครือสาร และคุณไมพร ไมโกคา นิสิตทุกท่านรวมทั้งนักวิทยาศาสตร์ในหน่วยปฏิบัติการวิจัยสิ่งแวดล้อมและสรีรวิทยาของพืชทุกท่าน รวมถึงเพื่อนๆ ทุกคนทั้งในและนอกภาควิชา สำหรับความช่วยเหลือ คำแนะนำในการแก้ปัญหาต่างๆ และกำลังใจที่มีให้ตลอดมา

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฌ
สารบัญภาพ.....	ฎ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร.....	4
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....	18
อุปกรณ์การศึกษา.....	18
วิธีการศึกษา.....	24
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	30
ผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของโคโทซานต่อการเจริญเติบโตของผัก สลัด.....	30
ผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของโคโทซานต่อคุณภาพของผลผลิตหลังการเก็บ เกี่ยวของผักสลัด.....	48
ผลของโคโทซานต่อปริมาณผลผลิต และลักษณะคุณภาพของผลผลิตผักสลัด....	59
รูปแบบการแสดงออกของยีน ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase large subunit ( <i>rbcL</i> ) ที่มีต่อโคโทซาน.....	66
บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง.....	68
ผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของโคโทซานต่อการเจริญเติบโตของผัก สลัด.....	68
ผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของโคโทซานต่อคุณภาพของผลผลิตหลังการเก็บ เกี่ยวของผักสลัด.....	72
ผลของโคโทซานต่อปริมาณผลผลิต และลักษณะคุณภาพของผลผลิตผักสลัด....	73

## หน้า

รูปแบบการแสดงออกของยีน ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase large subunit ( <i>rbcL</i> ) ที่มีต่อโคโทซาน.....	76
บทที่ 6 สรุปผลการทดลอง.....	78
ผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของโคโทซานต่อการเจริญเติบโตของผักสลัด.....	78
ผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของโคโทซานต่อคุณภาพของผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวของผักสลัด.....	78
ผลของโคโทซานต่อปริมาณผลผลิต และลักษณะคุณภาพของผลผลิตผักสลัด....	78
รูปแบบการแสดงออกของยีน ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/ oxygenase large subunit ( <i>rbcL</i> ) ที่มีต่อโคโทซาน.....	79
รายการอ้างอิง.....	80
ภาคผนวก.....	92
ภาคผนวก ก.....	93
ภาคผนวก ข.....	97
ภาคผนวก ค.....	110
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์.....	159



## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ก.1 แสดงความเข้มข้นของธาตุอาหารในสารละลายธาตุอาหารซึ่งดัดแปลงจากสารละลายธาตุอาหารสูตร Hoagland.....	94
ก.2 สารเคมีในปริมาณที่เข้มข้น (stock solution) สำหรับเตรียมสารละลายธาตุอาหาร ซึ่งดัดแปลงจากสารละลายธาตุอาหารสูตร Hoagland.....	95
ก.3 ปริมาณสารเคมีสำหรับเตรียมสารละลายธาตุอาหารซึ่งดัดแปลงจากสารละลายธาตุอาหารสูตร Hoagland.....	96
ค.1 แสดงน้ำหนักสดต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูหนาว.....	111
ค.2 แสดงน้ำหนักสดต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูฝน.....	112
ค.3 แสดงน้ำหนักสดต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูร้อน.....	113
ค.4 แสดงจำนวนใบต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูหนาว.....	114
ค.5 แสดงจำนวนใบต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูฝน.....	115
ค.6 แสดงจำนวนใบต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูร้อน.....	116
ค.7 แสดงความกว้างใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูหนาว.....	117
ค.8 แสดงความกว้างใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูฝน.....	118
ค.9 แสดงความกว้างใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูร้อน.....	119

ตารางที่	หน้า
ค.10 แสดงความยาวใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูหนาว.....	120
ค.11 แสดงความยาวใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูฝน.....	121
ค.12 แสดงความยาวใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูร้อน.....	122
ค.13 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่มของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูหนาว.....	123
ค.14 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่มของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูฝน.....	124
ค.15 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่มของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูร้อน.....	125
ค.16 แสดงน้ำหนักแห้งต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูหนาว.....	126
ค.17 แสดงน้ำหนักแห้งต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูฝน.....	127
ค.18 แสดงน้ำหนักแห้งต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูร้อน.....	128
ค.19 แสดงน้ำหนักสดต่อต้นหลังการเก็บรักษาของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูหนาว.....	129

ตารางที่	หน้า
ค.20 แสดงน้ำหนักสดต่อต้นหลังการเก็บรักษาของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูฝน.....	130
ค.21 แสดงน้ำหนักสดต่อต้นหลังการเก็บรักษาของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูร้อน.....	131
ค.22 แสดงการสูญเสียน้ำหนักสดหลังการเก็บเกี่ยวของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูหนาว.....	132
ค.23 แสดงการสูญเสียน้ำหนักสดหลังการเก็บเกี่ยวของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูฝน.....	133
ค.24 แสดงการสูญเสียน้ำหนักสดหลังการเก็บเกี่ยวของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูร้อน.....	134
ค.25 แสดงคะแนนของลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมหลังการเก็บเกี่ยวของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูหนาว.....	135
ค.26 แสดงคะแนนของลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมหลังการเก็บเกี่ยวของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูฝน.....	136
ค.27 แสดงคะแนนของลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมหลังการเก็บเกี่ยวของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูร้อน.....	137

ตารางที่	หน้า
ค.28 t-test ของน้ำหนักสดต่อต้านของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) โดยเปรียบเทียบการให้โคโทซาน O80 5 mg/L กับชุดควบคุม เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูหนาว.....	138
ค.29 t-test ของน้ำหนักสดต่อต้านของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) โดยเปรียบเทียบการให้โคโทซาน O80 5 mg/L กับชุดควบคุม เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูร้อน.....	139
ค.30 t-test ของน้ำหนักสดต่อต้านของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) โดยเปรียบเทียบการให้โคโทซาน O80 5 mg/L กับชุดควบคุม เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูฝน.....	140
ค.31 t-test ของน้ำหนักแห้งต่อต้านของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) โดยเปรียบเทียบการให้โคโทซาน O80 5 mg/L กับชุดควบคุม เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูหนาว.....	141
ค.32 t-test ของน้ำหนักแห้งต่อต้านของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) โดยเปรียบเทียบการให้โคโทซาน O80 5 mg/L กับชุดควบคุม เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูร้อน.....	142
ค.33 t-test ของน้ำหนักแห้งต่อต้านของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) โดยเปรียบเทียบการให้โคโทซาน O80 5 mg/L กับชุดควบคุม เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูฝน.....	143
ค.34 t-test ของปริมาณ ascorbic acid ต่อต้านของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) โดยเปรียบเทียบการให้โคโทซาน O80 5 mg/L กับชุดควบคุม เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูหนาว.....	144
ค.35 t-test ของปริมาณ ascorbic acid ต่อต้านของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) โดยเปรียบเทียบการให้โคโทซาน O80 5 mg/L กับชุดควบคุม เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูร้อน.....	145

ตารางที่	หน้า
ค.36 t-test ของปริมาณ ascorbic acid ต่อดันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูก เลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) โดย เปรียบเทียบการให้โคโทซาน O80 5 mg/L กับชุดควบคุม เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูฝน.	146
ค.37 t-test ของปริมาณ chlorophyll <i>a</i> ต่อดันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) โดย เปรียบเทียบการให้โคโทซาน O80 5 mg/L กับชุดควบคุม เมื่อปลูกเลี้ยง ในฤดูหนาว.....	147
ค.38 t-test ของปริมาณ chlorophyll <i>a</i> ต่อดันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) โดย เปรียบเทียบการให้โคโทซาน O80 5 mg/L กับชุดควบคุม เมื่อปลูกเลี้ยง ในฤดูร้อน.....	148
ค.39 t-test ของปริมาณ chlorophyll <i>a</i> ต่อดันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) โดย เปรียบเทียบการให้โคโทซาน O80 5 mg/L กับชุดควบคุม เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูฝน.	149
ค.40 t-test ของปริมาณ chlorophyll <i>b</i> ต่อดันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) โดย เปรียบเทียบการให้โคโทซาน O80 5 mg/L กับชุดควบคุม เมื่อปลูกเลี้ยง ในฤดูหนาว.....	150
ค.41 t-test ของปริมาณ chlorophyll <i>b</i> ต่อดันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) โดย เปรียบเทียบการให้โคโทซาน O80 5 mg/L กับชุดควบคุม เมื่อปลูกเลี้ยง ในฤดูร้อน.....	151
ค.42 t-test ของปริมาณ chlorophyll <i>b</i> ต่อดันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) โดย เปรียบเทียบการให้โคโทซาน O80 5 mg/L กับชุดควบคุม เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูฝน.	152

ตารางที่	หน้า
ค.43 t-test ของปริมาณ total carotenoid ต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) โดยเปรียบเทียบการให้โคโทซาน O80 5 mg/L กับชุดควบคุม เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูหนาว.....	153
ค.44 t-test ของปริมาณ total carotenoid ต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) โดยเปรียบเทียบการให้โคโทซาน O80 5 mg/L กับชุดควบคุม เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูร้อน.....	154
ค.45 t-test ของปริมาณ total carotenoid ต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) โดยเปรียบเทียบการให้โคโทซาน O80 5 mg/L กับชุดควบคุม เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูฝน.	155
ค.46 t-test ของปริมาณเส้นใยต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) โดยเปรียบเทียบการให้โคโทซาน O80 5 mg/L กับชุดควบคุม เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูหนาว.....	156
ค.47 t-test ของปริมาณเส้นใยต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) โดยเปรียบเทียบการให้โคโทซาน O80 5 mg/L กับชุดควบคุม เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูร้อน.....	157
ค.48 t-test ของปริมาณเส้นใยต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) โดยเปรียบเทียบการให้โคโทซาน O80 5 mg/L กับชุดควบคุม เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูฝน.	158

## สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างทางเคมีของไคตินและไคโทซาน.....	9
2	แสดงน้ำหนักสดต่อตันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซาน ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูหนาว.....	32
3	แสดงน้ำหนักสดต่อตันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซาน ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูฝน.....	33
4	แสดงน้ำหนักสดต่อตันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซาน ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูร้อน.....	33
5	แสดงจำนวนใบต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซาน ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูหนาว.....	35
6	แสดงจำนวนใบต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซาน ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูฝน.....	35
7	แสดงจำนวนใบต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซาน ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูร้อน.....	36
8	แสดงความกว้างใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซาน ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูหนาว.....	37
9	แสดงความกว้างใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซาน ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูฝน.....	38
10	แสดงความกว้างใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซาน ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูร้อน.....	38
11	แสดงความยาวใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซาน ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูหนาว.....	40
12	แสดงความยาวใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซาน ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูฝน.....	40
13	แสดงความยาวใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซาน ในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูร้อน.....	41

ภาพที่	หน้า	
14	แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่มของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูหนาว.....	42
15	แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่มของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูฝน.....	43
16	แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่มของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูร้อน.....	44
17	แสดงน้ำหนักแห้งต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูหนาว.....	45
18	แสดงน้ำหนักแห้งต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูฝน.....	46
19	แสดงน้ำหนักแห้งต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูร้อน.....	47
20	แสดงน้ำหนักสดต่อต้นหลังการเก็บรักษาของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูหนาว.....	49
21	แสดงน้ำหนักสดต่อต้นหลังการเก็บรักษาของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูฝน.....	50
22	แสดงน้ำหนักสดต่อต้นหลังการเก็บรักษาของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูร้อน.....	51
23	แสดงการสูญเสียน้ำหนักสดหลังการเก็บรักษาของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูหนาว.....	52
24	แสดงการสูญเสียน้ำหนักสดหลังการเก็บรักษาของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูฝน.....	53
25	แสดงการสูญเสียน้ำหนักสดหลังการเก็บรักษาของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูร้อน.....	54



ภาพที่	หน้า	
26	แสดงคะแนนของลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมหลังการเก็บเกี่ยวของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูหนาว.....	55
27	แสดงคะแนนของลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมหลังการเก็บเกี่ยวของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูฝน.....	56
28	แสดงคะแนนของลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมหลังการเก็บเกี่ยวของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อทำการปลูกในฤดูร้อน.....	57
29	แสดงคะแนนลักษณะที่ปรากฏภายนอกโดยรวม (overall visual quality score) ของผักสลัดตามเกณฑ์ของ Kader และคณะ (1973).....	58
30	แสดงน้ำหนักสดต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานลงในสารละลายธาตุอาหารและปลูกทั้ง 3 ช่วงฤดู.....	60
31	แสดงน้ำหนักแห้งต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานลงในสารละลายธาตุอาหารและปลูกทั้ง 3 ช่วงฤดู.....	61
32	แสดงปริมาณ ascorbic acid ของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานลงในสารละลายธาตุอาหารและปลูกทั้ง 3 ช่วงฤดู.....	62
33	แสดงปริมาณ chlorophyll a ของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานลงในสารละลายธาตุอาหารและปลูกทั้ง 3 ช่วงฤดู.....	63
34	แสดงปริมาณ chlorophyll b ของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานลงในสารละลายธาตุอาหารและปลูกทั้ง 3 ช่วงฤดู.....	63
35	แสดงปริมาณ total carotenoid ของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานลงในสารละลายธาตุอาหารและปลูกทั้ง 3 ช่วงฤดู.....	64
36	แสดงปริมาณเส้นใยต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานลงในสารละลายธาตุอาหารและปลูกทั้ง 3 ช่วงฤดู.....	65
37	แสดงบริเวณ conserved sequence ของยีน <i>ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcL)</i> และบริเวณที่ใช้ออกแบบ primer.....	66

ภาพที่		หน้า
38	แสดงระดับการแสดงออกของยีน <i>ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcL)</i> ที่มีต่อโคโรซาน.....	67
ข.1	แสดงกราฟมาตรฐานที่ได้จากการเพิ่มปริมาณของยีน <i>rbcL</i> .....	109
ข.2	แสดงกราฟมาตรฐานที่ได้จากการเพิ่มปริมาณของยีน <i>Actin</i> .....	109

## บทที่ 1

### บทนำ

#### ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ผักสลัด (*Lactuca sativa* L.) เป็นพืชผักเศรษฐกิจที่ผู้บริโภคนิยมนำมาบริโภคสด หรือใช้ ตกแต่งจานอาหาร เนื่องจากผักสลัดมีคุณค่าทางโภชนาการ โดยมีน้ำเป็นองค์ประกอบหลัก อุดมไปด้วยเส้นใย และสารต้านอนุมูลอิสระ (USDA, 2011) ผักสลัดนั้นมีรูปร่างและสีใบของแต่ละพันธุ์ แตกต่างกันไป ซึ่งผักสลัดพันธุ์ Butterhead เป็นหนึ่งในพันธุ์ผักสลัดที่ได้รับความนิยมและมีการผลิตเพื่อจำหน่ายในประเทศไทย มีลักษณะประจำพันธุ์คือ มีใบสีเขียวอ่อนนุ่มเป็นมัน เรียงซ้อนกัน คล้ายดอกกุหลาบ และมีรสชาติดี การปลูกผักสลัดนิยมปลูกด้วยระบบไฮโดรพอนิกส์มากขึ้น เนื่องจากสามารถบริหารจัดการได้ง่าย ย่นระยะเวลาการผลิต และให้ผลผลิตได้มากกว่าการปลูกพืชโดยใช้ดิน (Selma *et al.*, 2012)

ไคโทซานเป็นสายของ polysaccharide ประกอบด้วย D-glucosamine (deacetylated unit) และ N-acetyl-D-glucosamine (acetylated unit) ซึ่งเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ  $\beta$ -(1,4) glycosidic linkage (Huang *et al.*, 2007) ไคโทซานเป็น biopolymer ที่ผลิตได้จากไคตินซึ่งมีในเปลือกของสัตว์พวก กุ้ง ปู และแกนหมึก ที่เป็นของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมอาหารทะเลที่มีมากในประเทศไทย นอกจากนี้ ไคโทซานไม่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม (Kurita, 2006) ไคโทซานมีคุณสมบัติหลากหลายที่น่าสนใจ กล่าวคือไคโทซานสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตของพืช (Chmielewski *et al.*, 2007) เช่น ในกระเจี๊ยบเขียวที่ได้รับการพ่นไคโทซาน oligomer ที่มี 80% degree of deacetylation (O80) ความเข้มข้น 25 ppm มีแนวโน้มของค่าเฉลี่ยความสูงต้น จำนวนใบ ดอก และผลต่อต้นสูงกว่าชุดควบคุม (พงศธราริน โฉมทรัพย์ และคณะ, 2549) จากการทดลองในกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* พบว่ากล้วยไม้ที่ได้รับไคโทซาน O80 ที่ทุกระดับความเข้มข้นของการทดลอง (1, 10, 50, 100 ppm) สามารถชักนำให้กล้วยไม้ดอกออกเร็วขึ้นและเพิ่มจำนวนช่อดอกตลอดช่วงเวลาทดลอง 68 สัปดาห์ ในการทดลองดังกล่าวไคโทซาน polymer ที่มี 80% degree of deacetylation (P80) ความเข้มข้น 1-10 ppm สามารถเพิ่มจำนวนดอกต่อช่อได้มากกว่าชุดควบคุมที่ไม่ใช่ไคโทซาน (Limpanavech *et al.*, 2008) และยังพบอีกว่านอกจากไคโทซานสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตในต้นอ่อนของถั่วเหลืองและบรอกโคลีแล้ว ยังสามารถกระตุ้นให้มีการเพิ่มของ ascorbic acid ได้ 10% และ 54% เมื่อเทียบกับชุดการทดลองควบคุม ตามลำดับ (Lee *et al.*, 2005; Pérez-Balibrea *et al.*, 2011)

ในด้านการต้านทานโรคของพืชนั้น ไคโทซานสามารถชะลอหรือลดความรุนแรงของการเกิดโรคในพืชได้ (Chen *et al.*, 2009) จากรายงานของ Aziz และคณะ (2006) พบว่า ไคโทซานที่ความเข้มข้น 200 µg/mL สามารถลดการเกิดโรคในใบองุ่น (*Vitis vinifera* cv. Chardonnay 7535) ที่เกิดจากเชื้อ *Plasmopara viticola* และ *Botrytis cinerea* และสามารถลดการเกิด gray mould ในใบแตงกวาที่เกิดจากเชื้อ *B. conidia* ได้ 87% เมื่อใบแตงกวาได้รับไคโทซานก่อนการทำ inoculation 24 ชั่วโมง (Ben-Shalom *et al.*, 2003)

ในด้านการแสดงออกของยีน พบว่ายีนที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันตัวเองหรือการถ่ายทอดสัญญาณภายในเซลล์ เช่น MAPK ใน rapeseed (Yin *et al.*, 2010) SKP1 ในยาสูบ (Zhang *et al.*, 2007) OPR1 ในข้าว (Jang *et al.*, 2009) และ WRKY ในมะเขือเทศ (Hofmann *et al.*, 2008) มีการแสดงออกเพิ่มมากขึ้นเมื่อได้รับไคโทซาน oligomer จากการศึกษารูปแบบการแสดงออกของยีนในต้น rapeseed ที่ได้รับการพ่นไคโทซาน oligomer ด้วยวิธี cDNA microarray พบว่ามียีน 393 ยีนที่มีการแสดงออกเปลี่ยนไป 2 เท่าหรือมากกว่า ทั้งเพิ่มขึ้นและลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับต้น rapeseed ที่ไม่ได้รับไคโทซาน ซึ่งยีนดังกล่าวมีหน้าที่และเกี่ยวข้องกับกระบวนการต่างๆ ในพืช เช่น primary metabolism, defense, transcription, signal transduction และอื่นๆ (Yin *et al.*, 2006)

จากผลการวิจัยข้างต้นจะเห็นได้ว่าไคโทซานมีคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ต่อพืช อีกทั้งขนาดของพอลิเมอร์และความเข้มข้นของไคโทซานที่แตกต่างกันมีผลต่อการเติบโตและผลผลิตต่างกัน ดังนั้นในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาขนาดของพอลิเมอร์ ได้แก่ O80 และ P80 รวมทั้งความเข้มข้นของไคโทซานทั้งสองชนิดต่อการเจริญเติบโต ผลผลิต และการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงโดยวิธีไฮโดรพอนิก ซึ่งข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการเพิ่มผลผลิตของผักสลัดซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความต้องการสูงขึ้นในปัจจุบัน และความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับผลของไคโทซานที่มีต่อพืชชนิดนี้

## วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของโคโทซานต่อการเจริญเติบโตและผลผลิต รวมทั้งรูปแบบการแสดงออกของยีนที่คาดว่าจะมีการตอบสนองต่อโคโทซานในผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิก

## ขอบเขตการวิจัย

1. ผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของโคโทซานต่อการเจริญเติบโตและคุณภาพของผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ water culture
2. ศึกษาการให้โคโทซานต่อผักสลัดพันธุ์ Butterhead ในภาวะที่เหมาะสม ซึ่งปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร
3. ศึกษา รูปแบบการแสดงออกของยีนที่คาดว่าจะมีการตอบสนองต่อโคโทซานในผักสลัดพันธุ์ Butterhead

## ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทำให้ทราบชนิด ขนาดพอลิเมอร์ และความเข้มข้นของโคโทซานที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มและพัฒนาคุณภาพของผลผลิตของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ซึ่งเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความต้องการสูงขึ้นในปัจจุบัน รวมทั้งความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับผลของโคโทซานที่มีต่อการแสดงออกของยีนของผักสลัดพันธุ์นี้

## บทที่ 2

### การตรวจเอกสาร

#### 1. ประวัติความเป็นมาและความสำคัญของผักสลัดพันธุ์ Butterhead

ผักสลัด (*Lactuca sativa* L.) เป็นพืชฤดูเดียวจำแนกอยู่ในวงศ์ Asteraceae ผักสลัดทั่วไปมีความสูงประมาณ 15-30 เซนติเมตร มีรูปร่างลักษณะ และสีของใบแตกต่างกันไปตามแต่ละพันธุ์ โดยส่วนใหญ่จะเป็นสีเขียวและแดง มีอายุตั้งแต่การเพาะเมล็ดถึงการเก็บเกี่ยวประมาณ 65-130 วัน หากพันธุ์ช่วงระยะการเก็บเกี่ยวไปแล้ว ผักสลัดจะสร้างก้านช่อดอกสูงประมาณ 90 เซนติเมตร และมีดอกสีเหลือง ส่วนเมล็ดผักสลัดนั้นอาจมีสีขาว สีเหลือง สีเทา หรือสีน้ำตาลขึ้นอยู่กับพันธุ์ของผักสลัด (Smith *et al.*, 2012)

เริ่มแรกชาวอียิปต์โบราณปลูกผักสลัดเพื่อนำน้ำมันจากเมล็ดมาใช้ประโยชน์ ต่อมาได้ปรับปรุงพันธุ์เป็นพืชสำหรับบริโภคใบ จากนั้นได้แพร่กระจายไปยังกรีก และโรมัน ในช่วงปลายศตวรรษที่ 16 ผักสลัดหลากหลายพันธุ์ได้ถูกปรับปรุง และพัฒนาพันธุ์ขึ้นในยุโรป ในช่วงศตวรรษที่ 19 ยุโรปและอเมริกาเหนือเริ่มผลิตผักสลัดออกสู่ตลาด หลังจากนั้นการบริโภคผักสลัดได้แพร่ขยายไปทั่วโลก (Weaver, 1997)

ผักสลัดมีหลากหลายพันธุ์ โดยแบ่งออกเป็น 7 กลุ่มสายพันธุ์ ที่ประกอบไปด้วยพันธุ์ต่างๆ

1. Leaf เป็นผักสลัดที่มีการเรียงตัวของใบอย่างหลวมๆ และนิยมปลูกเพื่อนำมาใช้ในอาหารประเภทสลัด
2. Romaine/Cos ผักสลัดในกลุ่มนี้จะมีต้นที่สูงและตั้งตรง นิยมใช้ในอาหารประเภทสลัด และ แซนด์วิช
3. Crisphead ผักสลัดในกลุ่มนี้ที่ได้รับความนิยมมาก คือ iceberg ซึ่งเป็นผักสลัดที่ตบสนองไวต่ออากาศร้อน และมีน้ำเป็นองค์ประกอบมากกว่าผักสลัดพันธุ์อื่นๆ
4. Butterhead เป็นผักสลัดที่มีลักษณะเป็นหัว (head lettuce) มีการเรียงตัวของใบและห่อหัวแบบหลวมๆ มีรสชาติออกหวานและเนื้อสัมผัสที่นุ่ม
5. Summercrisp หรือเรียกว่า Batavian หรือ French Crisp มีลักษณะระหว่างผักสลัดกลุ่ม leaf และ crisphead
6. Stem เป็นผักสลัดที่ปลูกเพื่อใช้ส่วนของลำต้น มักใช้ในการประกอบอาหาร โดยเฉพาะอาหารจีน
7. Oilseed ผักสลัดในกลุ่มนี้ปลูกเพื่อนำเมล็ดมาสกัดน้ำมันสำหรับประกอบอาหาร มีใบค่อนข้างน้อย และให้เมล็ดมากกว่าสายพันธุ์ในกลุ่มอื่นๆ ถึง 50%

ในปัจจุบันผักสลัดได้รับความสนใจจากผู้บริโภคที่ใส่ใจในสุขภาพมากขึ้น โดยนิยมนำมาบริโภคสด หรือตกแต่งจานอาหาร เนื่องจากผักสลัดมีรสชาติที่ดี และมีคุณค่าทางโภชนาการ เป็นแหล่งวิตามินและเส้นใย จากรายงานพบว่าประเทศจีนเป็นผู้ผลิตผักสลัดมากที่สุดเป็นอันดับหนึ่งของโลก แต่ส่วนใหญ่เป็นการบริโภคภายในประเทศ ส่วนประเทศที่ส่งออกผักสลัดมากที่สุด คือ ประเทศสเปน รองลงมา คือ ประเทศสหรัฐอเมริกา (FAO, 2012) ส่วนประเทศไทยมีแนวโน้มของการผลิตผักสลัดเพื่อการค้าเพิ่มมากขึ้นและสัดส่วนการส่งออกผักสลัดเป็นร้อยละ 12 ในสินค้าเกษตรอินทรีย์ ซึ่งมีโอกาสในการขยายตลาดส่งออกมากขึ้นในสหภาพยุโรปและฮ่องกง (เครือข่ายนวัตกรรมเกษตรอินทรีย์, 2551)

ผักสลัดพันธุ์ Butterhead เป็นผักสลัดที่มีลักษณะเป็นหัว มีลักษณะใบอ่อนนุ่มเป็นมัน ห่อหุ้มแบบหลวมๆ เป็นพืชที่ต้องการอากาศเย็น อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 10-24°C ในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูง การเจริญเติบโตจะลดลง และมีการสร้างสารคล้ายน้ำนมหรือยางมาก และมีรสขม อีกทั้งผักสลัดพันธุ์ Butterhead เป็นหนึ่งในสี่พันธุ์ผักสลัดที่นิยมปลูกมากที่สุดในอเมริกา เนื่องจากมีรสชาติที่ดีและอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการ โดยผู้บริโภคนิยมนำมาบริโภคสด

จากฐานข้อมูลของ United States Department of Agriculture (2011) ได้แสดงองค์ประกอบและคุณค่าทางโภชนาการของผักสลัดพันธุ์ Butterhead น้ำหนักสด 100 g ไว้ดังนี้

น้ำ	95.63	g
โปรตีน	1.35	g
คาร์โบไฮเดรต	2.23	g
ไขมัน	0.029	g
แคลเซียม (Ca)	35	mg
เหล็ก (Fe)	1.24	mg
โพแทสเซียม (K)	238	mg
แมกนีเซียม (Mg)	13	mg
ฟอสฟอรัส (P)	33	mg
โซเดียม (Na)	5	mg
วิตามิน เอ (vitamin A)	3312	IU
วิตามิน ซี (vitamin C)	3.7	mg
วิตามิน เค (vitamin K)	102.3	µg
พลังงาน	13	Kcal

## 2. การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน (soiless culture)

การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน คือ วิธีการปลูกพืชโดยใช้สารละลายธาตุอาหารหรือวัสดุปลูกอื่นแทนดิน ซึ่งวิธีการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่เก่าแก่และง่ายที่สุด คือ การปลูกพืชโดยให้สารละลายธาตุอาหาร ที่มีธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของพืช เรียกวิธีการปลูกแบบนี้ว่า aquaculture บัญญัติขึ้นโดย William F. Gericke ในปีค.ศ. 1929 ซึ่งเป็นผู้ริเริ่มปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินเป็นการค้า ต่อมาในปี 1937 William A. Setchell เสนอใช้คำว่า ไฮโดรพอนิกส์ (hydroponics) แปลว่า การทำงานของน้ำ ซึ่งมีรากศัพท์มาจากภาษากรีก 2 คำ คือ “hydro” แปลว่า น้ำ และคำว่า “ponos” แปลว่า งาน ขึ้นมาแทน (Olympios, 1999)

การปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินได้แพร่หลายไปทั่วโลก ใช้ในการปลูกพืชอาหารและไม่ประดับ อีกทั้งใช้ในการศึกษาเกี่ยวกับธาตุอาหารของพืช ในปัจจุบันรูปแบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินมีการปรับปรุงและพัฒนาให้มีความหลากหลาย และมีความเหมาะสมต่อชนิดของพืช (Raviv and Lieth, 2007) ซึ่งประกอบด้วยรูปแบบพื้นฐาน 6 แบบด้วยกัน ซึ่งในการทดลองนี้ได้เลือกใช้ 2 รูปแบบ คือ water culture system และ nutrient film technique (N.F.T.)

**Water culture system** คือ รูปแบบการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดินที่ง่ายที่สุด โดยให้ต้นพืชยึดกับแผ่นโฟมและลอยอยู่บนสารละลายธาตุอาหาร ซึ่งรากของต้นพืชจะแช่และสัมผัสกับสารละลายโดยตรง และมีปั๊มอากาศเพื่อฟองอากาศในสารละลายเพื่อเพิ่มออกซิเจนให้แก่รากพืช

**nutrient film technique (N.F.T.)** เป็นระบบที่มีการหมุนเวียนของสารละลายธาตุอาหารและไหลไปตามรางปลูก (growing tray) เป็นฟิล์มบางๆ โดยสารละลายจะถูกปั๊มจากถังบรรจุสารละลาย (reservoir) สู่อ่างปลูกที่ต้นพืชจะยึดเกาะกับภาชนะปลูกขนาดเล็ก ไหลผ่านรากพืชและวนกลับไปยังถังบรรจุสารละลายธาตุอาหาร (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 2554)

### ข้อดีและข้อเสียของการปลูกพืชโดยไม่ใช้ดิน

#### ข้อดี

1. ได้ผลผลิตที่เพิ่มมากขึ้นและคุณภาพของผลผลิตสม่ำเสมอ
2. สามารถทำการเพาะปลูกพืชในบริเวณที่ดินไม่มีความอุดมสมบูรณ์เพียงพอ หรือสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม
3. สามารถควบคุมปริมาณธาตุอาหารที่ให้แก่พืชได้อย่างเหมาะสมต่อชนิดของพืช ระยะการเจริญเติบโต และสภาพแวดล้อม อีกทั้งพืชสามารถดูดสารอาหารไปใช้ได้เต็มที่ โดยไม่สูญเสียไปกับหน้าดิน หรือได้รับธาตุอาหารที่เป็นอันตรายจากดินที่ปนเปื้อนดังเช่นการปลูกพืชโดยใช้ดิน



4. เป็นระบบที่มีการใช้น้ำอย่างมีประสิทธิภาพ
5. ประหยัดเวลา แรงงาน และค่าใช้จ่ายในการเตรียมดิน และการกำจัดวัชพืช
6. สามารถควบคุมสภาพแวดล้อมต่างๆ ที่เกี่ยวกับการเจริญเติบโตของพืชโดยรวม และระดับรากพืชได้อย่างแน่นอน เช่น การควบคุมปริมาณธาตุอาหาร ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ ความเข้มข้น ของออกซิเจน เป็นต้น

#### ข้อเสีย

1. การติดตั้งระบบและอุปกรณ์มีราคาแพง
2. ต้องใช้ผู้ที่มีความรู้และความเชี่ยวชาญในการดูแลรักษา
3. หากมีการระบาดของโรคที่ไม่สามารถควบคุมได้ จะมีแพร่กระจายอย่างรวดเร็วไปยังพืชทุกต้น เนื่องจากแพร่ไปกับสารละลายธาตุอาหารที่ใช้ร่วมกัน
4. ต้องมีความรู้ความเข้าใจในการจัดการปริมาณธาตุอาหารและสภาวะที่เหมาะสมต่อการปลูกพืชแต่ละชนิด

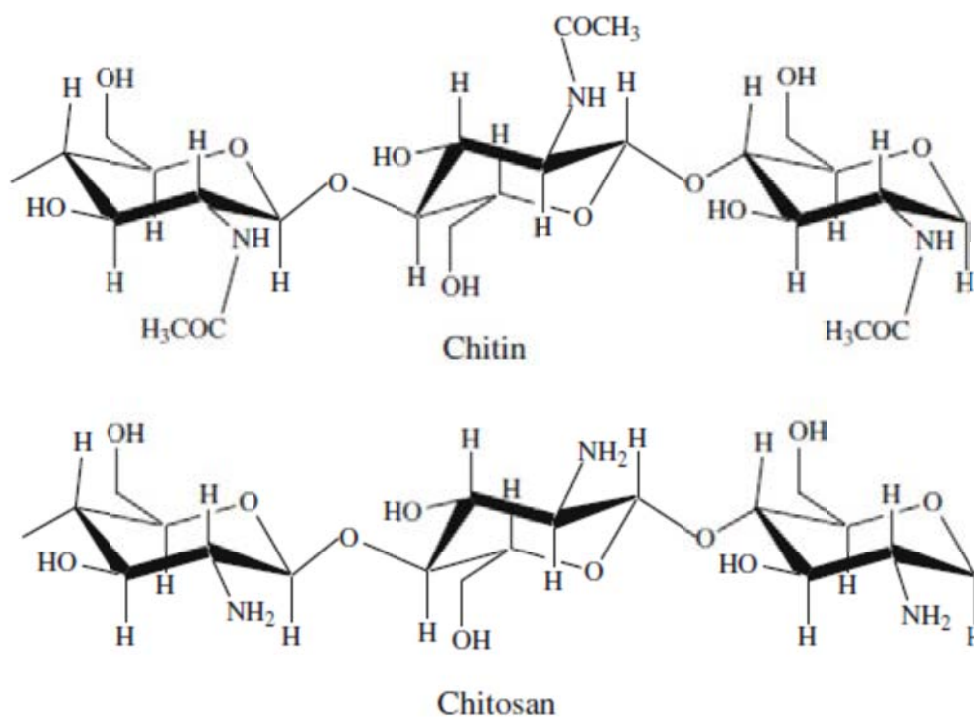
### 3. ไคติน-ไคโทซาน

ไคติน ( $\beta$  (1,4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose) หรือ poly (N-acetylglucosamine) เป็นพอลิเมอร์สายยาวที่มีองค์ประกอบของหน่วยย่อยเป็นอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคส (ภาพที่ 1) เป็นสารชีวภาพที่ได้จากการสกัดแยกจากวัตถุดิบธรรมชาติ และเป็นสารประกอบในธรรมชาติที่มีปริมาณมากที่สุดตัวหนึ่ง สามารถพบได้ทั่วไปในผนังเซลล์ของจุลินทรีย์จำพวกเห็ดรา ยีสต์ รวมถึงจุลินทรีย์อื่นอีกหลายชนิด นอกจากนี้ยังพบได้ในเปลือกแข็งภายนอกที่หุ้มตัวของสัตว์ที่มีลักษณะเป็นข้อปล้อง (Arthropod) ทั้งหมด เช่น แมลง แมง กุ้ง กิ้งก่า ปู เป็นต้น ส่วนสัตว์จำพวกหอยและหมึกก็พบสารไคตินเช่นกัน โดยพบในส่วนของเปลือกหอยและแกนของหมึก โครงสร้างทางเคมีของไคตินนั้นมีความคล้ายคลึงกับเซลลูโลส ไคตินที่พบในธรรมชาติมีลักษณะของโครงสร้างที่เป็นผลึกที่แข็งแรง สามารถแบ่งออกเป็น 3 ลักษณะ ตามรูปแบบการจัดเรียงตัวของผลึก ได้แก่ แอลฟาไคติน ( $\alpha$ -chitin) เบตาไคติน ( $\beta$ -chitin) และแกมมาไคติน ( $\gamma$ -chitin) ในธรรมชาติจะพบแอลฟาไคตินมากที่สุด โดยมีการเรียงตัวเป็นแผ่นซ้อนทับขนานกันและหันหน้าไปทางเดียวกัน ซึ่งจะพบมากในเปลือกปูและกุ้ง ส่วนไคตินที่พบในแกนหมึกนั้นเป็นเบตาไคติน มีการเรียงตัวเป็นแผ่นเช่นเดียวกัน โดยแต่ละแผ่นจะหันหน้าสวนทางกันและมีเสถียรภาพทางเคมีน้อยกว่าแอลฟาไคติน ส่วนแกมมาไคตินเป็นโครงสร้างผลมระหว่างแอลฟาไคตินและเบตาไคติน (Muzzarelli, 1976)

ไคโทซาน ( $\beta$  (1,4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose) หรือ poly (N-glucosamine) ได้รับการกล่าวถึงครั้งแรกในปี ค.ศ. 1859 โดย Rouget จากการนำไคตินไปต้มในสารละลาย Potassium hydroxide ที่มีความเข้มข้นสูง ซึ่งทำให้ไคตินดังกล่าวละลายได้ในกรดอินทรีย์ Rouget จึงเรียกไคตินลักษณะนี้ว่า modified chitin ซึ่งต่อมาในปี ค.ศ. 1894 Hoppe-Seyler ได้ทำการศึกษาอีกครั้ง และกำหนดชื่อใหม่ให้แก่ modified chitin ว่า ไคโทซาน (chitosan) (ชัชวาลวงศ์ชัย, 2548)

ไคโทซานได้จากการกำจัดหมู่อะซิติก (Deacetylation) ออกจากไคติน ทำให้ไคตินซึ่งละลายได้ยากในน้ำและกรดอินทรีย์เปลี่ยนเป็นไคโทซาน (ภาพที่ 1) ซึ่งสามารถละลายในน้ำและกรดอินทรีย์ได้ดีกว่าไคตินที่ค่า pH เดียวกัน เนื่องจากการลดลงของหมู่อะซิติก ( $\text{CH}_3\text{CO}-$ ) ในไคติน ทำให้จำนวนของหมู่อะมิโน ( $-\text{NH}_2$ ) ซึ่งมีประจุบวกต่อโมเลกุลเพิ่มมากขึ้น ไคโทซานจึงเป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็นโมเลกุลประจุบวก (polycationic) และหากมีการลดลงของหมู่อะซิติกมากขึ้น จะเป็นการเพิ่มสมบัติของการเป็นไคโทซานที่มากขึ้น ซึ่งสามารถวัดได้จากค่าระดับการกำจัดหมู่อะซิติก (degree of deacetylation, DD) โดยคิดเป็นหน่วยร้อยละ (%DD) คือร้อยละของหมู่อะซิติกที่

ถูกกำจัดไป โดยทั่วไปช่วงของ %DD มักอยู่ระหว่าง 70-95% ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับกรรมวิธีในการแปรรูป ไคตินเป็นไคโทซาน (ปิยะบุตร วาณิชพงษ์พันธ์ และ สุวลี จันทร์กระจ่าง, 2542)



ภาพที่ 1 แสดงโครงสร้างทางเคมีของไคตินและไคโทซาน

(Jayakumar *et al.*, 2010)

### 3.1 วิธีการผลิตไคติน-ไคโทซาน (สุวลี จันทร์กระจ่าง, 2542)

#### 3.1.1 กระบวนการกำจัดโปรตีน (Deproteination)

ในการผลิตไคติน-ไคโทซาน จากเปลือกกุ้ง เปลือกปู จำเป็นต้องมีการกำจัดโปรตีนออกเสีย ก่อน ส่วนใหญ่ใช้โซดาไฟ (NaOH) เป็นตัวทำปฏิกิริยา ซึ่งนอกจากโปรตีนแล้วไขมันและรงควัตถุบางชนิดจะถูกกำจัดออกไปด้วย

#### 3.1.2 กระบวนการกำจัดเกลือแร่ (Demineralization)

นำวัตถุดิบที่ผ่านกระบวนการกำจัดโปรตีนมาทำปฏิกิริยากับกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ซึ่งจะเป็นการกำจัดสารพวกหินปูน ( $\text{CaCO}_3$ ) ออกไป รงควัตถุและโปรตีนบางตัวที่เหลืออยู่ก็ถูกกำจัดออกไปด้วย ซึ่งขั้นตอนนี้จะทำให้ได้ไคตินบริสุทธิ์

### 3.1.3 กระบวนการกำจัดหมู่อะซีติล (Deacetylation)

นำไคตินที่ได้หลังการกำจัดเกลือแรมมาต้มที่อุณหภูมิสูงโดยใช้ด่าง เช่น NaOH ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 40% (w/v) ขึ้นไป จะทำให้ได้ไคโทซานที่สามารถละลายได้ในกรดอินทรีย์ เช่น กรดอะซีติก ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ ) กรดไพรพานิก ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$ ) กรดแลกติก ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ ) และกรดบิวทิริก ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ ) เป็นต้น

### 3.3 บทบาทของไคติน-ไคโทซานในด้านต่างๆ

ในประเทศไทยได้มีการผลิตไคติน-ไคโทซานมาเป็นเวลานานแล้ว และในช่วงสิบปีที่ผ่านมา ไคติน-ไคโทซานได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก เนื่องจากมีผลงานวิจัยที่รายงานถึงการประยุกต์ใช้ไคติน-ไคโทซาน ในด้านต่างๆ สารไคติน-ไคโทซานได้มีการประยุกต์และวางขายในท้องตลาดในรูปแบบของอาหารเสริม เครื่องสำอางค์ สารเสริมในด้านการเกษตร และอื่นๆ อีกทั้งประเทศไทยอุดมไปด้วยวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตไคติน-ไคโทซาน ซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมการผลิตกุ้งและปู จึงเป็นการส่งเสริมเศรษฐกิจของประเทศไทยด้วย (สุวดี จันทร์กระจ่าง, 2542)

ในทางการแพทย์และเภสัชกรรมได้ประยุกต์ใช้ไคติน-ไคโทซานเป็นส่วนประกอบของวัสดุทางการแพทย์บางชนิด เช่น วัสดุปิดปากแผล เนื่องจากไคติน-ไคโทซานมีคุณสมบัติในการห้ามเลือด (hemostatic) และอนุพันธ์ของไคติน-ไคโทซาน เช่น sulphated chitosan เป็นสารที่สามารถต้านทานการจับตัวเป็นก้อนของเลือดได้ (Kavitha *et al.*, 2011) นอกจากนี้ไคติน-ไคโทซานได้ถูกประยุกต์ใช้ทำวัสดุเทียม ผิวหนังเทียม ไหมละลาย และเลนส์ตา (Amiji, 1995) ยังมีรายงานอีกว่าไคติน-ไคโทซานยังใช้เป็น drug carrier เพื่อให้ยาไปยังบริเวณจำเพาะของร่างกาย เพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมระยะเวลาในการออกฤทธิ์ของยา และช่วยเพิ่มโอกาสในการดูดซึมยาเข้าสู่กระแสเลือดได้ดียิ่งขึ้นในการรักษาโรคมะเร็งและโรคอื่นๆ (Sinha *et al.*, 2004)

เนื่องจากไคติน-ไคโทซานมีคุณสมบัติย่อยสลายได้ในธรรมชาติ ไม่เป็นพิษต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อม จึงมีการนำไคติน-ไคโทซานมาประยุกต์ใช้ในด้านอาหารมากมาย โดยนำไคติน-ไคโทซานประยุกต์เป็นสารเคลือบผักและผลไม้ เพื่อลดการทำลายของโรคจากจุลินทรีย์ และช่วยยืด shelf life ของผลผลิต นอกจากนี้ไคติน-ไคโทซานถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการทำน้ำผลไม้ เช่น น้ำองุ่นและแอปเปิ้ล โดยใช้ปรับค่า pH ที่เหมาะสมในน้ำผลไม้โดยที่ไม่เป็นอันตรายและไม่เพิ่มไอออนที่เป็นพิษต่อผู้บริโภค เนื่องจากไคติน-ไคโทซานมีคุณสมบัติเป็นประจุบวกจากการมีสัดส่วนหมู่อะมิโนในโมเลกุลที่เพิ่มขึ้น (Imeri and Knorr, 1988) ไคติน-ไคโทซานยังถูกนำมาเป็นสารพื้นฐานและ

สารเติมแต่งในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางค์ เนื่องจากมีคุณสมบัติในการอุ้มน้ำและเป็นตาข่ายคลุมผิวหนัง ผลิตภัณฑ์จากไคติน-ไคโทซาน เช่น โลชั่นบำรุงผิว ยาสระผม สบู่ และแป้งผัดหน้า เป็นต้น (เรวดี มีสิทธิ์ และคณะ, 2546)

ไคติน-ไคโทซานยังเป็นที่รู้กันดีว่ามี complexing ability ที่ดี โดยหมู่อะมิโนในโมเลกุลของไคโทซานเกี่ยวข้องกับเกิดการเกิดปฏิกิริยาอย่างจำเพาะกับโลหะต่างๆ ดังนั้นไคติน-ไคโทซานจึงถูกนำมาใช้จัดการโลหะหนักในน้ำเสียที่เกิดจากกระบวนการอัดภาพ การล้างฟิล์มเอกซเรย์ และจากโรงงานอุตสาหกรรม เพื่อบำบัดน้ำให้มีคุณภาพที่ดีขึ้น (Rinaudo, 2006) ส่วนในอุตสาหกรรมสิ่งทอมีการใช้ไคติน-ไคโทซานผสมในเส้นใย เพื่อป้องกันและต้านทานเชื้อรา อีกทั้งยังเสริมสร้างความแข็งแรงให้แก่เส้นใย (Fu *et al.*, 2011)

### 3.4 บทบาทของไคโทซานในพืช

#### ไคโทซานกับการต้านทานโรคของพืช

ในธรรมชาติเมื่อพืชถูกรุกรานจากจุลินทรีย์ต่างๆ ที่ก่อให้เกิดโรค พบว่าเชื้อโรคเหล่านี้จะกระตุ้นระบบป้องกันตัวเองของพืช ซึ่งประกอบด้วยการสร้างเอนไซม์และสารเคมีในรูปแบบต่างๆ เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ รวมถึงการสร้างสารเพื่อทำลายเชื้อโรคที่เข้ามารุกรานให้อยู่ในวงจำกัด (Agrios, 1997) ในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับว่า ไคโทซานมีความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคของพืชได้ โดยกระตุ้นการทำงานของยีนที่เกี่ยวข้องกับการป้องกันตัวเองของพืช เช่น ยีนที่สร้างเอนไซม์ phenylalanine ammonia-lyase (PAL) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารทุติยภูมิในกลุ่ม phenolic compounds ได้แก่ lignin และ phytoalexin ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ นอกจากนี้ไคโทซานสามารถกระตุ้นให้มีการสร้างโปรตีน เช่น pathogenesis-related proteins ชนิดต่างๆ ไคตินเนส และกลูคาเนส ในระบบภูมิคุ้มกันที่เรียกว่า systemic acquired resistance (SAR) ซึ่งจะช่วยให้พืชสามารถต้านทานโรคได้ดีทั่วทั้งต้น (Agrawal *et al.*, 2002) ไคโทซานมีผลต่อการสร้างสารในกลุ่ม reactive oxygen species เช่น  $H_2O_2$  ซึ่งเป็นระบบภูมิคุ้มกันพืชอีกแบบหนึ่ง (Lee *et al.*, 1999)

การกระตุ้นกลไกการป้องกันตัวเองของพืชโดยไคโทซานนั้นผ่านทาง octadecanoid signaling pathway พบว่าการให้ไคโทซานแก่พืช ทำให้เกิดการสร้าง 12-oxo-phytodienoic acid (OPDA) และ jasmonic acid (JA) (Doares *et al.*, 1995) อย่างไรก็ตามความสามารถในการเป็น elicitor หรือโมเลกุลที่สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันของโรคได้ของไคโทซาน ขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของไคโทซานที่ใช้ (Meng *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2008) ชนิดและอายุของพืช

(Szczeponek *et al.*, 2006) และชนิดของจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคด้วย (Algam *et al.*, 2010) ด้วยความสามารถในการกระตุ้นความต้านทานโรคของไคโทซาน จึงมีการนำไคโทซานมาประยุกต์ใช้กับพืชชนิดต่างๆ เช่น ในการศึกษาของ Lin และคณะ (2005) พบว่าต้นกล้าข้าวที่ได้รับไคโทซานที่ความเข้มข้น 5mg/ml สามารถลดการติดเชื้อ *Magnaporthe grisea* ซึ่งเป็นสาเหตุของโรค rice blast ได้ถึง 50% และจากการศึกษาในยาสูบพบว่า ต้นยาสูบที่ได้รับไคโทซานที่มี % degree of deacetylation (%DD) เท่ากับ 99% และได้รับการฉายรังสี ทำให้มีขนาดของพอลิเมอร์ที่เล็กลง สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Phytophthora parasitica nicotianae* (Ppn) ได้ดีกว่าต้นยาสูบที่ได้รับไคโทซานที่มี %DD เท่ากับ 63.5% และไม่ได้รับการฉายรังสี (Falcon *et al.*, 2008) นอกจากนี้ในมะเขือเทศที่ได้รับไคโทซานความเข้มข้น 1.0% และ 2.5% (w/v) เป็นเวลา 10 วันก่อนการทำ inoculation เชื้อ *Colletotrichum* sp. สามารถลดขนาด lesion size ได้มากกว่ามะเขือเทศในชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Munoz *et al.*, 2009) ส่วนการศึกษาในแตงกวาพบว่า การให้ไคโทซานความเข้มข้น 50 µg/ml ก่อนการทำ inoculation เป็นเวลา 1, 4, และ 24 ชั่วโมง สามารถลดการเกิดโรค gray mould ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Botrytis cinerea* ได้ 65%, 82%, และ 87% ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม การพ่นไคโทซานหลังการทำ inoculation เป็นเวลา 1 ชั่วโมง สามารถลดการเกิดโรคได้ 52% (Ben-Shalom *et al.*, 2003) การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า pretreatment เป็นสิ่งสำคัญในการต้านทานโรคด้วยการใช้ไคโทซาน ซึ่งคล้ายกับการใช้วัคซีนในสัตว์

### ไคโทซานกับการเจริญเติบโตของพืช

จากการศึกษาในไม้ดอก เช่น กล้วยไม้สกุล *Dendrobium* พบว่ากล้วยไม้ที่ได้รับไคโทซาน O80 ที่ทุกระดับความเข้มข้นของการทดลอง (1, 10, 50, 100 ppm) สามารถชักนำให้กล้วยไม้ดอกเร็วขึ้นและเพิ่มจำนวนช่อดอกตลอดช่วงเวลาทดลอง 68 สัปดาห์ ในการทดลองดังกล่าวไคโทซาน polymer ที่มี 80% degree of deacetylation (P80) ความเข้มข้น 1-10 ppm สามารถเพิ่มจำนวนดอกต่อช่อได้มากกว่าชุดควบคุมที่ไม่ใช้ไคโทซาน (Limpanavech *et al.*, 2008) นอกจากนี้ยังมีการใช้ไคโทซานในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยการเติมไคโทซานในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อชนิดเหล่านั้นพบว่ามีผลเพิ่มจำนวนโพรโทคอร์ม (protocorm) ในกล้วยไม้เอื้องเงินหลวง และโพรโทคอร์มที่ได้รับไคโทซานยังมีน้ำหนักสดสูงขึ้นอีกด้วย (Limpanavech *et al.*, 2004) และกล้วยไม้รองเท้านารีลูผสมระหว่าง *Paphiopedilum bellatulum* และ *P. anghong* ที่นำไปแช่ไคโทซานในระหว่างการย้ายปลูกร่วมกับการพ่นไคโทซานทางใบทุกๆ 7 วัน เป็นเวลา 2 เดือน ทำให้กล้า

กล้วยไม้สามารถงอกราก สร้างใบใหม่และมีขนาดใหญ่และยาวขึ้น รวมถึงมีอัตราการรอดชีวิตจากการย้ายปลูกละมากกว่ากล้วยไม้ที่ไม่ได้รับไคโทซาน (ชนัสพร เกลี้ยงแก้ว และคณะ, 2546) และในปี 1999 Ohta และคณะได้ศึกษาผลของไคโทซานต่อการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มดอกหรีด *Eustoma gradiforum* ซึ่งเป็นไม้ประดับขนาดเล็ก พบว่าการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้น 1% ลงในดินที่ใช้ปลูก มีผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโตและเร่งการออกดอกให้เร็วขึ้น ส่วนในกระเจี๊ยบเขียวที่ได้รับการพ่นไคโทซาน oligomer ที่มี 80% degree of deacetylation (O80) ความเข้มข้น 25 ppm มีแนวโน้มของค่าเฉลี่ยความสูงต้น จำนวนใบ ดอกและผลต่อต้นสูงกว่าชุดควบคุม (พงศ์ธาริน โล่ห์ตระกูล และคณะ, 2549) ไคโทซานยังมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชผักสวนครัว เช่น คะน้า และพริก พบว่าต้นคะน้าและต้นพริกที่ได้รับการฉีดพ่นไคโทซานทุกสัปดาห์เป็นเวลา 2 เดือน มีน้ำหนักสดและความสูงต่อต้นมากกว่าต้นคะน้าและพริกที่ไม่ได้รับไคโทซานตามลำดับ (สุวลี จันทรกระจ่าง และคณะ, 2546) นอกจากนี้ El-Sawy และคณะ (2010) ศึกษาการเจริญเติบโตของ faba bean พบว่าต้นถั่วที่ได้รับการพ่นไคโทซานที่ความเข้มข้น 100 mg/L มีความสูงของต้นมากกว่าต้นถั่วในชุดการทดลองควบคุม และยังให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นอีกด้วย เช่นเดียวกับการศึกษาในถั่วเหลือง พบว่าการนำเมล็ดถั่วเหลืองไปแช่ในไคโทซานก่อนการเพาะเมล็ด มีผลทำให้ต้นถั่วเหลืองมีน้ำหนักสดที่เพิ่มมากขึ้นจากชุดการทดลองควบคุม 13% (No et al., 2006) อีกทั้งการใช้ไคโทซานในรูปเจล หรือไคโทเจล (chitogel) ผสมในอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อในการเลี้ยง ตาอวุ่น พบว่าการให้ไคโทเจลที่ความเข้มข้น 1.75% สามารถชักนำให้ยอดอวุ่นยืดยาวมากที่สุด และรากมีการเจริญเติบโตดีแตกแขนงมากกว่า มีจำนวนข้อ น้ำหนักแห้งของยอดและรากมากกว่าอวุ่นในชุดการทดลองควบคุมที่ไม่ได้รับไคโทซาน ไคโทเจลยังสามารถเพิ่มอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง โดยสามารถเพิ่มการผลิตก๊าซออกซิเจนและตรึงคาร์บอนไดออกไซด์ได้มากกว่าชุดการทดลองควบคุม (Barka et al., 2004)

### **ไคโทซานกับการยืดอายุการเก็บรักษาของพืชหลังการเก็บเกี่ยว**

เนื่องจากไคโทซานมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาบางประการของพืช ทำให้มีผู้นำไคโทซานไปประยุกต์ใช้ในการรักษาคุณภาพของผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยว และพบว่าไคโทซานสามารถยืดอายุของผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวได้ โดยมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความแน่นเนื้อ ปริมาณเส้นใย อัตราการหายใจ น้ำหนักสด การเกิดโรค และการเกิดสีน้ำตาล (สถิต พูลทรัพย์, 2543)

จากการศึกษาผลของไคโทซานต่อการรักษาคุณภาพของผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวของลิ้นจี่ พบว่าการจุ่มผลลิ้นจี่ในสารละลายไคโทซานที่ความเข้มข้น 1.0% และ 2.0% สามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงของ anthocyanins flavonoids และ total phenolic compounds ได้ อีกทั้งยังสามารถลดประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ polyphenol oxidase (PPO) (Zhang and Quantick, 1997) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำงานร่วมกับ phenolic compounds ได้ผลิตภัณฑ์เป็น O-quinones เป็นสาเหตุให้เกิดสีน้ำตาล ทำให้เสียคุณภาพและมูลค่าของผลผลิต นอกจากนี้ยังกระทบต่อรสชาติและคุณค่าทางอาหารของผักและผลไม้อีกด้วย เช่นเดียวกันกับองุ่นที่ผ่านการจุ่มไคโทซานความเข้มข้น 10 g/L มีผลทำให้ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ polyphenol oxidase และเอนไซม์ peroxidase (POD) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับองุ่นที่ไม่ได้รับการจุ่มไคโทซาน (Meng *et al.*, 2008)

การนำผลไม้จุ่มในสารละลายไคโทซานสามารถรักษาคุณภาพของผลไม้เมื่อดูจากภายนอกได้ โดยจากการศึกษาในส้มสายพันธุ์ Murcott tangor พบว่าการจุ่มผลส้มในไคโทซานความเข้มข้น 0.1% สามารถยับยั้งการเน่าเสียของผลส้ม และลดการสูญเสียน้ำหนักสดได้ และการนำผลส้มจุ่มไคโทซาน ที่ความเข้มข้น 0.2% สามารถรักษาความแน่นเนื้อ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ วิตามินซี และ ปริมาณน้ำในผลส้มได้อีกด้วย (Chien *et al.*, 2007)

เนื่องจากไคโทซานมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อโรค และกระตุ้นให้เนื้อเยื่อพืชมีภูมิคุ้มกันต้านทานต่อจุลินทรีย์เหล่านี้ อีกทั้งยังมีประสิทธิภาพและปลอดภัยต่อผู้บริโภค จึงมีการนำไคโทซานมาเคลือบผลผลิตทางการเกษตร ได้มีการใช้ไคโทซานความเข้มข้น 1.6-1.8% เคลือบผลส้มเวียดนาม ความหนาประมาณ 30-35 ไมครอน พบว่าสามารถเก็บรักษาผลส้มได้ถึง 35-40 วัน โดยที่สีของเปลือกนอกไม่เปลี่ยนแปลง (Dien and Binh, 1996) อีกทั้งมีการใช้ไคโทซานเคลือบผลไม้อื่นๆ อีกหลายชนิด เช่น สตรอเบอรี่ (Romanazzi *et al.*, 2013) แคนตาลูป (Chen *et al.*, 2012) ฝรั่ง (Hong *et al.*, 2012) กีวี พืช และแพร์ (Shahidi *et al.*, 1999) เพื่อลดการเข้าทำลายของจุลินทรีย์ก่อโรค และยืดอายุของผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ มีการใช้ไคโทซานในการเคลือบผิวของผักเช่นกัน เช่น มะเขือเทศ แตงกวา และพริกหยวก พบว่าสามารถลดอัตราการหายใจ ลดการสูญเสียน้ำจากการคายน้ำ และลดอัตราการผลิตก๊าซเอทิลีน ซึ่งไคโทซานฟิล์มเป็นตัวกั้นการไหลออกของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้ผักผลไม้คงความกรอบ ผิวไม่เหี่ยวเหี่ยว และสีผิวไม่เปลี่ยนแปลง (El-Ghaouth *et al.*, 1991)

ไคโทซานยังมีผลต่อการเปิด-ปิดปากใบของพืชด้วย จากการศึกษากของ McAinsh และคณะ (1996) พบว่ามะเขือเทศที่ได้รับไคโทซานที่สกัดจากผนังเซลล์ของเชื้อราสามารถกระตุ้นให้



ปากใบปิดแคบลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับชุดการทดลองควบคุม ซึ่งการหรีแคบลงของปากใบนี้เกิดจากการเพิ่มของปริมาณ  $H_2O_2$  ในเซลล์คุม โดยเฉพาะบริเวณที่มีคลอโรพลาสต์หนาแน่นมาก ซึ่งส่งผลให้ระดับแคลเซียมไอออนในเซลล์สูงขึ้นด้วย ทำให้แรงดันเต่งในเซลล์คุมลดลง ปากใบจึงปิดแคบลงได้ เช่นเดียวกับต้นพริกที่ได้รับการพ่นไคโทซานทางใบ พบว่าต้นพริกที่ได้รับการพ่นไคโทซานมีการลดการคายน้ำลง 26-43% ทำให้สามารถลดการให้น้ำในระหว่างปลูกได้ เนื่องมาจากไคโทซานมีผลยับยั้งการสะสมโพแทสเซียมไอออนในเซลล์คุม ทำให้การควบคุม osmotic pressure เปลี่ยนไป จึงทำให้ปากใบปิดแคบลง (Bittelli *et al.*, 2001)

### ไคโทซานกับการแสดงออกของยีนในพืช

เป็นที่ทราบกันแล้วว่าไคโทซานมีความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคของพืช และยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ และจากการศึกษาการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อไคโทซาน พบว่ายีนส่วนใหญ่เป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับการส่งสัญญาณและกลไกการป้องกันตัวเองของพืช เช่น *MAPK* (Yin *et al.*, 2010), *SPK1* (Zhang *et al.*, 2007) *OPR1* (Jang *et al.*, 2009) และ *WRKY* (Hofmann *et al.*, 2008) ใน rapeseed ยาสูบ ข้าว และมะเขือเทศ ตามลำดับ ซึ่งยีนเหล่านี้มีการแสดง ออกที่เพิ่มมากขึ้นเมื่อได้รับไคโทซาน

จากการศึกษายีนที่ตอบสนองต่อไคโทซานในยาสูบด้วยเทคนิค mRNA differential display พบ 96 ยีนที่ตอบสนองต่อไคโทซาน โดยหนึ่งในจำนวนยีนดังกล่าวคือ ยีน Ser/Thr protein kinase ซึ่งเป็นยีนที่ถูกกระตุ้นด้วยไคโทซาน เรียกว่า oligochitosan induced protein kinase (oipk) (Feng *et al.*, 2006) อีกทั้งการสร้าง oipk antisense expression vector แล้วถ่ายเข้าสู่ยาสูบโดยใช้ *Agrobacterium tumefaciens* พบว่าต้นยาสูบที่ได้รับการถ่ายยีนมีประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ phenylalanine ammonia-lyase (PAL) ที่ลดลง และลดการต้านทานต่อ tobacco mosaic virus (TMV) (Yafei *et al.*, 2009)

นอกจากนี้ Yin และคณะ (2006) ได้ทำการศึกษาการแสดงออกของยีนที่ตอบสนองต่อไคโทซานใน rapeseed (*Brassica napus*) พบว่าในต้น rapeseed ที่ได้รับไคโทซานมียีนจำนวน 393 ยีนที่มีระดับ transcription เปลี่ยนแปลงไป 2 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับต้น rapeseed ในชุดการทดลองควบคุมที่ไม่ได้รับไคโทซาน โดยในจำนวนยีนดังกล่าวมียีนจำนวน 136 ยีนที่มีระดับ transcription เพิ่มขึ้น ส่วนยีนอีก 257 ยีนนั้นมีระดับ transcription ที่ลดลง ซึ่งยีนต่างๆ เหล่านี้เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางสรีรวิทยาต่างๆ ในพืช และมีหน้าที่ต่างกันไป เช่น ยีน JA synthase (*OPR3*) ซึ่งมีหน้าที่ควบคุมยีนบางตัวใน Jasmonic acid/Ethylene (JA/ET) pathway

ถูกกระตุ้นด้วยไคโทซาน ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าไคโทซานกระตุ้นภูมิคุ้มกันใน rapeseed ผ่านทาง JA/ET signaling pathway

#### 4. ยีน *ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcL)*

ยีน *ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcL)* เป็นยีนใน chloroplast ที่ encode ให้เอนไซม์ ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase (RuBis- CO) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช โดยเอนไซม์ RuBisCO ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยา carboxylation ของ ribulose-1,5-bisphosphate (RuBP) และมีแมกนีเซียมไอออนเป็น cofactor ในกระบวนการ carbon fixation ได้ผลิตภัณฑ์ คือ 3-phosphoglycerate 2 โมเลกุล ซึ่งจะผ่านปฏิกิริยา reduction และกลายเป็นน้ำตาลกลูโคสหรือสารประกอบอินทรีย์ตัวอื่นๆ นอกจากเอนไซม์ RuBisCO จะทำปฏิกิริยากับคาร์บอนไดออกไซด์แล้ว ยังสามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้อีกด้วย เมื่อเอนไซม์ RuBisCO ทำปฏิกิริยากับออกซิเจน จะได้ผลิตภัณฑ์ คือ phosphoglycolate และ 3-phosphoglycerate ซึ่ง phosphoglycolate จะถูกเปลี่ยนให้เป็น 3-phosphoglycerate โดยผ่านกระบวนการ photorespiration ซึ่งอาศัยเอนไซม์ใน mitochondria และ peroxisomes (Taize and Zeiger, 2006) และจากการศึกษายีน *rbcL* ในยาสูบ พบว่าต้นยาสูบ (*Nicotiana tabacum*) ที่มีการ mutation ของยีน *rbcL* มีการเจริญเติบโตที่ช้ากว่าต้นยาสูบต้นปกติ และไม่สามารถเติบโตได้ในภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ในอากาศปริมาณต่ำ (Whitney *et al.*, 1999)

จากการทดลองของนนทลี ชำนาญบุญธรรม (2553) ที่ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนในข้าวพันธุ์เหลืองประทิว 123 ที่ได้รับไคโทซาน ด้วยวิธี proteomic approach พบว่าโปรตีน *rbcL* มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มมากขึ้นในข้าวที่ได้รับไคโทซาน (ยังไม่ได้ตีพิมพ์) และมีการรายงานว่ ไคโทซานสามารถเพิ่มอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชได้ เช่นในการศึกษาของ Khan และคณะ (2002) พบว่าต้นถั่วเหลืองและข้าวโพดที่ได้รับการพ่นไคโทซานให้ทางใบ เมื่อเปรียบเทียบกับต้นถั่วเหลืองและข้าวโพดที่ไม่ได้รับไคโทซาน นอกจากนี้ ในการเพาะเลี้ยงตาอ่อนที่ให้ไคโทซานในรูปเจลหรือ เรียกว่า ไคโทเจล (chitogel) โดยผสมในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ความเข้มข้น 1.75% และไคโทเจลสามารถเพิ่มอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงโดยสามารถผลิตก๊าซออกซิเจนและตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้มากกว่าอ่อนในชุดการทดลองควบคุม (Barka *et al.*, 2004) ในการทดลองนี้จึงเลือกที่จะศึกษาการแสดงออกของยีน *rbcL* ในผักสลัดพันธุ์ Butterhead เนื่องจากยีน *rbcL* เป็นยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืช ดังนั้น

การศึกษาการแสดงออกของยีนดังกล่าว อาจนำไปสู่ความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับผลของโคโทซานที่มีต่อการเจริญเติบโตของพืชได้

## บทที่ 3

### วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

#### 1. พืชทดลอง

ผักสลัด (*Lactuca sativa* L.) พันธุ์ Butterhead โดยปลูกพืชทดลองที่โรงเรียนตาข่าย ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และโรงเรียนที่บริษัท เอซีเค ไฮโดรฟาร์ม จำกัด

#### 2. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ทำการทดลอง

##### 2.1 วัสดุอุปกรณ์ในการปลูกพืชแบบ water culture system

- กระบะพลาสติกขนาด กว้าง × ยาว × สูง เท่ากับ 40 × 54 × 14 เซนติเมตร
- เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า (Digital conductivity meter) (NIST, USA)
- เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น (Thermo hygrometer) (Isuzu Seisakusho, Japan)
- เครื่องวัด pH (pH meter) (Eutech, Singapore)
- โฟม
- ฟองน้ำ
- กระบอกลดวงขนาด
- บีกเกอร์ขนาด
- ตะกร้าพลาสติก
- ถังน้ำพลาสติก

##### 2.2 วัสดุอุปกรณ์ในการปลูกพืชแบบ nutrient film technique (N.F.T.)

- เครื่องวัดค่าการนำไฟฟ้า (Digital conductivity meter) (NIST, USA)
- เครื่องวัดอุณหภูมิและความชื้น (Thermo hygrometer) (Isuzu Seisakusho, Japan)
- วัสดุปลูก เช่น เพอร์ไลท์ (perlite) และเวอร์มิคูไลท์ (vermiculite)
- ถังบรรจุสารละลายธาตุอาหาร
- ระบบวางปลูกพืชแบบ nutrient film technique (N.F.T.)

### 2.3 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการเก็บตัวอย่างพืชทดลอง

- อลูมิเนียมฟอยล์ (Aluminium foil)
- กรรไกร
- เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง (Mettler Toledo, USA)
- ภาชนะใส่ไนโตรเจนเหลว

### 2.4 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดการตอบสนองทางสรีรวิทยาของพืช

- เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer, G1103A, Agilent Technologies, Germany)
- ตู้อบตัวอย่างพืช 60°C (hot air oven) (Binder, Germany)
- หม้อนึ่งความดัน (Autoclave) (Taichung, Taiwan)
- ตู้แช่แข็งสำหรับเก็บตัวอย่าง อุณหภูมิ -80°C (Deep freezer)
- ตู้แช่แข็งสำหรับเก็บตัวอย่าง อุณหภูมิ -20°C (Freezer)
- เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated centrifuge, Universal 32R, Hettich, Germany)
- เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer) (Labnet, USA)
- เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง (Mettler Toledo, USA)
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Mettler Toledo, USA)
- แผ่นให้ความร้อนและคนสาร (Hot plate and stirrer) (J.P Selecta, France)
- ไม้บรรทัด
- สายวัด
- โกร่งบด
- ปีกเกอร์
- กระจกตวง
- หลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 15 มิลลิลิตร
- หลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร
- แผ่นวางหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร
- แผ่นพาราฟิล์ม
- กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1

- กระบอกน้ำกั๊น
- ลังไฟม
- ตะแกรงทองเหลืองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.180 มิลลิเมตร
- ไมโครปิเปต (Gilson, France)
- แพงแก้ว
- นาฬิกาจับเวลา
- กระจกน้ำแข็งแบบอลูมิเนียม
- ขวดบรรจุสารเคมี
- กล้องถ่ายภาพชนิดดิจิทัล (Olympus, Japan)
- กรวยกรอง
- ถังพลาสติกร้อนขนาด 12×18 นิ้ว
- ถังชิปขนาด 8×12 นิ้ว
- Microcentrifuge tube

## 2.5 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัด RNA

- โกร่งบด
- Dry bath incubator (MD-01N-220, Taiwan)
- Microcentrifuge (Sorvall Biofuge Pico, Germany)
- เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated centrifuge, Universal 32R, Hettich, Germany)
- ตู้แช่แข็งสำหรับเก็บตัวอย่าง อุณหภูมิ -80°C (Deep freezer)
- ตู้แช่แข็งสำหรับเก็บตัวอย่าง อุณหภูมิ -20°C (Freezer)
- เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer, G1103A, Agilent Technologies, Germany)
- Gel electrophoresis system (MiniRun GE-100, Hangzhou Bioer Technology Co., LTD)
- เครื่องกำเนิดแสง UV และถ่ายภาพเจล (Gel Doc™ 2000, Bio-Rad, California, USA)
- ไมโครปิเปต (Gilson, France)
- Microcentrifuge tube

## 2.6 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยวิธี reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

- เครื่องเพิ่มปริมาณ DNA (Peltier Thermal Cycler รุ่น PTC-100™, USA)
- Microcentrifuge (Sorvall Biofuge Pico, Germany)
- Gel electrophoresis system (MiniRun GE-100, Hangzhou Bioer Technology Co., LTD)
- เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer)
- ไมโครปิเปต (Gilson, France)
- Microcentrifuge tube

## 2.7 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยวิธี real-time polymerase chain reaction (real-time PCR)

- iCycler™ Thermal Cycler (Bio-Rad, California, USA)
- Dry bath incubator (MD-01N-220, Taiwan)
- Microcentrifuge (Sorvall Biofuge Pico, Germany)
- เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนชนิดควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerated centrifuge, Universal 32R, Hettich, Germany)
- ตู้แช่แข็งสำหรับเก็บตัวอย่าง อุณหภูมิ -80°C (Deep freezer)
- ตู้แช่แข็งสำหรับเก็บตัวอย่าง อุณหภูมิ -20°C (Freezer)
- Gel electrophoresis system (MiniRun GE-100, Hangzhou Bioer Technology Co., LTD)
- เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer, G1103A, Agilent Technologies, Germany)
- เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer)
- 96-well plate (Bio-Rad, California, USA)
- ไมโครปิเปต (Gilson, France)
- Microcentrifuge tube

### 3. สารเคมี

#### 3.1 สารเคมีที่ใช้ในการปลูกพืช

- สารละลายธาตุอาหารที่ดัดแปลงจากสูตร Hoagland (Hoagland and Arnon, 1950) (การเตรียมดังภาคผนวก ก)
- ไคโทซานชนิด P80 หมายถึง chitosan polymer ที่มี degree of deacetylation 80-90% (MW= 530,000 Da)
- ไคโทซานชนิด O80 หมายถึง chitosan oligomer ที่ได้จากการใช้ chitinase ตัด P80 ซึ่งมี degree of deacetylation ประมาณ 90% (MW=45,000 Da)  
(ไคโทซานทั้ง 2 ชนิดได้รับความอนุเคราะห์จาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รัฐ พิษณุางกูร ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

#### 3.2 สารเคมีที่ใช้ในการวัดปริมาณ ascorbic acid ปริมาณสารสี (photosynthetic pigment) และปริมาณเส้นใย

- Perchloric acid (HClO<sub>4</sub>) (Panreac, Spain)
- Potassium carbonate (K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>) (Univar, USA)
- 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid (C<sub>8</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S) (Sigma-Aldrich, USA)
- Potassium hydroxide (KOH) (Carlo Erba, Italy)
- Dithiothreitol (DTT) (Fluka, USA)
- N-Ethylmaleimide (NEM, C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>NO<sub>2</sub>) (Calbiochem, Germany)
- Citric acid (C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>) (Riedel-de Haën, Germany)
- Sodium phosphate dibasic heptahydrate (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) (Univar, USA)
- L-ascorbate oxidase (EC 1.10.3.3) (Sigma-Aldrich, USA)
- 80% acetone (Merck, Germany)
- Sodium hydroxide (NaOH) (Univar, USA)

#### 3.3 สารเคมีที่ใช้ในการสกัด RNA

- RNA Extraction Buffer (ภาคผนวก ข)
- Phenol : chloroform : isoamyl alcohol (25 : 24 : 1) (v/v) (ภาคผนวก ข)



- Absolute ethanol (Roche, Switzerland)
- Ethyl alcohol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O) (Merck, Germany)
- Lithium chloride (LiCl<sub>2</sub>) (Sigma-Aldrich, USA)
- DEPC-treated TE Buffer (ภาคผนวก ข)
- Agarose (USB Corporation, Ohio, USA)
- 5X TBE (ภาคผนวก ข)
- RNA loading dye (ภาคผนวก ข)
- Ethidium bromide (Promega, USA)

### 3.3 สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยวิธี reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR)

- 10 mM dATP, dCTP, dGTP, dTTP (Roche, Switzerland)
- Oligo(dT)<sub>15</sub> (Promega, USA)
- RBC Taq DNA Polymerase (RBC Bioscience, Taipei)
- 5X TBE (ภาคผนวก ข)
- Agarose (USB Corporation, USA)
- DNA loading dye (ภาคผนวก ข)
- Ethidium bromide (Promega)

### 3.7 สารเคมีที่ใช้ในการศึกษาการแสดงออกของยีนด้วยวิธี real-time polymerase chain reaction (real-time PCR)

- DNase I (RNase-free) (Takara Bio Inc., Japan)
- M-MLV Reverse Transcriptase (Promega)
- SsoFast™ EvaGreen® Supermix (Bio-Rad, USA)
- Phenol : chloroform : isoamyl alcohol (25 : 24 : 1) (v/v) (ภาคผนวก ข)
- Ethyl alcohol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O) (Merck, Germany)
- Sodium acetate (Sigma-Aldrich, USA)
- DEPC-treated TE Buffer (ภาคผนวก ข)

#### 4. ขั้นตอนและวิธีดำเนินการทดลอง

##### 4.1 ศึกษาผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของไคโทซานต่อการเจริญเติบโตของผักสลัดพันธุ์ Butterhead

###### 4.1.1 การวางแผนการทดลอง

เพาะเมล็ดผักสลัดพันธุ์ Butterhead เพื่อให้ได้ต้นกล้าอายุ 10 วัน หลังจากนั้นย้ายปลูกลงต้นกล้าผักสลัดโดยใช้ระบบปลูกไฮโดรพอนิกส์แบบ water culture system วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) โดยมีจำนวนซ้ำ 3 ซ้ำ ซ้ำละ 4 ต้น และมีชุดการทดลองดังนี้

- ชุดการทดลองที่ 1 ชุดควบคุมที่ไม่ได้รับไคโทซาน (Control)
- ชุดการทดลองที่ 2 ให้ไคโทซาน O80 ในสารละลายธาตุอาหาร ความเข้มข้น 5 mg/L
- ชุดการทดลองที่ 3 ให้ไคโทซาน O80 ในสารละลายธาตุอาหาร ความเข้มข้น 10 mg/L
- ชุดการทดลองที่ 4 ให้ไคโทซาน O80 ในสารละลายธาตุอาหาร ความเข้มข้น 20 mg/L
- ชุดการทดลองที่ 5 ให้ไคโทซาน P80 ในสารละลายธาตุอาหาร ความเข้มข้น 5 mg/L
- ชุดการทดลองที่ 6 ให้ไคโทซาน P80 ในสารละลายธาตุอาหาร ความเข้มข้น 10 mg/L
- ชุดการทดลองที่ 7 ให้ไคโทซาน P80 ในสารละลายธาตุอาหาร ความเข้มข้น 20 mg/L

โดยใช้สารละลายธาตุอาหารที่ดัดแปลงจากสูตร Hoagland (Hoagland and Arnon, 1950) (ภาคผนวกตาราง ก.1) และเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุก 7 วัน ปลูกเลี้ยงเป็นระยะเวลา 45 วัน ทำการทดลองใน 3 ช่วงฤดูการ คือ ฤดูหนาว วันที่ 14 ธันวาคม 2552-28 มกราคม 2553 (อุณหภูมิอยู่ในช่วง 22-32°C ความชื้น 66% และความเข้มแสงเฉลี่ย 112.34  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) ฤดูฝน วันที่ 1 มิถุนายน-13 กรกฎาคม 2553 (อุณหภูมิอยู่ในช่วง 25-36°C ความชื้น 71% และความเข้มแสงเฉลี่ย 116.79  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) และฤดูร้อน วันที่ 28 มีนาคม-5 พฤษภาคม 2554 (อุณหภูมิอยู่ในช่วง 26-38°C ความชื้น 68% และความเข้มแสงเฉลี่ย 123.59  $\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ ) (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2550)

###### 4.1.2 การเก็บผลการทดลอง

นำผักสลัดที่ได้จากการปลูกเลี้ยงจากข้อ 4.1.1 มาบันทึกค่าต่างๆ ในวันแรกของการเก็บเกี่ยวดังต่อไปนี้ น้ำหนักสดต่อต้น จำนวนใบต่อต้น ความกว้างและความยาวใบของใบที่ใหญ่ที่สุด และเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่ม หลังจากศึกษาคุณภาพผลผลิตหลัง

การเก็บเกี่ยวในข้อ 4.2 เป็นเวลา 10 วัน แล้วนำผักสลัดไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 7 วัน เพื่อบันทึกค่าน้ำหนักแห้งต่อต้นของผักสลัด

#### 4.1.3 วิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสด จำนวนใบ ความยาวและความกว้างใบ และเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่ม ด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

### 4.2 ศึกษาผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของโคโทซานต่อคุณภาพของผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวของผักสลัดพันธุ์ Butterhead

นำผักสลัดที่บันทึกค่าต่างๆ แล้วในข้อ 4.1.2 มาเก็บรักษาในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 8°C และบันทึกคุณภาพของผลผลิต โดยการชั่งน้ำหนักสดต่อต้นหลังการเก็บรักษา คำนวณออกมาในรูปเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักสด และประเมินลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมด้วยวิธีการให้คะแนนตามเกณฑ์ของ Kader และคณะ (1973) ในวันที่ 10 หลังการเก็บรักษา โดยมีเกณฑ์การให้คะแนนในระดับ 5-1 คะแนน

#### 4.2.1 การสูญเสียน้ำหนักสด

ชั่งน้ำหนักสดต่อต้นหลังการเก็บรักษาของผักสลัดด้วยเครื่องชั่ง นำค่าน้ำหนักสดก่อนการเก็บรักษาจากข้อ 4.1.2 และหลังการเก็บรักษา แล้วคำนวณออกมาในรูปเปอร์เซ็นต์ของการสูญเสียน้ำหนักสดดังสมการต่อไปนี้

$$\% \text{ของการสูญเสียน้ำหนักสด} = \frac{(\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา} - \text{น้ำหนักหลังการเก็บรักษา})}{\text{น้ำหนักก่อนการเก็บรักษา}} \times 100$$

#### 4.2.2 ลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวม

ให้คะแนน 5-1 คะแนนตามเกณฑ์ของ Kader และคณะ (1973) ดังต่อไปนี้

- 5 คะแนน สำหรับผักสลัดที่มีลักษณะเหมือนเพิ่งเก็บเกี่ยว
- 4 คะแนน สำหรับผักสลัดที่แสดงอาการเหี่ยวบริเวณใบชั้นนอกสุด
- 3 คะแนน สำหรับผักสลัดที่มีแสดงอาการเหี่ยวบริเวณใบชั้นนอกสุด และมีสีน้ำตาลเกิดบริเวณขอบใบ

2 คะแนน สำหรับผักสลัดที่แสดงอาการเหี่ยวบริเวณใบชั้นนอกสุด และมีสีน้ำตาลบริเวณใบมากขึ้น หรือแสดงอาการเหี่ยวที่ใบชั้นใน

1 คะแนน สำหรับผักสลัดที่แสดงอาการเหี่ยวทั้งต้น

โดยผักสลัดที่มีคะแนนต่ำกว่า 3 คะแนน ไม่สามารถยอมรับได้

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสดต่อต้นหลังการเก็บรักษา ค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสีย น้ำหนักสด และคะแนนคุณลักษณะภายนอก ด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

#### 4.3 ศึกษาผลของโคโทซานต่อปริมาณผลผลิต และลักษณะคุณภาพของผลผลิตผักสลัดพันธุ์ Butterhead เมื่อปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกส์แบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร

จากผลการทดลองในข้อ 4.1 และ 4.2 เลือกชุดการทดลองที่ให้โคโทซานในสารละลายธาตุอาหารที่ให้ผลดีที่สุด มาปลูกเลี้ยงเปรียบเทียบกับชุดการทดลองควบคุมที่ไม่ได้รับโคโทซานเป็นเวลา 45 วัน โดยวางแผนการทดลองแบบ independent t-test ทำการทดลอง 25 ต้นต่อชุดการทดลอง ทำการทดลองใน 3 ช่วงฤดูกาลเช่นในข้อ 4.1 และทำการเก็บตัวอย่างเพื่อบันทึกน้ำหนักสดต่อต้น น้ำหนักแห้งต่อต้น ปริมาณ ascorbic acid (Every, 1996) ปริมาณสารสี (photosynthetic pigment) (Devasa *et al.*, 2007 อ้างอิงใน เพทาย จริญญาณ, 2550) และปริมาณเส้นใย (Gould, 1997 อ้างอิงใน นวลนภา เจริญรอย, 2548)

##### 4.3.1 วิธีการวัดปริมาณ ascorbic acid (Every, 1996)

บดใบผักสลัดน้ำหนักประมาณ 0.5 กรัมด้วยโกร่งบด ใส่ 2% perchloric acid ปริมาณ 1 มิลลิลิตร แล้วเทส่วนผสมลงใน microcentrifuge tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง 12,000 รอบ/นาที อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 10 นาที แล้วเก็บส่วนใสมา 400 ไมโครลิตร ปรับ pH ให้อยู่ในช่วง 5-6 ด้วย 0.5 M potassium carbonate และวัดค่า pH ด้วย pH paper จากนั้นนำมา 100 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดใหม่ หลังจากนั้นใส่ 50 mM HEPES-KOH 360 ไมโครลิตร และ 10 mM DTT 40 ไมโครลิตร วางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 นาที แล้วใส่ 0.5% NEM 40 ไมโครลิตร จากนั้นนำมา 100 ไมโครลิตร ไปวัดค่าการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงของ ascorbate ที่ความยาวคลื่น 265 nm โดยนำค่าที่ได้ไปคำนวณปริมาณ ascorbic acid จากสมการ

$$\text{nmol ascorbic acid/mL assay mixture} = \Delta A/0.0145$$

และสูตร

$$\frac{\text{nmol ascorbic acid/mL assay}}{\text{Extract (mL) used in assay}} \times \frac{\text{Extraction volume (mL)}}{\text{Sample (g or mL) in extraction}} \times \text{Dilution factor}$$

ค่าที่ได้ คือ ปริมาณ ascorbic acid มีหน่วยเป็น นาโนโมลต่อกรัม (nmol/g)

#### 4.3.2 วิธีการวัดปริมาณสารสี (photosynthetic pigment) (Devasa *et al.*, 2007 อ้างอิงใน เพทาย จรุงนารณ, 2550)

บดใบผักสลัดน้ำหนักประมาณ 0.5 กรัมด้วยโกร่งบด ใส่ 80% acetone ปริมาณ 8 มิลลิลิตร แล้วเทส่วนผสมลงในหลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร อย่างรวดเร็ว ปิดฝาให้สนิทด้วยพาราฟิล์มและเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 1 คืน แล้วเก็บส่วนใสนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470, 646.8 และ 663.2 nm นำมาคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ *a* คลอโรฟิลล์ *b* และแคโรทีนอยด์ ตามลำดับ (Devasa *et al.*, 2007 อ้างอิงใน เพทาย จรุงนารณ, 2550) ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{คลอโรฟิลล์ } a \text{ (C}_a\text{)} = 12.25(A_{663.2}) - 2.79(A_{646.8})$$

$$\text{คลอโรฟิลล์ } b \text{ (C}_b\text{)} = 12.25(A_{646.8}) - 2.79(A_{663.2})$$

$$\text{แคโรทีนอยด์} = [1000(A_{470}) - 1.82(C_a) - 85 - 0.02(C_b)]/198$$

ค่าที่ได้มีหน่วยเป็นไมโครกรัมต่อกรัม ( $\mu\text{g/g}$ )

#### 4.3.3 วิธีการวัดปริมาณเส้นใย (Gould, 1977 อ้างอิงใน นवलนภา เจริญราย, 2548)

บดใบผักสลัดน้ำหนักประมาณ 1.5 กรัมด้วยโกร่ง ใส่น้ำเดือด 12 มิลลิลิตร แล้วเทลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร ใส่ 50% NaOH 1.5 มิลลิลิตร นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที แล้วกรองด้วยตะแกรงทองเหลืองที่มีช่องตะแกรงกว้าง 0.180 มิลลิเมตร ฉีดล้างเส้นใยให้เป็นสีขาวด้วยน้ำกลั่น ตักเส้นใยลงในกระดาษชกรอง Whatman เบอร์ 1 ที่อบแห้งและทราบน้ำหนักแล้ว นำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก คำนวณหาปริมาณเส้นใยโดยเทียบออกมาในรูปเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเส้นใยต่อน้ำหนักสด ดังสมการต่อไปนี้

$$\% \text{ปริมาณเส้นใย} = \frac{\text{น้ำหนักเส้นใย} \times 100}{\text{น้ำหนักสดของตัวอย่างที่ใช้}}$$

#### 4.3.4 วิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของปริมาณ ascorbic acid ปริมาณสารสี และปริมาณเส้นใยด้วยวิธี independent t-test

#### 4.4 ศึกษารูปแบบการแสดงออกของยีน *ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcL)* ในผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการตอบสนองต่อโคโทซาน

เปรียบเทียบการแสดงออกของยีน *rbcL* ของผักสลัดพันธุ์ Butterhead โดยทำการเปรียบเทียบการแสดงออกของยีนในผักสลัดที่เจริญในชุดการทดลองควบคุม และชุดการทดลองที่ให้โคโทซานที่ความเข้มข้น 5 ppm ในสารละลายธาตุอาหาร (ความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดในการส่งเสริมการเจริญเติบโต) โดยมีชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ และมีวิธีการดังนี้

4.4.1 เพาะเมล็ดผักสลัดพันธุ์ Butterhead เพื่อให้ได้ต้นกล้าอายุ 10 วัน ย้ายปลูกลงในสารละลายธาตุอาหาร และเก็บตัวอย่างพืชที่ 0, 1, และ 2 วัน หลังการให้โคโทซานในสารละลายธาตุอาหาร เพื่อนำไปสกัด total RNA ตามวิธีของ Thikart และคณะ (2005) (ภาคผนวก ข)

4.4.2 วัดปริมาณ RNA จากสารละลายที่สกัดได้ โดยวัดความเข้มข้นของสารละลายที่สกัดได้ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 260 nm และ 280 nm จากนั้นตรวจสอบคุณภาพของ RNA ด้วย 0.8% agarose gel (w/v) ในสารละลาย 0.5x TBE และ gel electrophoresis system (MiniRun GE-100, Hangzhou Bioer Technology Co., Ltd) ย้อมแถบ RNA ด้วย ethidium bromide แล้วนำไปตรวจสอบด้วยเครื่องกำเนิดแสง UV และถ่ายรูปรูปเจล (Gel Doc™ 2000, Bio-Rad, California, USA)

4.4.3 กำจัด DNA ออกจาก RNA ด้วยเอนไซม์ DNase I (Takara) ตามวิธีที่ระบุไว้ในคู่มือ (ภาคผนวก ข) แล้วคำนวณปริมาณและตรวจสอบคุณภาพของ RNA อีกครั้งเช่นเดียวกันกับในข้อ 4.4.2

4.4.4 สร้าง cDNA ด้วยการทำให้ reverse transcription โดยใช้เอนไซม์ M-MLV reverse transcriptase (Promega) ตามวิธีที่ระบุไว้ในคู่มือ (ภาคผนวก ข)

4.4.5 นำ cDNA ที่ได้จากข้อ 4.4.4 มาเป็นแม่แบบในการทำ PCR ด้วยเครื่องเพิ่มปริมาณ DNA (Peltier Thermal Cycler รุ่น PTC-100™, USA) หลังจากนั้นตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์ของชิ้น DNA ที่เพิ่มจำนวนได้

4.4.6 นำ cDNA ที่ได้จากข้อ 4.4.4 มาเป็นแม่แบบในการทำ qRT-PCR ด้วยเครื่อง iCycler™ Thermal Cycler (Bio-Rad) โดยใช้เอนไซม์ SsoFast™ EvaGreen® Supermix (Bio-Rad) ตามวิธีที่ระบุไว้ในคู่มือ (ภาคผนวก ข) แต่ละตัวอย่างทำปฏิกิริยา 3 ครั้ง และนำค่าเฉลี่ยที่ได้มาใช้ในการวิเคราะห์ผลต่อไป

primer สำหรับยีน *LsActin* มีลำดับเบสดังนี้

*LsActin* (F) 5'- ACC CCA AGG CCA ATA GAG AG -3'

*LsActin* (R) 5'- GGC ATA GAG GGA AAA CAC-AG -3'

primer สำหรับยีน *LsrbcL* มีลำดับเบสดังนี้

*LsrbcL* (F) 5'- GGG TAC ATG CGA AGA AAT GA -3'

*LsrbcL* (R) 5'- GGG GGA TGT GAA GAA GTA GA -3'

4.4.7 นำผลที่ได้จากข้อ 4.4.6 มาคำนวณหาค่าการแสดงออกของยีน *LsrbcL* ด้วยวิธีเปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีนที่ต้องการศึกษากับการแสดงออกของยีนที่ใช้เป็น control (relative quantification) โดยมี *LsActin* เป็นยีนอ้างอิง ตามวิธีของ Pfaffl (2001) ดังสมการ

$$R = \frac{(E_{target})^{\Delta CP_{target}(control-sample)}}{(E_{ref})^{\Delta CP_{target}(control-sample)}}$$

โดยที่ R	คือ relative expression ratio
$E_{target}$	คือ $10^{-1/slope}$ ของยีน <i>LsrbcL</i>
$E_{ref}$	คือ $10^{-1/slope}$ ของยีน <i>LsActin</i>
$\Delta CP_{target}(control-sample)$	คือ ผลต่างของค่า CP (cross-over point) (หรืออีกชื่อคือ ค่า Ct; threshold cycle) ของยีน <i>LsrbcL</i> เมื่อเปรียบเทียบกับค่า CP ของตัวอย่าง control
$\Delta CP_{ref}(control-sample)$	คือ ผลต่างของค่า CP ของยีน <i>LsActin</i> เมื่อเปรียบเทียบกับค่า CP ของตัวอย่าง control

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### 1. ผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของโคโทซานต่อการเจริญเติบโตของผักสลัดพันธุ์ Butterhead

จากการทดลองใน 3 ช่วงฤดูกาล คือ ฤดูหนาว (วันที่ 14 ธันวาคม 2552-28 มกราคม 2553) ฤดูฝน (วันที่ 1 มิถุนายน-13 กรกฎาคม 2553) และฤดูร้อน (วันที่ 28 มีนาคม-5 พฤษภาคม 2554) ซึ่งมีความแตกต่างของช่วงอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศดังนี้

**ฤดูหนาว** มีช่วงอุณหภูมิในเวลากลางวันอยู่ระหว่าง 29-32°C และในเวลากลางคืนอยู่ระหว่าง 22-27°C ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศเฉลี่ย 66% และมีความเข้มแสงเฉลี่ย  $112.34 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$

**ฤดูฝน** มีช่วงอุณหภูมิในเวลากลางวันอยู่ระหว่าง 31-36°C และในเวลากลางคืนอยู่ระหว่าง 25-28°C ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศเฉลี่ย 71% และมีความเข้มแสงเฉลี่ย  $116.79 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$

**ฤดูร้อน** มีช่วงอุณหภูมิในเวลากลางวันอยู่ระหว่าง 31-38°C และในเวลากลางคืนอยู่ระหว่าง 26-29°C ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศเฉลี่ย 68% และมีความเข้มแสงเฉลี่ย  $123.59 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$

#### 1.1 น้ำหนักสดต่อต้น

หลังจากการนำต้นกล้าผักสลัดที่มีการเจริญเติบโตและขนาดใกล้เคียงกัน ย้ายปลูกลงในระบบการปลูกไฮโดรพอนิกส์แบบ water culture พบว่าต้นกล้าผักสลัดมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 100% และจากการสังเกตติดตามผล พบว่าผักสลัดมีอัตราการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัดในสัปดาห์ที่ 3

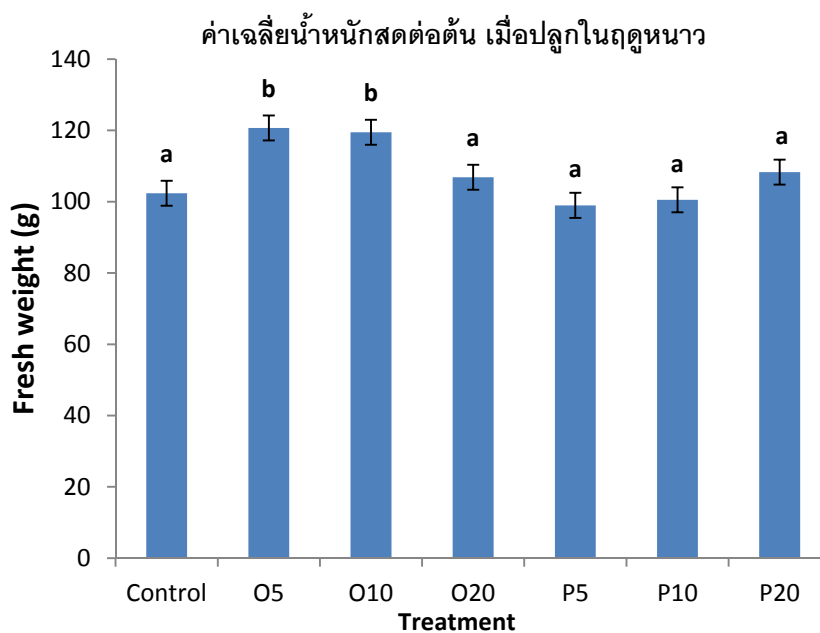
ผักสลัดที่ปลูกในฤดูหนาวที่ได้รับโคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 และ 10 mg/L มีน้ำหนักสดต่อต้นมากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยชุดการทดลองที่ให้โคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L ในสารละลายธาตุอาหารมีน้ำหนักสดต่อต้นมากที่สุดคือ 120.68 กรัม ซึ่งมากกว่าชุดการทดลองควบคุมถึง 17.91% ส่วนผักสลัดที่ได้รับโคโทซานชนิด P80 มีเพียงชุดการทดลองที่ให้โคโทซานชนิด P80 ความเข้มข้น 20 mg/L เท่านั้นที่มีแนวโน้มของน้ำหนักสดต่อต้นมากกว่าชุดการทดลองควบคุม ในขณะที่ชุดการทดลองที่ได้รับโคโทซานชนิด P80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีน้ำหนักสดน้อยที่สุดคือ 98.98 กรัม ซึ่งน้อยกว่าชุดการทดลองควบคุมที่มีน้ำหนักสด 102.35 กรัม (ภาพที่ 2, ภาคผนวก ค. ตาราง ค.1)

ผักสลัดที่ปลูกในฤดูฝนที่ได้รับโคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L เป็นชุดการทดลองเดียวที่มีน้ำหนักสดมากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีน้ำหนัก



สดต่อต้นมากที่สุดคือ 77.19 กรัม ซึ่งมากกว่าชุดการทดลองควบคุม 11.05% และชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด P80 ทุกความเข้มข้น ในสารละลายธาตุอาหาร พบว่ามีแนวโน้มของน้ำหนักสดน้อยกว่าชุดการทดลองควบคุม โดยชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด P80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีน้ำหนักสดน้อยที่สุดคือ 65.79 กรัม ซึ่งน้อยกว่าชุดการทดลองควบคุมที่มีน้ำหนักสด 69.51 กรัม (ภาพที่ 3, ภาคผนวก ค. ตาราง ค.2)

ผักสลัดที่ปลูกในฤดูร้อนที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L ในสารละลายธาตุอาหารมีน้ำหนักสดต่อต้นมากที่สุดคือ 80.28 กรัม ซึ่งมากกว่าชุดการทดลองควบคุมซึ่งมีน้ำหนักสด 74.02 กรัม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ถึง 8.46% ส่วนชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด P80 ความเข้มข้น 20 mg/L มีน้ำหนักสดน้อยที่สุดคือ 65.35 กรัม (ภาพที่ 4, ภาคผนวก ค. ตาราง ค.3)



ภาพที่ 2 แสดงน้ำหนักสดต่อตันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูหนาวช่วงวันที่ 14 ธันวาคม 2552 – 28 มกราคม 2553

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

Control = สารละลายธาตุอาหารสูตรดัดแปลง Hoagland

O5 = สารละลายธาตุอาหาร + ไคโทซาน O80 ความเข้มข้น 5 mg/L

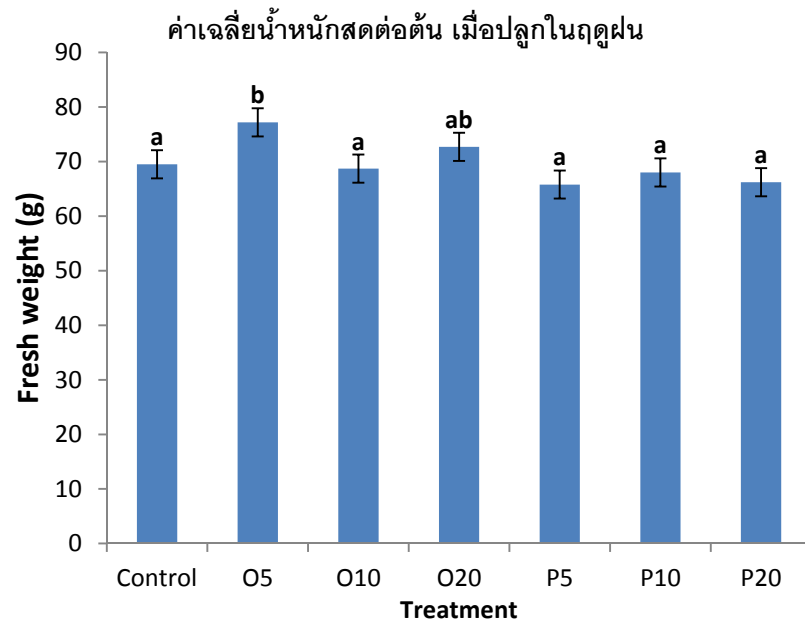
O10 = สารละลายธาตุอาหาร + ไคโทซาน O80 ความเข้มข้น 10 mg/L

O20 = สารละลายธาตุอาหาร + ไคโทซาน O80 ความเข้มข้น 20 mg/L

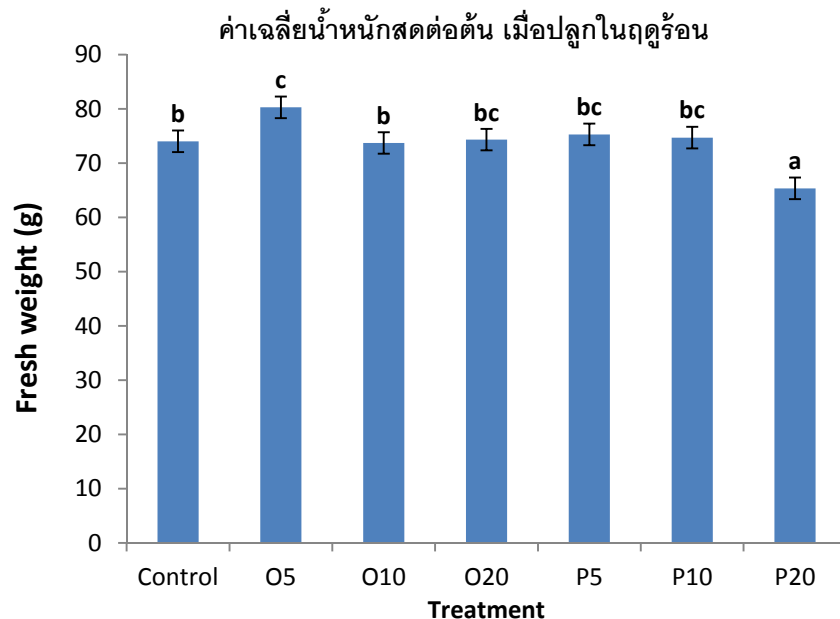
P5 = สารละลายธาตุอาหาร + ไคโทซาน P80 ความเข้มข้น 5 mg/L

P10 = สารละลายธาตุอาหาร + ไคโทซาน P80 ความเข้มข้น 10 mg/L

P20 = สารละลายธาตุอาหาร + ไคโทซาน P80 ความเข้มข้น 20 mg/L



ภาพที่ 3 แสดงน้ำหนักสดต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูฝนช่วงวันที่ 1 มิถุนายน – 13 กรกฎาคม 2553



ภาพที่ 4 แสดงน้ำหนักสดต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูร้อนช่วงวันที่ 28 มีนาคม – 5 พฤษภาคม 2554

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

O5, O10, O20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้โคโทซานชนิด oligomer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ

P5, P10, P20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้โคโทซานชนิด polymer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ

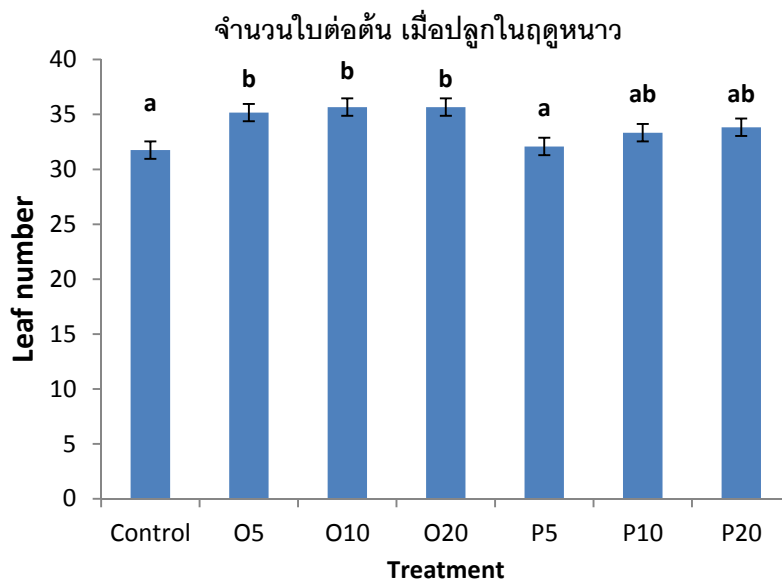
## 1.2 จำนวนใบต่อต้น

จากการนับจำนวนใบของผักสลัด พบว่าผักสลัดที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ทุกความเข้มข้น มีจำนวนใบต่อต้นมากกว่าชุดการทดลองควบคุม

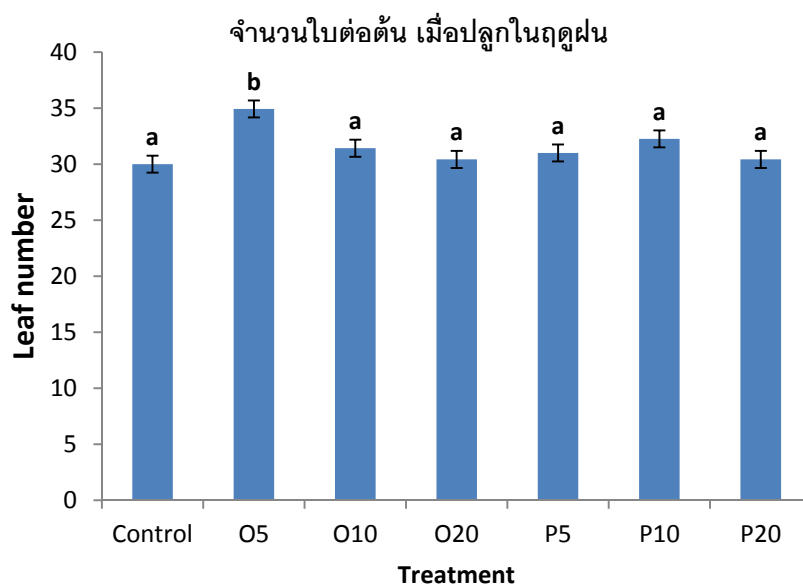
เมื่อพิจารณาผลของจำนวนใบต่อต้นของผักสลัดที่ปลูกในฤดูหนาว พบว่าผักสลัดในทุกชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ในสารละลายธาตุอาหาร มีจำนวนใบมากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในการทดลองชุดควบคุมผักสลัดมีจำนวนใบ 31.75 ใบต่อต้น การทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 10 และ 20 mg/L มีจำนวนใบเฉลี่ยมากที่สุดคือ 35.67 ใบต่อต้น ในขณะที่ชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด P80 ทุกความเข้มข้น มีแนวโน้มของจำนวนใบมากกว่าชุดการทดลองควบคุม (ภาพที่ 5, ภาคผนวก ค. ตาราง ค.4)

เมื่อพิจารณาผลของจำนวนใบต่อต้นของผักสลัดที่ปลูกในฤดูฝน พบว่าทุกชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานในสารละลายธาตุอาหารส่วนใหญ่มีแนวโน้มทำให้ผักสลัดมีจำนวนใบเฉลี่ยมากกว่าชุดการทดลองควบคุม ซึ่งมีจำนวนใบเฉลี่ย 30 ใบต่อต้น ในขณะที่ผักสลัดที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L เป็นชุดการทดลองเดียวที่มีจำนวนใบเฉลี่ยต่อต้นมากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและมีจำนวนใบต่อต้นเฉลี่ยมากที่สุดคือ 34.92 ใบ (ภาพที่ 6, ภาคผนวก ค. ตาราง ค.5)

เมื่อพิจารณาผลของจำนวนใบต่อต้นของผักสลัดที่ปลูกในฤดูร้อน พบว่าผักสลัดในทุกชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานในสารละลายธาตุอาหารมีแนวโน้มทำให้จำนวนใบต่อต้นมากกว่าชุดการทดลองควบคุม ยกเว้นชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด P80 ความเข้มข้น 20 mg/L ที่มีจำนวนใบต่อต้นเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ 34.08 ใบ โดยที่ชุดการทดลองควบคุมมีจำนวนใบต่อต้นเฉลี่ย 34.25 ใบ ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนชุดการทดลองที่ผักสลัดมีจำนวนใบต่อต้นเฉลี่ยมากที่สุดคือ ชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีจำนวนใบต่อต้นเฉลี่ย 37.42 ใบ ซึ่งมากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 7, ภาคผนวก ค. ตาราง ค.6)

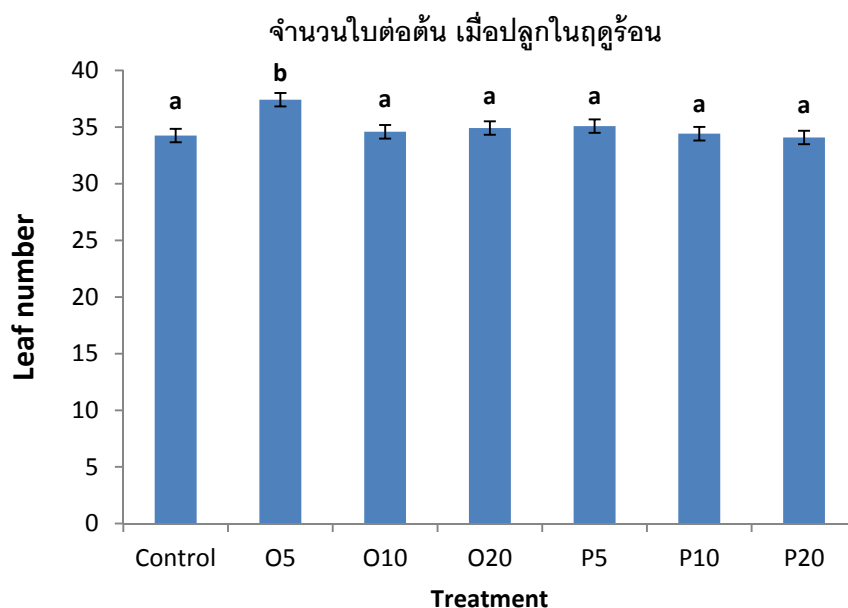


ภาพที่ 5 แสดงจำนวนใบต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูหนาวช่วงวันที่ 14 ธันวาคม 2552 – 28 มกราคม 2553



ภาพที่ 6 แสดงจำนวนใบต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูฝนช่วงวันที่ 1 มิถุนายน – 13 กรกฎาคม 2553  
\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

O5, O10, O20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้โคโทซานชนิด oligomer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ  
P5, P10, P20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้โคโทซานชนิด polymer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ



ภาพที่ 7 แสดงจำนวนใบต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูร้อนช่วงวันที่ 28 มีนาคม – 5 พฤษภาคม 2554 \*ตัวอักษรที่อยู่เหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

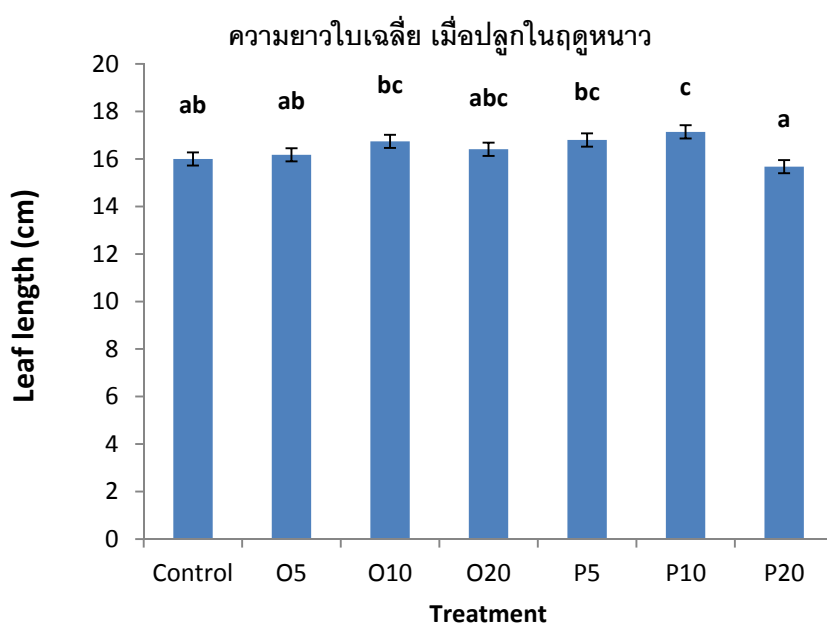
O5, O10, O20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด oligomer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ  
P5, P10, P20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด polymer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ

### 1.3 ความกว้างใบ

จากการวัดส่วนที่กว้างที่สุดของใบผักสลัด พบว่าผักสลัดที่ปลูกในฤดูหนาวในทุกชุดการทดลองที่ได้รับไคโทซานส่วนใหญ่มีแนวโน้มของความกว้างใบเฉลี่ยมากกว่าชุดการทดลองควบคุม โดยชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 10 mg/L มีผลทำให้ผักสลัดมีความกว้างใบเฉลี่ยมากที่สุดคือ 12.6 เซนติเมตร และมากกว่าความกว้างใบเฉลี่ยของต้นที่ได้จากชุดการทดลองควบคุม คือ 11.9 เซนติเมตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนผักสลัดที่ได้รับไคโทซานชนิด P80 มีแนวโน้มมีความกว้างใบเฉลี่ยมากกว่าชุดการทดลองควบคุม (ภาพที่ 8, ภาคผนวก ค. ตาราง ค.7)

ผักสลัดที่ปลูกในฤดูฝนในทุกชุดการทดลองที่ได้รับไคโทซานในสารละลายธาตุอาหาร แม้ว่าจะมีความกว้างใบเฉลี่ยมากกว่าชุดการทดลองควบคุม แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีผลทำให้ผักสลัดมีความกว้างใบเฉลี่ยสูงสุดคือ 12.1 เซนติเมตร ในขณะที่ชุดการทดลองควบคุมมีความกว้างใบเฉลี่ย 11.3 เซนติเมตร (ภาพที่ 9, ภาคผนวก ค. ตาราง ค.8)

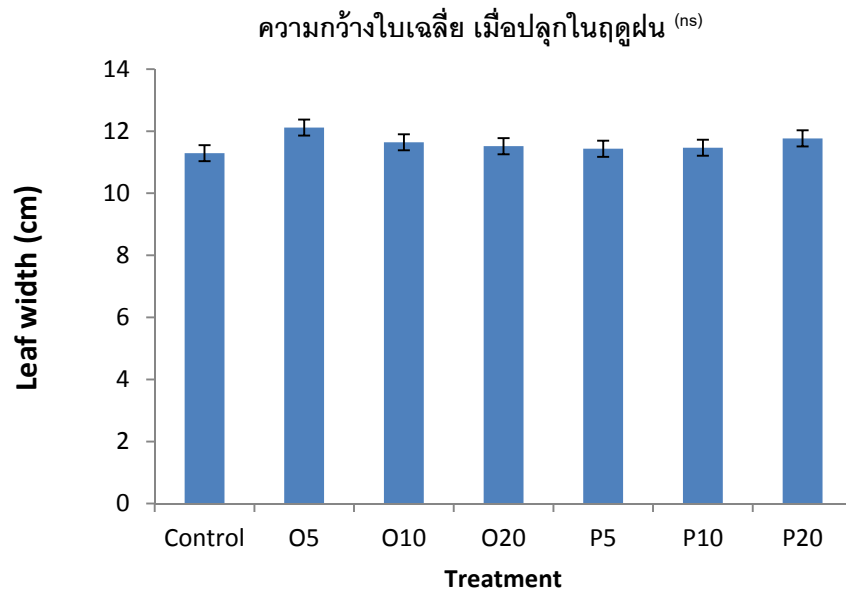
ส่วนผักสลัดที่ปลูกในฤดูร้อนไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของความกว้างใบ โดยชุดการทดลองที่ผักสลัดมีความกว้างใบเฉลี่ยมากที่สุดคือ ชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L ในสารละลายธาตุอาหาร ซึ่งมีความกว้างใบเฉลี่ย 10.9 เซนติเมตร ในขณะที่ชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด P80 ความเข้มข้น 10 mg/L มีความกว้างใบเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ 10.3 เซนติเมตร โดยน้อยกว่าชุดการทดลองควบคุมที่มีความกว้างใบเฉลี่ยประมาณ 10.6 เซนติเมตร (ภาพที่ 10, ภาคผนวก ค. ตาราง ค.9)



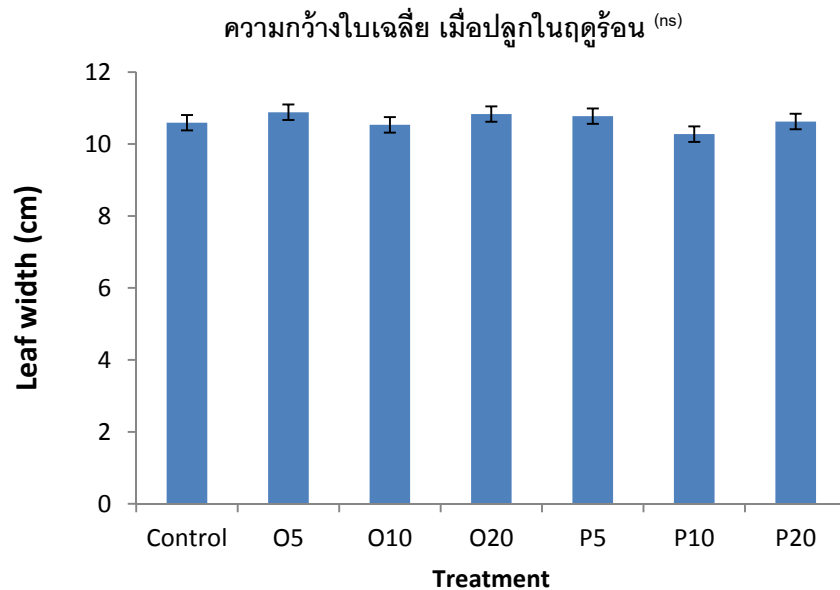
ภาพที่ 8 แสดงความกว้างใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูหนาวช่วงวันที่ 14 ธันวาคม 2552 – 28 มกราคม 2553

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือแท่งกราฟที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

O5, O10, O20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด oligomer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ  
P5, P10, P20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด polymer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ



ภาพที่ 9 แสดงความกว้างใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูฝนช่วงวันที่ 1 มิถุนายน – 13 กรกฎาคม 2553



ภาพที่ 10 แสดงความกว้างใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูร้อนช่วงวันที่ 28 มีนาคม – 5 พฤษภาคม 2554

<sup>ns</sup> หมายถึงค่าเฉลี่ยในชุดการทดลองต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

O5, O10, O20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด oligomer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ

P5, P10, P20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด polymer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ

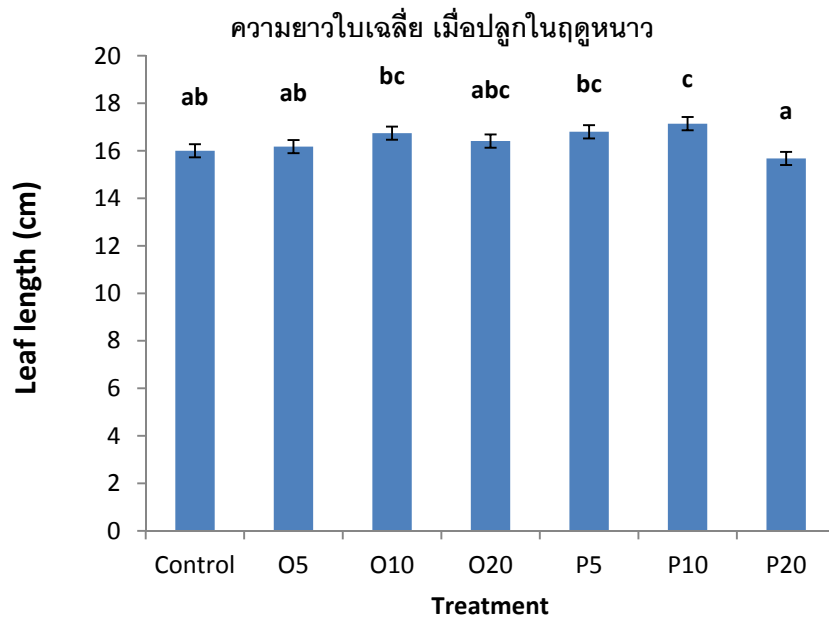


#### 1.4 ความยาวใบ

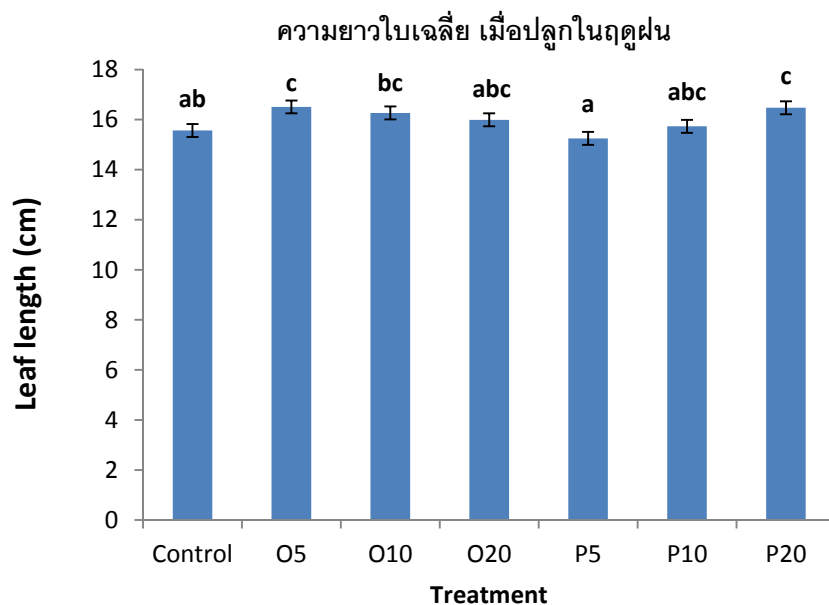
จากการวัดส่วนที่ยาวที่สุดของใบผักสลัดที่ปลูกในทั้ง 3 ฤดูกาล พบว่าผักสลัดที่ปลูกในฤดูหนาวที่ได้รับไคโทซานชนิด P80 ความเข้มข้น 10 mg/L ในสารละลายธาตุอาหาร มีความยาวใบเฉลี่ยมากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีความยาวใบเฉลี่ยมากที่สุดคือ 17.1 เซนติเมตร ส่วนผักสลัดที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ทุกความเข้มข้น มีแนวโน้มของความยาวใบเฉลี่ยมากกว่าชุดการทดลองควบคุมที่มีความยาวใบเฉลี่ยประมาณ 16 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 11, ภาคผนวก ค. ตาราง ค.10)

ผักสลัดที่ปลูกในฤดูฝนที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีความยาวใบเฉลี่ยมากที่สุดคือ 16.5 เซนติเมตร รองลงมา คือ ผักสลัดที่ได้รับไคโทซานชนิด P80 ความเข้มข้น 20 mg/L ซึ่งมีความยาวใบเฉลี่ย 16.4 เซนติเมตร ในขณะที่ชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด P80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีผลทำให้ผักสลัดมีความยาวใบเฉลี่ยน้อยที่สุดคือ 15.3 เซนติเมตร ซึ่งน้อยกว่าชุดการทดลองควบคุมที่มีความยาวใบเฉลี่ยประมาณ 15.6 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 12, ภาคผนวก ค. ตาราง ค.11)

ส่วนผักสลัดที่ปลูกในฤดูร้อนที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L เป็นชุดการทดลองที่มีแนวโน้มของความยาวใบเฉลี่ยมากกว่าชุดการทดลองควบคุม โดยมีความยาวใบเฉลี่ยมากที่สุดคือ 12.5 เซนติเมตร ในขณะที่ชุดการทดลองควบคุมมีความยาวใบเฉลี่ย 12 เซนติเมตร (ภาพที่ 13, ภาคผนวก ค. ตาราง ค.12)



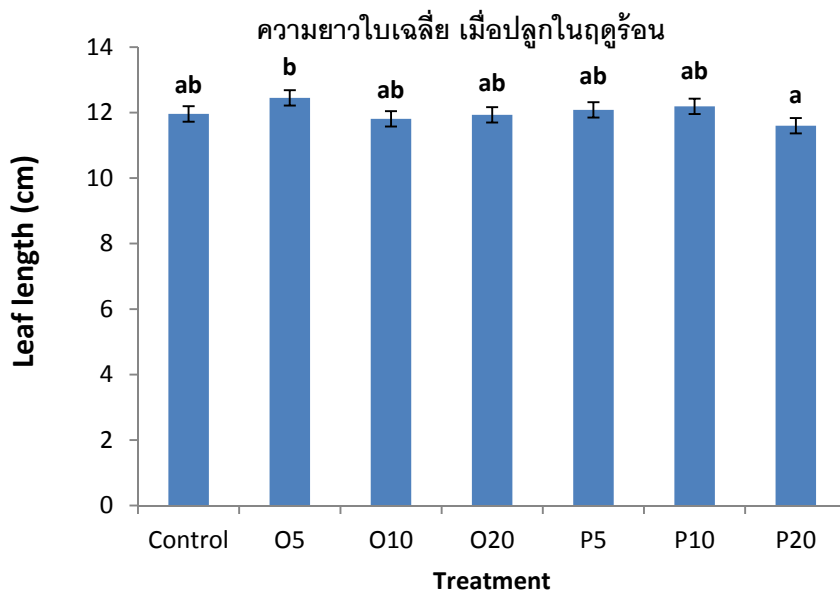
ภาพที่ 11 แสดงความยาวใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูหนาวช่วงวันที่ 14 ธันวาคม 2552 – 28 มกราคม 2553



ภาพที่ 12 แสดงความยาวใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูฝนช่วงวันที่ 1 มิถุนายน – 13 กรกฎาคม 2553 \*ตัวอักษรที่อยู่เหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

O5, O10, O20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด oligomer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ

P5, P10, P20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด polymer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ



ภาพที่ 13 แสดงความยาวใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูร้อนช่วงวันที่ 28 มีนาคม – 5 พฤษภาคม 2553 \*ตัวอักษรที่อยู่เหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

O5, O10, O20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด oligomer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ  
P5, P10, P20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด polymer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ

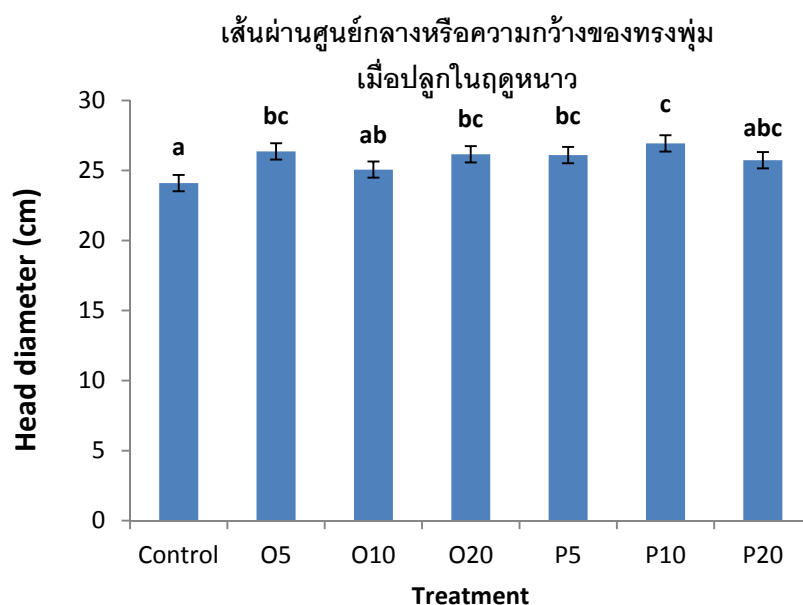
### 1.5 เส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่ม

เมื่อครบอายุการเก็บเกี่ยวของผักสลัด นำผักสลัดมาวัดเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่ม โดยวัดส่วนที่กว้างที่สุดของต้นผักสลัด พบว่าผักสลัดที่ปลูกในฤดูหนาวที่ได้รับไคโทซานในทุกชุดการทดลองมีเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่มของต้นผักสลัดมากกว่าชุดการทดลองควบคุม ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่มเฉลี่ยประมาณ 24.1 เซนติเมตร โดยชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด P80 ความเข้มข้น 10 mg/L ในสารละลายธาตุอาหาร มีผลทำให้ผักสลัดมีเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่มมากที่สุดคือ 26.9 เซนติเมตร (ภาพที่ 14, ภาคผนวก ค. ตาราง ค.13)

ผักสลัดที่ปลูกในฤดูฝนที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ทุกความเข้มข้น มีเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่มเฉลี่ยมากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยผักสลัดที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่มเฉลี่ยมากที่สุดคือ 30.6 เซนติเมตร ซึ่งชุดการทดลองควบคุมมีเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่มเฉลี่ยประมาณ 28.8 เซนติเมตร ส่วนชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด P80 ทุก

ความเข้มข้น มีผลทำให้ผักสลัดมีเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่มเฉลี่ยมากกว่าชุดการทดลองควบคุม แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 15, ภาคผนวก ค. ตาราง ค.14)

ในขณะที่ผักสลัดที่ปลูกในฤดูร้อนในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่ม โดยชุดการทดลองควบคุมมีผลทำให้ผักสลัดมีเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่มเฉลี่ยมากที่สุดคือ 20.6 เซนติเมตร (ภาพที่ 16, ภาคผนวก ค. ตาราง ค.15)

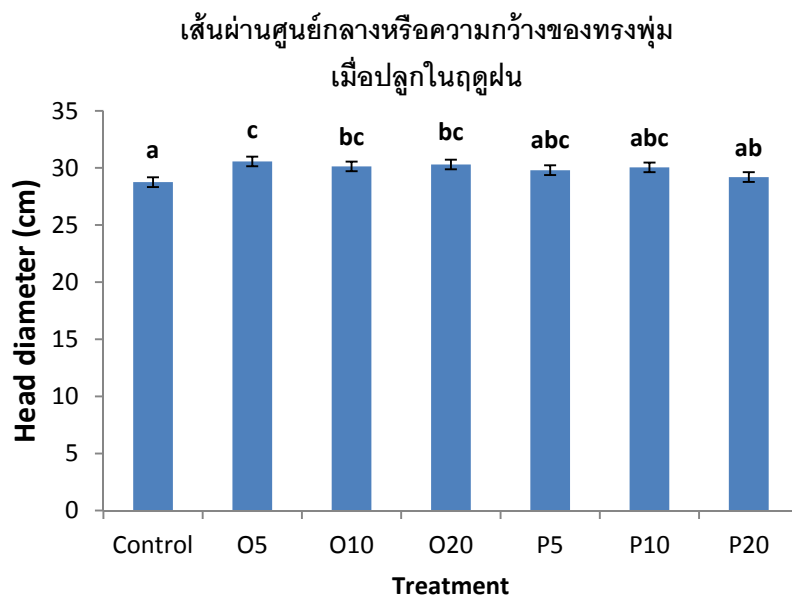


ภาพที่ 14 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่มเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูหนาวช่วงวันที่ 14 ธันวาคม 2552 – 28 มกราคม 2553

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

O5, O10, O20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้โคโทซานชนิด oligomer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ

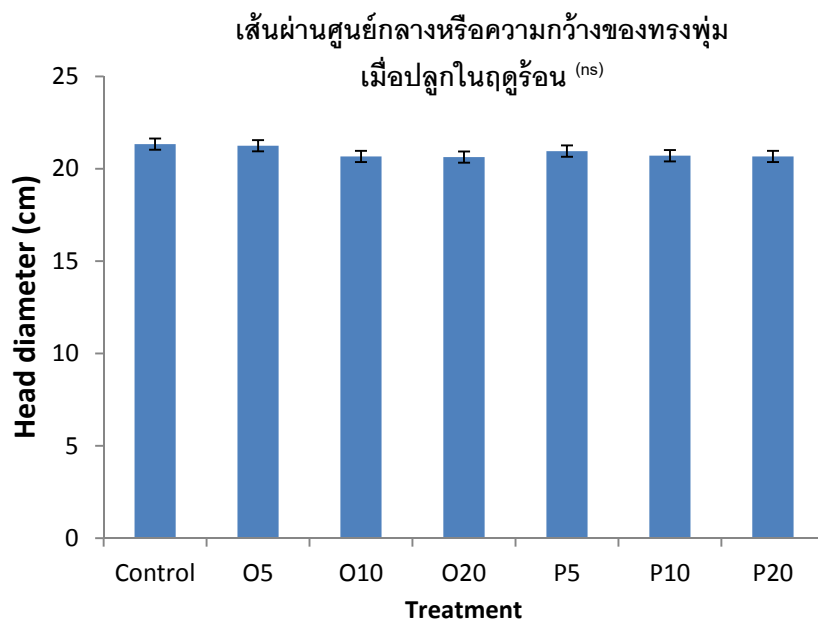
P5, P10, P20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้โคโทซานชนิด polymer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ



ภาพที่ 15 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่มเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูฝนช่วงวันที่ 1 มิถุนายน – 13 กรกฎาคม 2553

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือแท่งกราฟที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

O5, O10, O20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้โคโทซานชนิด oligomer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ  
P5, P10, P20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้โคโทซานชนิด polymer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ



ภาพที่ 16 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่มเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูร้อนช่วงวันที่ 28 มีนาคม – 5 พฤษภาคม 2554

<sup>ns</sup> หมายถึงค่าเฉลี่ยในชุดการทดลองต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

O5, O10, O20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้โคโทซานชนิด oligomer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ

P5, P10, P20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้โคโทซานชนิด polymer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ

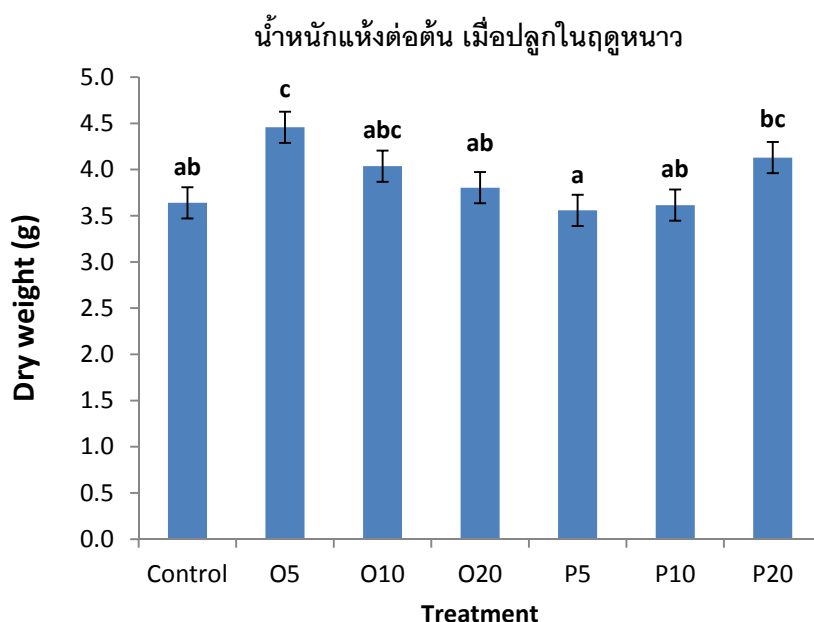
### 1.6 น้ำหนักแห้งต่อต้น

หลังจากนำผักสลัดไปอบที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 7 วัน เพื่อมาบันทึกค่าน้ำหนักแห้งต่อต้นของผักสลัด พบว่าในทั้ง 3 ฤดูกาล ผักสลัดที่ได้รับโคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีน้ำหนักแห้งต่อต้นมากที่สุด โดยในฤดูหนาวผักสลัดที่ได้รับโคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีน้ำหนักแห้งต่อต้น 4.457 กรัม ซึ่งมากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนผักสลัดที่ได้รับโคโทซานชนิด P80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีน้ำหนักแห้งต่อต้น 3.558 กรัม ซึ่งเป็นชุดการทดลองที่มีน้ำหนักแห้งน้อยที่สุด และน้อยกว่าชุดการทดลองควบคุมที่มีน้ำหนักแห้งต่อต้น 3.640 กรัม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 17, ภาคผนวก ค. ตาราง ค.16)

ในฤดูฝนชุดการทดลองที่ให้โคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L ในสารละลายธาตุอาหาร เป็นชุดการทดลองเดียวที่มีผลทำให้ผักสลัดมีน้ำหนักแห้งต่อต้นมากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีน้ำหนักแห้งต่อต้น 3.248 กรัม ในขณะที่ชุดการทดลองควบคุมมีน้ำหนักแห้งต่อต้น 2.692 กรัม ชุดการทดลองที่ให้โคโทซานชนิด P80 ความเข้มข้น 20

mg/L มีผลทำให้ผักสลัดมีน้ำหนักแห้งต่อต้นน้อยที่สุดคือ 2.588 กรัม แต่ไม่แตกต่างกับการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 18, ภาคผนวก ค. ตาราง ค.17)

ในฤดูร้อนผักสลัดในชุดการทดลองควบคุมมีน้ำหนักแห้ง 3.375 กรัม ส่วนผักสลัดที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 และ P80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีน้ำหนักแห้ง 3.656 และ 3.620 กรัมตามลำดับ ซึ่งมากกว่าชุดการทดลองควบคุมแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนผักสลัดที่ได้รับไคโทซาน O80 ความเข้มข้น 10 และ 20 mg/L และผักสลัดที่ได้รับไคโทซาน P80 ความเข้มข้น 20 mg/L มีน้ำหนักแห้ง 2.989 2.847 และ 2.927 กรัมตามลำดับซึ่งน้อยกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 19, ภาคผนวก ค. ตาราง ค.18)

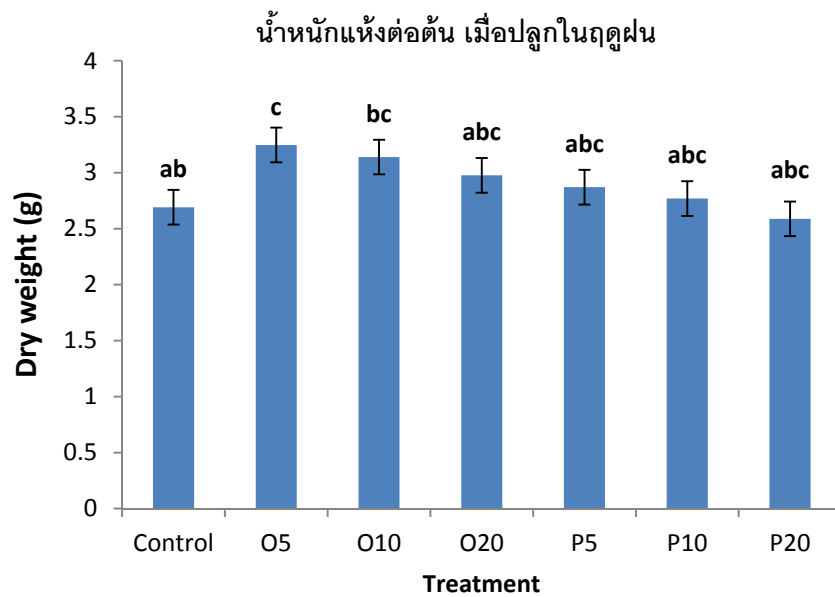


ภาพที่ 17 แสดงน้ำหนักแห้งต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูหนาวช่วงวันที่ 14 ธันวาคม 2552 – 28 มกราคม 2553

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

O5, O10, O20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด oligomer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ

P5, P10, P20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด polymer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ

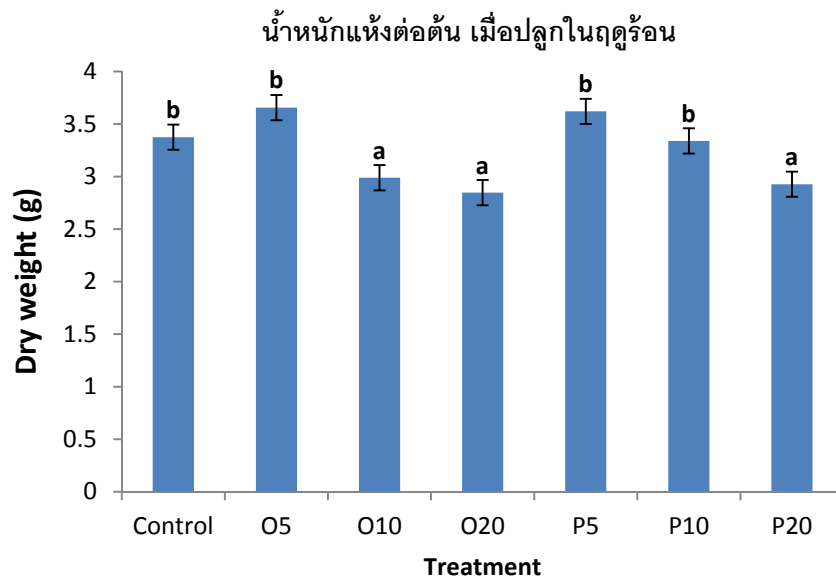


ภาพที่ 18 แสดงน้ำหนักแห้งต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูฝนช่วงวันที่ 1 มิถุนายน – 13 กรกฎาคม 2553

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

O5, O10, O20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้โคโทซานชนิด oligomer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ  
 P5, P10, P20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้โคโทซานชนิด polymer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ





ภาพที่ 19 แสดงน้ำหนักแห้งต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูร้อนช่วงวันที่ 28 มีนาคม 2552 – 5 พฤษภาคม 2554

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือแท่งกราฟที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

O5, O10, O20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้โคโทซานชนิด oligomer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ  
 P5, P10, P20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้โคโทซานชนิด polymer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ

## 2. ผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของไคโทซานต่อคุณภาพของผลผลิต หลังการเก็บเกี่ยวของผักสลัดพันธุ์ Butterhead

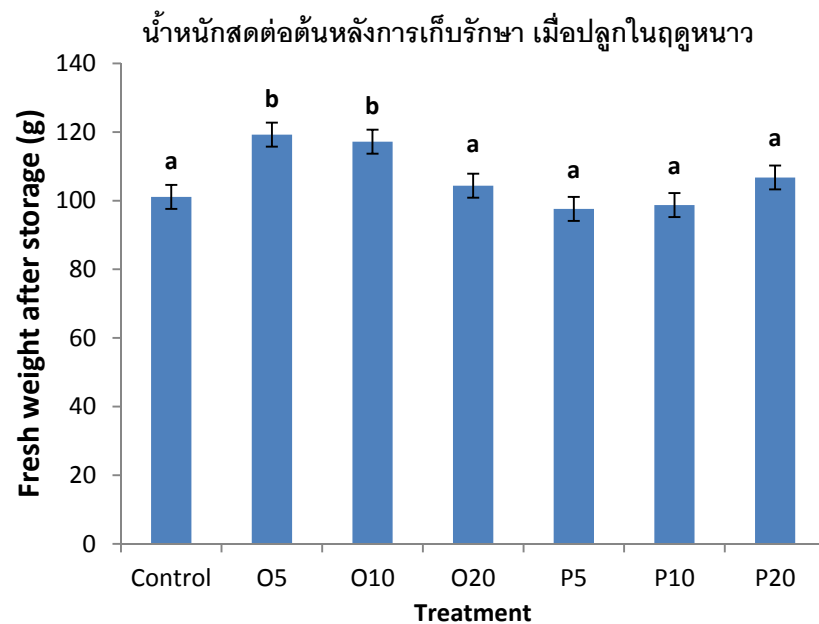
### 2.1 น้ำหนักสดต่อต้นหลังการเก็บรักษา

หลังจากนำผักสลัดไปเก็บรักษาในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 8°C เป็นเวลา 10 วัน นำผักสลัดมาบันทึกคุณภาพโดยชั่งน้ำหนักหลังการเก็บรักษา

ผักสลัดที่ปลูกในฤดูหนาวที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีน้ำหนักสดต่อต้นหลังการเก็บรักษามากที่สุดคือ 119.24 กรัม ซึ่งสูงกว่าน้ำหนักสดต่อต้นของชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่ชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด P80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีผลทำให้ผักสลัดมีน้ำหนักสดต่อต้นหลังการเก็บรักษาน้อยที่สุดคือ 97.62 กรัม ซึ่งน้อยกว่าชุดการทดลองควบคุมที่มีน้ำหนักสดต่อต้นหลังการเก็บรักษา 101.11 กรัม แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 20, ภาคผนวก ค. ตาราง ค. 19)

ส่วนผักสลัดที่ปลูกในฤดูฝนให้ผลเช่นเดียวกับผักสลัดที่ปลูกในฤดูหนาวคือ ชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีผลทำให้ผักสลัดมีน้ำหนักสดหลังการเก็บรักษา มากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีน้ำหนักสดหลังการเก็บรักษา มากที่สุดคือ 75.85 กรัม ในขณะที่ชุดการทดลองควบคุมมีน้ำหนักสดหลังการเก็บรักษา 67.32 กรัม และชุดการทดลองที่ได้รับไคโทซาน P80 ความเข้มข้น 5 mg/L เป็นชุดการทดลองที่ทำให้มีน้ำหนักสดต่อต้นหลังการเก็บเกี่ยว น้อยที่สุด คือ 64.45 กรัม แต่ทั้งนี้ไม่แตกต่างกับชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 21, ภาคผนวก ค. ตาราง ค. 20)

ส่วนผักสลัดที่ปลูกในฤดูร้อนชุดการทดลองที่ดีที่สุดยังคงเป็นชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L ในสารละลายธาตุอาหาร โดยผักสลัดมีน้ำหนักสดหลังการรักษา มากที่สุดคือ 78.09 กรัม และมีแนวโน้มมากกว่าชุดควบคุม แต่ชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด P80 ความเข้มข้น 20 mg/L มีผลทำให้ผักสลัดมีน้ำหนักสดหลังการเก็บรักษาน้อยที่สุดคือ 63.64 กรัม ซึ่งน้อยกว่าชุดการทดลองควบคุมที่ผักสลัดมีน้ำหนักสดหลังการเก็บรักษา 72.04 กรัม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 22, ภาคผนวก ค. ตาราง ค. 21)

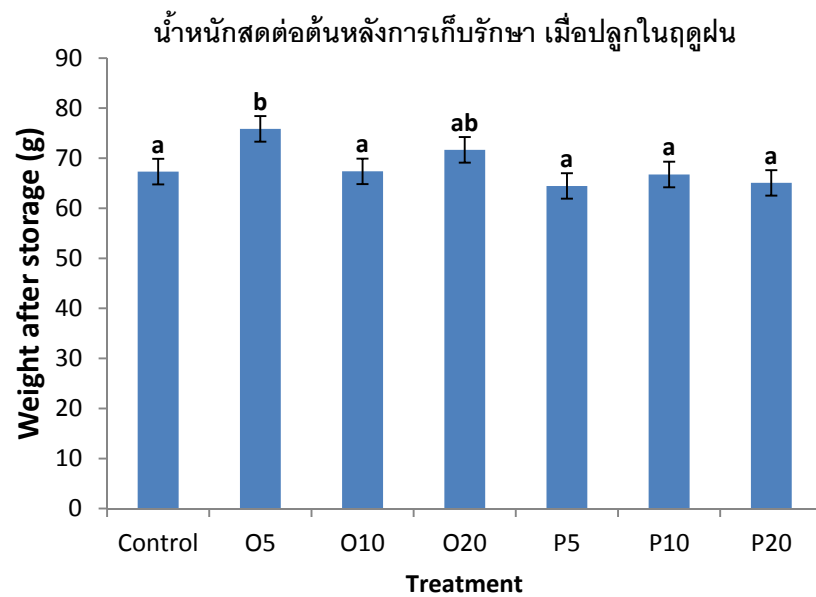


ภาพที่ 20 แสดงน้ำหนักสดต่อต้นหลังการเก็บรักษาของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูหนาวช่วงวันที่ 14 ธันวาคม 2552 – 28 มกราคม 2553

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

O5, O10, O20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด oligomer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ

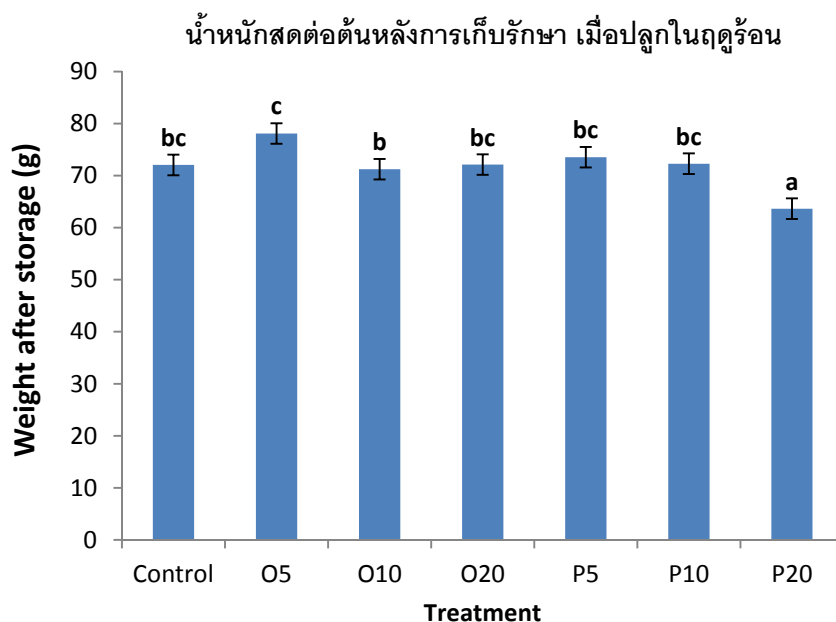
P5, P10, P20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด polymer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ



ภาพที่ 21 แสดงน้ำหนักสดต่อต้นหลังการเก็บรักษาของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูฝนช่วงวันที่ 1 มิถุนายน – 13 กรกฎาคม 2553

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

O5, O10, O20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด oligomer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ  
 P5, P10, P20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด polymer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ



ภาพที่ 22 แสดงน้ำหนักสดต่อต้นหลังการเก็บรักษาของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูร้อนช่วงวันที่ 28 มีนาคม – 5 พฤษภาคม 2554

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือแท่งกราฟที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

O5, O10, O20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด oligomer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ

P5, P10, P20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด polymer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ

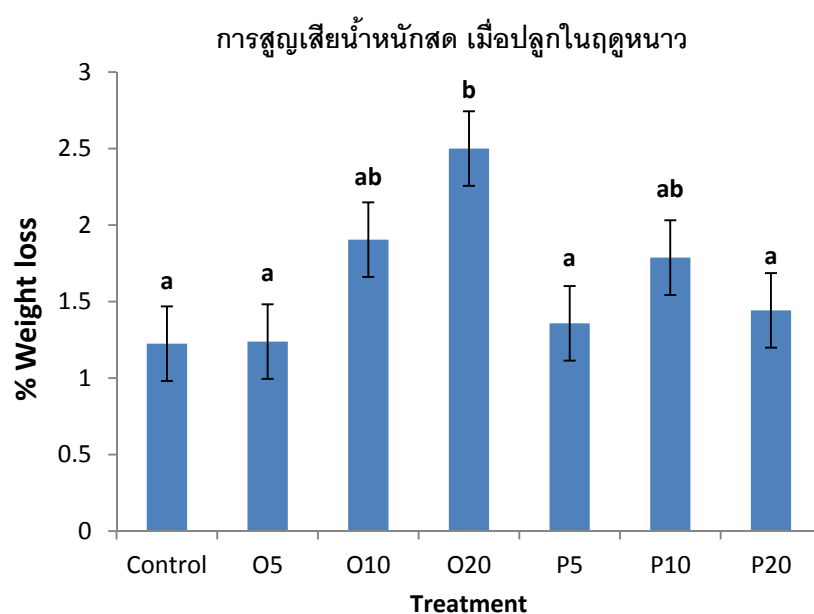
## 2.2 การสูญเสียน้ำหนักสด

จากการคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสด โดยใช้ค่าน้ำหนักสดก่อนการเก็บรักษาและค่าน้ำหนักสดหลังการเก็บรักษา พบว่าผักสลัดในชุดการทดลองควบคุมที่ปลูกในฤดูหนาวมีการสูญเสียน้ำหนักสดน้อยที่สุด โดยมีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสดน้อยที่สุด คือ 1.22% แต่ทั้งนี้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชุดการทดลองควบคุมและชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L และไคโทซานชนิด P80 ความเข้มข้น 5 และ 20 mg/L ในขณะที่ชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 20 mg/L มีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสดมากที่สุด คือ 2.5% (ภาพที่ 23, ภาคผนวก ค. ตาราง ค. 22)

ส่วนผักสลัดที่ปลูกในฤดูฝนพบว่า ทุกชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานในสารละลายธาตุอาหารมีผลทำให้ผักสลัดมีค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสดน้อยกว่าชุดการทดลองควบคุม อย่างไรก็ตามมีเพียงชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 20 mg/L เท่านั้น ที่มีค่า

เปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสดน้อยกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 24, ภาคผนวก ค. ตาราง ค. 23)

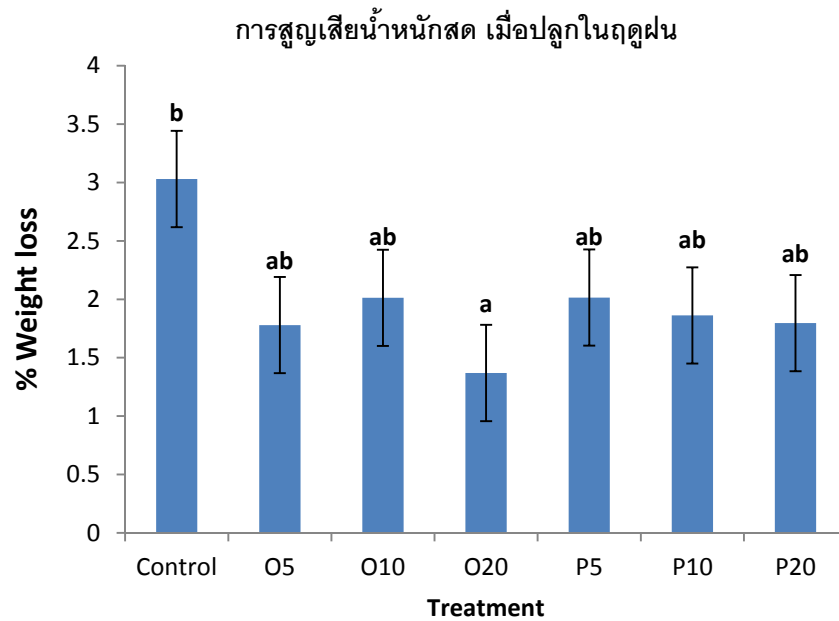
ส่วนผักสลัดที่ปลูกในฤดูร้อน ไม่พบความแตกต่างของค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยผักสลัดที่ได้รับโคโทซานชนิด P80 ความเข้มข้น 5 และ 20 mg/L มีแนวโน้มของค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสดน้อยกว่าชุดการทดลองควบคุม (ภาพที่ 25, ภาคผนวก ค. ตาราง ค.24)



ภาพที่ 23 แสดงการสูญเสียน้ำหนักสดหลังการเก็บรักษาของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูหนาวช่วงวันที่ 14 ธันวาคม 2552 - 28 มกราคม 2553

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือแท่งกราฟที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

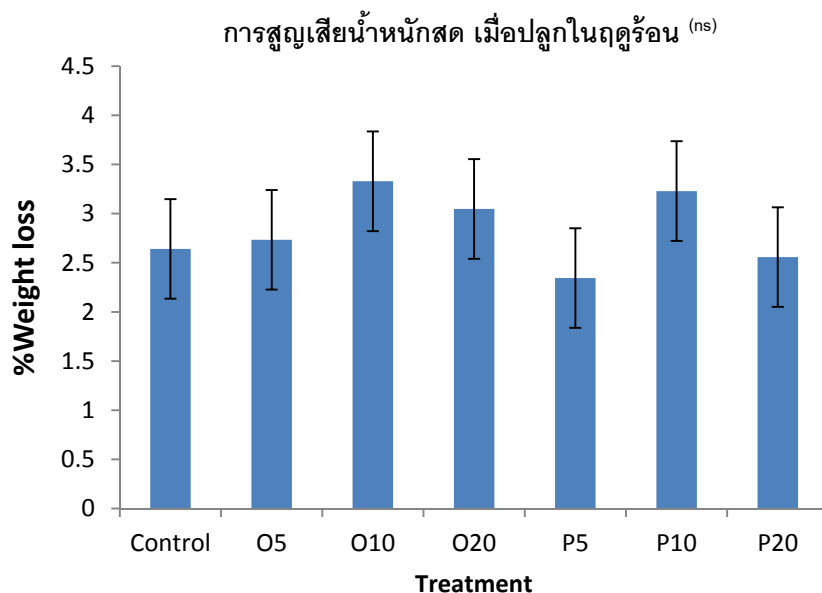
O5, O10, O20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้โคโทซานชนิด oligomer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ  
P5, P10, P20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้โคโทซานชนิด polymer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ



ภาพที่ 24 แสดงการสูญเสียน้ำหนักสดหลังการเก็บรักษาของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูฝนช่วงวันที่ 1 มิถุนายน – 13 กรกฎาคม 2553

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือแท่งกราฟที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

O5, O10, O20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด oligomer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ  
 P5, P10, P20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด polymer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ



ภาพที่ 25 แสดงการสูญเสียน้ำหนักสดหลังการเก็บรักษาของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูร้อนช่วงวันที่ 28 มีนาคม – 5 พฤษภาคม 25541

<sup>ns</sup> หมายถึงค่าเฉลี่ยในชุดการทดลองต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

O5, O10, O20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด oligomer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ

P5, P10, P20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด polymer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ

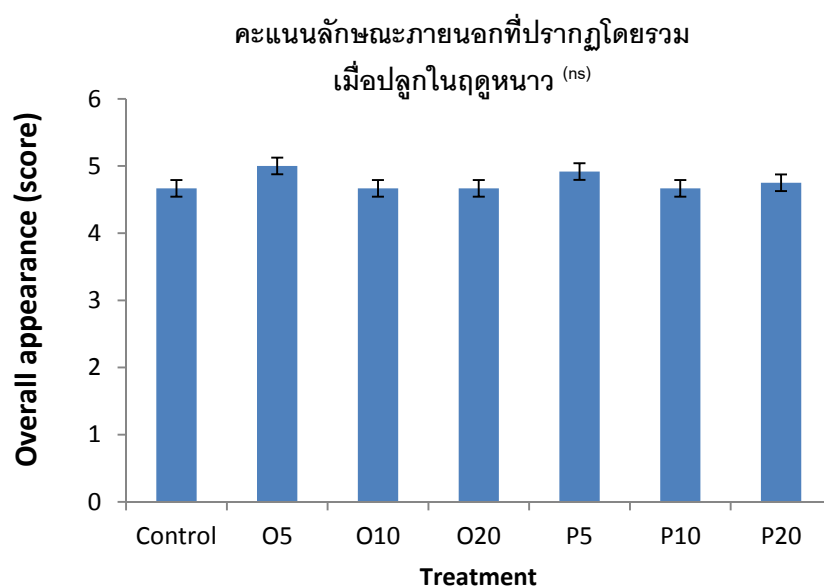
### 2.3 ลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวม

หลังจากซึมน้ำหนักสดต่อต้นของผักสลัดหลังการเก็บรักษาแล้ว นำผักสลัดมาให้คะแนน ลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวม โดยให้ตามเกณฑ์ในภาพที่ 26 พบว่าผักสลัดทุกชุดการทดลอง ที่ได้รับไคโทซานมีคะแนนลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมเท่ากับหรือมากกว่าชุดการทดลอง ควบคุมในทั้ง 3 ฤดูกาล ยกเว้นผักสลัดที่ได้รับไคโทซานชนิด P80 ความเข้มข้น 20 mg/L ที่ปลูกใน ฤดูร้อน ที่มีคะแนนลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมน้อยกว่าชุดการทดลองควบคุม แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ในฤดูหนาวไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของคะแนนลักษณะภายนอกที่ ปรากฏโดยรวมแต่อย่างใด โดยที่ชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L ผัก สลัดมีคะแนนลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมมากที่สุดคือ 5 คะแนน (ภาพที่ 26, ภาคผนวก ค. ตาราง ค.25)



ในฤดูฝนชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 20 mg/L ผักสลัดมีคะแนนลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมสูงที่สุด คือ 4.33 คะแนน และมากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 27, ภาคผนวก ค. ตาราง ค.26) ส่วนในฤดูร้อนชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีคะแนนลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมมากที่สุด เช่นเดียวกับในฤดูหนาวแต่มีคะแนนเฉลี่ย คือ 4.5 คะแนน ซึ่งมากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 28, ภาคผนวก ค. ตาราง ค. 27)

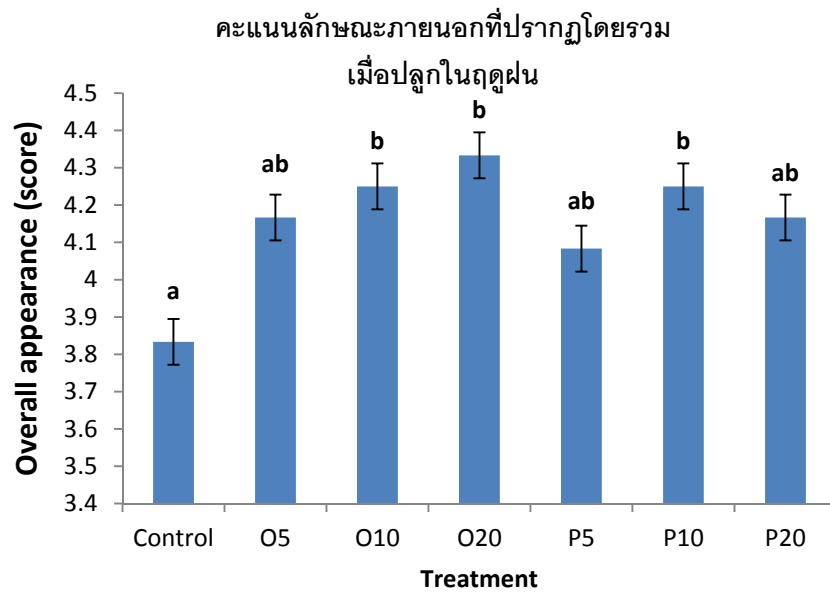


ภาพที่ 26 แสดงคะแนนลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูหนาวช่วงวันที่ 14 ธันวาคม 2552 – 28 มกราคม 2553

<sup>ns</sup> หมายถึงค่าเฉลี่ยในชุดการทดลองต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

O5, O10, O20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด oligomer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ

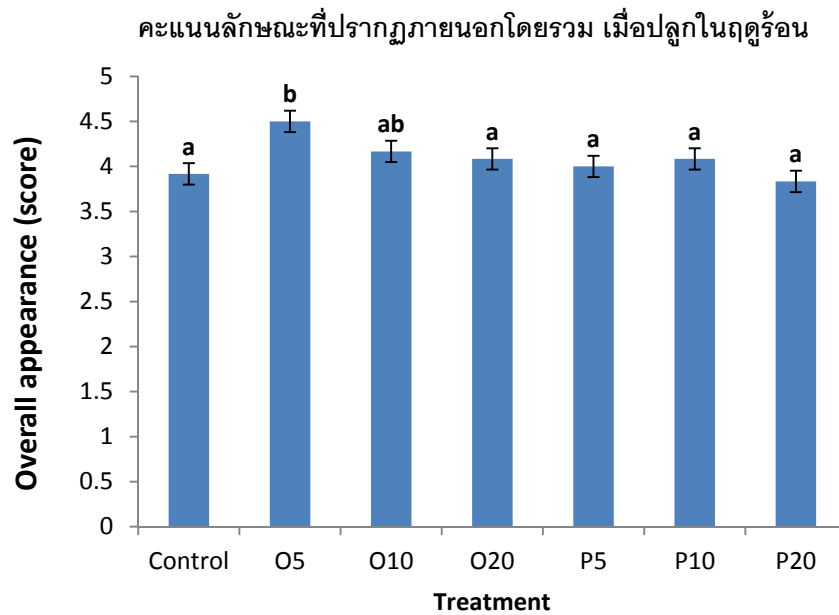
P5, P10, P20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด polymer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ



ภาพที่ 27 แสดงคะแนนลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลุกในฤดูฝนช่วงวันที่ 1 มิถุนายน - 13 กรกฎาคม 2553

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือแท่งกราฟที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

O5, O10, O20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้โคโทซานชนิด oligomer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ  
P5, P10, P20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้โคโทซานชนิด polymer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ



ภาพที่ 28 แสดงคะแนนลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีกา  
ให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลุกในตู้ร้อนช่วงวันที่ 28  
มีนาคม 2552 – 5 พฤษภาคม 2554

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือแท่งกราฟที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

O5, O10, O20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้โคโทซานชนิด oligomer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ

P5, P10, P20 หมายถึง ชุดการทดลองที่มีการให้โคโทซานชนิด polymer ที่ความเข้มข้น 5 10 และ 20 mg/L ตามลำดับ



ภาพที่ 29 แสดงคะแนนลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวม (overall visual quality score) ของผักสลัดตามเกณฑ์ของ Kader และคณะ (1973)

- ภาพย่อยที่ 5    5 คะแนน สำหรับผักสลัดที่มีลักษณะเหมือนเพิ่งเก็บเกี่ยว
- ภาพย่อยที่ 4    4 คะแนน สำหรับผักสลัดที่แสดงอาการเหี่ยวบริเวณใบชั้นนอกสุด
- ภาพย่อยที่ 3    3 คะแนน สำหรับผักสลัดที่มีแสดงอาการเหี่ยวบริเวณใบชั้นนอกสุด และมีสีน้ำตาลเกิดบริเวณขอบใบ
- ภาพย่อยที่ 2    2 คะแนน สำหรับผักสลัดที่แสดงอาการเหี่ยวบริเวณใบชั้นนอกสุด และมีสีน้ำตาลบริเวณใบมากขึ้น หรือแสดงอาการเหี่ยวที่ใบชั้นใน
- ภาพย่อยที่ 1    1 คะแนน สำหรับผักสลัดที่แสดงอาการเหี่ยวทั้งต้น

### 3. ศึกษาผลของโคโทซานต่อปริมาณผลผลิต และลักษณะคุณภาพของผลผลิตผักสลัดพันธุ์ Butterhead เมื่อปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกส์แบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร

จากผลการทดลองในข้อที่ 1 เลือกชุดการทดลองที่ดีที่สุดคือ ชุดการทดลองที่ให้โคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L ในสารละลายธาตุอาหาร มาปลูกเลี้ยงเปรียบเทียบกับชุดการทดลองควบคุมเป็นเวลา 45 วัน โดยทำการทดลองในฤดูต่างๆ 3 ฤดูกาล คือ ฤดูหนาว (วันที่ 25 มกราคม - 12 มีนาคม 2554) ฤดูร้อน (วันที่ 7 เมษายน - 26 พฤษภาคม 2554) และฤดูฝน (วันที่ 27 มิถุนายน - 15 สิงหาคม 2554) ซึ่งมีความแตกต่างของช่วงอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศดังนี้

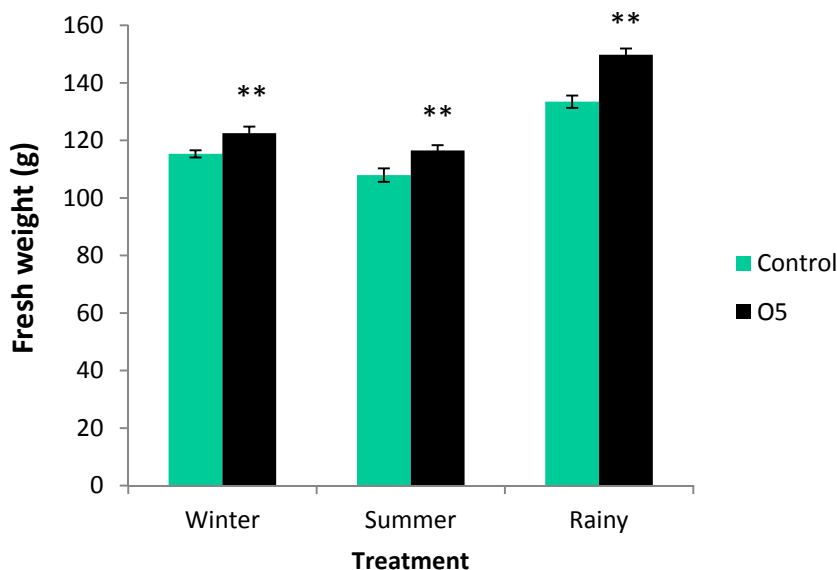
**ฤดูหนาว** มีช่วงอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 26-33°C ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ 71% และมีความเข้มแสง 167,896.80 Lux

**ฤดูฝน** มีช่วงอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 26-35°C ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ 69% และมีความเข้มแสง 158,683.60 Lux

**ฤดูร้อน** มีช่วงอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 29-35°C ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ 66% และมีความเข้มแสง 94,834.44 Lux

#### 3.1 น้ำหนักสดต่อต้น

พบว่าผักสลัดที่ได้รับโคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีน้ำหนักสดต่อต้นมากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทั้ง 3 ฤดูกาล โดยในฤดูหนาว ฤดูร้อน และฤดูฝน มีน้ำหนักสดต่อต้น สูงเป็น 1.06 1.08 และ 1.12 เท่าของชุดการทดลองควบคุม ตามลำดับ (ภาพที่ 30, ภาคผนวก ค. ตาราง ค. 28-30)

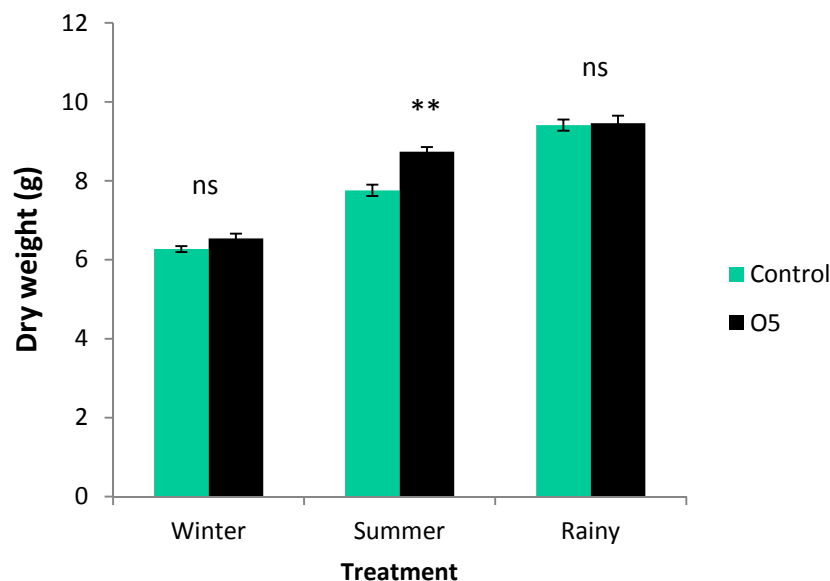


ภาพที่ 30 แสดงน้ำหนักสดต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานลงในสารละลายธาตุอาหารเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ให้โคโทซาน และปลูกทั้ง 3 ช่วงฤดู

\*\* หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

### 3.2 น้ำหนักแห้งต่อต้น

พบว่าชุดการทดลองที่ให้โคโทซานชนิด O80 ที่ความเข้มข้น 5 mg/L มีน้ำหนักแห้งมากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อให้โคโทซานในสารละลายธาตุอาหารในฤดูร้อน ส่วนผักสลัดที่ปลูกในฤดูหนาวและฤดูฝนมีแนวโน้มของน้ำหนักแห้งที่เพิ่มสูงขึ้นเมื่อให้โคโทซานในสารละลายธาตุอาหาร โดยในฤดูหนาว ฤดูร้อน และฤดูฝน มีน้ำหนักแห้งต่อต้น สูงเป็น 1.04 1.13 และ 1.01 เท่าของชุดการทดลองควบคุม ตามลำดับ (ภาพที่ 31, ภาคผนวก ค. ตาราง ค. 31-33)



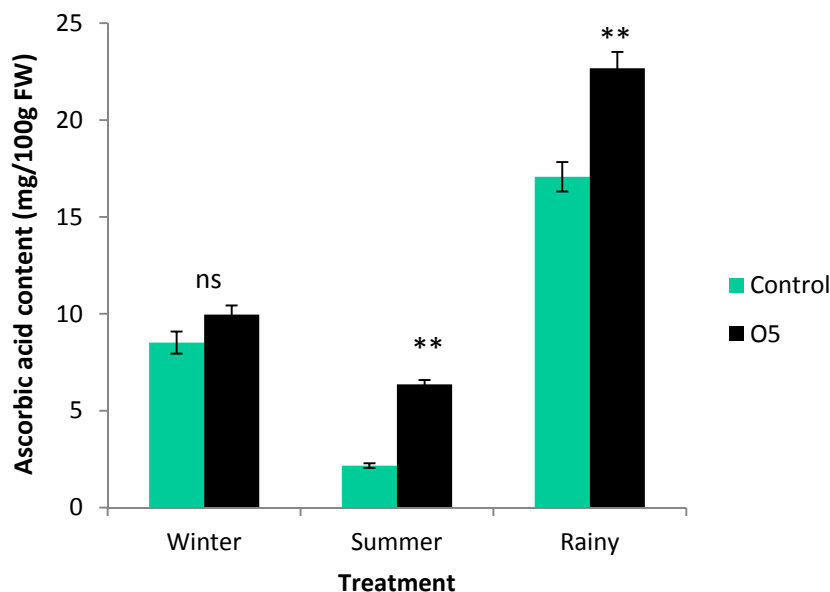
ภาพที่ 31 แสดงน้ำหนักแห้งต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานลงในสารละลายธาตุอาหารเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ให้ไคโทซาน และปลูกทั้ง 3 ช่วงฤดู

\*\* หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

<sup>ns</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยในชุดการทดลองต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

### 2.3 ปริมาณ ascorbic acid

จากการทดลองพบว่า ผักสลัดที่ได้รับไคโทซานมีแนวโน้มของปริมาณ ascorbic acid เพิ่มขึ้นมากกว่าชุดการทดลองควบคุม โดยในฤดูร้อนและฤดูฝนพบว่า ชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ที่ความเข้มข้น 5 mg/L มีปริมาณ ascorbic acid มากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในฤดูหนาว ฤดูร้อน และฤดูฝน ผักสลัดที่ได้รับไคโทซานมีปริมาณ ascorbic acid สูงกว่าชุดการทดลองควบคุมเป็น 1.17 2.94 และ 1.33 เท่า ตามลำดับ (ภาพที่ 32, ภาคผนวก ค. ตาราง ค. 34-36)



ภาพที่ 32 แสดงปริมาณ ascorbic acid ของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้และไม่ให้ไคโทซานลงในสารละลายธาตุอาหาร และปลูกทั้ง 3 ช่วงฤดู

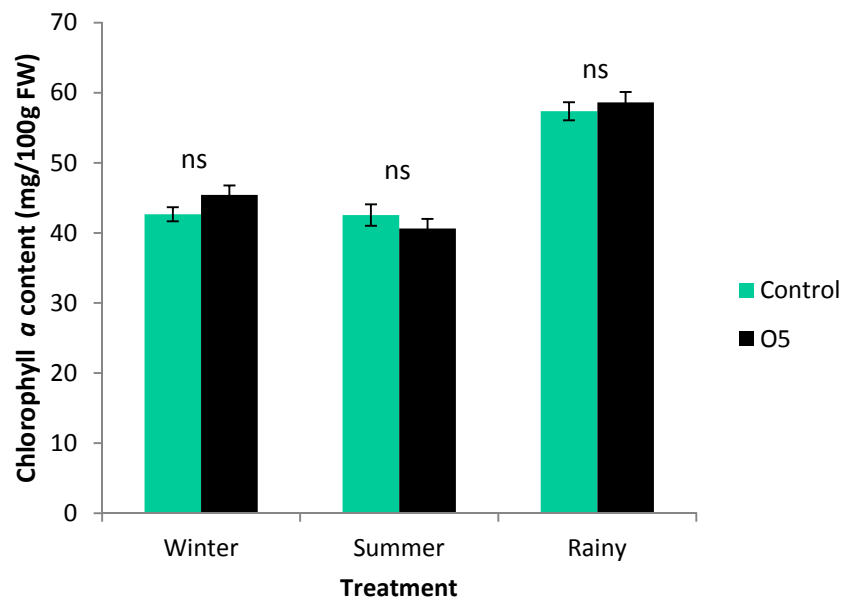
\*\* หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

<sup>ns</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยในชุดการทดลองต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

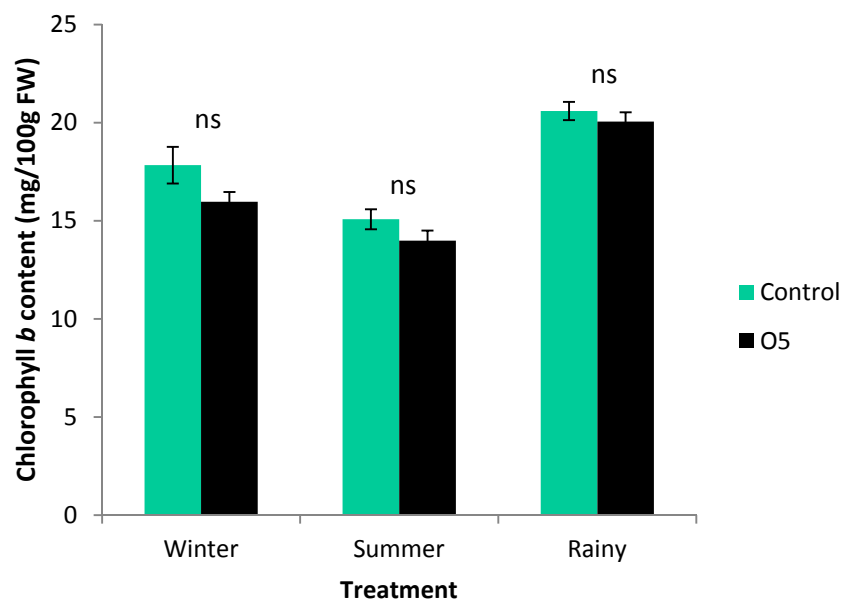
## 2.4 ปริมาณสารสี (photosynthetic pigment)

สารสีที่ได้ศึกษาในการทดลองนี้ คือ คลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และแคโรทีนอยด์ ซึ่งไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในส่วนของปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี โดยชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L ในสารละลายธาตุอาหารมีปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ใกล้เคียงกับชุดการทดลองควบคุม (ภาพที่ 33, ภาคผนวก ค. ตาราง ค. 37-39) แต่มีแนวโน้มของคลอโรฟิลล์ บี น้อยกว่าชุดการทดลองควบคุม (ภาพที่ 34, ภาคผนวก ค. ตาราง ค. 40-42) ส่วนผลการทดลองของปริมาณแคโรทีนอยด์พบว่า ในฤดูหนาวชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานมีปริมาณแคโรทีนอยด์น้อยกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ในฤดูฝนชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานมีปริมาณแคโรทีนอยด์มากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในฤดูร้อนชุดการทดลองที่ได้รับไคโทซานนั้นมีแนวโน้มของปริมาณแคโรทีนอยด์มากกว่าชุดการทดลองควบคุม (ภาพที่ 35, ภาคผนวก ค. ตาราง ค. 43-45)



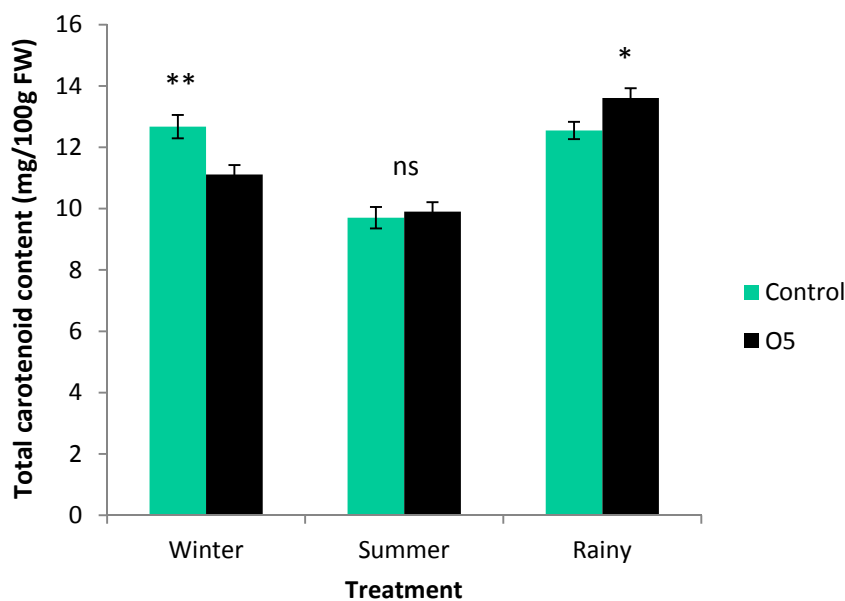


ภาพที่ 33 แสดงปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ ต่อดัชนีของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้และไม่ให้ไคโทซานลงในสารละลายธาตุอาหาร และปลูกทั้ง 3 ช่วงฤดู



ภาพที่ 34 แสดงปริมาณคลอโรฟิลล์ บี ต่อดัชนีของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้และไม่ให้ไคโทซานลงในสารละลายธาตุอาหาร และปลูกทั้ง 3 ช่วงฤดู

<sup>ns</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยในชุดการทดลองต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ



ภาพที่ 35 แสดงปริมาณแคโรทีนอยด์ต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้และไม่ให้ไคโทซานลงในสารละลายธาตุอาหาร และปลูกทั้ง 3 ช่วงฤดู

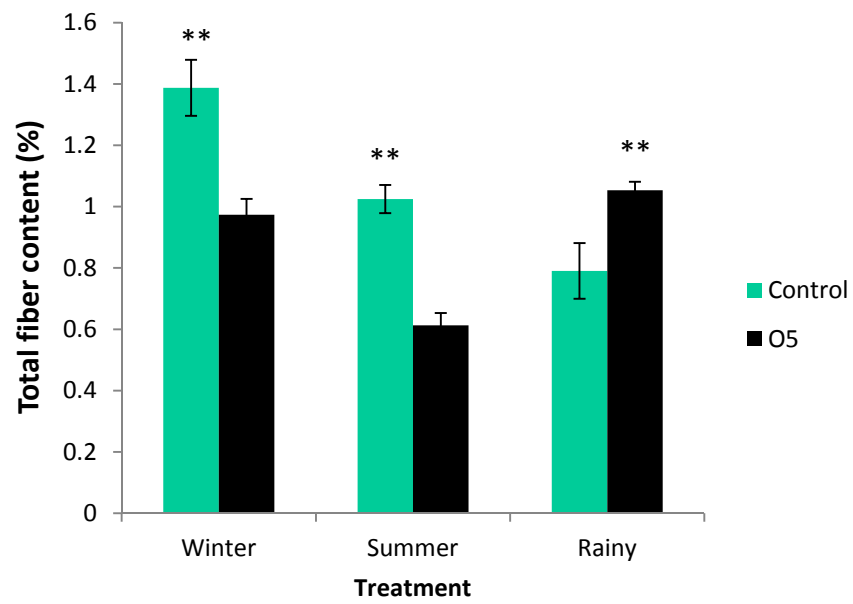
\* หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\*\* หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

<sup>ns</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยในชุดการทดลองต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

## 2.5 ปริมาณเส้นใย

จากการทดลองพบว่า ในฤดูหนาวและฤดูร้อนชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีผลทำให้ผักสลัดมีปริมาณเส้นใยน้อยกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ในฤดูฝนชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานมีปริมาณเส้นใยมากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาพที่ 36, ภาคผนวก ค. ตาราง ค.46-48)



ภาพที่ 36 แสดงปริมาณเส้นใยต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้และไม่ให้โคโทซานลงในสารละลายธาตุอาหาร และปลูกทั้ง 3 ช่วงฤดู

\*หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

\*\*หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

#### 4. ศึกษารูปแบบการแสดงออกของยีน *ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcL)* ในผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการตอบสนองต่อโคโรนา

จากการนำ sequence ของยีน *ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcL)* จากพืชหลายชนิดมา alignment หาบริเวณ conserved sequence นำมาออกแบบ primer เพื่อใช้ในการ amplify ชิ้นส่วนของยีน *rbcL* ในผักสลัดพันธุ์ Butterhead (ภาพที่ 37, ภาคผนวก ข.) และศึกษารูปแบบการแสดงออกของยีน *rbcL* ในผักสลัดพันธุ์ Butterhead หลังการให้โคโรนาชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L เป็นเวลา 1 และ 2 วัน พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในส่วนของระดับการแสดงออกของยีน *rbcL* ในผักสลัดพันธุ์ Butterhead (ภาพที่ 38)

```

gi |18035 |emb |Z11973.1 |
752 ATCAAGGGGCATTACTTGAATGCGACTGCAGGTACATGCGAAGAAATGAT
LOC_Os10g21268.1 ATTAAGGGGCATTACTTGAATGCGACTGCAGGTACATGCGAAGAAATGAT
773
gi |293027 |gb |L14073.1 |LAUDNA ATCAAAGGGCATTACTTGAATGCTACTGCGGGTACATGCGAAGAAATGAT
752
gi |343506 |gb |M16867.1 |TOBCPRUB ATCAAAGGGCATTACTTAAATGCTACTGCGAGGTACATGCGAAGAAATGAT
1100
** * * * * *

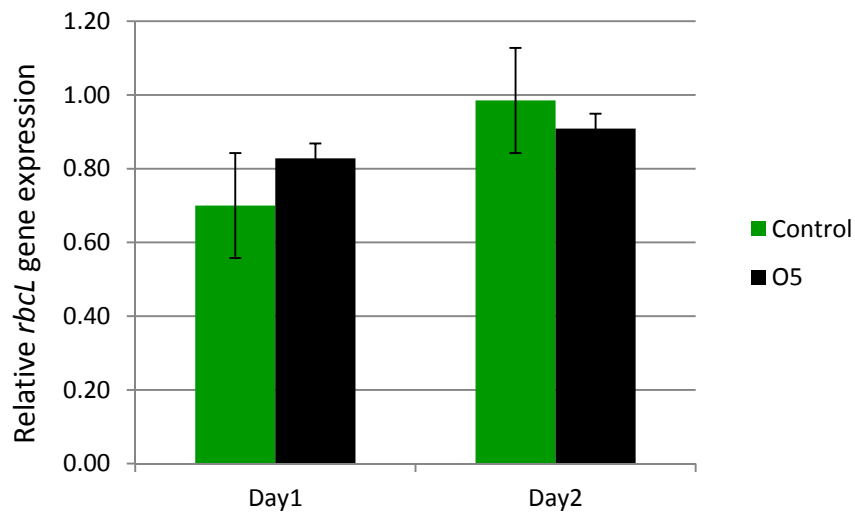
gi |18035 |emb |Z11973.1 |
802 TAAGAGAGCTGTATTTGCAAGGGAATTAGGGGTTCTATTGTAATGCATG
LOC_Os10g21268.1 TAAAAGAGCTGTATTTGCGAGGGAATTAGGGGTTCTATTGTAATGCATG
823
gi |293027 |gb |L14073.1 |LAUDNA GAAAAGGGCTATATTTGCCAGAGAATTGGGAGTTCTATCGTAATGCATG
802
gi |343506 |gb |M16867.1 |TOBCPRUB CAAAAGAGCTGTATTTGCTAGAGAATTGGGTGTTCCGATCGTAATGCATG
1150
** * * * * *

gi |18035 |emb |Z11973.1 |
852 ACTACTTAACAGGAGGATTACCCGCAAATACTACTTTGTCTCATTTATTGCG
LOC_Os10g21268.1 ACTACTTAACCGGGGGATTACCCGCAAATACTAGTTTGGCTCATTTATTGCG
873
gi |293027 |gb |L14073.1 |LAUDNA ACTACCTAACAGGGGGATTCACTGCAAATACTAGCTTGGCTCATTTATTGCG
852
gi |343506 |gb |M16867.1 |TOBCPRUB ACTACTTAACCGGGGGATTACCCGCAAATACTAGCTTGGCTCATTTATTGCG
1200
***** * * * * *

gi |18035 |emb |Z11973.1 |
902 CGCGACAACGGCC TACTTCTTCACATTCACCGAGCAATGCATGCAGTTAT
LOC_Os10g21268.1 CGCGACAACGGCC TACTTCTTCACATTCACCGAGCAATGCATGCAGTTAT
923
gi |293027 |gb |L14073.1 |LAUDNA CGAGATAATGGTCTACTTCTTCACATCCACCGCGCAATGCATGCAGTTAT
902
gi |343506 |gb |M16867.1 |TOBCPRUB CGAGATAATGGTCTACTTCTTCACACCCACCGTGAATGCATGCAGTTAT
1250
** * * * * *

```

ภาพที่ 37 แสดงบริเวณ conserved sequence ของยีน *ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcL)* และบริเวณที่ใช้ออกแบบ primer



ภาพที่ 38 แสดงระดับการแสดงออกของยีน *ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcL)* ในผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีต่อโคโทซานเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ให้โคโทซาน

## บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง

### 1. ผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของไคโทซานต่อการเจริญเติบโตของผักสลัดพันธุ์ Butterhead

จากผลการทดลองพบว่าผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L ในสารละลายธาตุอาหาร มีน้ำหนักสดสูงที่สุด และสูงกว่าชุดการทดลองควบคุมที่ไม่ได้รับไคโทซานอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในฤดูหนาว ฤดูฝน และฤดูร้อน มีน้ำหนักสดมากกว่าชุดการทดลองควบคุม 17.91% 11.05% และ 8.46% ตามลำดับ (ภาคผนวก ค. ตาราง ค.1-3) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Cho และคณะ (2008) ที่พบว่าการนำเมล็ดทานตะวันไปแช่ไคโทซานความเข้มข้น 0.5% เป็นเวลา 18 ชั่วโมงก่อนการเพาะเมล็ด มีผลทำให้ต้นกล้าทานตะวันมีน้ำหนักสดเพิ่มมากขึ้น 12.9% จากชุดการทดลองควบคุมที่แช่เมล็ดทานตะวันในน้ำกลั่น เช่นเดียวกับการศึกษาของ No และคณะ (2006) ที่พบว่าการนำเมล็ดถั่วเหลืองไปแช่ไคโทซานเป็นเวลา 8 ชั่วโมง มีผลทำให้ต้นกล้าถั่วเหลืองมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้น 13% เมื่อเทียบกับชุดการทดลองควบคุม นอกจากนี้ยังมีการศึกษาในคะแนพบว่าคะแนที่ได้รับไคโทซานโดยการฉีดพ่นทุกสัปดาห์เป็นเวลา 2 เดือน มีผลทำให้คะแนมีน้ำหนักสดต่อต้นสูงกว่าคะแนที่ไม่ได้รับไคโทซาน (สุวลี จันทร์กระจ่าง และคณะ, 2546)

จากการนับจำนวนใบของผักสลัดพบว่าผักสลัดที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ทุกความเข้มข้น มีจำนวนใบต่อต้นมากกว่าชุดการทดลองควบคุม โดยในฤดูหนาวผักสลัดที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 10 และ 20 mg/L มีจำนวนใบต่อต้นสูงที่สุด และทุกชุดการทดลองที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 มีผลทำให้ผักสลัดมีจำนวนใบต่อต้นสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีแนวโน้มของจำนวนใบมากกว่าชุดการทดลองที่ได้รับไคโทซานชนิด P80 (ภาคผนวก ค. ตาราง ค.4) ส่วนในฤดูร้อนและฤดูฝนพบว่าชุด การทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L เป็นชุดการทดลองเดียวที่มีจำนวนใบต่อต้นสูงกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และมีจำนวนใบสูงที่สุด (ภาคผนวก ค. ตาราง ค.5-6) และจากการวัดความกว้างและความยาวใบของผักสลัด พบว่าผักสลัดในทุกชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานในสารละลายธาตุอาหารมีความกว้างใบมากกว่าผักสลัดที่ไม่ได้รับไคโทซาน และผักสลัดที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 10 mg/L มีความกว้างใบมากที่สุดเมื่อปลูกผักสลัดในฤดูหนาว แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในส่วนของความกว้างใบเมื่อปลูกผักสลัดในฤดูฝนและฤดูร้อน (ภาคผนวก ค. ตาราง ค.7-9) จากผลการทดลองพบว่าผักสลัดที่ปลูกในฤดูหนาวและ

ได้รับไคโทซานชนิด P80 ความเข้มข้น 10 mg/L มีความยาวใบมากที่สุด และมากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนผักสลัดที่ปลูกในฤดูฝนที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีความยาวใบสูงที่สุด และรองลงมา คือ ชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด P80 ความเข้มข้น 20 mg/L ซึ่งทั้งสองชุดการทดลองนี้มีความยาวใบมากกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับผักสลัดที่ปลูกในฤดูร้อนที่ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีความยาวใบมากที่สุด (ภาคผนวก ค. ตาราง ค.10-12) ผลการทดลองที่กล่าวมานี้มีผลสอดคล้องกับการศึกษาของซนัสพร เกลี้ยงแก้ว และคณะ (2546) ที่นำกล้วยไม้รองเท้านารีลูกผสมระหว่าง *Paphiopedilum bellatulum* และ *P. anghong* ไปแช่ไคโทซานในระหว่างการย้ายปลูกร่วมกับการพ่นไคโทซานทางใบทุก ๆ 7 วัน เป็นเวลา 2 เดือน สามารถกระตุ้นให้กล้วยไม้สร้างใบใหม่ และมีขนาดใบที่ใหญ่และยาวขึ้น เมื่อเทียบกับกล้วยไม้ที่ไม่ได้รับไคโทซาน และจากการศึกษาในสตรอเบอรี่ พบว่าต้นสตรอเบอรี่ที่ได้รับการพ่นไคโทซานทางใบ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ หลังการย้ายปลูก มีผลทำให้ต้นสตรอเบอรี่มีจำนวนใบเพิ่มมากขึ้น และยังเพิ่มน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของใบอีกด้วย (Abdel-Mawgoud *et al.*, 2010)

หลังจากเก็บเกี่ยวผักสลัดในวันที่ 45 หลังการเพาะเมล็ด นำผักสลัดมาวัดเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่ม พบว่าผักสลัดที่ปลูกในฤดูหนาวและได้รับไคโทซานชนิด P80 ความเข้มข้น 10 mg/L มีเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่มของต้นผักสลัดมากที่สุด ส่วนผักสลัดที่ปลูกในฤดูฝนที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของ ทรงพุ่มมากที่สุด แต่ในฤดูร้อนไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของเส้นผ่านศูนย์กลาง หรือความกว้างของทรงพุ่ม เช่นเดียวกับการศึกษาในต้นพริก 6 สายพันธุ์ พบว่าต้นพริกทั้ง 6 สายพันธุ์ ที่ได้รับการพ่นไคโทซานความเข้มข้น 200 400 และ 600 mg/L เป็นเวลา 5 สัปดาห์ ทำให้ต้นพริกมีความกว้างของทรงพุ่ม เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้น ความกว้างและความยาวใบเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับต้นพริกที่ไม่ได้รับไคโทซาน (Duangpaeng *et al.*, 2010)

จากการนำผักสลัดไปอบที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 7 วันและบันทึกค่าน้ำหนักแห้ง พบว่าผักสลัดที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีน้ำหนักแห้งสูงที่สุด และมากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อปลูกในฤดูหนาวและฤดูฝน ส่วนในฤดูร้อนไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีผลทำให้น้ำหนักแห้งของผักสลัดมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น (ภาคผนวก ค. ตาราง ค.16-18) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าไคโทซานสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในข้าวและข้าวสาลีที่มีการให้ไคโทซานใน

สารละลายธาตุอาหาร พบว่าข้าวและข้าวสาลีที่ได้มีน้ำหนักรากและน้ำหนักแห้งสูงกว่าชุดการทดลองควบคุม (Tham *et al.*, 2001) และจากการทดลองของ Barka และคณะ (2004) พบว่าอุนที่เพาะเลี้ยงในหลอดทดลองที่ได้รับไคโทซานในรูปแบบไคโทเจลนั้น มีน้ำหนักรากและน้ำหนักแห้งของยอดและรากมากกว่าชุดการทดลองควบคุม

จากผลการทดลอง แสดงให้เห็นว่าไคโทซานสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของผักสลัดได้ อาจเนื่องมาจากไคโทซานสามารถเพิ่มอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืช และช่วยให้มีการดูดซึมน้ำและแร่ธาตุได้ดีขึ้น เช่นในการศึกษาของ Khan และคณะ (2002) พบว่าต้นถั่วเหลืองและข้าวโพดที่ได้รับไคโทซาน มีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงเพิ่มมากขึ้น และจากการศึกษาของ Farouk และ Amany (2012) พบว่าต้นถั่วพุ่มที่ได้รับไคโทซานโดยการพ่นทางใบ มีการสะสมธาตุไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) และโพแทสเซียม (K) เพิ่มมากขึ้นในส่วนของยอด ซึ่งธาตุไนโตรเจนและโพแทสเซียมอาจมีบทบาทสำคัญในการเพิ่มจำนวนคลอโรพลาสต์ต่อเซลล์ และเพิ่มการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ (Possingham, 1980) ส่วนฟอสฟอรัสนั้นเป็นธาตุที่จำเป็นในการสังเคราะห์และ translocation ของคาร์โบไฮเดรต และช่วยกระตุ้นการแบ่งเซลล์ของพืช (Nijjar, 1985)

การเจริญเติบโตของพืชที่เพิ่มมากขึ้นเมื่อได้รับไคโทซานนั้น อาจมาจากการกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคของพืชโดยไคโทซาน ซึ่งไคโทซานมีคุณสมบัติเป็น elicitor หรือโมเลกุลที่กระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคของพืชได้ ซึ่งกระบวนการป้องกันตัวเองของพืชก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกระบวนการต่างๆ ทางสรีรวิทยา เช่น เพิ่มการดูดซึมน้ำและไอออนต่างๆ เกิดการขยายขนาดของเซลล์และแบ่งเซลล์ รวมไปถึงกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์และการสังเคราะห์โปรตีน (Farouk *et al.*, 2008)

นอกจากนี้ มีรายงานว่าไคโทซานมีผลต่อพืชคล้ายฮอร์โมนพืช เช่น cytokinin และจากการศึกษาในถั่วเหลือง พบว่าเมล็ดถั่วเหลืองที่ได้รับไคโทซานมีระดับฮอร์โมน cytokinin ที่เพิ่มสูงขึ้น และอาหารสะสมในเมล็ดของถั่วเหลืองถูกเผาผลาญไปอย่างรวดเร็ว อีกทั้งเมล็ดถั่วเหลืองมีค่าเปอร์เซ็นต์การงอกเพิ่มขึ้นและต้นกล้ามีการเติบโตดีกว่าเมล็ดถั่วเหลืองที่ไม่ได้รับไคโทซาน (Thobunluepop, 2008) ซึ่งฮอร์โมน cytokinin เป็นฮอร์โมนที่กระตุ้นการแบ่งเซลล์ ขยายขนาดของเซลล์ การ mobilization ของสารอาหารภายในพืช รวมถึงกระตุ้นการพัฒนาของคลอโรพลาสต์และการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ (Taize and Zeiger, 2006) จากที่กล่าวมา เป็นไปได้ว่าไคโทซานสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชได้จากการเพิ่มระดับปริมาณฮอร์โมน cytokinin ภายในพืช

เมื่อศึกษาผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของไคโทซานต่อการเจริญเติบโตของผักสลัดพันธุ์ Butterhead จะเห็นได้ว่าชุดการทดลองที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของผักสลัด



คือ ชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L ซึ่งสามารถทำให้ผักสลัดมีน้ำหนักสด จำนวนใบ ความยาวใบ และน้ำหนักแห้ง มากกว่าชุดการทดลองควบคุมที่ไม่มีการให้ไคโทซาน และยังมีแนวโน้มเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่มได้อีกด้วย

จากผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่าชนิดและความเข้มข้นของไคโทซานมีผลต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักสลัด โดยไคโทซานชนิด oligomer มีแนวโน้มส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักสลัดได้ดีกว่าไคโทซานชนิด polymer เช่นเดียวกับการทดลองของ El-Sawy และคณะ (2010) ที่พบว่าต้น faba bean ที่ได้รับไคโทซานที่ผ่านการฉายรังสี ซึ่งทำให้มีขนาดของพอลิเมอร์เล็กลง มีผลทำให้ความสูงต้น น้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และจำนวนผักต่อต้นสูงกว่าชุดการทดลองควบคุมและชุดการทดลองที่ได้รับไคโทซานที่ไม่ผ่านการฉายรังสี และจากการศึกษาในกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* และยังพบอีกว่าในกล้วยไม้สกุลดังกล่าวที่ได้รับไคโทซานขนาดโมเลกุล 1 kDa มีการพัฒนาของ protocorm-like body ดีกว่ากล้วยไม้ที่ได้รับไคโทซานขนาดโมเลกุล 10 และ 100 kDa (Nge *et al.*, 2006)

จากการศึกษาของ Kuku และคณะ (2006) พบว่าไคทินสามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันโรคของพืชได้ โดยผ่านการจับกับ receptor ของไคทิน คือ oligochitin-binding protein (CEBiP) ซึ่งพบที่บริเวณ plasma membrane ของเซลล์ชีว และส่งสัญญาณต่อไปภายในเซลล์พืช อย่างไรก็ตามพบว่า receptor ของไคทินตัวนี้ ไม่มีบริเวณที่สามารถจับกับโมเลกุลของไคโทซานได้ จากการทดลองดังกล่าว คาดว่าไคโทซานสามารถส่งสัญญาณไปยังภายในเซลล์พืช และส่งผลต่อการเจริญเติบโตของพืชได้ในลักษณะเดียวกับไคทิน คือ การจับกับ receptor ที่จำเพาะกับโมเลกุลของไคโทซาน ดังนั้นขนาดของพอลิเมอร์จึงมีผลต่อการส่งสัญญาณของไคโทซานไปยังภายในเซลล์ของพืช เนื่องจาก receptor จะจับกับ substrate ที่มีขนาดจำเพาะ ขนาดของโมเลกุลจึงมีผลต่อการจับกันของโมเลกุลไคโทซานและ receptor ซึ่งไคโทซานชนิด oligomer มีขนาดของโมเลกุลแตกต่างจากไคโทซานชนิด polymer โดยไคโทซานชนิด oligomer มีขนาดโมเลกุลที่เล็กกว่าไคโทซานชนิด polymer ซึ่งขึ้นกับจำนวน monomer ที่มาต่อกันในโมเลกุล ดังนั้น ไคโทซานที่มีขนาดพอลิเมอร์ต่างกันจึงให้ผลต่อการเจริญเติบโตของพืชต่างกัน

จากการศึกษาความเข้มข้นของไคโทซานที่มีต่อการเจริญเติบโตของผักสลัดพันธุ์ Butterhead พบว่าผักสลัดที่ได้รับไคโทซาน O80 ความเข้มข้นต่ำกว่ามีแนวโน้มของการเจริญเติบโตดีกว่าผักสลัดที่ได้รับไคโทซาน O80 ความเข้มข้นสูง แต่ในขณะเดียวกันผักสลัดที่ได้รับไคโทซาน P80 ความเข้มข้นสูงกว่ามีแนวโน้มของการเจริญเติบโตที่ดีกว่าสลัดที่ได้รับไคโทซาน P80 ความเข้มข้นต่ำ ซึ่งเป็นไปในทางเดียวกับงานวิจัยของ Limpanavech และคณะ (2004) ใน

กล้วยไม้สกุล *Dendrobium* พบว่าในสัปดาห์ที่ 48 ของการทดลองกล้วยไม้ที่ได้รับไคโทซาน O80 ความเข้มข้น 50 mg/L มีน้ำหนักสดต้นสูงกว่ากล้วยไม้ที่ได้รับไคโทซาน O80 ความเข้มข้น 100 mg/L และกล้วยไม้ที่ได้รับไคโทซาน P80 ความเข้มข้น 100 mg/L มีน้ำหนักสดต้นสูงกว่ากล้วยไม้ที่ได้รับไคโทซาน P80 ความเข้มข้น 50 mg/L และจากการเลี้ยงมันฝรั่งในหลอดทดลอง พบว่ามันฝรั่งที่ได้รับสารละลายไคโทซานความเข้มข้น 5 และ 15 mg/L มีผลทำให้มันฝรั่งมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของรากสูงกว่าชุดการทดลองควบคุมที่ไม่ได้รับไคโทซาน แต่มันฝรั่งที่ได้รับไคโทซานความเข้มข้น 500 mg/L มีน้ำหนักสดรากลดลงจากชุดการทดลองควบคุม (Asghar-Zakaria *et al.*, 2009) จากผลการทดลองดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของไคโทซานมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งจะมีความเข้มข้นช่วงหนึ่งที่มีความเหมาะสมต่อพืชแต่ละชนิด หากเลยช่วงความเข้มข้นดังกล่าว ความเข้มข้นของไคโทซานที่มากเกินไปอาจส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตของพืชได้

นอกจากขนาดของพอลิเมอร์และความเข้มข้นของไคโทซานที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของผักสลัดแล้ว ฤดูกาลก็เป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของผักสลัด เนื่องจากแต่ละฤดูมีช่วงของอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ และความเข้มแสงแตกต่างกันไป ซึ่งอุณหภูมิ ความชื้น และแสงล้วนแต่เป็นปัจจัยสำคัญในการเจริญเติบโตของพืช และในการทดลองนี้ พบว่าฤดูกาลยังส่งผลต่อการให้ไคโทซานแก่ผักสลัดด้วย ซึ่งเห็นได้จากผลการทดลองที่มีความแตกต่างกันไปในแต่ละฤดูกาล

## 2. ผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของไคโทซาน ต่อคุณภาพของผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวของผักสลัดพันธุ์ Butterhead

จากการชั่งน้ำหนักสดหลังการเก็บรักษาของผักสลัดและคำนวณออกมาในรูปของค่าเปอร์เซ็นต์การสูญเสียน้ำหนักสดในทั้ง 3 ฤดูกาล แสดงให้เห็นว่าชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L ในสารละลายธาตุอาหาร สามารถรักษาน้ำหนักสดของผักสลัดได้ดีที่สุด เนื่องจากผักสลัดมีการสูญเสียน้ำหนักสดน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิดและความเข้มข้นต่างๆ ในสารละลายธาตุอาหาร ถึงแม้จะมีการสูญเสียน้ำหนักสดน้อยกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อปลูกในฤดูฝนเท่านั้น ในขณะที่ชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 10 mg/L มีการสูญเสียน้ำหนักสดมากที่สุด (ภาคผนวก ค. ตาราง ค19-24)

สำหรับลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมพบว่า ผักสลัดที่ปลูกในฤดูหนาวและได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีคะแนนลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมมากที่สุด แต่ทั้งนี้

ไม่แตกต่างจากชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาคผนวก ค. ตาราง ค.25) ส่วนผักสลัดที่ปลูกในฤดูฝนและได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 20 mg/L มีคะแนนลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมสูงที่สุดและสูงกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาคผนวก ค. ตาราง ค.26) ในฤดูร้อนชุดการทดลองที่มีการให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีผลทำให้ผักสลัดมีคะแนนลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมสูงที่สุดและสูงกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาคผนวก ค. ตาราง ค.27) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ เพทาย จรุงนารถ (2550) ที่นำหน่อไม้ฝรั่งจุ่มในไคโทซานความเข้มข้น 5 mg/L มีผลทำให้หน่อไม้ฝรั่งสามารถ รักษา น้ำหนักสดและลักษณะภายนอกของหน่อไม้ฝรั่งได้ และจากการศึกษาในถั่วเขียวพบว่าต้นกล้าถั่วเขียวที่ถูกลำไคโทซานความเข้มข้น 1,850 mg/L เป็นเวลา 20 นาที และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง มี browning score น้อยกว่าชุดการทดลองควบคุม (Booncho and Photchanachai, 2007)

ไคโทซานสามารถช่วยลดการสูญเสีย น้ำหนักสด และรักษาคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวได้ อาจเนื่องมาจากไคโทซานสามารถลดอัตราการคายน้ำได้ เช่นในการศึกษาของ McAinsh และคณะ (1996) พบว่าไคโทซานกระตุ้นการสร้าง  $H_2O_2$  เพิ่มมากขึ้นในเซลล์คุมของใบมะเขือเทศ ส่งผลทำให้ปริมาณแคลเซียมไอออนในเซลล์เพิ่มมากขึ้น ซึ่งทำให้แรงดันเต่งในเซลล์คุมลดลง ปากใบจึงปิดแคบลง เมื่อปากใบปิดแคบลงจึงลดอัตราการคายน้ำของพืชได้

### 3. ศึกษาผลของไคโทซานต่อปริมาณผลผลิต และลักษณะคุณภาพของผลผลิตผักสลัดพันธุ์ Butterhead เมื่อปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกส์แบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร

จากผลการทดลองในข้อที่ 1 เลือกชุดการทดลองที่ดีที่สุด คือ ชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L ในสารละลายธาตุอาหาร มาปลูกเลี้ยงเปรียบเทียบกับชุดการทดลองควบคุมเป็นเวลา 45 วัน พบว่าชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีผลทำให้ผักสลัดมีน้ำหนักสดสูงกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทั้ง 3 ฤดูกาล คือ ฤดูหนาว ฤดูร้อน และฤดูฝน โดยมีน้ำหนักสดเพิ่มขึ้น 6.24 7.92 และ 12.22% ตามลำดับ (ภาคผนวก ค. ตาราง ค.28-30)

สำหรับผลของน้ำหนักแห้งต่อต้นของผักสลัด พบว่าผักสลัดที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีน้ำหนักแห้งสูงกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อปลูกในฤดูร้อน ส่วนผักสลัดที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีแนวโน้มของน้ำหนักแห้งสูงกว่าชุดการทดลองควบคุม เมื่อปลูกในฤดูหนาวและฤดูฝน (ภาคผนวก ค. ตาราง ค.

31-33) จากผลของน้ำหนักรากและน้ำหนักแห้งที่ได้ซึ่งทำการทดลองในแปลงเกษตรกรที่ใช้ระบบไฮโดรพอนิกแบบ nutrient film technique (N.F.T.) ให้ผลสอดคล้องกันกับการปลูกในโรงเรือนตาข่ายที่ได้รับแสงธรรมชาติ ที่คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งใช้ระบบไฮโดรพอนิกแบบ water culture system

การทำงานของระบบไฮโดรพอนิกแบบ N.F.T. และ water culture system มีความแตกต่างกันตรงส่วนของการให้สารละลายธาตุอาหาร โดยระบบไฮโดรพอนิกแบบ N.F.T. จะมีการไหลของสารละลายธาตุอาหารเป็นแผ่นฟิล์มบางๆ ทำให้รากพืชสัมผัสกับอากาศมากขึ้น และสารละลายธาตุอาหารมีการหมุนเวียนตลอดเวลา ซึ่งแตกต่างจากแบบ water culture system ที่มีการให้สารละลายธาตุอาหาร โดยที่รากพืชจะแช่ในสารละลายธาตุอาหาร จากผลการทดลองพบว่าระบบไฮโดรพอนิกทั้ง 2 แบบ ให้ผลสอดคล้องกัน โดยชุดการทดลองที่ให้โคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตและผลผลิตของผักสลัดได้มากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อาจเนื่องมาจากการทำการทดลองโดยใช้ระบบไฮโดรพอนิกแบบ water culture system มีการให้อากาศในสารละลายธาตุอาหารเพิ่ม โดยการใช้สายยางขนาดเล็กต่อกับปั๊มอากาศ แล้วใส่ลงในภาชนะปลูกที่บรรจุสารละลายธาตุอาหาร อีกทั้งยังทำการเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารทุกสัปดาห์ ซึ่งสามารถชดเชยข้อด้อยของระบบไฮโดรพอนิกแบบ water culture system ที่ไม่มีการไหลเวียนของสารละลายธาตุอาหารตลอดเวลา ดังเช่นระบบไฮโดรพอนิกแบบ N.F.T. ซึ่งในการทดลองนี้ทำการเปลี่ยนสารละลายทุก 2 สัปดาห์

เมื่อศึกษาผลของโคโทซานต่อปริมาณ ascorbic acid พบว่าผักสลัดที่ได้รับโคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีผลทำให้ผักสลัดมีปริมาณ ascorbic acid มากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อปลูกในฤดูร้อนและฤดูฝน (ภาคผนวก ค. ตาราง ค.35-36) ส่วนผักสลัดที่ปลูกในฤดูหนาวและได้รับโคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีแนวโน้มของปริมาณ ascorbic acid มากกว่าชุดการทดลองควบคุม (ภาคผนวก ค. ตาราง ค.34) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ No และคณะ (2010) พบว่าการนำต้นกล้าถั่วเหลืองแช่โคโทซานเป็นเวลา 8 ชั่วโมง สามารถช่วยเพิ่มปริมาณ ascorbic acid ได้มากกว่าชุดการทดลองควบคุม 10% และจากการศึกษาในต้นกล้าบรอกโคลีพบว่าการพ่นโคโทซานความเข้มข้น 0.01% ให้แก่ต้นกล้าบรอกโคลีที่อายุ 5 วัน ทำให้ต้นกล้าบรอกโคลีมีปริมาณ ascorbic acid เพิ่มขึ้น 54% เมื่อเทียบกับชุดการทดลองควบคุม (Pérez-Balibrea *et al.*, 2011) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากโคโทซานมีคุณสมบัติเป็น elicitor และก่อให้เกิดการสร้าง  $H_2O_2$  เพิ่มมากขึ้น (Lee *et al.*, 1999) จึงทำให้มีปริมาณ ascorbic acid เพิ่มขึ้นด้วย เพราะ ascorbic acid เป็นสาร antioxidant ที่ใช้ในปฏิกิริยาการกำจัด

reactive oxygen species (ROS) และยังเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ ascorbate peroxidase (APX) เพื่อช่วยในการกำจัด ROS ในวัฏจักร ascorbate-glutathione cycle (Conklin and Barth, 2004)

จากการศึกษาผลของไคโทซานต่อปริมาณสารสี คือ คลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และแคโรทีนอยด์ พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในส่วนของคลอโรฟิลล์ เอ และคลอโรฟิลล์ บี ในทั้ง 3 ฤดูกาล (ภาคผนวก ค. ตาราง ค.37-42) ส่วนปริมาณแคโรทีนอยด์พบว่าผักสลัดที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีผลทำให้ผักสลัดมีปริมาณแคโรทีนอยด์มากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อปลูกในฤดูฝน (ภาคผนวก ค. ตาราง ค.45) แต่กลับมีปริมาณแคโรทีนอยด์น้อยกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อปลูกในฤดูหนาว (ภาคผนวก ค. ตาราง ค.43) ส่วนในฤดูร้อนผักสลัดที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีแนวโน้มของปริมาณแคโรทีนอยด์มากกว่าชุดการทดลองควบคุม (ภาคผนวก ค. ตาราง ค.44) ซึ่งผลการทดลองที่ได้มีความแตกต่างจากการทดลองของ Boonlerthirun และคณะ (2008) พบว่าการเคลือบเมล็ดข้าวด้วยไคโทซานชนิด polymer ความเข้มข้น 80 mg/L แล้วใส่ลงในดิน สามารถทำให้ใบข้าวมีปริมาณคลอโรฟิลล์มากกว่าชุดการทดลองควบคุมได้ นอกจากนี้การศึกษาในพุทราที่ได้รับการจุ่มไคโทซานความเข้มข้น 1.5% สามารถลดอัตราการสลายของสารสีได้ (Qiuping and Wenshui, 2007)

สำหรับผลของไคโทซานต่อปริมาณเส้นใยพบว่าในฤดูหนาวและฤดูร้อน ผักสลัดที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีผลทำให้ผักสลัดมีปริมาณเส้นใยน้อยกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาคผนวก ค. ตาราง ค.46-47) แต่ในส่วนของผักสลัดที่ปลูกในฤดูฝนพบว่าผักสลัดที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีปริมาณเส้นใยสูงกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ภาคผนวก ค. ตาราง ค.48) จากผลการทดลองของปริมาณเส้นใยในฤดูหนาวและฤดูร้อนมีความแตกต่างจากการศึกษาในข้าวที่ได้รับไคโทซาน ซึ่งทำให้ข้าวมีปริมาณเส้นใยมากกว่าชุดการทดลองควบคุมที่ไม่ได้รับไคโทซาน จากการศึกษาในข้าวสาลีพบว่ากรดไคโทซานเข้าไปในส่วน intracellular space ของใบข้าวสาลี ไคโทซานสามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ phenylalanine ammonia lyase (PAL) ได้ (Vander *et al.*, 1998) ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวเป็น key enzyme ในการสังเคราะห์ *p*-coumaryl alcohol, coniferyl alcohol และ sinapyl alcohol ซึ่งเป็น precursor หลักของลิกนิน (Taiz and Zeiger, 2006)

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L สามารถกระตุ้นและส่งเสริมการเจริญเติบโตของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ได้ และมีแนวโน้มในการเพิ่ม

คุณค่าทางโภชนาการในผักสลัดได้ เช่นเดียวกับการศึกษาของ ศรีรัตน์ รอดณรงค์ (2554) พบว่า ผักสลัดพันธุ์ Red Oak ที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตของผักสลัดได้ โดยผักสลัดมีน้ำหนักสด จำนวนใบ และน้ำหนักแห้งมากกว่าชุดการทดลองควบคุมที่ไม่มีกาให้ไคโทซาน อีกทั้งมีแนวโน้มที่จะเพิ่มคุณค่าทางอาหารให้แก่ผักสลัดได้ เนื่องจากผักสลัดที่ได้รับไคโทซานมีปริมาณ ascorbic acid ปริมาณสารสี และปริมาณเส้นใยมากกว่าชุดการทดลองควบคุม

#### 4. ศึกษาารูปแบบการแสดงออกของยีน *ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcL)* ในผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการตอบสนองต่อไคโทซาน

จากการทดลองของนนทลี ชำนาญบุญธรรม (2553) โดยการสกัดโปรตีนจากข้าวพันธุ์เหลืองประทิว 123 ที่ได้รับไคโทซาน และศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนด้วยวิธี proteomic approach พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของโปรตีน *ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (rbcL)* เพิ่มมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวที่ไม่ได้รับไคโทซาน (ยังไม่ได้ตีพิมพ์) ในการทดลองนี้จึงเลือกที่จะศึกษาการแสดงออกของยีน *rbcL* ในผักสลัดพันธุ์ Butterhead ในการตอบสนองต่อไคโทซานและพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของระดับการแสดงออกของยีนในผักสลัดที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L ในระยะเวลา 2 วันเมื่อเปรียบเทียบกับผักสลัดที่ไม่ได้รับไคโทซาน (ภาพที่ 38)

อย่างไรก็ตาม ไคโทซานอาจมีผลต่อการแสดงออกของยีน *rbcL* ในผักสลัดพันธุ์ Butterhead ในช่วงอายุของผักสลัดที่เพิ่มขึ้น และจากการศึกษาของ Khan และคณะ (2002) พบว่าต้นถั่วเหลืองและข้าวโพดที่ได้รับการพ่นไคโทซานให้ทางใบ มีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงที่เพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับต้นถั่วเหลืองและข้าวโพดที่ไม่ได้รับไคโทซาน และในการเพาะเลี้ยงตาอ่อนที่ให้ไคโทซานในรูปเจลหรือเรียกว่า ไคโทเจล (chitogel) โดยผสมในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ความเข้มข้น 1.75% และไคโทเจลสามารถเพิ่มอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงโดยสามารถผลิตก๊าซออกซิเจนและตรึงก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้มากกว่าอ่อนในชุดการทดลองควบคุม (Barka *et al.*, 2004) ส่งผลให้ยอดอ่อนที่ได้รับไคโทซานมีการเจริญเติบโตสูงกว่าอ่อนที่ได้รับไคโทซาน นอกจากนี้ การศึกษาในกล้วยไม้สกุล *Dendrobium* พบว่าไคโทซานสามารถชักนำให้กล้วยไม้ดอกได้เร็วขึ้นและเพิ่มจำนวนช่อดอกมากกว่าชุดควบคุมตลอดช่วงเวลาทดลอง 68 สัปดาห์ และยังพบอีกว่ากล้วยไม้ที่ได้รับไคโทซานมีการเพิ่มขนาดของคลอโรพลาสต์ เนื่องจากผลของไคโทซานที่มีต่อการแสดงออกของยีน *Ycf2* ในคลอโรพลาสต์ ซึ่งยีนดังกล่าวเป็น conserved gene ใน chloroplast genome ของพืชดอก (Drescher *et al.*, 2000) ดังนั้นในการศึกษา

แสดงออกของยีน *rbcL* ในผักสลัดพันธุ์ Butterhead ครั้งนี้ ไคโทซานอาจมีผลต่อการแสดงออกของยีนอื่นๆ ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสง ซึ่งส่งผลให้ผักสลัดมีการเจริญเติบโตที่เพิ่มขึ้น

หากไคโทซานไม่มีผลต่อการเพิ่มการแสดงออกของยีน *rbcL* ซึ่งจะช่วยเพิ่มการ fixation ของคาร์บอนไดออกไซด์ หรือยีนอื่นๆ ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงที่ส่งผลต่ออัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงที่เพิ่มมากขึ้น ไคโทซานอาจมีผลต่อการแสดงออกของยีนในกระบวนการอื่นๆ เช่น การขยายขนาดของเซลล์ การแบ่งตัวของเซลล์ การสังเคราะห์โปรตีน และการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชผ่านทางการทำงานของฮอร์โมน เป็นต้น

อย่างไรก็ตาม ยังไม่สามารถสรุปได้แน่ชัดว่าไคโทซานมีผลต่อการแสดงออกของยีน *rbcL* หรือไม่ ดังนั้น เพื่อที่จะศึกษาการตอบสนองของยีนนี้ที่ชัดเจนยิ่งขึ้น ควรเพิ่มการศึกษาในช่วงอายุต่าง ๆ ของการเจริญของผักสลัด

## บทที่ 6

### สรุปผลการทดลอง

#### 1. ผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของไคโทซานต่อการเจริญเติบโตของผักสลัดพันธุ์ Butterhead

จากการทดลองพบว่าชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L เป็นไคโทซานชนิดที่มีความเหมาะสม สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ได้มากที่สุด เนื่องจากมีน้ำหนักราก น้ำหนักใบ และน้ำหนักแห้งมากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

#### 2. ผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของไคโทซาน ต่อคุณภาพของผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวของผักสลัดพันธุ์ Butterhead

ชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L ในสารละลายธาตุอาหาร เป็นชุดการทดลองที่เหมาะสมที่สุดที่ให้ผลดีในการรักษาคุณภาพของผลผลิตหลังการเก็บเกี่ยวของผักสลัดพันธุ์ Butterhead เนื่องจากสามารถรักษาน้ำหนักสดหลังการเก็บรักษาและคุณลักษณะภายนอกของผักสลัดได้ดีที่สุด

#### 3. ศึกษาผลของไคโทซานต่อปริมาณผลผลิต และลักษณะคุณภาพของผลผลิตผักสลัดพันธุ์ Butterhead เมื่อปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกส์แบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร

จากผลการทดลองปลูกผักสลัดด้วยระบบไฮโดรพอนิกส์แบบ nutrient film technique (NFT) โดยปลูกเปรียบเทียบระหว่าง 2 ชุดการทดลอง คือ ชุดการทดลองที่ให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L และชุดการทดลองที่ไม่ให้ไคโทซาน พบว่าผักสลัดที่ได้รับไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L มีการเจริญเติบโตดีกว่าชุดการทดลองควบคุม เนื่องจากมีน้ำหนักราก น้ำหนักแห้งมากกว่าชุดการทดลองควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และสามารถเพิ่มปริมาณ ascorbic acid ได้อีกด้วย

จากผลการทดลองทั้ง 3 ข้อที่กล่าวมา แสดงให้เห็นว่าการให้ไคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L ในสารละลายธาตุอาหาร ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต รักษาคุณภาพของผลผลิตหลังการเก็บรักษา และมีแนวโน้มที่สามารถเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของผักสลัดพันธุ์



Butterhead ได้ อีกทั้งยังเป็นชุดการทดลองที่สามารถเพิ่มผลผลิตผักสลัดพันธุ์นี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

#### 4. ศึกษารูปแบบการแสดงออกของยีน ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (*rbcL*) ในผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการตอบสนองต่อโคโทซาน

จากผลการทดลอง โคโทซานชนิด O80 ความเข้มข้น 5 mg/L ไม่มีผลต่อการแสดงออกของยีน ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (*rbcL*) ในผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ได้รับโคโทซานภายในระยะเวลา 2 วัน

ดังนั้น ยังไม่สามารถสรุปผลเป็นที่แน่ชัดได้ว่าโคโทซานมีผลต่อการแสดงออกของยีน *rbcL* และส่งผลถึงการเติบโตของผักสลัดที่เพิ่มมากขึ้นหรือไม่ จึงควรมีการศึกษา รูปแบบการแสดงออกของยีนเพิ่มเติม โดยเพิ่มระยะเวลาในการให้โคโทซานแก่ผักสลัด รวมถึงการศึกษาอัตราการสังเคราะห์แสงของผักสลัดที่ได้รับโคโทซานเปรียบเทียบกับผักสลัดที่ไม่ได้รับโคโทซาน

## รายการอ้างอิง

### ภาษาไทย

กรมอุตุนิยมวิทยา. ฤดูกาลของประเทศไทย [ออนไลน์]. 2550. แหล่งที่มา:

<http://www.tmd.go.th/info/info.php?FileID=53> [2554, พฤศจิกายน 8]

เครือข่ายนวัตกรรมเกษตรอินทรีย์. สินค้าเกษตรอินทรีย์ของไทยหลายรายการมีศักยภาพส่งออกสูง

[ออนไลน์]. 2551. แหล่งที่มา <http://www.oain.net/index.php/2011-10-19-14-17-51/158> [2555, สิงหาคม 11]

ชัชวาล วงศ์ชัย. 2548. ผลของขนาดพอลิเมอร์และความเข้มข้นของไคโตซานต่อการเติบโตและผลผลิตของกระเจี๊ยบเขียว *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. การติดเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองและการกัดกินของหนอนกระทู้หอม *Laphygma exigua* (Hubner). วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต, ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ชนัสพร เกลี้ยงแก้ว สุวลี จันทรกระจ่าง และ พัลภา เสวตศิลา. 2546. การศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการย้ายปลุกและการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีลูกผสม *Paphiopedilum bellatulum* x PAPH. *Angthong* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. ใน การประชุมไคติน-ไคโตซานแห่งประเทศไทย, หน้า 65-68. 17-18 กรกฎาคม 2546. ณ อาคารสถาบัน 3 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย.

นนทลี ชำนาญมบุญธรรม. สัมภาษณ์, 20 ตุลาคม 2553.

นवलนภา เจริญรอย. 2548. ผลของแคลเซียมคลอไรด์และไคโตซานต่ออายุการเก็บรักษาและคุณภาพภายหลังการเก็บเกี่ยวฝักกระเจี๊ยบเขียว *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. วิทยานิพนธ์ปริญญาามหาบัณฑิต, ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์ และ สุวลี จันทรกระจ่าง. 2542. การพัฒนาแผ่นเยื่อบางไคโตซานเพื่อการกรองแยกชีวมวล. ใน การสัมมนาวิชาการเรื่องความร่วมมือของภาครัฐบาลและเอกชนในการพัฒนาการผลิตและการใช้สารไคติน-ไคโตซานแบบครบวงจร. หน้า 34-36. 2-3 เมษายน 2542 ณ โรงแรมไอเฟิล จังหวัดระนอง.

- พงศ์ธาริน โฉมรัตน์, กนกวรรณ เสรีภาพ, ศุภจิตรา ชัชวาลย์ และรัฐ พิษณุวงกูร. 2549. ผลของขนาดพอลิเมอร์ และความเข้มข้นของโคโทซานต่อการเติบโต ผลผลิต และการรักษาหลังการเก็บเกี่ยวของกระเจี๊ยบเขียว *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. การติดเชื้อไวรัสเส้นใบเหลืองและการกัดกินของหนอนกระทู้หอม *Spodoptera exigua* Hubner, 1808. เข้าถึงได้จาก <http://www.tnrr.in.th/handle/123456789/96315>
- เพทาย จรูญนารถ. 2550. การใช้โคโทซานเพื่อชะลอภาวะเสื่อมถอยและยืดอายุการเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยวของหน่อไม้ฝรั่ง *Asparagus officinalis*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ, ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- เววดี มีสัจย์, ทศวรรษ ริมศิริ และ ธงชัย สุวรรณลิขิต. 2546. การพัฒนาไลเซนส์บำรุงผิวที่มีส่วนผสมของคาร์บอกซีเมทิลไคติน. การประชุมไคติน-โคโทซานแห่งประเทศไทย. หน้า 126-130. 17-18 กรกฎาคม 2546. ณ อาคารสถาบัน 3 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร.
- สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. 2554. เทคนิคการปลูกพืชไร่นา. กรุงเทพมหานคร: สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย.
- สถิต พูลทรัพย์. 2543. การใช้ไคติน-โคโทซานในการเกษตร : เพื่อชีวิตที่ดีกว่าของชาวเกษตร เพื่อชีวิตที่มีค่าของประชาชนกับการใช้โคโทซาน. ใน การประชุมสัมมนาพร้อมนิทรรศการเรื่องเกษตรยุคใหม่กับโคโทซาน. หน้า 5-13. 18 กุมภาพันธ์ 2543 ณ ห้องสุธรรมอารีกุล อาคาร 50 ปี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.
- สุวลี จันทร์กระจ่าง, เพ็ญใจ สมพงษ์ชัยกุล และสมชาย ต่วนต่าย. 2546. ผลของการใช้โคโทซานในการปลูกพืชผักสวนครัวแบบผสมผสาน. ใน การประชุมไคติน-โคโทซานแห่งประเทศไทย, หน้า 158-160. 17-18 กรกฎาคม 2546. ณ อาคารสถาบัน 3 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย.
- สุวลี จันทร์กระจ่าง. 2542. สารไคตินและโคโทซาน ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติและการประยุกต์ใช้ประโยชน์. ใน การสัมมนาวิชาการเรื่องความร่วมมือของภาครัฐบาลและเอกชนในการพัฒนาการผลิตและการใช้สารไคติน-โคโทซานแบบครบวงจร. หน้า 1-21. 2-3 เมษายน 2542 ณ โรงแรมไอเฟิล จังหวัดระนอง.

ศรีรัตน์ รอดณรงค์. 2554. ผลของไคโทซานและแหล่งไนโตรเจนที่มีต่อคุณภาพและการเก็บรักษา  
หลังการเก็บเกี่ยวของผักสลัดพันธุ์ 'เรดโอ๊ค' ที่ปลูกด้วยวิธีไฮโดรพอนิก. วิทยานิพนธ์  
ปริญญาามหาบัณฑิต, สาขาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

## ภาษาอังกฤษ

- Abdel-Mawgoud, A.M.R., Tantawy, A.S., El-Nemr, M.A., and Sassine, Y.N. 2010. Growth and Yield Responses of Strawberry Plants to Chitosan Application. European Journal of Scientific Research 39 : 161-168.
- Agrawal, G.K., Rakwal, R., Tamogami, S., Yonekura, M., Kubo, A., and Saji, H. 2002. Chitosan activates defense/stress response(s) in the leaves of *Oryza sativa* seedlings. Plant Physiology and Biochemistry 40 : 1061–1069.
- Agrois, G.N. 1997. Plant Pathology. 4<sup>th</sup> ed. USA : Academic Press.
- Algam, S.A.E., Xie, G., Li, B., Yu, S., and Larsen, J. 2010. Effects of *Paenibacillus* strains and chitosan on plant growth promotion and control of *Ralstonia* wilt in tomato. Journal of Plant Pathology 92 : 593-600.
- Amiji, M. M. 1995. Pyrene Fluorescence study of chitosan self-association in aqueous solution. Carbohydrate Polymers 26 : 211–213.
- Asghari-Zakaria, R., Maleki-Zanjani, B., and Sedghi, E. 2009. Effect of *in vitro* chitosan application on growth and tuber yield of *Solanum tuberosum* L. Plant Soil Environment 55 : 252–256.
- Aziz, A., et al. 2006. Chitosan oligomers and copper sulfate induce grapevine defense reactions and resistance to gray mold and downy mildew. Phytopathology 96 : 1188–1194.
- Barka, E.A., Eullaffroy, P., Clement, C., and Vernet, G. 2004. Chitosan improves development and protect *Vitis vinifera* L. against *Botrytis cinerea*. Plant Cell Reports 22 : 608-614.
- Ben-Shalom, N., Ardi, R., Pinto, R., Aki, C., and Fallik, E. 2003. Controlling gray mould caused by *Botrytis cinerea* in cucumber plants by means of chitosan. Crop Protection 22 : 285–290.
- Bittelli, M., Flury, M., Campbell, G.S. and Nichols, E.J. 2001. Reduction of transpiration through foliar application of chitosan. Agricultural and Forest Meteorology 107: 167-175.

- Booncho, T., and Photchanachai, S. 2007. Chitosan treatment on mungbean sprouts to enhance microbial safety and shelf life. ISHS Acta Horticulturae 804 : 115-120.
- Boonlertnirun, S., Boonraung, C., and Suvanasa, R. 2008. Application of chitosan in rice production. Journal of Metals, Materials and Minerals 18 : 47-52.
- Chen, W., Jin, T.Z., Gurtler, J., Geveke, D., and Fan, X. 2012. Inactivation of *Salmonella* on whole cantaloupe by application of an antimicrobial coating containing chitosan and allyl isothiocyanate. International Journal of Food Microbiology 155 : 165–170.
- Chen, Y. F., et al. 2009. Functions of oligochitosan induced protein kinase in tobacco mosaic virus resistance and pathogenesis related proteins in tobacco. Plant Physiology and Biochemistry 47 : 724–731.
- Chien, P.J., Sheu, F., and Lin, H.R. 2007. Coating citrus (*Murcott tangor*) fruit with low molecular weight chitosan increases postharvest quality and shelf life. Food Chemistry 100: 1120-1164.
- Chmielewski, A., et al. 2007. Chemical-radiation degradation of natural oligoamino polysaccharides for agricultural application. Radiation Physics and Chemistry 76 : 1840–1842.
- Cho, M.H., No, H.K., and Prinyawiwatkul, W. 2008. Chitosan treatments affect growth and selected quality of sunflower sprouts. Sensory and Food Quality 73 : 70-77.
- Conklin, P.L., and Barth., C. 2004. Ascorbic acid, a familiar small molecule intertwined in the response of plants to ozone, pathogens, and the onset of senescence. Plant Cell Environment 27 : 959 970.
- Dien, L.D., and Binh, T.Q. 1996. Research on using chitosan for storage of oranges in Vietnam. Proceedings of 2<sup>nd</sup> Asia Pasific Chitin Symposium 2 : 200-203.
- Drescher, A., Ruf, S., Calsa, T. Jr, Carrer, H., and Bock, R. 2000. The two largest chloroplast genome-encoded open reading frames of higher plants are essential genes. Plant Journal 22: 97-104.

- Duangpaeng, A., Petkluen, A., and Bootdee, N. 2010. Effect of chitosan spray application on growth of 6 varieties of *Capsicum*. Agricultural Science Journal 41 :5 25-528.
- El-Ghaouth, A., Arul, J., and Asselin., A. 1991. Potential use of chitosan in postharvest preservation of fruits and vegetables. Proceedings from the 5<sup>th</sup> International Conference Chitin and Chitosan 5 : 440-452.
- El-Sawy, N. M., Abd El-Rehim, H. A., Elbarbary, A. M., and Hegazy, E. A. 2010. Radiation-induced degradation of chitosan for possible use as growth promoter in agricultural purposes. Carbohydrate Polymers 79 : 555-562.
- Every, D. 1996. Enzymatic method to determine dehydroascorbic acid in biological samples and in bread dough at various stages of mixing. Analytical Biochemistry 242 : 234-239.
- Falcon, A. B., et al. 2008. The effect of size and acetylation degree of chitosan derivatives on tobacco plant protection against *Phytophthora parasitica* nicotianae. World Journal of Microbiology and Biotechnology 24 : 103–112.
- Farouk, S., and Amany, R. 2012. Improving growth and yield of cowpea by foliar application of chitosan under water stress. Egyptian Journal of Biology 14 : 14-26.
- Farouk, S., Ghoneem, K.M., and Ali Abeer, A. 2008. Induction and expression of systematic resistance to downy mildew disease in cucumber plant by elicitors. Egyptian Journal of Phytopathology 2 : 95-111.
- Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO). Statistical Database Agriculture [online] 2012. Available from: <http://faostat.fao.org/faostat/collections?Subset=agriculture> [2012, August 11]
- Feng, B., Chen, Y., Zhao, C., Zhao, X., Bai, X., and Du, Y. 2006. Isolation of a novel Ser/Thr protein kinase gene from oligochitosan-induced tobacco and its role in resistance against tobacco mosaic virus. Plant Physiology and Biochemistry 44 : 596–603.

- Fu, X., Shen, Y., Jiang, X., Huang, D., and Yan, Y. 2011. Chitosan derivatives with dual-antibacterial functional groups for antimicrobial finishing of cotton fabrics Carbohydrate Polymers 85 : 221–227.
- Hoagland, D.R., and Arnon, D.I.1950. The water-culture method for growing plants without soil. California Agricultural Experiment Station Circular 34 : 1-32.
- Hofmann, M. G., Sinha, A. K., Proels, R. K., and Roitsch, T. 2008. Cloning and characterization of a novel LpWRKY1 transcription factor in tomato. Plant Physiology and Biochemistry 46 : 533–540.
- Hong, K., Jianghui, X., Zhang, L., Sun, D., and Gong, D. 2012. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of guava (*Psidium guajava* L.) fruit during cold storage Scientia Horticulturae 144 : 172–178.
- Huang, L., Zhai, M., Peng, J., Li, J., and Wei, G. 2007. Radiation-induced degradation of carboxymethylated chitosan in aqueous solution. Carbohydrate Polymers 67 : 305–312.
- Imeri, A.G., and Knorr, D. 1988. Effect of chitosan on yield and compositional data of carrot and apple juice. Journal in Food Science 53 : 1707-1709.
- Jang, S., et al. 2009. Rice OsOPRs: Transcriptional profiling responses to diverse environmental stimuli and biochemical analysis of OsOPR1. Journal of Plant Biology 52 : 229–243.
- Jayakumar, R., et al. 2010. Novel carboxymethyl derivatives of chitin and chitosan materials and their biomedical applications. Progress in Materials Science 55 : 675–709.
- Kader, A.A., Lipton, W.J. and Morris, L.L. 1973. Systems for scoring quality of harvested lettuce. HortScience 8: 408-409.
- Kavitha, K., Keerthi, T.S., and Tamizh, T. 2011. Chitosan polymer used as carrier in various pharmaceutical formulations. International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology 2 : 249-258.



- Khan, M.H., Singha, K., and Panda, S. 2002. Change in antioxidant levels in *Oryza sativa* L. roots subjected to NaCl salinity stress. Acta Physiologia Plantarum 24 : 145-148.
- Kaku, H., et al. 2006. Plant cells recognize chitin fragments for defense signaling through a plasma membrane receptor. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 103 : 11086–11091.
- Kurita, K. 2006. Chitin and chitosan: Functional biopolymers from marine crustaceans. Marine Biotechnology 8 : 203–226.
- Lee, Y. S., Kim, Y. H., and Kim, S. B. 2005. Changes in the respiration, growth, and vitamin C content of soybean sprouts in response to chitosan of different molecular weights. HortScience 40 : 1333-1335.
- Lee, S., et al. 1999. Oligogalacturonic acid and chitosan reduce stomatal aperture by inducing the evolution of reactive oxygen species from guard cells of tomato and *Commelina communis*. Plant Physiology 121: 147-152.
- Li, X., Feng, X., Yang, S., Wang, T., and Su, Z. 2008. Effects of molecular weight and concentration of chitosan on antifungal activity against *Aspergillus Niger*. Iranian Polymer Journal 17 : 843-852.
- Limpanavech, P., et al. 2008. Chitosan effects on floral production, gene expression, and anatomical changes in the Dendrobium orchid. Scientia Horticulturae 116 : 65-72.
- Limpanavech, P., et al. 2004. Chitosan effect on vegetative growth of Dendrobium 'EISKUL'. Utilization of Chitosan in Flora. P.1-8. 29-30 April 2004 at Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.
- Lin, W., Hua, X., Zhang, W., Rogers, J., and Cai, W. 2005. Hydrogen peroxide mediates defence responses induced by chitosans of different molecular weights in rice. Journal of Plant Physiology 162 : 937—944.
- McAinsh, M.R., Clayton, H., Mansfield, T.A., and Hetherington, A.M. 1996. Change in stomatal behavior and guard cell cytosolic free calcium in response to oxidative stress. Plant Physiology 111 : 1031-1042.

- Meng, X., Yang, L., Kennedy, J. F., and Tian, S. 2010. Effects of chitosan and oligochitosan on growth of two fungal pathogens and physiological properties in pear fruit. Carbohydrate Polymers 81 : 70–75.
- Meng, X., Li, B., Liu, J., and Tian, S. 2008. Physiological responses and quality attributes of table grape fruit to chitosan preharvest spray and postharvest coating during storage. Food Chemistry 106 : 501–508.
- Munoz, Z., Moret, A., and Garces, S. 2009. Assessment of chitosan for inhibition of *Colletotrichum* sp on tomatoes and grapes. Crop Protection 28 : 36–40.
- Muzzarelli, R. A. A. 1976. Chitin New York: Pergamon.
- Nge, K.L., Nwe, N., Chandkrachang, S., and Stevens, W.F., 2006. Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue culture. Plant Science 170 : 1185-1190.
- Nijjar, G.S. 1985. Nutrition of fruit trees. New Delhi, India : Usha Raji Kumar.
- No, H.K., Lee, K.S., Kim, I.D., Park, M.J., Kim, S.D., and Meyers, S.P. 2006. Chitosan treatment affects yield, ascorbic acid content, and hardness of soybean sprouts. Sensory and Nutritive Qualities of Food 68 : 1333-1338.
- Olympios, C. M. 1999. Overview of soilless culture: Advantages, constraints and perspectives for its use in Mediterranean countries. Cahiers Options Méditerranéennes 31 : 307-324.
- Otha, K., A., Konishi, N., Hosoki, T. 1999. Chitosan treatment affects plant growth and flower quality in *Eustoma grandiflorum*. Hortscience 34:233-234.
- Pérez-Balibrea, S., Moreno, D. A., and García-Viguera, C. 2011. Improving the phytochemical composition of broccoli sprouts by elicitation. Food Chemistry 129 : 35–44.
- Pfaffl, M.W. 2001. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nucleic Acids Research 29 : 2002-2007.
- Possingham, J.V. 1980. Plastid replication and development in the life cycle of higher plants. Annual Review of Plant Physiology 31: 113-129.

- Qiuping, Z., and Wenshui, X. 2007. Effect of 1-methylcyclopropene and/or chitosan coating treatments on storage life and quality maintenance of Indian jujube fruit. LWT 40 : 404-411.
- Raviv, H., and Lieth, J. H. 2007. Soilless culture: Theory and practice. Amsterdam: Elsevier Science.
- Rinaudo, M. 2006. Chitin and chitosan: Properties and applications. Progress in Polymer Science 31: 603–632.
- Romanazzi, G., Feliziani, E., Santini, M., and Landi, L. 2013. Effectiveness of postharvest treatment with chitosan and other resistance inducers in the control of storage decay of strawberry. Postharvest Biology and Technology 75 : 24–27.
- Selma, M. V., et al. 2012. Sensory quality, bioactive constituents and microbiological quality of green and red fresh-cut lettuces (*Lactuca sativa* L.) are influenced by soil and soilless agricultural production systems. Postharvest Biology and Technology 63 : 16-24.
- Sinha, V.R., et al. 2004. Chitosan microspheres as a potential carrier for drugs. International Journal of Pharmaceutics 274 : 1-33.
- Shahidi, F., Arachchi, J.K.V., and Jeon, Y.J. 1999. Food application of chitin and chitosans. Trend in Food Science Technology 10 : 37-51.
- Smith, R., et al. 2012. Leaf Lettuce Production in California California : University of California Vegetable Research and Information Center.
- Szczeponek, A., Mazur, S., and Nawrocki, J. 2006. The usage of chitosan in protection of some peppermint and lemon balm pathogens. Polish Chitin Society 11 : 193-200.
- Taiz, L. and Zeiger, E. 2006. Plant Physiology. 4<sup>th</sup> ed. Massachusetts: Sinaure Associate.
- Tham, L.X., Nagasawa, N., Matsushashi, S., Ishioka, N.S., Ito, T., and Kume, T. 2001. Effect of radiation-degraded chitosan on plants stressed with vanadium. Radiation physics and Chemistry 61: 171-175.

- Thikart, P., et al. 2005. Genetic variation and stress tolerance of somaclonal variegated rice and its original cultivar. Journal of Scientific Research of Chulalongkorn University 30 : 63-75.
- Thobunluepop, P. 2008. Characterization of a botanical fungicide from Thai origin and its efficiency in rice production. Germany : Cuvillier Verlag.
- U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. 2011. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 24.
- Vander, P., Varum, K.M., Domatd, A., Gueddari, N.E.E. and Moerschbacher, B.M. 1998. Comparison of the ability of partial N-acetylated chitosans and chitoooligosaccharides to elicit resistance reactions in wheat leaves. Plant Physiology 118 : 1353-1359.
- Weaver, W. 1997. Heirloom vegetable gardening: A master gardener's guide to planting, seed saving and cultural history New York : Henry Holt and Company.
- Whitney, S., Caemmerer, S., Hudson, G., and Andrews, T. 1999. Directed mutation of the RuBisCO large subunit of tobacco influences photorespiration and growth. Plant Physiology 121 : 579-588.
- Yafei, C., et al. 2009. Functions of oligochitosan induced protein kinase in tobacco mosaic virus resistance and pathogenesis related proteins in tobacco. Plant Physiology and Biochemistry 47 : 724–731.
- Yin, H., Bai, X. F., Zhao, X. M., and Du, Y. G. 2010. Molecular cloning and characterization of a Brassica napus L. MAP Kinase involved in oligochitosan-induced defense signaling. Plant Molecular Biology Reporter 28 : 292–301.
- Yin, H., Li, S., Zhao, X., Du, Y., and Ma, X. 2006. cDNA microarray analysis of gene expression in Brassica napus treated with oligochitosan elicitor. Plant Physiology and Biochemistry 44 : 910–916.
- Zhang, F. Y., et al. 2007. Induction of tobacco genes in response to oligochitosan. Molecular Biology Reports 34 : 35–40.

Zhang, D., and Quantick, P. 1997. Effects of chitosan coating on enzymatic browning and decay during postharvest storage of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.) fruit. Postharvest Biology and Technology 12 : 195–202.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ตาราง ก.1 แสดงความเข้มข้นของธาตุอาหารในสารละลายธาตุอาหารซึ่งดัดแปลงจากสารละลายธาตุอาหารสูตร Hoagland (Hoagland and Arnon, 1950)

ธาตุ	ปริมาณสาร (mg/L)
ไนโตรเจน (N)	150-160
ฟอสฟอรัส (P)	35-40
โพแทสเซียม (K)	200-230
แคลเซียม (Ca)	110-130
กำมะถัน (S)	40-50
แมกนีเซียม (Mg)	25-30
เหล็ก (Fe)	1.5-2.6
แมงกานีส (Mn)	0.8-1.2
สังกะสี (Zn)	0.3-0.5
ทองแดง (Cu)	0.2
โบรอน (B)	1-1.5
โมลิบดีนัม (Mo)	0.1-0.2



ตาราง ก.2 สารเคมีในปริมาณที่เข้มข้น (stock solution) สำหรับเตรียมสารละลายธาตุอาหาร ซึ่งดัดแปลงจากสารละลายธาตุอาหารสูตร Hoagland (Hoagland and Arnon, 1950)

ชื่อสารเคมี	ปริมาณสาร (g/L)
<b>Macronutrient</b>	
Calcium nitrate tetrahydrate ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )	236
Magnesium sulphate ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	246
Potassium dihydrogen phosphate ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	136
Potassium nitrate ( $\text{KNO}_3$ )	101
<b>Micronutrient</b>	
Fe-EDTA*	25
Boric acid ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ )	2.86
Cupric chloride ( $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	0.25
Manganese (II) chloride tetrahydrate ( $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )	1.81
Sodium molybdate, dehydrate ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )	0.125
Zinc chloride ( $\text{ZnCl}_2$ )	0.55

\*การเตรียม Fe-EDTA

1. ชั่ง  $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ปริมาณ 27 กรัม ในน้ำ 728 มิลลิลิตร
2. ชั่ง EDTA disodium salt ปริมาณ 22.4 กรัม ในน้ำ 372 มิลลิลิตร
3. เทสารละลายทั้งสองผสมกันที่ละน้อย จนกระทั่งเป็นเนื้อเดียวกัน

ตาราง ก.3 ปริมาณสารเคมีสำหรับเตรียมสารละลายธาตุอาหารซึ่งดัดแปลงจากสารละลายธาตุอาหารสูตร Hoagland (Hoagland and Arnon, 1950)

ชื่อสารเคมี	ปริมาณสาร (ml/L)
1 M Calcium nitrate tetrahydrate ( $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )	3.2
1 M Magnesium sulphate ( $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ )	1.2
1 M Potassium dihydrogen phosphate ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	1.2
1 M Potassium nitrate ( $\text{KNO}_3$ )	4.5
Fe-EDTA	0.5
Micronutrient	2

ภาคผนวก ข

## 1. สารละลายที่ใช้ในการทดลอง

สารละลาย	ส่วนประกอบ
<ul style="list-style-type: none"> <li>● RNA Extraction Buffer</li> </ul>	100 mM Tris pH 9.0 100 mM NaCl 20 mM EDTA 1.0% (w/v) Lauryl sarcosinate 0.1% (v/v) 2-mercaptoethanol 0.1% (v/v) DEPC (diethyl pyrrocarbonate)
<ul style="list-style-type: none"> <li>● DEPC-treated TE Buffer</li> </ul>	10mM Tris pH 8.0 1mM EDTA 0.1% (v/v) DEPC (diethyl pyrrocarbonate)
<ul style="list-style-type: none"> <li>● 5X TBE (100 ml)</li> </ul>	54.0 g Tris-base 27.5 g Boric acid 20.0 ml EDTA pH 8.0 (0.5 M)
<ul style="list-style-type: none"> <li>● DNA/RNA loading dye</li> </ul>	30% (v/v) Glycerol in water 0.25% (w/v) Bromophenol blue 0.25% (w/v) Xylene cyanol

## 2. วิธีการเตรียม Phenol:chloroform:isoamyl alcohol (25:24:1) (v/v)

2.1 ละลาย phenol โดยแช่ขวด phenol ในอ่างน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 65°C แล้วเติม hydroxyquinoline ให้ได้ final concentration เท่ากับ 0.1%

2.2 เติม 1 M Tris-HCl pH 8 ปริมาตรเท่ากับ phenol ในขวด แล้วคนให้เข้ากันเป็นเวลา 15 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ปล่อยให้ phenol และสารละลาย Tris แยกชั้นออกจากกัน จากนั้นแยก phenol ออกโดยการใช้กรวยแยก

2.3 เติม 1 M Tris-HCl pH 8 ปริมาตรเท่ากับ phenol ในขวดอีกครั้ง และคนให้เข้ากันอีก 15 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ปล่อยให้ phenol และสารละลาย Tris แยกชั้นออกจากกัน จากนั้นแยก phenol ออกโดยการใช้กรวยแยก

2.4 วัดค่า pH ของ phenol โดยใช้ pH paper หากค่า pH ไม่มากกว่า 7.8 ทำซ้ำข้อที่ 2.3 โดยใช้ 1 M, 0.5 M และ 0.1 M Tris-HCl pH8 จนกว่าจะได้ค่า pH ของ phenol ที่ต้องการ

2.5 เตรียมสาร chloroform:isoamyl alcohol อัตราส่วน 24:1 โดยผสม chloroform 240 ml เข้ากับ isoamyl alcohol 10 ml แล้วเก็บไว้ในขวดสีชา

2.6 นำ phenol ที่ได้จากข้อ 2.4 มาผสมกับ chloroform:isoamyl alcohol จากข้อ 2.5 ในอัตราส่วน 1:1

2.7 เท phenol:chloroform:isoamyl alcohol (25:24:1) (v/v) ใส่ขวดสีชา ฉาบสารละลายที่ได้ด้วย 0.1 M Tris แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น

### 3. วิธีการสกัด RNA ดัดแปลงจากวิธี Hot Phenol ของ Thikart และคณะ (2005)

3.1 บดตัวอย่างใบผักสลัดที่แช่แข็งกับไนโตรเจนเหลว ในโถรงบดที่ผ่านการทำลาย RNase แล้ว จากนั้นตัดตัวอย่างพืชที่บดเป็นผงละเอียดใส่หลอด microcentrifuge ที่ทำให้เย็นจัดด้วยไนโตรเจนเหลว

3.2 เติม RNA extraction buffer และ phenol: chloroform: isoamyl alcohol (25: 24: 1) (v/v) อย่างละ 500  $\mu$ l ซึ่งอุ่นไว้ที่อุณหภูมิ 80°C พลิกกลับไปกลับมาอย่างรวดเร็ว จากนั้นแช่ในน้ำแข็งทันที

3.3 ปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 5 นาที

3.4 บีบเปิดสารละลายชั้นบนใส่หลอดใหม่ นำมาสกัดซ้ำด้วย phenol: chloroform: isoamyl alcohol (24:25:1) (v/v) ปริมาตรเท่ากับสารละลายในหลอด

3.5 ปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 5 นาที

3.6 บีบเปิดสารละลายชั้นบนใส่หลอดใหม่ เติม absolute ethanol ปริมาตร 2 เท่าของสารละลายในหลอด ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปตกตะกอนที่ -20°C เป็นเวลา 30 นาที

3.7 ปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 10 นาที ล้างตะกอนด้วย 80% ethanol ที่งัวให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

3.8 ละลายตะกอนใน DEPC-treated TE buffer 160  $\mu$ l จากนั้นเติม 10 M LiCl<sub>2</sub> 40  $\mu$ l นำไปตกตะกอนที่ -20°C เป็นเวลาประมาณ 18 ชั่วโมง

3.9 ปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นบีบเปิดสารละลายชั้นบนทิ้ง ล้างตะกอนด้วย 80% ethanol ที่งัวให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

3.10 ละลายตะกอนใน DEPC-treated TE buffer 20  $\mu$ l

#### 4. วิธีการกำจัด DNA ด้วยเอนไซม์ DNase I

4.1 สารเคมีที่ใช้ในปฏิกิริยากำจัด DNA ประกอบด้วย

Total RNA	20 µg
DNase I buffer	1X
DNase I (RNase-free)	10 U
DEPC-treated water	up to 50 µl

บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

4.2 นำสารละลายในข้อ 3.1 มาเติม DEPC-treated water 100 µl จากนั้นเติม phenol: chloroform: isoamyl alcohol (24:25:1) (v/v) 150 µl เขย่าให้เข้ากัน

4.3 ปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 5 นาที

4.4 เปิดสารละลายชั้นบนใส่หลอดใหม่ เติม 3M sodium acetate ปริมาตร 1 ใน 10 เท่าของสารละลายในหลอด และ isoamyl alcohol ปริมาตร 0.6 เท่าของสารละลายในหลอด ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปตกตะกอนที่ -20°C เป็นเวลา 30 นาที

4.5 ปั่นเหวี่ยงที่ 12,000 รอบต่อนาที 4°C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเปิดสารละลายชั้นบนทิ้ง ล้างตะกอนด้วย 80% ethanol ที่อุณหภูมิห้อง

4.6 ละลายตะกอนใน DEPC-treated TE buffer 10 µl

#### 5. วิธีการสร้าง cDNA สายแรกด้วยเอนไซม์ reverse transcriptase

5.1 สารเคมีที่ใช้ในปฏิกิริยาการสร้าง cDNA สายแรกประกอบด้วย

DNase-treated RNA	2 µg
M-MLV reaction buffer	1X
RNase-free dNTPs	100 ng
Oligo(dT)	100 ng
M-MLV reverse transcriptase	200 U
DEPC-treated water	up to 20 µl

5.2 นำสารละลายไปบ่มที่อุณหภูมิ 42°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำ cDNA ที่ได้ไปใช้เป็นแม่แบบในการทำ PCR ต่อไป

## 6. ผลการทำ multiple sequence alignment ของยีน ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase /oxygenase large subunit (*rbcl*) เพื่อหาบริเวณ conserved sequence

CLUSTAL 2.1 multiple sequence alignment

```
gi|18035|emb|Z11973.1|-----
LOC_Os10g21268.1-----
gi|293027|gb|L14073.1|LAUDNA-----
gi|343506|gb|M16867.1|TOBCPRUB-----
50 GAATTCGGTATATTTTCACATCTAGGATTTACATATACAACATATACCAC
```

```
gi|18035|emb|Z11973.1|-----
LOC_Os10g21268.1-----
gi|293027|gb|L14073.1|LAUDNA-----
gi|343506|gb|M16867.1|TOBCPRUB-----
100 TGTC AAGGGGAAGTCTTATTATTAGGTTAGTCAGGTATTTCCATTTTC
```

```
gi|18035|emb|Z11973.1|-----
LOC_Os10g21268.1-----
gi|293027|gb|L14073.1|LAUDNA-----
gi|343506|gb|M16867.1|TOBCPRUB-----
150 AAAAAAAAAAAGTAAAAAGAAAAATTGGGTTGCGCTATATATATGAA
```

```
gi|18035|emb|Z11973.1|-----
LOC_Os10g21268.1-----
gi|293027|gb|L14073.1|LAUDNA-----
gi|343506|gb|M16867.1|TOBCPRUB-----
200 AGAGTATACAATAATGATCTATTTGGCAAATCAAATACCATGGTCTAATA
```

```
gi|18035|emb|Z11973.1|-----
LOC_Os10g21268.1-----
gi|293027|gb|L14073.1|LAUDNA-----
gi|343506|gb|M16867.1|TOBCPRUB-----
250 ATCAAACATCTGATTAGTTGATAATATTAGTATTAGTTGAAAATTTTGT
```

```
gi|18035|emb|Z11973.1|-----
LOC_Os10g21268.1-----
gi|293027|gb|L14073.1|LAUDNA-----
gi|343506|gb|M16867.1|TOBCPRUB-----
300 GAAAGATTCTATGAAAAGTTTCATTAACACGGAAATTCGTGTCGAGTAGA
```

```
gi|18035|emb|Z11973.1|-----AT
2-----ATGAGTTGTAGGGAGGGACGTAT
LOC_Os10g21268.1-----
23-----
gi|293027|gb|L14073.1|LAUDNA-----AT
2-----
gi|343506|gb|M16867.1|TOBCPRUB-----
350 CCTTGTGTGTGAGAATTCTTAATTCATGAGTTGTAGGGAGGGATTTAT
```

\*\*

```
gi|18035|emb|Z11973.1|-----
52 GTCACCACAAACAGAAACTAAAGCAAGTGTGGATTTAAAGCTGGTGTTA
LOC_Os10g21268.1-----
73 GTCACCACAAACAGAAACTAAAGCAAGTGTGGATTTAAAGCTGGTGTTA
gi|293027|gb|L14073.1|LAUDNA-----
52 GTCACCACAAACAGAGACTAAAGCAAGTGTGGATTTCAAAGCTGGTGTTA
gi|343506|gb|M16867.1|TOBCPRUB-----
400 GTCACCACAAACAGAGACTAAAGCAAGTGTGGATTTCAAAGCTGGTGTTA
```

\*\*\*\*\*



```
gi |18035 |emb |Z11973.1 | 102 AGGATTATAAATTGACTTACTACACCCCGGAGTACGAAACCAAGGATACT
LOC_Os10g21268.1 123 AGGATTATAAATTGACTTACTACACCCCGGAGTACGAAACCAAGGACACT
gi |293027 |gb |L14073.1 |LAUDNA 102 AAGATTATAAATTGACTTATTATACTCCTGAGTATGAAACCAAGGATACT
gi |343506 |gb |M16867.1 |TOBCPRUB 450 AAGAGTACAAATTGACTTATTATACTCCTGAGTACCAAACCAAGGATACT
* * * * *
gi |18035 |emb |Z11973.1 | 152 GATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTCCTCAGCTCGGGGTTCCGCCTGA
LOC_Os10g21268.1 173 GATATCTTGGCAGCATTCCGAGTAACTCCTCAGCCGGGGTTCCGCCCGA
gi |293027 |gb |L14073.1 |LAUDNA 152 GATATTTTGGCAGCATTTCGAGTAACTCCTCAACCTGGAGTTCCGCCTGA
gi |343506 |gb |M16867.1 |TOBCPRUB 500 GATATATTGGCAGCATTCCGAGTAACTCCTCAACCTGGAGTTCCACCTGA
*****
gi |18035 |emb |Z11973.1 | 202 AGAAGCAGGAGCTGCAGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAA
LOC_Os10g21268.1 223 AGAAGCAGGGGCTGCAGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAA
gi |293027 |gb |L14073.1 |LAUDNA 202 AGAAGCAGGGGCCGCGAGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAA
gi |343506 |gb |M16867.1 |TOBCPRUB 550 AGAAGCAGGGGCCGCGGTAGCTGCCGAATCTTCTACTGGTACATGGACAA
*****
gi |18035 |emb |Z11973.1 | 252 CTGTTTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAAGGACGATGC
LOC_Os10g21268.1 273 CTGTTTGGACTGATGGACTTACCAGTCTTGATCGTTACAAAGGCCGATGC
gi |293027 |gb |L14073.1 |LAUDNA 252 CTGTGTGGACCGATGGACTTACGAGCCTTGATCGTTACAAAGGGCGATGC
gi |343506 |gb |M16867.1 |TOBCPRUB 600 CTGTATGGACCGATGGACTTACCAGCCTTGATCGTTACAAAGGGCGATGC
****
gi |18035 |emb |Z11973.1 | 302 TATCACATCGAGCCCGTTCCTGGGGACCCAGATCAATATATCTGTTATGT
LOC_Os10g21268.1 323 TATCACATCGAGCCCGTGTGGGGAGGATAATCAATATATCGCTTATGT
gi |293027 |gb |L14073.1 |LAUDNA 302 TATGGAATCGAGCCTGTTCTGGAGAAGAAAATCAATATATGCTTATGT
gi |343506 |gb |M16867.1 |TOBCPRUB 650 TACCGCATCGAGCGTGTGTTGGAGAAAAGATCAATATATGCTTATGT
**
gi |18035 |emb |Z11973.1 | 352 AGCTTATCCATTAGACCTATTTGAAGAGGGTCTGTTACTAACATGTTTA
LOC_Os10g21268.1 373 AGCTTATCCATTAGACCTATTTGAAGAGGGTCTGTTACTAACATGTTTA
gi |293027 |gb |L14073.1 |LAUDNA 352 AGCTTACCCATTAGACCTTTTTGAAGAAGGTCTGTTACTAACATGTTTA
gi |343506 |gb |M16867.1 |TOBCPRUB 700 AGCTTACCTTTAGACCTTTTTGAAGAAGGTCTGTTACCAACATGTTTA
*****
gi |18035 |emb |Z11973.1 | 402 CTTCCATTGTGGGTAACGTATTTGGTTTCAAAGCCTTACGCGCTCTACGT
LOC_Os10g21268.1 423 CTTCCATTGTGGGTAACGTATTTGGTTTCAAAGCCTTACGCGCTCTACTT
gi |293027 |gb |L14073.1 |LAUDNA 402 CTTCCATTGTAGGTAATGTATTTGGTTTCAAAGCCTTACGCGCTCTACGT
gi |343506 |gb |M16867.1 |TOBCPRUB 750 CTTCCATTGTAGGTAACGTATTTGGTTTCAAAGCCTTACGCGCTCTACGT
*****
```



```
gi | 18035 | emb | Z11973.1 | 802  
LOC_Os10g21268.1 823  
gi | 293027 | gb | L14073.1 | LAUDNA 802  
gi | 343506 | gb | M16867.1 | TOBCPRUB 1150  
TAAGAGAGCTGTATTTGCAAGGAATTAGGGGTTCTATTGTAATGCATG  
TAAAAGAGCTGTATTTGCGAGGAATTAGGGGTTCTATTGTAATGCATG  
GAAAAGGGCTATATTTGCCAGAGAATTGGGAGTTCTATCGTAATGCATG  
CAAAAGAGCTGTATTTGCTAGAGAATTGGGTGTTCCGATCGTAATGCATG  
* * * * *  
gi | 18035 | emb | Z11973.1 | 852  
LOC_Os10g21268.1 873  
gi | 293027 | gb | L14073.1 | LAUDNA 852  
gi | 343506 | gb | M16867.1 | TOBCPRUB 1200  
ACTACTTAACAGGAGGATTACCCGCAAATACTACTTTGTCTCATTATTGC  
ACTACTTAACCGGGGGATTACCCGCAAATACTAGTTTGGCTCATTATTGC  
ACTACCTAACAGGGGGATTCACTGCAAATACTAGCTTGGCTCATTATTGC  
ACTACTTAACCGGGGGATTACCCGCAAATACTAGCTTGGCTCATTATTGC  
*****  
gi | 18035 | emb | Z11973.1 | 902  
LOC_Os10g21268.1 923  
gi | 293027 | gb | L14073.1 | LAUDNA 902  
gi | 343506 | gb | M16867.1 | TOBCPRUB 1250  
CGCGACAACGGCCTACTTCTTCACATTCACCGAGCAATGCATGCAGTTAT  
CGCGACAACGGCCTACTTCTTCACATTCACCGAGCAATGCATGCAGTTAT  
CGAGATAATGGTCTACTTCTTCACATCCACCGCGCAATGCATGCAGTTAT  
CGAGATAATGGTCTACTTCTTCACACCCACCGTGAATGCATGCGGTTAT  
* * * * *  
gi | 18035 | emb | Z11973.1 | 952  
LOC_Os10g21268.1 973  
gi | 293027 | gb | L14073.1 | LAUDNA 952  
gi | 343506 | gb | M16867.1 | TOBCPRUB 1300  
TGATAGACAGAAAAATCATGGTATGCATTTCCGTGTATTAGCTAAAGCAT  
TGATAGACAGAAAAATCATGGTATGCATTTCCGTGTATTAGCTAAAGCAT  
TGATAGACAGAAGAATCATGGTATACACTTCCGTGTACTAGCTAAAGCGT  
TGATAGACAGAAGAATCATGGTATCCACTTCCGGTATTAGCAAAAGCGT  
*****  
gi | 18035 | emb | Z11973.1 | 1002  
LOC_Os10g21268.1 1023  
gi | 293027 | gb | L14073.1 | LAUDNA 1002  
gi | 343506 | gb | M16867.1 | TOBCPRUB 1350  
TGCGTATGTCTGGGGGAGATCATATCCACTCCGGTACAGTAGTAGGTAAG  
TGCGTATGTCTGGGGGAGATCATATCCACGCTGGTACAGTAGTAGGTAAG  
TACGTATGTCTGGTGGAGATCATATTCATTCCGGTACCGTAGTAGGTAAG  
TACGTATGTCTGGTGGAGATCATATTCACTCTGGTACCGTAGTAGGTAAG  
* * * * *  
gi | 18035 | emb | Z11973.1 | 1052  
LOC_Os10g21268.1 1073  
gi | 293027 | gb | L14073.1 | LAUDNA 1052  
gi | 343506 | gb | M16867.1 | TOBCPRUB 1400  
TTAGAAGGGGAACGCGAAATAACTTTAGGTTTGTGTTGATTTATTGCGCGA  
TTAGAAGGGGAACGCGAAATGACTTTAGGTTTGTGTTGATTTATTGCGCGA  
CTTGAAGGGGAAAGAGAAATCACTTTGGGCTTTGTGTTACTGCGTGA  
CTTGAAGGTGAAAGAGACATAACTTTGGGCTTTGTGTTACTGCGTGA  
* * * * *  
gi | 18035 | emb | Z11973.1 | 1102  
LOC_Os10g21268.1 1123  
gi | 293027 | gb | L14073.1 | LAUDNA 1102  
gi | 343506 | gb | M16867.1 | TOBCPRUB 1450  
TGATTTTATTGAAAAAGATCGTTCGCGGTATCTTTTCACTCAGGACT  
TGATTTTATTGAAAAAGATCGTGCTCGCGGTATCTTTTCACTCAGGACT  
TGATTTTATTGAAAAAGATAGAAGTCGCGGTATTTATTTACCCCAAGATT  
TGATTTTGTGAAACAAGATCGAAGTCGCGGTATTTATTTCACTCAAGATT  
*****
```

```

gi | 18035 | emb | Z11973.1 | 1152
LOC_Os10g21268.1 1173
gi | 293027 | gb | L14073.1 | LAUDNA 1152
gi | 343506 | gb | M16867.1 | TOBCPRUB 1500

GGGTATCCATGCCAGGTGTTATACCGGTGGCTTCTGGGGTATTTCATGTT
GGGTATCCATGCCAGGTGTTATACCGGTGGCTTCAGGGGTATTTCATGTT
GGGTCTCTCTACCAGGTGTTCTGCCTGTAGCTTCGGGCGGTATTTCACGTT
GGGTCTCTTTACCAGGTGTTCTACCCGTGGCTTCAGGAGGTATTTCACGTT
**** * * * ***** * * * * * * * * * * * * * * * * * *

gi | 18035 | emb | Z11973.1 | 1202
LOC_Os10g21268.1 1223
gi | 293027 | gb | L14073.1 | LAUDNA 1202
gi | 343506 | gb | M16867.1 | TOBCPRUB 1550

TGGCATATGCCAGCTCTGACCGAAATCTTTGGAGATGATTCGGTATTACA
TGGCATATGCCAGCTCTGACCGAAATCTTTGGAGATGATTCGTATTGCA
TGGCATATGCCTGCTCTGACCGAGATCTTTGGAGATGATTCGGTACTACA
TGGCATATGCCTGCTCTGACCGAGATCTTTGGGGATGATTCGGTACTACA
***** ***** ***** ***** * * * * *

gi | 18035 | emb | Z11973.1 | 1252
LOC_Os10g21268.1 1273
gi | 293027 | gb | L14073.1 | LAUDNA 1252
gi | 343506 | gb | M16867.1 | TOBCPRUB 1600

ATTTGGTGGAGGAACCTTTAGGACATCCTTGGGGAATGCACCTGGTGCAG
ATTTGGTGGAGGAACCTTTAGGACATCCTTGGGGTAATGCACCTGGTGCAG
GTTCCGGTGGAGGAACCTTTAGGGCACCCCTTGGAAAAATGCACCCGGTGCCG
GTTCCGGTGGAGGAACCTTTAGGACATCCTTGGGGTAATGCGCCAGGTGCCG
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

gi | 18035 | emb | Z11973.1 | 1302
LOC_Os10g21268.1 1323
gi | 293027 | gb | L14073.1 | LAUDNA 1302
gi | 343506 | gb | M16867.1 | TOBCPRUB 1650

CAGCTAATCGTGTGGCTTTAGAAGCCTGTGTACAAGCTCGTAACGAAGGG
CAGCTAATCGGGTGGCTTTAGAAGCCTGTGTACAAGCTCGTAACGAAGGG
TAGCTAATCGAGTAGCTCTAGAAGCATGTGTACAGGCTCGTAATGAGGGA
TAGCTAATCGACTAGCTCTAGAAGCATGTGTACAAGCTCGTAATGAAGGA
***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

gi | 18035 | emb | Z11973.1 | 1352
LOC_Os10g21268.1 1373
gi | 293027 | gb | L14073.1 | LAUDNA 1352
gi | 343506 | gb | M16867.1 | TOBCPRUB 1700

CGCGATCTTGCTCGTGAAGGTAATGAAATATCAAAGCAGCTTGCAAATG
CGCGATCTTGCTCGTGAAGGTAATGAAATATCCGATCAGCTTGCAAATG
CGCGATCTTGCTACTGAGGGTAATGAAATATCCGTGAGGCTACCAAATG
CGTGATCTTGCTCAGGAAGGTAATGAAATATTCGCGAGGCTTGCAAATG
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

gi | 18035 | emb | Z11973.1 | 1402
LOC_Os10g21268.1 1423
gi | 293027 | gb | L14073.1 | LAUDNA 1402
gi | 343506 | gb | M16867.1 | TOBCPRUB 1750

GAGTGTGAACTAGCCGCAGCTTGTGAAATATGGAAGGAGATCAAATTTG
GAGTCGTGAACTAGCCGCAGCTTGTGAAATATGGAAGCGATCAAATTCG
GAGTCTGAACTAGCTGCTGCTTGTGAAATATGGAAGGAGATTAATTTG
GAGCCCGGAACTAGCTGCTGCTTGTCAAGTATGGAAGGAGATCGTATTTA
*** ***** * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

gi | 18035 | emb | Z11973.1 | 1431
LOC_Os10g21268.1 1455
gi | 293027 | gb | L14073.1 | LAUDNA 1434
gi | 343506 | gb | M16867.1 | TOBCPRUB 1797

ATGGTTTCAAAGCGATGGATA--CCATATAA-----
AG---TTCGAGCCGGTAGATAAACTAGATAGCTAG-----
AG---TTTCAGGCAATGGATACTTTGGATCAATAA-----
AT---TTTGCAGCAGTGGACGTTTTGGATAAGTAAAAACAGTAGACATTA
* * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * * *

```

```

gi | 18035 | emb | Z11973.1 | -----
LOC_Os10g21268.1 | -----
gi | 293027 | gb | L14073.1 | LAUDNA | -----
gi | 343506 | gb | M16867.1 | TOBCPRUB | GCAGATAAATTAGCAGGAAATAAAGAAGGATAAGGAGAAAGAACTCAAGT
1847

```

```

gi | 18035 | emb | Z11973.1 | -----
LOC_Os10g21268.1 | -----
gi | 293027 | gb | L14073.1 | LAUDNA | -----
gi | 343506 | gb | M16867.1 | TOBCPRUB | AATTATCCTTCGTTCTCTTAATTGAATTGCAATTAACCTCGGCCAATCT
1897

```

```

gi | 18035 | emb | Z11973.1 | -----
LOC_Os10g21268.1 | -----
gi | 293027 | gb | L14073.1 | LAUDNA | -----
gi | 343506 | gb | M16867.1 | TOBCPRUB | TTTACTAAAAGGATTGAGCCGAATACACCAAAGATTCTATTGCATATATT
1947

```

```

gi | 18035 | emb | Z11973.1 | -----
LOC_Os10g21268.1 | -----
gi | 293027 | gb | L14073.1 | LAUDNA | -----
gi | 343506 | gb | M16867.1 | TOBCPRUB | TTGACTAAGTATATACTTACCTAGATATACAAGATTTGAAATACAAAATC
1997

```

```

gi | 18035 | emb | Z11973.1 | -----
LOC_Os10g21268.1 | -----
gi | 293027 | gb | L14073.1 | LAUDNA | -----
gi | 343506 | gb | M16867.1 | TOBCPRUB | TAGAAAACATAAATCAAATCTAAGACTCAAATCTTCTATTGTTGTTTTG
2047

```

```

gi | 18035 | emb | Z11973.1 | -----
LOC_Os10g21268.1 | -----
gi | 293027 | gb | L14073.1 | LAUDNA | -----
gi | 343506 | gb | M16867.1 | TOBCPRUB | GATCC 2052

```

## 7. การตรวจสอบการแสดงออกของยีนด้วย qRT-PCR

7.1 นำ cDNA ที่สร้างได้มาใช้เป็น template ในการทำ qRT-PCR ด้วยเครื่อง iCycler™ Thermal Cycler (Bio-Rad) โดยใช้ primer ที่ออกแบบให้จำเพาะต่อยีนอ้างอิง (*LsActin*) หรือต่อยีนที่ต้องการตรวจสอบระดับการแสดงออกของยีน (*LsrbcL*) ในการทำปฏิกิริยา

7.2 ในแต่ละปฏิกิริยาจะประกอบด้วย

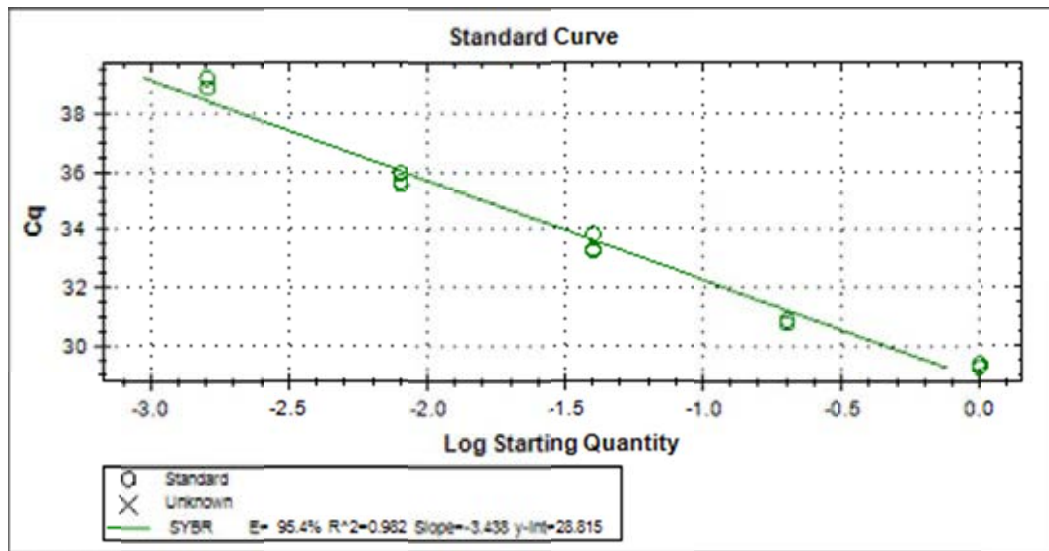
SsoFast™ EvaGreen® Supermix (Bio-Rad)	5 µl
cDNA	1 µl
5 µM Forward primer	0.5 µl
5 µM Reverse primer	0.5 µl
Sterile water	up to 10 µl

ทำการทดลอง 3 ซ้ำต่อหนึ่งตัวอย่างของ cDNA

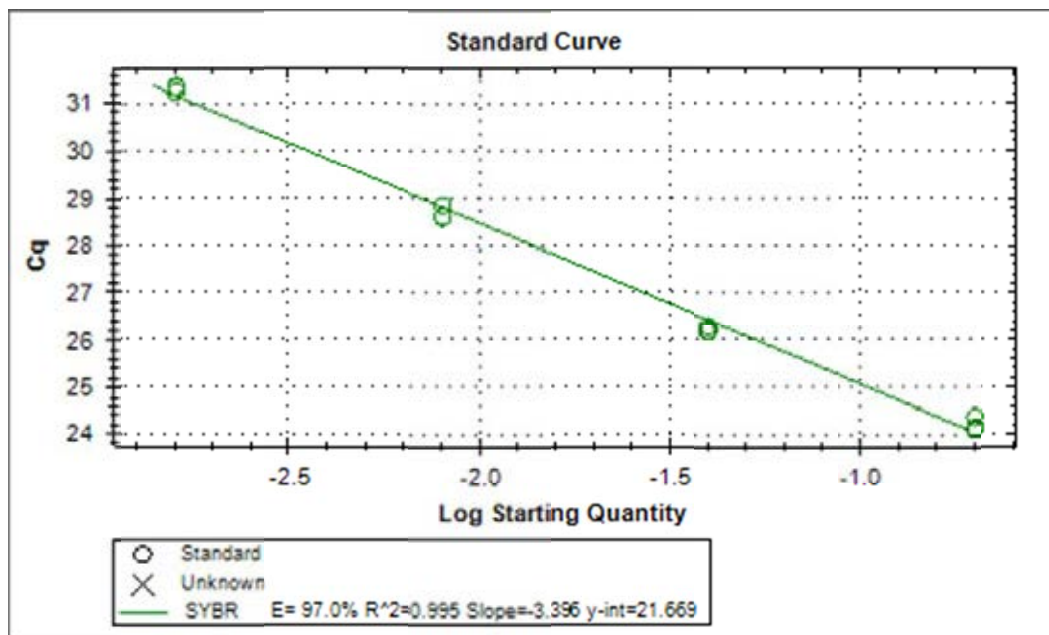
7.3 ทำปฏิกิริยาโดยเริ่มที่อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 30 วินาที แล้วทำ PCR อีก 39 รอบ ซึ่งแต่ละรอบประกอบด้วยอุณหภูมิและเวลาดังนี้ อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 5 วินาทีสำหรับการแยกสาย cDNA ตามด้วยขั้นตอนการจับคู่ของ primer กับ cDNA ที่อุณหภูมิจำเพาะซึ่งแตกต่างกันไปตาม primer ที่ใช้เป็นเวลา 5 วินาที หลังจากนั้นทำปฏิกิริยาเพื่อวิเคราะห์หาค่า melting curve โดยใช้อุณหภูมิในช่วง 65-95°C เพิ่มอุณหภูมิครั้งละ 0.5°C เป็นเวลา 5 วินาที

7.4 เปรียบเทียบระดับการแสดงออกของยีนที่ต้องการศึกษา (*LsrbcL*) ด้วยวิธีการเปรียบเทียบการแสดงออกสัมพัทธ์ (relative quantification) ของยีนในตัวอย่างที่ต้องการศึกษากับตัวอย่างที่เลือกมาเป็น control โดยมียีนอ้างอิงคือ *LsActin* ตามวิธีของ Pfaffl (2001) และใช้ค่าความชันของกราฟ (slope) ที่ได้จากกราฟมาตรฐานในการคำนวณ (ภาพที่ ข.1-2)

$$R = \frac{(E_{target})^{\Delta CP_{target}(control-sample)}}{(E_{ref})^{\Delta CP_{target}(control-sample)}}$$



ภาพที่ ข.1 แสดงกราฟมาตรฐานที่ได้จากการเพิ่มปริมาณของยีน ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase large subunit (*rbcL*) ในผักสลัดพันธุ์ Butterhead



ภาพที่ ข.2 แสดงกราฟมาตรฐานที่ได้จากการเพิ่มปริมาณของยีน Actin ในผักสลัดพันธุ์ Butterhead

ภาคผนวก ค



ตาราง ค.1 แสดงน้ำหนักสดต่อตันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูหนาวช่วงวันที่ 14 ธันวาคม 2552 – 28 มกราคม 2553

Treatment	Fresh weight, g $\pm$ SE
Control	102.35 $\pm$ 3.50 <sup>a</sup>
Chitosan O80, 5 mg/L	120.68 $\pm$ 3.50 <sup>b</sup>
Chitosan O80, 10 mg/L	119.48 $\pm$ 3.50 <sup>b</sup>
Chitosan O80, 20 mg/L	106.84 $\pm$ 3.50 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 5 mg/L	98.98 $\pm$ 3.50 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 10 mg/L	100.54 $\pm$ 3.50 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 20 mg/L	108.30 $\pm$ 3.50 <sup>a</sup>

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือตัวเลขที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

ตาราง ค.2 แสดงน้ำหนักสดต่อตันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูฝนช่วงวันที่ 1 มิถุนายน – 13 กรกฎาคม

2553

Treatment	Fresh weight, g $\pm$ SE
Control	69.51 $\pm$ 2.58 <sup>a</sup>
Chitosan O80, 5 mg/L	77.19 $\pm$ 2.58 <sup>b</sup>
Chitosan O80, 10 mg/L	68.70 $\pm$ 2.58 <sup>a</sup>
Chitosan O80, 20 mg/L	72.70 $\pm$ 2.58 <sup>ab</sup>
Chitosan P80, 5 mg/L	65.79 $\pm$ 2.58 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 10 mg/L	67.99 $\pm$ 2.58 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 20 mg/L	66.22 $\pm$ 2.58 <sup>a</sup>

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือตัวเลขที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT (P $\leq$ 0.05)

ตาราง ค.3 แสดงน้ำหนักสดต่อตันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูร้อนช่วงวันที่ 28 มีนาคม – 5 พฤษภาคม

2554

Treatment	Fresh weight, g $\pm$ SE
Control	74.02 $\pm$ 1.98 <sup>b</sup>
Chitosan O80, 5 mg/L	80.28 $\pm$ 1.98 <sup>c</sup>
Chitosan O80, 10 mg/L	73.71 $\pm$ 1.98 <sup>b</sup>
Chitosan O80, 20 mg/L	74.33 $\pm$ 1.98 <sup>bc</sup>
Chitosan P80, 5 mg/L	75.28 $\pm$ 1.98 <sup>bc</sup>
Chitosan P80, 10 mg/L	74.70 $\pm$ 1.98 <sup>bc</sup>
Chitosan P80, 20 mg/L	65.35 $\pm$ 1.98 <sup>a</sup>

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือตัวเลขที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT (P $\leq$ 0.05)

ตาราง ค.4 แสดงจำนวนใบต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูหนาวช่วงวันที่14 ธันวาคม 2552 – 28 มกราคม 2553

Treatment	Leaf number, leaf±SE
Control	31.75±0.79 <sup>a</sup>
Chitosan O80, 5 mg/L	35.17±0.79 <sup>b</sup>
Chitosan O80, 10 mg/L	35.67±0.79 <sup>b</sup>
Chitosan O80, 20 mg/L	35.67±0.79 <sup>b</sup>
Chitosan P80, 5 mg/L	32.08±0.79 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 10 mg/L	33.33±0.79 <sup>ab</sup>
Chitosan P80, 20 mg/L	33.83±0.79 <sup>ab</sup>

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือตัวเลขที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

ตาราง ค.5 แสดงจำนวนใบต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูฝนช่วงวันที่ 1 มิถุนายน – 13 กรกฎาคม 2553

Treatment	Leaf number, leaf±SE
Control	30.00±0.76 <sup>a</sup>
Chitosan O80, 5 mg/L	34.92±0.76 <sup>b</sup>
Chitosan O80, 10 mg/L	31.42±0.76 <sup>a</sup>
Chitosan O80, 20 mg/L	30.42±0.76 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 5 mg/L	31.00±0.76 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 10 mg/L	32.25±0.76 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 20 mg/L	30.42±0.76 <sup>a</sup>

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือตัวเลขที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

ตาราง ค.6 แสดงจำนวนใบต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูร้อนช่วงวันที่ 28 มีนาคม – 5 พฤษภาคม 2554

Treatment	Leaf number, leaf $\pm$ SE
Control	34.25 $\pm$ 0.60 <sup>a</sup>
Chitosan O80, 5 mg/L	37.42 $\pm$ 0.60 <sup>b</sup>
Chitosan O80, 10 mg/L	34.58 $\pm$ 0.60 <sup>a</sup>
Chitosan O80, 20 mg/L	34.92 $\pm$ 0.60 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 5 mg/L	35.08 $\pm$ 0.60 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 10 mg/L	34.42 $\pm$ 0.60 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 20 mg/L	34.08 $\pm$ 0.60 <sup>a</sup>

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือตัวเลขที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

ตาราง ค.7 แสดงความกว้างใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูหนาวช่วงวันที่ 14 ธันวาคม 2552 - 28 มกราคม 2553

Treatment	Leaf width, cm±SE
Control	11.94±0.18 <sup>a</sup>
Chitosan O80, 5 mg/L	12.06±0.18 <sup>a</sup>
Chitosan O80, 10 mg/L	12.62±0.18 <sup>b</sup>
Chitosan O80, 20 mg/L	12.14±0.18 <sup>ab</sup>
Chitosan P80, 5 mg/L	12.04±0.18 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 10 mg/L	12.43±0.18 <sup>ab</sup>
Chitosan P80, 20 mg/L	11.96±0.18 <sup>a</sup>

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือตัวเลขที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

ตาราง ค.8 แสดงความกว้างใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูฝนช่วงวันที่ 1 มิถุนายน – 13 กรกฎาคม

2553

Treatment	Leaf width, cm $\pm$ SE <sup>ns</sup>
Control	11.29 $\pm$ 0.26
Chitosan O80, 5 mg/L	12.12 $\pm$ 0.26
Chitosan O80, 10 mg/L	11.64 $\pm$ 0.26
Chitosan O80, 20 mg/L	11.52 $\pm$ 0.26
Chitosan P80, 5 mg/L	11.43 $\pm$ 0.26
Chitosan P80, 10 mg/L	11.47 $\pm$ 0.26
Chitosan P80, 20 mg/L	11.77 $\pm$ 0.26

<sup>ns</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยในชุดการทดลองต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ



ตาราง ค.9 แสดงความกว้างใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูร้อนช่วงวันที่ 28 มีนาคม – 5 พฤษภาคม

2554

Treatment	Leaf width, cm $\pm$ SE <sup>ns</sup>
Control	10.59 $\pm$ 0.22
Chitosan O80, 5 mg/L	10.88 $\pm$ 0.22
Chitosan O80, 10 mg/L	10.53 $\pm$ 0.22
Chitosan O80, 20 mg/L	10.83 $\pm$ 0.22
Chitosan P80, 5 mg/L	10.78 $\pm$ 0.22
Chitosan P80, 10 mg/L	10.28 $\pm$ 0.22
Chitosan P80, 20 mg/L	10.63 $\pm$ 0.22

<sup>ns</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยในชุดการทดลองต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตาราง ค.10 แสดงความยาวใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูหนาวช่วงวันที่14 ธันวาคม 2552 – 28 มกราคม 2553

Treatment	Leaf length, cm±SE
Control	16.00±0.28 <sup>ab</sup>
Chitosan O80, 5 mg/L	16.18±0.28 <sup>ab</sup>
Chitosan O80, 10 mg/L	16.74±0.28 <sup>bc</sup>
Chitosan O80, 20 mg/L	16.41±0.28 <sup>abc</sup>
Chitosan P80, 5 mg/L	16.80±0.28 <sup>bc</sup>
Chitosan P80, 10 mg/L	17.14±0.28 <sup>c</sup>
Chitosan P80, 20 mg/L	15.68±0.28 <sup>a</sup>

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือตัวเลขที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

ตาราง ค.11 แสดงความยาวใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูฝนช่วงวันที่ 1 มิถุนายน – 13 กรกฎาคม

2553

Treatment	Leaf length, cm±SE
Control	15.57±0.26 <sup>ab</sup>
Chitosan O80, 5 mg/L	16.51±0.26 <sup>c</sup>
Chitosan O80, 10 mg/L	16.27±0.26 <sup>bc</sup>
Chitosan O80, 20 mg/L	15.99±0.26 <sup>abc</sup>
Chitosan P80, 5 mg/L	15.25±0.26 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 10 mg/L	15.73±0.26 <sup>abc</sup>
Chitosan P80, 20 mg/L	16.48±0.26 <sup>c</sup>

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือตัวเลขที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

ตาราง ค.12 แสดงความยาวใบเฉลี่ยของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูร้อนช่วงวันที่ 28 มีนาคม – 5 พฤษภาคม

2554

Treatment	Leaf length, cm $\pm$ SE
Control	11.96 $\pm$ 0.24 <sup>ab</sup>
Chitosan O80, 5 mg/L	12.45 $\pm$ 0.24 <sup>c</sup>
Chitosan O80, 10 mg/L	11.81 $\pm$ 0.24 <sup>ab</sup>
Chitosan O80, 20 mg/L	11.93 $\pm$ 0.24 <sup>ab</sup>
Chitosan P80, 5 mg/L	12.08 $\pm$ 0.24 <sup>ab</sup>
Chitosan P80, 10 mg/L	12.19 $\pm$ 0.24 <sup>ab</sup>
Chitosan P80, 20 mg/L	11.60 $\pm$ 0.24 <sup>a</sup>

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือตัวเลขที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

ตาราง ค.13 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่มของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มี การให้โคโคซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูหนาวช่วงวันที่ 14 ธันวาคม 2552 – 28 มกราคม 2553

Treatment	Head diameter, cm $\pm$ SE
Control	24.10 $\pm$ 0.58 <sup>a</sup>
Chitosan O80, 5 mg/L	26.37 $\pm$ 0.58 <sup>bc</sup>
Chitosan O80, 10 mg/L	25.07 $\pm$ 0.58 <sup>ab</sup>
Chitosan O80, 20 mg/L	26.16 $\pm$ 0.58 <sup>bc</sup>
Chitosan P80, 5 mg/L	26.10 $\pm$ 0.58 <sup>bc</sup>
Chitosan P80, 10 mg/L	26.93 $\pm$ 0.58 <sup>c</sup>
Chitosan P80, 20 mg/L	25.73 $\pm$ 0.58 <sup>abc</sup>

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือตัวเลขที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

ตาราง ค.14 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่มของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มี การให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูฝนช่วงวันที่ 1 มิถุนายน – 13 กรกฎาคม 2553

Treatment	Head diameter, cm±SE
Control	28.76±0.43 <sup>a</sup>
Chitosan O80, 5 mg/L	30.57±0.43 <sup>c</sup>
Chitosan O80, 10 mg/L	30.13±0.43 <sup>bc</sup>
Chitosan O80, 20 mg/L	30.30±0.43 <sup>bc</sup>
Chitosan P80, 5 mg/L	29.80±0.43 <sup>abc</sup>
Chitosan P80, 10 mg/L	30.05±0.43 <sup>abc</sup>
Chitosan P80, 20 mg/L	29.20±0.43 <sup>ab</sup>

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือตัวเลขที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

ตาราง ค.15 แสดงเส้นผ่านศูนย์กลางหรือความกว้างของทรงพุ่มของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโคซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูร้อนช่วงวันที่ 28 มีนาคม – 5 พฤษภาคม 2554

Treatment	Head diameter, cm $\pm$ SE <sup>ns</sup>
Control	21.33 $\pm$ 0.30
Chitosan O80, 5 mg/L	21.25 $\pm$ 0.30
Chitosan O80, 10 mg/L	20.67 $\pm$ 0.30
Chitosan O80, 20 mg/L	20.63 $\pm$ 0.30
Chitosan P80, 5 mg/L	20.96 $\pm$ 0.30
Chitosan P80, 10 mg/L	20.71 $\pm$ 0.30
Chitosan P80, 20 mg/L	20.67 $\pm$ 0.30

<sup>ns</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยในชุดการทดลองต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตาราง ค.16 แสดงน้ำหนักแห้งต่อตันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูหนาวช่วงวันที่ 14 ธันวาคม 2552 – 28 มกราคม 2553

Treatment	Dry weight, g±SE
Control	3.640±0.169 <sup>ab</sup>
Chitosan O80, 5 mg/L	4.457±0.169 <sup>c</sup>
Chitosan O80, 10 mg/L	4.037±0.169 <sup>abc</sup>
Chitosan O80, 20 mg/L	3.803±0.169 <sup>ab</sup>
Chitosan P80, 5 mg/L	3.558±0.169 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 10 mg/L	3.615±0.169 <sup>ab</sup>
Chitosan P80, 20 mg/L	4.129±0.169 <sup>bc</sup>

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือตัวเลขที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )



ตาราง ค.17 แสดงน้ำหนักแห้งต่อตันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูฝนช่วงวันที่ 1 มิถุนายน – 13 กรกฎาคม

2553

Treatment	Dry weight, g±SE
Control	2.692±0.155 <sup>ab</sup>
Chitosan O80, 5 mg/L	3.248±0.155 <sup>c</sup>
Chitosan O80, 10 mg/L	3.140±0.155 <sup>bc</sup>
Chitosan O80, 20 mg/L	2.976±0.155 <sup>abc</sup>
Chitosan P80, 5 mg/L	2.871±0.155 <sup>abc</sup>
Chitosan P80, 10 mg/L	2.770±0.155 <sup>abc</sup>
Chitosan P80, 20 mg/L	2.588±0.155 <sup>a</sup>

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือตัวเลขที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT (P≤0.05)

ตาราง ค.18 แสดงน้ำหนักแห้งต่อตันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูร้อนช่วงวันที่ 28 มีนาคม – 5 พฤษภาคม

2554

Treatment	Dry weight, g±SE
Control	3.375±0.120 <sup>b</sup>
Chitosan O80, 5 mg/L	3.656±0.120 <sup>b</sup>
Chitosan O80, 10 mg/L	2.989±0.120 <sup>a</sup>
Chitosan O80, 20 mg/L	2.847±0.120 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 5 mg/L	3.620±0.120 <sup>b</sup>
Chitosan P80, 10 mg/L	3.340±0.120 <sup>b</sup>
Chitosan P80, 20 mg/L	2.927±0.120 <sup>a</sup>

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือตัวเลขที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT ( $P \leq 0.05$ )

ตาราง ค.19 แสดงน้ำหนักสดต่อต้นหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 10 วันที่อุณหภูมิ 8°C ของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูหนาวช่วงวันที่ 14 ธันวาคม 2552 – 28 มกราคม 2553

Treatment	Fresh weight after storage, g±SE
Control	101.11±3.49 <sup>a</sup>
Chitosan O80, 5 mg/L	119.24±3.49 <sup>b</sup>
Chitosan O80, 10 mg/L	117.20±3.49 <sup>b</sup>
Chitosan O80, 20 mg/L	104.36±3.49 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 5 mg/L	97.62±3.49 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 10 mg/L	98.73±3.49 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 20 mg/L	106.77±3.49 <sup>a</sup>

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือตัวเลขที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT (P≤0.05)

ตารางค.20 แสดงน้ำหนักสดต่อต้นหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 10 วันที่อุณหภูมิ 8°C ของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูฝนช่วงวันที่ 1 มิถุนายน – 13 กรกฎาคม 2553

Treatment	Fresh weight after storage, g±SE
Control	67.32±2.55 <sup>a</sup>
Chitosan O80, 5 mg/L	75.85±2.55 <sup>b</sup>
Chitosan O80, 10 mg/L	67.37±2.55 <sup>a</sup>
Chitosan O80, 20 mg/L	71.67±2.55 <sup>ab</sup>
Chitosan P80, 5 mg/L	64.45±2.55 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 10 mg/L	66.74±2.55 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 20 mg/L	65.07±2.55 <sup>a</sup>

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือตัวเลขที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT (P≤0.05)

ตาราง ค.21 แสดงน้ำหนักสดต่อต้นหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 8°C ของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูร้อนช่วงวันที่ 28 มีนาคม – 5 พฤษภาคม 2554

Treatment	Fresh weight after storage, g±SE
Control	72.04±1.97 <sup>bc</sup>
Chitosan O80, 5 mg/L	78.09±1.97 <sup>c</sup>
Chitosan O80, 10 mg/L	71.23±1.97 <sup>b</sup>
Chitosan O80, 20 mg/L	72.12±1.97 <sup>bc</sup>
Chitosan P80, 5 mg/L	73.54±1.97 <sup>bc</sup>
Chitosan P80, 10 mg/L	72.29±1.97 <sup>bc</sup>
Chitosan P80, 20 mg/L	63.64±1.97 <sup>a</sup>

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือตัวเลขที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT (P≤0.05)

ตาราง ค.22 แสดงการสูญเสียน้ำหนักสดหลังการเก็บเกี่ยวเป็นเวลา 10 วันที่อุณหภูมิ 8°C ของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูหนาวช่วงวันที่ 14 ธันวาคม 2552 – 28 มกราคม 2553

Treatment	% Weight loss, %±SE
Control	1.22±0.24 <sup>a</sup>
Chitosan O80, 5 mg/L	1.24±0.24 <sup>a</sup>
Chitosan O80, 10 mg/L	1.90±0.24 <sup>ab</sup>
Chitosan O80, 20 mg/L	2.50±0.24 <sup>b</sup>
Chitosan P80, 5 mg/L	1.36±0.24 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 10 mg/L	1.79±0.24 <sup>ab</sup>
Chitosan P80, 20 mg/L	1.44±0.24 <sup>a</sup>

ตาราง ค.23 แสดงการสูญเสียน้ำหนักสดหลังการเก็บเกี่ยวเป็นเวลา 10 วันที่อุณหภูมิ 8°C ของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูฝนช่วงวันที่ 1 มิถุนายน – 13 กรกฎาคม 2553

Treatment	% Weight loss, %±SE
Control	3.03±0.41 <sup>b</sup>
Chitosan O80, 5 mg/L	1.78±0.41 <sup>ab</sup>
Chitosan O80, 10 mg/L	2.01±0.41 <sup>ab</sup>
Chitosan O80, 20 mg/L	1.37±0.41 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 5 mg/L	2.01±0.41 <sup>ab</sup>
Chitosan P80, 10 mg/L	1.86±0.41 <sup>ab</sup>
Chitosan P80, 20 mg/L	1.80±0.41 <sup>ab</sup>

ตาราง ค.24 แสดงการสูญเสียน้ำหนักสดหลังการเก็บเกี่ยวเป็นเวลา 10 วันที่อุณหภูมิ 8°C ของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูร้อนช่วงวันที่ 28 มีนาคม – 5 พฤษภาคม 2554

Treatment	% Weight loss, % $\pm$ SE <sup>ns</sup>
Control	2.64 $\pm$ 0.51
Chitosan O80, 5 mg/L	2.73 $\pm$ 0.51
Chitosan O80, 10 mg/L	3.33 $\pm$ 0.51
Chitosan O80, 20 mg/L	3.05 $\pm$ 0.51
Chitosan P80, 5 mg/L	2.34 $\pm$ 0.51
Chitosan P80, 10 mg/L	3.23 $\pm$ 0.51
Chitosan P80, 20 mg/L	2.56 $\pm$ 0.51



ตาราง ค.25 แสดงคะแนนของลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมหลังการเก็บเกี่ยวเป็นเวลา 10 วันที่อุณหภูมิตั้งที่ 8°C ของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูหนาวช่วงวันที่ 14 ธันวาคม 2552 – 28 มกราคม 2553

Treatment	Overall appearance, score $\pm$ SE <sup>ns</sup>
Control	4.67 $\pm$ 0.12
Chitosan O80, 5 mg/L	5.00 $\pm$ 0.12
Chitosan O80, 10 mg/L	4.67 $\pm$ 0.12
Chitosan O80, 20 mg/L	4.67 $\pm$ 0.12
Chitosan P80, 5 mg/L	4.92 $\pm$ 0.12
Chitosan P80, 10 mg/L	4.67 $\pm$ 0.12
Chitosan P80, 20 mg/L	4.75 $\pm$ 0.12

<sup>ns</sup> หมายถึง ค่าเฉลี่ยในชุดการทดลองต่างๆ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตาราง ค.26 แสดงคะแนนของลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมหลังการเก็บเกี่ยวเป็นเวลา 10 วันที่อุณหภูมิตั้งที่ 8°C ของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้โคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูฝนช่วงวันที่ 1 มิถุนายน – 13 กรกฎาคม 2553

Treatment	Overall appearance, score±SE
Control	3.83±0.11 <sup>a</sup>
Chitosan O80, 5 mg/L	4.17±0.11 <sup>ab</sup>
Chitosan O80, 10 mg/L	4.25±0.11 <sup>b</sup>
Chitosan O80, 20 mg/L	4.33±0.11 <sup>b</sup>
Chitosan P80, 5 mg/L	4.08±0.11 <sup>ab</sup>
Chitosan P80, 10 mg/L	4.25±0.11 <sup>b</sup>
Chitosan P80, 20 mg/L	4.17±0.11 <sup>ab</sup>

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือตัวเลขที่แตกต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT (P≤0.05)

ตาราง ค.27 แสดงคะแนนของลักษณะภายนอกที่ปรากฏโดยรวมหลังการเก็บเกี่ยวเป็นเวลา 10 วันที่อุณหภูมิตั้งที่ 8°C ของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่มีการให้ไคโทซานที่ความเข้มข้นต่างๆ ลงในสารละลายธาตุอาหาร เมื่อปลูกในฤดูร้อนช่วงวันที่ 28 มีนาคม – 5 พฤษภาคม 2554

Treatment	Overall appearance, score±SE
Control	3.92±0.12 <sup>a</sup>
Chitosan O80, 5 mg/L	4.50±0.12 <sup>b</sup>
Chitosan O80, 10 mg/L	4.17±0.12 <sup>ab</sup>
Chitosan O80, 20 mg/L	4.08±0.12 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 5 mg/L	4.00±0.12 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 10 mg/L	4.08±0.12 <sup>a</sup>
Chitosan P80, 20 mg/L	3.83±0.12 <sup>a</sup>

\*ตัวอักษรที่อยู่เหนือตัวเลขที่ต่างกันแสดงความแตกต่างของค่าเฉลี่ยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี DMRT (P≤0.05)

ตาราง ค.28 t-test ของน้ำหนักสดต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดร-พอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูหนาว

Group Statistics

	Treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Fresh weight (g)	Control	25	115.3160	6.22822	1.24564
	O5	25	122.5132	11.26328	2.25266

Independent Samples Test

Fresh weight (g)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
O5	Equal variances assumed	12.283	.001	-2.796	48	.007**
	Equal variances not assumed			-2.796	37.422	.008**

\*\* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตาราง ค.29 t-test ของน้ำหนักสดต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดร-พอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูร้อน

Group Statistics

	Treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Fresh weight (g)	Control	25	107.9384	11.57191	2.31438
	O5	25	116.4920	9.20124	1.84025

Independent Samples Test

Fresh weight (g)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
O5	Equal variances assumed	1.528	.222	-2.893	48	.006**
	Equal variances not assumed			-2.893	45.681	.006**

\*\*มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตาราง ค.30 t-test ของน้ำหนักสดต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดร-พอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูฝน

Group Statistics

	Treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Fresh weight (g)	Control	25	133.4452	10.59958	2.11992
	O5	25	149.7576	10.84493	2.16899

Independent Samples Test

Fresh weight (g)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
O5	Equal variances assumed	.009	.923	-5.378	48	.000**
	Equal variances not assumed			-5.378	47.975	.000**

\*\* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตาราง ค.31 t-test ของน้ำหนักแห้งต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดร-พอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูหนาว

Group Statistics

	Treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Dry weight (g)	Control	25	6.272036	0.3782916	0.0756583
	O5	25	6.541640	0.6088026	0.1217605

Independent Samples Test

Dry weight (g)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
O5	Equal variances assumed	7.485	.009	-1.881	48	.066
	Equal variances not assumed			-1.881	40.128	.067

ตาราง ค.32 t-test ของน้ำหนักแห้งต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดร-พอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูร้อน

#### Group Statistics

	Treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Dry weight (g)	Control	25	7.758652	0.7236473	0.1447295
	O5	25	8.739864	0.5771493	0.1154299

#### Independent Samples Test

Dry weight (g)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
O5	Equal variances assumed	1.276	.264	-5.300	48	.000**
	Equal variances not assumed			-5.300	45.737	.000**

\*\* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%



ตาราง ค.33 t-test ของน้ำหนักแห้งต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดร-พอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูฝน

Group Statistics

	Treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Dry weight (g)	Control	25	9.411360	0.7016319	0.1403264
	O5	25	9.458628	0.9586861	0.1917372

Independent Samples Test

Dry weight (g)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
O5	Equal variances assumed	2.494	.121	-.199	48	.843
	Equal variances not assumed			-.199	43.978	.843

ตาราง ค.34 t-test ของปริมาณ ascorbic acid ต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูหนาว

Group Statistics

Treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Ascorbic acid control	25	8.518196	2.8445209	.5689042
(mg/100gFW) O5	25	9.963120	2.3514806	.4702961

Independent Samples Test

Ascorbic acid (mg/100gFW)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
O5	Equal variances assumed	2.658	.110	-1.958	48	.056
	Equal variances not assumed			-1.958	46.360	.056

ตาราง ค.35 t-test ของปริมาณ ascorbic acid ต่อดันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูร้อน

Group Statistics

Treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Ascorbic acid control	25	2.168144	0.6041678	0.1208336
(mg/100gFW) O5	25	6.364056	1.1099289	0.2219858

Independent Samples Test

Ascorbic acid (mg/100gFW)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
O5	Equal variances assumed	4.727	.035	-16.602	48	.000**
	Equal variances not assumed			-16.602	37.074	.000**

\*\* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตาราง ค.36 t-test ของปริมาณ ascorbic acid ต่อดันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูฝน

Group Statistics

Treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Ascorbic acid control	25	17.073220	3.8124081	0.7624816
(mg/100gFW) O5	25	22.672396	4.2408673	0.8481735

Independent Samples Test

Ascorbic acid (mg/100gFW)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
O5	Equal variances assumed	.007	.934	-4.909	48	.000**
	Equal variances not assumed			-4.909	47.466	.000**

\*\* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตาราง ค.37 t-test ของปริมาณ chlorophyll *a* ต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกส์แบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูหนาว

Group Statistics

Treatment		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Chlorophyll <i>a</i>	Control	25	42.6628	5.07334	1.01467
(mg/100gFW)	O5	25	45.4228	6.72522	1.34504

Independent Samples Test

Chlorophyll <i>a</i> (mg/100gFW)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
O5	Equal variances assumed	2.620	.112	-1.638	48	.108
	Equal variances not assumed			-1.638	44.634	.108

ตาราง ค.38 t-test ของปริมาณ chlorophyll *a* ต่อดั้งของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูร้อน

Group Statistics

Treatment		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Chlorophyll <i>a</i>	Control	25	42.5440	7.63086	1.52617
(mg/100gFW)	O5	25	40.6324	6.86586	1.37317

Independent Samples Test

Chlorophyll <i>a</i> (mg/100gFW)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
O5	Equal variances assumed	2.620	.112	-1.638	48	.108
	Equal variances not assumed			-1.638	44.634	.108

ตาราง ค.39 t-test ของปริมาณ chlorophyll *a* ต่อดั้งของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูฝน

Group Statistics

Treatment		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Chlorophyll <i>a</i>	Control	25	57.3648	6.44607	1.28921
(mg/100gFW)	O5	25	58.6176	7.45351	1.49070

Independent Samples Test

Chlorophyll <i>a</i> (mg/100gFW)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
O5	Equal variances assumed	.511	.478	-.636	48	.528
	Equal variances not assumed			-.636	47.022	.528

ตาราง ค.40 t-test ของปริมาณ chlorophyll *b* ต่อดันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูหนาว

Group Statistics

Treatment		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Chlorophyll <i>b</i>	Control	25	17.8356	4.65723	0.93145
(mg/100gFW)	O5	25	15.9728	2.47912	0.49582

Independent Samples Test

Chlorophyll <i>b</i> (mg/100gFW)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
O5	Equal variances assumed	.206	.652	1.765	48	.084
	Equal variances not assumed			1.765	36.590	.086



ตาราง ค.41 t-test ของปริมาณ chlorophyll *b* ต่อดันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูร้อน

Group Statistics

Treatment		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Chlorophyll <i>b</i>	Control	25	15.0784	2.55852	0.51170
(mg/100gFW)	O5	25	13.9916	2.57015	0.51403

Independent Samples Test

Chlorophyll <i>b</i> (mg/100gFW)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
O5	Equal variances assumed	.000	.983	1.498	48	.141
	Equal variances not assumed			1.498	47.999	.141

ตาราง ค.42 t-test ของปริมาณ chlorophyll *b* ต่อดันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูฝน

Group Statistics

Treatment		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Chlorophyll <i>b</i>	Control	25	20.5948	2.32058	0.46412
(mg/100gFW)	O5	25	20.0536	2.40249	0.48050

Independent Samples Test

Chlorophyll <i>b</i> (mg/100gFW)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
O5	Equal variances assumed	.165	.687	.810	48	.422
	Equal variances not assumed			.810	47.942	.422

ตาราง ค.43 t-test ของปริมาณ total carotenoid ต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูหนาว

Group Statistics

	Treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Total caroteniod (mg/100gFW)	Control	25	12.6752	1.89558	0.37912
	O5	25	11.1132	1.53998	0.30800

Independent Samples Test

Total caroteniod (mg/100gFW)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
O5	Equal variances assumed	.014	.905	3.198	48	.002**
	Equal variances not assumed			3.198	46.067	.003**

\*\* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตาราง ค.44 t-test ของปริมาณ total carotenoid ต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูร้อน

Group Statistics

	Treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Total caroteniod (mg/100gFW)	Control	25	9.7060	1.74711	0.34942
	O5	25	9.9040	1.52212	0.30442

Independent Samples Test

Total caroteniod (mg/100gFW)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
O5	Equal variances assumed	1.236	.272	-.427	48	.671
	Equal variances not assumed			-.427	47.116	.671

ตาราง ค.45 t-test ของปริมาณ total carotenoid ต่อดันของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูฝน

Group Statistics

Treatment		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Total caroteniod	Control	25	12.5496	1.41786	0.28357
(mg/100gFW)	O5	25	13.6100	1.59228	0.31846

Independent Samples Test

Total caroteniod (mg/100gFW)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
O5	Equal variances assumed	.389	.536	-2.487	48	.016*
	Equal variances not assumed			-2.487	47.368	.016*

\* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95%

ตาราง ค.46 t-test ของปริมาณเส้นใยต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูหนาว

#### Group Statistics

	Treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Total fiber (%)	Control	25	1.387664	0.4574295	0.0914859
	O5	25	.973372	0.2582000	0.0516400

#### Independent Samples Test

Total fiber (%)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
O5	Equal variances assumed	2.303	.136	3.944	48	.000**
	Equal variances not assumed			3.944	37.884	.000**

\*\* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตาราง ค.47 t-test ของปริมาณเส้นใยต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูร้อน

Group Statistics

	Treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Total fiber (%)	Control	25	1.024668	0.2302447	0.0460489
	O5	25	.612672	0.2018465	0.0403693

Independent Samples Test

Total fiber (%)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
O5	Equal variances assumed	.003	.958	6.728	48	.000**
	Equal variances not assumed			6.728	47.192	.000**

\*\* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%

ตาราง ค.48 t-test ของปริมาณเส้นใยต่อต้นของผักสลัดพันธุ์ Butterhead ที่ปลูกเลี้ยงด้วยระบบไฮโดรพอนิกแบบ Nutrient Film Technique (NFT) ในแปลงเกษตรกร เมื่อปลูกเลี้ยงในฤดูฝน

Group Statistics

	Treatment	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Total fiber (%)	Control	25	.7904	0.45355	0.09071
	O5	25	1.0532	0.14050	0.02810

Independent Samples Test

Total fiber (%)		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means		
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)
O5	Equal variances assumed	18.634	.000	-2.767	48	.008**
	Equal variances not assumed			-2.767	28.564	.010**

\*\* มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99%



### ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวกานต์สินี หังสพฤกษ์ เกิดวันที่ 1 เมษายน พ.ศ. 2531 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมจากโรงเรียนสาธิตมหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม ในปีการศึกษา 2548 เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรปริญญาบัณฑิต สาขาพฤกษศาสตร์ ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2549 และเข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท หลักสูตรพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2553 ระหว่างการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ได้รับทุนอุดหนุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อเฉลิมฉลองวโรกาสที่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวทรง เจริญพระชนมายุครบ 72 พรรษา ประจำปี 2553