วิจารณ์ผลการทดลอง

การโคลนยีน CHI และ GLU จาก cDNA

ชนิดของ primers ที่สามารถใช้ในการโคลนยีน Chitinase และ Glucanase คือ Chi2F1 (5'-CGGATGCTGAGTTTTAGG-3') กับ Chi2P-R2 (5'-CCCCTTATTTATTACTGTCATCTCC-3') และ GluP2-F (5'-GCTAGGGAACAACTTGCCACCAGCATCAC-3') กับ GluP2-R (5'-CTATCAGAAAACCCAAGTTGAGTGG-3') GLU ตามลำดับ โดยขนาดนิวคลีโอไทด์ของ Chitinase และ Glucanase ของพริกที่ได้มีความยาวเท่ากับ 980 bp และ 665 bp ตามลำดับ ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์ homology กับ Chitinase gene (accession no. AY775335) และ β-1,3-Glucanase gene (accession no. AF227953) ของพริก DNA data base เท่ากับ 94.887% และ 99.184% ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่ายีน Chitinase และ Glucanase ที่โคลนได้ในการทดลองนี้เป็นยีน Chitinase และ Glucanase ของพริกจริง

ชนิดของ primers ที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ทำ Real-time PCR

การทดสอบชนิดของ primers ที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ทำ Real-time PCR พบว่า ชุด primers CHI-F (5'-CACCAGCAGATAGGTCAGCA-3') และ CHI-R (5'-TCCAGTGGGAACATTCAACA-3') สามารถเพิ่มปริมาณ CHI gene จาก cDNA ของพริกได้ โดยมีขนาด PCR product เท่ากับ 157 bp และพบว่าชุด primers GLU-F1 (5'-TTTCTTCTTCCTGCCATGAG-3') และ GLU-R1 (5'-GGTGGAAAAGAGTTCCCAAT-3') สามารถเพิ่มปริมาณ GLU gene จาก cDNA ของพริกได้ โดยมีขนาด PCR product เท่ากับ 116 bp

การแสดงออกของยีน CHI และ GLU ของในพริก

การแสดงออกของยีน Chitinase และ β-1,3-glucanase ในใบพริกพันธุ์ CA1131 พิจารณาจากระดับ transcription level พบว่าการฉีดพ่นใบพริกด้วยเส้นใยเชื้อราอบแห้งและ BTH สามารถกระตุ้นหรือชักนำความต้านทานต่อโรคของพริกได้ โดยพบว่ามีผลทำให้ยีน Chitinase มีการแสดงออกเพิ่มสูงขึ้นกว่าใบพริกที่ฉีดพ่นด้วยน้ำ โดยเฉพาะการฉีดพ่นด้วยเส้นใยอบแห้งสามารถชักนำการแสดงออกของยีน Chitinase ได้ดีกว่าการใช้ BTH อย่างไรก็ตามพบว่า การฉีดพ่นใบพริกด้วยเส้นใยเชื้อราอบแห้งและ BTH ไม่มีผลกระตุ้นหรือชักนำการแสดงออกของยีน β-1,3-glucanase แต่กลับมีผลยับยั้งการแสดงออกของยีน β-1,3-glucanase

กิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคในผลพริก

ในการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase, Phenylalanine ammonia lyase, β-1,3-glucanase และ Chitinase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับความต้านทานโรคของพืช โดยทำการศึกษาในผลพริกพันธุ์การค้า 2 พันธุ์คือ พันธุ์จินดาซึ่งเป็นพันธุ์ต้านทานและพันธุ์บางช้างซึ่งเป็นพันธุ์อ่อนแอ พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase ในพริกพันธุ์จินดานั้นมีสูงกว่าพริกพันธุ์บางช้างเมื่อยังไม่ได้ปลูกเชื้อราแต่เมื่อปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ลงในพริกทั้ง 2 พันธุ์ พบว่าพันธุ์บางช้างมีกิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase สูงกว่าพริกพันธุ์จินดา ซึ่งคล้ายคลึงกับการทดลองของ Reuveni และ Ferreira (1985) ที่พบว่ามะเขือเทศพันธุ์ต้านทานมีกิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase สูงกว่าของพันธุ์อ่อนแอ และเมื่อนำราก ใบ และลำต้นของมะเขือเทศมาทำการปลูกเชื้อ *Capsicum annuum* พบว่าปฏิกิริยาของเอนไซม์เพิ่มมากขึ้นทั้งในพันธุ์อ่อนแอและพันธุ์ต้านทาน และในการทดสอบความต้านทานต่อโรคของผักกวางตุ้งพันธุ์ต้านทานและพันธุ์อ่อนแอ โดยใช้สาร Bion (Benzothiadiazole) ซึ่งเป็นสารที่สามารถชักนำให้พืชเกิดความต้านทานแบบ systemic resistance และสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Curvularia* sp. ซึ่งเป็นการควบคุมโรคแบบชีววิธี มากระตุ้นความต้านทานต่อโรค โดยทำการฉีดพ่นสาร Bion และเชื้อรา *Curvularia* sp. ในผักกวางตุ้งพันธุ์ต้านทาน และพันธุ์อ่อนแอ จากนั้นทิ้งไว้ 24
ชั่วโมง แล้วฉีดพ่นด้วยสปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Alternaria brassicicola* สาเหตุของโรคใบจุดจากนั้นตรวจวัดกิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase และ Polyphenol oxidase พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในผักกวางตุ้งพันธุ์อ่อนแอ และสูงกว่าผักกวางตุ้งพันธุ์ต้านทาน (เทอดพันธ์ และคณะ, 2548) เอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase เป็นเอนไซม์ตัวแรกใน phenylpropanoid pathway ที่มีความสัมพันธ์ในการผลิตสารประกอบ phenolic เช่น สาร phytoalexin ซึ่งมีประสิทธิภาพในการป้องกันพืชจากการเข้าทำลายของเชื้อสาเหตุโรคพืช หรือ สาร lignin ซึ่งจะมีการสะสมในเนื้อพืชที่ได้รับความเสียหายจากการเข้าทำลายของเชื้อโรคหรือเมื่อเกิดบาดแผล (Uritani และ Oba, 1978) พบว่าพริกพันธุ์บางช้างที่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* มีกิจกรรมของเอนไซม์ Phenylalanineammonia lyase สูงกว่าพริกพันธุ์บางช้างที่ไม่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* โดยมีค่าเท่ากับ 0.0186 และ 0.0124 unit/mg protein ตามลำดับ ส่วนพริกพันธุ์จินดาที่ปลูกเชื้อรา ตามลำดับ มีกิจกรรมของเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase สูงกว่าและพริกพันธุ์จินดาที่ไม่ปลูกเชื้อ *C.gloeosporioides* โดยมีค่าเท่ากับ 0.0016 และ 0.0008 unit/mg protein ตามลำดับ แต่ปริมาณของเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase ที่พบทั้งหมดนั้นมีปริมาณที่ต่ำมาก และไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติระหว่างพริกที่ปลูกเชื้อรา และไม่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase อาจจะไม่ได้เป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการป้องการเกิดโรคในพริก โดยการเปลี่ยนแปลงที่พบนั้นสอดคล้องกับรายงานของ Sharp และคณะ

(1990) ที่พบว่ากิจกรรมเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase ในใบถั่วที่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไม่มีความแตกต่างจากใบถั่วปกติ และรัตตา อเนกธนโชติ (2542) ที่ทำการศึกษาการงอกของสปอร์และการเข้าทำลายของเชื้อรา *C.capsici* บนผลพริกพันธุ์บางช้าง และพริก CA 446 ผลปรากฏว่าไม่พบการสร้างสาร callose, lignin และ polyphenolic compound ในพริกทั้ง 2 พันธุ์ ซึ่งสารเหล่านี้ที่เกิดจากการทำงานของกิจกรรมเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase นั้นแสดงให้เห็นว่าในผลพริกเหล่านี้ไม่น่าจะมีกิจกรรมของเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase กิจกรรมของเอนไซม์ β-1,3-glucanase และ Chitinase ในพริกพันธุ์บางช้างที่ไม่ปลูกเชื้อมีกิจกรรมของเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดสูงกว่าพันธุ์จินดา แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ และเมื่อปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* ในพริกทั้ง 2 พันธุ์นาน 6 ชั่วโมง พบว่าพริกทั้ง 2 พันธุ์มีกิจกรรมของเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดเพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยพริกพันธุ์จินดามีกิจกรรมของเอนไซม์สูงกว่าพันธุ์บางช้าง ซึ่งจะเห็นได้ว่ากิจกรรมของเอนไซม์ β-1,3-gucanase และ Chitinase สามารถกระตุ้นให้สร้างขึ้นได้เมื่อเกิดการเข้าทำลายของเชื้อ นอกจากนี้ยังสามารถกระตุ้นให้สร้างได้เมื่อเกิดบาดแผล เกิดภาวะกดดันจากสารเคมีและสิ่งแวดล้อม (David, 1993) มีการศึกษาถึงการปลูกเชื้อรา *Colletotrichum lagenarium* ลงบนแตงเทศพันธุ์อ่อนแอ พบว่ามีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ Chitinase เพิ่มขึ้นภายใน 4 วันหลังจากการปลูกเชื้อ โดยเอนไซม์ที่พบนี้เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม exo-chitinolytic และ endo-chitinolyticactivity (Roby และ Esquerre –Tugaye, 1987) และ Leah และคณะ (1991) ยังพบอีกว่าการปลูกเชื้อรา *Cladosporium fulvum* และ *Fusarium oxysporum* กับมะเขือเทศพันธุ์ต้านทานสามารถกระตุ้นการสร้างเอนไซม์ β-1,3-glucanase และ Chitinase

ผลของสารละลายไคโตแซนต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสและลักษณะทางกายภาพ/สรีระวิทยาของพริก

การเกิดโรคแอนแทรคโนสบนผลพริก พบว่าทุกทรีตเมนท์มีแนวโน้มการเกิดโรคเพิ่มขึ้นตลอดอายุการเก็บรักษา โดยพริกที่ทำแผล ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน มีการเกิดโรคสูงกว่าพริกที่ทำแผล ปลูกเชื้อ *C. gloeosporioides* เคลือบสารละลายไคโตแซนร้อยละ 1.2 และ 1.6 จากผลการทดลองนี้ พบว่าสารละลายไคโตแซนสามารถชะลอความรุนแรงของโรคได้ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Jiaming และคณะ (1997) พบว่าไคโตแซนความเข้มข้นร้อยละ 1 vสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Botrytis cinerea* เชื้อราที่แยกได้จากโรคผลเน่าของลูกแพร์พันธุ์ Housui และชะลอการเน่าเสียภายหลังการเก็บเกี่ยวในแพร์ พีช และกีวีฟรุตซ์ได้ อย่างไรก็ตามพบว่าการใช้ ไคโตแซนความเข้มข้นสูงจะทำให้เกิดความเสียหายในผลพริกที่ทำแผล ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* และเคลือบสารละลายไคโตแซนที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.6 คือ ทำให้พริกมีกลิ่นหมักเกิดขึ้น เนื่องจากความเข้มข้นที่สูงเกินไปหรือ

หนาเกินไปของสารเคลือบผิว การเคลือบผิวที่ความเข้มข้นสูงเกินไปทำให้ปริมาณออกซิเจนภายในผลผลิตต่ำเกินไป อาจทำให้เกิดการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน ส่งผลให้เกิดการสะสมแอลกอฮอล์ และอะเซตัลดีไฮด์ และทำให้ผลิตผลเกิดกลิ่นผิดปกติ (จริงแท้ ศิริพานิช, 2538) การเปลี่ยนแปลงอัตราการหายใจในการทดลองนี้พบว่าพริกทุกทรีตเมนท์มีแนวโน้มการหายใจเพิ่มมากขึ้นตลอดอายุการเก็บรักษา โดยพริกที่ทำแผลปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* มีอัตราการหายใจสูงกว่าพริกที่ไม่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* และพริกที่ไม่ทำแผลมีอัตราการหายใจสูงกว่าพริกที่ทำ แผล ไม่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ซึ่งแสดงให้เห็นว่าทำบาดแผลไม่มีผลต่ออัตราการหายใจที่เพิ่มสูงขึ้น ซึ่งขัดแย้งกับการทดลองอื่น และยังไม่แน่ใจว่าเกิดจากอะไร แต่อย่างไรก็ตามเมื่อปลูกเชื้อลงไปในพริกอัตราการหายใจของพริกก็จะสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการผลิตเอทิลีนที่เพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากความเครียดของพืชที่เกิดจากปัจจัยต่างๆ เช่น สารเคมี ความแห้งแล้ง น้ำท่วม การเข้าทำลายของโรคและแมลง นั้นสามารถกระตุ้นอัตราการหายใจของพืชให้เพิ่มสูงขึ้นกว่าภาวะปกติ (จริงแท้ ศิริพานิช,2538) ส่วนพริกที่เคลือบสารละลายไคโตแซนร้อยละ 1.2 พบว่ามีอัตราการหายใจต่ำกว่าทรีตเมนท์อื่นๆ ตั้งแต่วันที่ 6 จนถึงวันที่ 18 ของการเก็บรักษา เนื่องจากการเคลือบผลพริกมีผลให้เกิดสภาวะบรรยากาศดัดแปลง (Modified atmosphere, MA) ขึ้นรอบๆผลผลพริก ซึ่งสภาพดังกล่าวสามารถชะลออัตราการหายใจได้ (Castrillo และ Bermudez, 1993; Nisperos และ Baldwin, 1996) การผลิตเอทิลีนพบว่าพริกที่เคลือบสารละลายไคโตแซนมีการผลิตเอทิลีนต่ำกว่าพริกที่ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน เนื่องการเคลือบผิวจะจำกัดการแลกเปลี่ยนก๊าซภายในผลิตผล ทำให้ออกซิเจนที่ใช้ในกระบวนการผลิตผลิตเอทิลีนน้อยลง ดังนั้นเมื่อออกซิเจนน้อยลงการผลิตเอทิลีนก็น้อยลงด้วยนอกจากนี้ยังทำให้ปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดจากการหายใจมีมากและมีผลไปยับยั้งการทำงานของเอทิลีน เพราะเอทิลีนความเข้มข้นเพียงเล็กน้อยสามารถเร่งให้ผลไม้เกิดการหายใจมากขึ้นและชักนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการสุก (สายชล เกตุษา, 2528) ซึ่งเอทิลีนเป็นฮอร์โมนพืชชนิดเดียวที่มีสถานะเป็นก๊าซ จึงสามารถแพร่กระจายไปยังส่วนต่างๆของพืชได้ง่ายทำให้มีอิทธิพลค่อนข้างกว้างต่อการพัฒนาของพืช และการเปลี่ยนแปลงทางสรีระของผลิตผลภายหลังการเก็บเกี่ยว (จริงแท้ ศิริพานิช, 2538)

การเปลี่ยนแปลงสีของผลพริก พบว่าการเปลี่ยนแปลงค่าความสว่าง (L) และค่าสีแดง (a) ในพริกทุก ทรีตเมนท์มีแนวโน้มลดลงเมื่อเก็บรักษานานขึ้น เนื่องการเกิดโรคทำให้สีของผลพริกคล้ำลง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารละลายไคโตแซนไม่มีผลช่วยชะลอการเปลี่ยนสีของผลพริก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของนันท์ชนก และคณะ (2545) ที่ทำการเคลือบสารละสายไคโตแซนลงบนผลส้มโอ จากนั้นเก็บรักษานาน 28 วัน พบว่าสารละลายไคโตแซนไม่มีผลช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงสีของเปลือกส้มโอเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมการเปลี่ยนแปลงความแน่นเนื้อในผลพริก พบว่าทุกทรีตเมนท์มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลง

ความแน่นเนื้อลดลงตลอดอายุการเก็บรักษา โดยพริกที่เคลือบสารละสายไคโตแซนมีการเปลี่ยนแปลงความแน่นเนื้อช้ากว่าพริกที่ไม่เคลือบสารละสายไคโตแซน แสดงว่าสารละลายไคโตแซนสามารถชะลอการเปลี่ยนแปลงความแน่นเนื้อได้ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงความแน่นเนื้อนั้นมีความสัมพันธ์กับการสุก เนื่องจากพริกมีการหายใจและการผลิตเอทิลีนเพิ่มสูงขึ้น ทำให้มีการสุกเกิดขึ้น เมื่อพริกสุกเนื้อพริกจะนิ่มลงเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงของโมเลกุลต่างๆ ภายในผนังเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเพคตินทำให้เกิดการอ่อนนิ่มของเนื้อเยื่อ กระบวนการอ่อนตัวของผลพริกมีผลมาจากการชราภาพ และการยุบตัวของผนังเซลล์ (Lizada, 1993) เป็นผลมาจากมาจากเพคตินที่อยู่ในรูปไม่ละลายน้ำ (protopectin) เปลี่ยนไปเป็นเพคตินที่ละลายน้ำได้ (pectinic acid) จากการทำงานของเอนไซม์ polygalacturonase (PG) และ pectin esterase (PE) (Roe และ Bruemmer, 1981; จิรา ณ หนองคาย, 2531; ธรรมภรณ์ ประภาสะวัติ, 2534) การสูญเสียน้ำหนักของพริก พบว่าพริกทุกทรีตเมนท์มีแนวโน้มการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นตลอดอายุการเก็บรักษา โดยพริกที่ไม่ได้เคลือบสารละลายไคโตแซนมีการสูญเสียน้ำหนักมากกว่าพริกที่เคลือบสารละลาย ไคโตแซน แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ แสดงว่าสารละลายไคโตแซนไม่สามารถชะลอการสูญเสียน้ำหนักได้ ซึ่งการสูญเสียน้ำหนักสัมพันธ์กับอัตราการหายใจของพริก เนื่องจากภายหลังการเก็บเกี่ยวสารอาหารและน้ำจะถูกใช้ในขบวนการหายใจ ขณะเดียวกันการหายใจทำให้เกิดความร้อนและมีการคายน้ำออกมาส่งผลให้เกิดการสูญเสียน้ำเพิ่มขึ้น (จริงแท้ ศิริพานิช, 2538) ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ นันท์ชนก และคณะ (2545) ที่ทำการเคลือบสารละสายไคโตแซนลงบนผลส้มโอ จากนั้นเก็บรักษานาน 28 วัน พบว่าสารละลายไคโตแซนไม่มีผลช่วยชะลอการสูญเสียน้ำหนักของผลส้มโอเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมการเน่าของขั้วผล พบว่าทุกทรีตเมนท์มีแนวโน้มการเน่าบริเวณขั้วผลเพิ่มขึ้นตลอดอายุการเก็บรักษา โดยพบว่าพริกที่เคลือบสารละลายไคโตแซนมีการเน่าของขั้วผลสูงกว่าพริกที่ไม่เคลือบไคโตแซน ซึ่งสามารถเห็นได้อย่างชัดเจนในวันที่ 9 ของการเก็บรักษา สาเหตุของการเน่าอาจเกิดจากความเข้มข้นของสารละลายไคโตแซนที่ใช้นั้นสูงเกินไป ทำให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะกับขั้วผลของพริก หรืออาจเกิดจากค่าความเป็นกรดด่างของสารละลายไคโตแซนมีค่าความเป็นกรดด่างต่ำคือประมาณ 3.0 ทำให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะกับขั้วผลของพริกและชักนำให้เกิดการเน่าของขั้วผลพริกได้สูงกว่าทรีตเมนท์อื่นๆ ที่ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซน ดังนั้นการใช้สารเคลือบผิวต้องเลือกความเข้มข้นให้เหมาะสมกับชนิดของผักและผลไม้ด้วย (จริงแท้ ศิริพานิช, 2538)การเปลี่ยนแปลงสีของขั้วผลมีดังนี้คือ การเปลี่ยนแปลงค่าความสว่าง (L) และค่าสีเหลือง (b) ที่ขั้วผลพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นในช่วงแรก และหลังจากนั้นก็จะเริ่มลดลงอย่างชัดเจนจนถึงวันสุดท้ายของการเก็บรักษา ซึ่งการเพิ่มขึ้นของค่าความสว่าง (L) และค่าสีเหลือง (b) ในการเก็บรักษาช่วงแรกนั้นมีผลมาจากการเปลี่ยนแปลงของสีขั้วผลที่เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง เนื่องจากการสลายตัวของคลอโรฟิลล์ไปเป็นสารที่ไม่มีสี ทำให้เห็นสีเหลืองของแคโรทีนอยด์ที่มีอยู่ก่อนแล้ว (อุมา

พันธ์จิราภรณ์, 2533; Bosland, 1996) ส่วนการเปลี่ยนแปลงช่วงที่ 2 เป็นผลมาจากการเน่าเสียของขั้วผล ทำให้สีของขั้วผลคล้ำลง ดังนั้นค่าความสว่าง (L) ค่าสีเหลือง (b) จึงลดลง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงสีอาจเกิดจากการทำลายเม็ดสีเดิมเพียงอย่างเดียวหรือสร้างเม็ดสีใหม่สร้างแทนที่เม็ดสีเดิม (Leopold และ Kriedeman, 1975; Coombe, 1976) หรืออาจมีผลมาจากการเน่าเสีย โดยการเข้าทำลายของเชื้อจุลินทรีย์ทำให้ความสดและสีของผักผลไม้คล้ำลง นอกจากนี้การใช้สารเคลือบผิวต้องเลือกความเข้มข้นให้เหมาะสมกับผักผลไม้ด้วย ทั้งนี้เพราะคุณสมบัติของสารเคลือบผิวแต่ละชนิดไม่เหมือนกัน ซึ่งมีผลทำให้ผลิตผลเกิดอาการผิดปกติ และรสชาติผิดไปด้วย (จริงแท้ ศิริพานิช, 2538)

ผลของการใช้สารละลายไคโตแซนต่อการชักนำกิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase, Phenylalanine ammonia lyase, β-1,3- glucanase และ Chitinase ของผลพริก

จากการทดลองพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase ในพริกทุกทรีตเมนท์จะค่อยเพิ่มขึ้นและสูงสุด

ในชั่วโมงที่ 24 จากนั้นจะลดต่ำลง ซึ่งในพริกทำแผลและปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* มีกิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase เพิ่มสูงขึ้นมากกว่าพริกที่ทำแผลอย่างเดียวภายใน 18 ชั่วโมงแรก ส่วนพริกที่เคลือบสารละลาย

ไคโตแซนสามารถกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase ได้ในชั่วโมงที่ 12 ของการเก็บรักษา และพบว่าพริกที่ไม่ทำแผล ไม่ปลูกเชื้อรา และไม่เคลือบสารละลายไคโตแซนนั้นมีกิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับพริกในทรีตเมนท์อื่นๆ ซึ่งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้นนั้นอาจมีผลมาจากการเข้าทำลายของเชื้อโรคที่ปนเปื้อนในผลพริกตั้งแต่ในแปลงหรือระหว่างการขนส่งซึ่งไม่สามารถ

ควบคุมได้ในการทดลองนี้ โดยกิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase นั้นมีบทบาทในการสร้าง lignin และ hydroxyproline ซึ่งจากรายงานของ Sharp และคณะ (1990) ที่ทดลองปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* ในใบถั่ว พบว่ามีการเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase ทั้งใบถั่วพันธุ์ต้านทานและอ่อนแอเมื่อเทียบกับในใบปกติที่ไม่ได้ปลูกเชื้อ จากนั้นทำการศึกษาความ

แตกต่างของกิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase ในแต่ละปฏิกิริยาการเกิดโรค พบว่าการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมเอนไซม์ Peroxidase ไม่ได้เป็นสาเหตุของความต้านทานโรค แต่เป็นเพียงปฏิกิริยาที่ไม่เฉพาะเจาะจงในการตอบสนองต่อสิ่งกระตุ้นโดยทั่วไปของพืช และจากการศึกษาของ Ben-Shalom และคณะ (2002)โดยทำการศึกษาในต้นแตงกวาที่ไม่ปลูกเชื้อรา *B. cinerae* ฉีดพ่นสารละลายไคโตแซน และต้นแตงกวาที่ปลูกเชื้อรา *B. cinerae* แล้วฉีดพ่นด้วยสารละลายไคโตแซน เป็นเวลา ชั่วโมง จากนั้นนำมาศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase พบว่าสารละลายไคโตแซนไม่สามารถชักนำกิจกรรมของเอนไซม์

Peroxidase ได้ในกรณีที่ไม่ทำการปลูกเชื้อ *B. cinerae* แต่ในกรณีที่ทำการปลูกเชื้อ *B. cinerae* พบว่าจะมีการทำกิจกรรมของเอนไซม์เพิ่มสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่าสารละลายไคโตแซนเพียงอย่างเดียวไม่สามารถชักนำกิจกรรมของเอนไซม์ Peroxidase ได้

กิจกรรมของเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase ในพริกพันธุ์จินดาที่ไม่เคลือบสารละลายไคโตแซนมีปริมาณสูงกว่าพริกที่เคลือบสารละลายไคโตแซนตลอดอายุการเก็บรักษา ซึ่งจากรายงานของ Sharp และคณะ (1990) พบว่าไม่มีความแตกต่างของกิจกรรมเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyase ในใบถั่วที่ปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* เมื่อเทียบกับใบถั่วปกติ และสอดคล้องกับ รัตตา อเนก ธนโชติ (2542) ที่ทำการศึกษาการงอกและการเข้าทำลายของเชื้อรา *C. capsici* บนผลพริกพันธุ์บางช้างและพริก CA 446 โดยไม่พบการสร้างสาร callose, lignin และ polyphenolic compound ซึ่งเป็นสารที่เกิดจากการทำงานของเอนไซม์ Phenylalanine ammonia lyaseจากการทดลองพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ β-1,3-glucanase และ Chitinase ของพริกที่ทำแผล และปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* สามารถกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ β-1,3- glucanase และ Chitinase โดยพริกที่ทำแผล และปลูกเชื้อรา *C. gloeosporioides* สามารถกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ β-1,3-glucanase และ Chitinase ได้รวดเร็วกว่าพริกที่ทำแผลอย่างเดียว นอกจากนี้ยังพบว่าสารละลายไคโตแซนนั้นไม่สามารถกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ β-1,3-glucanase และ Chitinase ซึ่งสอดคล้องกับ Giannakis และคณะ (1998) ที่ศึกษาพันธุ์องุ่นที่ใช้ผลิตไวน์จำนวน 21 สายพันธุ์ ว่าสายพันธุ์ใดที่มีความสามารถในการต้านทานต่อโรคราแป้งที่เกิดจากเชื้อรา *Uncinula necator* องุ่นพันธุ์ที่ต้านทานจะมีกิจกรรมของเอนไซม์ β-1,3-glucanase และ Chitinase เพิ่มสูงขึ้นเมื่อมีการบุกรุกของเชื้อรา โดยกิจกรรมของเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด จะมีผลยับยั้งการเจริญเส้นใยของเชื้อรา และพบว่าเมื่อฉีดพ่นสารละลายไคโตแซนเพียงอย่างเดียวไม่สามารถกระตุ้นให้เกิดกิจกรรมของเอนไซม์ β-1,3-glucanaseและ Chitinase เนื่องจากไม่มีการรุกรานจากเชื้อรา (Kendra และ Hadwiger, 1987) แสดงให้เห็นว่าการใช้สารละลายไคโตแซนอย่างเดียวไม่สามารถชักนำการทำกิจกรรมของเอนไซม์ β-1,3-glucanase และ Chitinase ได้