

## อิทธิพลของการให้โคโตซานในระยะเริ่มต้นต่อการเจริญของต้นกล้าและการสร้างเม็ดแป้ง (Strach granule) ในถั่วเขียว (*Vigna radiata* L.)

กมลนัทร ยศกลาง<sup>1</sup>, ณัฐนิชา ฤกษ์ชัยมงคล<sup>1</sup>, ณัฐยานัน อัครเรืองกุล<sup>1</sup>, ธัญลักษณ์ โชคเฉลิมวงศ์<sup>1</sup>  
เทิดศักดิ์ สกุลสุข<sup>1</sup> และ จิราภรณ์ แสงประทุม<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>โรงเรียนสาธิตมหาวิทยาลัยราชภัฏนครปฐม

\*jiraporns@webmail.npru@gmail.com

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มุ่งศึกษาศักยภาพของโคโตซานในฐานะสารกระตุ้นชีวภาพจากธรรมชาติ เพื่อส่งเสริมการพัฒนาระยะเริ่มต้นของพืชและการสะสมเม็ดแป้งในเนื้อเยื่อ โดยทำการศึกษาในถั่วเขียว (*Vigna radiata* L.) เปรียบเทียบผลของโคโตซานจากพืช (CS1) และโคโตซานจากสัตว์ (CS2) กับปุ๋ยเคมีและน้ำกลั่น ดำเนินการทดลองเพาะเมล็ดถั่วเขียวบนสำลี และให้น้ำ/สารละลายวันละครั้งเป็นเวลา 8 วัน ภายใต้การทดลอง (CS1, CS2, ปุ๋ยเคมี, น้ำกลั่น) ทำซ้ำ 3 ชุด ทำการสังเกตและบันทึกร้อยละการงอกและความสูงของลำต้นเพื่อประเมินประสิทธิภาพการเจริญเติบโตระยะเริ่มต้น ศึกษาการสะสมแป้งด้วยการตัดชิ้นเนื้อตามขวาง ย้อมด้วยไอโอดีนเพื่อสังเกตการเพิ่มจำนวนของเม็ดแป้งภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และทดสอบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยการทดสอบเบนดิคต์ โดยใช้มาตราส่วนเชิงคุณภาพปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากน้อยถึงมากที่สุด (+ ถึง +++) นอกจากนี้ ศึกษาทดสอบการใช้โคโตซานสัตว์ในวันที่ 1–5 แล้วเปลี่ยนใช้ปุ๋ยเคมีในวันที่ 6–8 เพื่อศึกษาการใช้โคโตซานเป็นตัวเริ่มต้น (Starter regimen)

ผลการศึกษาพบว่า CS2 ให้ร้อยละการงอกสูงที่สุดและส่งเสริมการเจริญของต้นกล้ามากที่สุดในวันที่ 8 โดยเรียงลำดับการงอกเป็น CS2 > ปุ๋ยเคมี > CS1 > น้ำกลั่น การทดสอบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เบื้องต้นพบว่า CS2 ให้ผลเด่นชัดที่สุด (++++) รองลงมาคือ CS1 (+++), ปุ๋ยเคมี (++), และน้ำกลั่น (+) ผลการศึกษาการเพิ่มจำนวนเม็ดแป้งโดยเฉลี่ยเรียงจากมากไปน้อยเป็น CS2 ( $31.5 \pm 3.5$ ), CS1 ( $20.0 \pm 2.0$ ), ปุ๋ยเคมี ( $13.5 \pm 1.5$ ) และน้ำกลั่น ( $6.0 \pm 1.0$ ) และรูปแบบ “starter regimen” ให้จำนวนเม็ดแป้งสูงที่สุด ( $41.5 \pm 1.5$ ) สูงกว่าทุกการทดลองที่ใช้สารเพียงชนิดเดียว

ดังนั้น ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าโคโตซานจากสัตว์สามารถส่งเสริมการงอก การเจริญของต้นกล้า และการสะสมแป้งได้ และการใช้โคโตซานจากสัตว์เป็นสารเริ่มต้นก่อนตามด้วยการให้ปุ๋ยเคมีช่วยเพิ่มผลด้านการสะสมเม็ดแป้งได้มากยิ่งขึ้น

**คำสำคัญ:** โคโตซาน เม็ดแป้ง ถั่วเขียว สารกระตุ้นชีวภาพ

## A Chitosan Starter Regimen Enhances Early Seedling Growth and Starch Granule Accumulation in Mung Bean (*Vigna radiata* L.)

Kamolnat Yodklang<sup>1</sup>, Natthanicha Rerkchaimongkol<sup>1</sup>, Nuttaya Akkararoengkul<sup>1</sup>, Tunyalux Chokchaloemwong<sup>1</sup>, Teardsak Skunsuk<sup>1</sup> and Jiraporn Sangpratum<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>The Demonstration School of Nakhon Pathom Rajabhat University

\*jiraporns@webmail.npru@gmail.com

### Abstract

This study investigated the potential of chitosan as a natural biostimulant to promote early plant development and starch granule accumulation in tissues using mung bean (*Vigna radiata* L.) as the model. The effects of plant-derived chitosan (CS1) and animal-derived chitosan (CS2) were compared with chemical fertilizer and distilled water. Mung bean seeds were germinated on cotton wool and irrigated once daily for 8 days under four treatments (CS1, CS2, chemical fertilizer, and distilled water), with three replicates per treatment. Germination percentage and stem height were recorded to evaluate early growth performance. Starch accumulation was assessed by preparing transverse stem sections and staining with iodine to observe and estimate starch granule abundance under a microscope. Reducing sugar content was evaluated using Benedict's test with a qualitative scale ranging from low to highest intensity (+ to ++++). In addition, a "starter regimen" was tested by applying animal-derived chitosan on Days 1–5 followed by chemical fertilizer on Days 6–8 to examine the use of chitosan as an initial treatment.

The results showed that CS2 produced the highest germination percentage and promoted the greatest seedling growth by Day 8, with the overall ranking CS2 > chemical fertilizer > CS1 > distilled water. The preliminary reducing sugar assay indicated the strongest reaction in the CS2 group (++++), followed by CS1 (+++), chemical fertilizer (++) and distilled water (+). The mean starch granule counts (mean  $\pm$  SD) decreased in the order CS2 (31.5  $\pm$  3.5), CS1 (20.0  $\pm$  2.0), chemical fertilizer (13.5  $\pm$  1.5), and distilled water (6.0  $\pm$  1.0). Notably, the "starter regimen" yielded the highest starch granule count (41.5  $\pm$  1.5), exceeding all single-treatment conditions.

Overall, these findings indicate that animal-derived chitosan enhances germination, seedling growth, and starch accumulation, and its use as an initial treatment followed by chemical fertilization further increases starch granule accumulation.

**Keywords:** Chitosan, Starch granule, Mung bean (*Vigna radiata* L.), Bio-stimulant

## 1. บทนำ

เกษตรสมัยใหม่กำลังเผชิญ “โจทก์คู่” คือการเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของพืช (รวมถึงสมรรถนะการเจริญระยะเริ่มต้น และลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการโบไฮเดรต) ควบคู่กับการลดการพึ่งพาสารเคมีเกษตรสังเคราะห์ซึ่งอาจเพิ่มภาระต่อสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะการไหลบ่าและการชะล้าง (runoff และ leaching) ที่ส่งผลต่อคุณภาพน้ำ [1] ทิศทางดังกล่าวสอดคล้องกับเป้าหมายการพัฒนาที่ยั่งยืนของสหประชาชาติ (Sustainable Development Goals; SDGs) ได้แก่ SDG 2 (ความมั่นคงทางอาหารและเกษตรกรรมที่ยั่งยืน) SDG 12 (การจัดการสารเคมีและของเสียอย่างเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม รวมถึงการลดการปลดปล่อยสู่ดิน น้ำ และอากาศ) และ SDG 6 (การยกระดับคุณภาพน้ำผ่านการลดมลพิษและการลดการปล่อยสารเคมีอันตราย) [2]

ภายใต้บริบทดังกล่าว สารชีวภาพที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมได้รับความสนใจเพิ่มขึ้น โดยไคโตซาน (chitosan) เป็นพอลิเมอร์ย่อยสลายได้ทางชีวภาพที่ผลิตจากการกำจัดหมู่อะเซทิลบางส่วนของไคติน (partial deacetylation of chitin) และถูกเสนอเป็นสารกระตุ้นชีวภาพ/สารชักนำการตอบสนองของพืช (biostimulant/elicitor) ที่สามารถมีอิทธิพลต่อการเจริญเติบโตและสรีรวิทยาที่เกี่ยวข้องกับความเครียด [3] อย่างไรก็ตาม รายงานจำนวนมากชี้ว่า “ประสิทธิภาพของไคโตซานไม่คงที่” เนื่องจากคุณลักษณะเชิงโครงสร้างและเงื่อนไขการเตรียม เช่น มวลโมเลกุล ระดับ/รูปแบบการกำจัดหมู่อะเซทิล (degree/pattern of deacetylation) และสภาวะการขึ้นรูปผลิตภัณฑ์ (formulation conditions) สามารถกำหนดฤทธิ์ทางชีวภาพได้อย่างมีนัยสำคัญ [4]

ด้านแหล่งที่มา ไคโตซานมักผลิตจากผลพลอยได้ของ crustacean (animal-derived) แต่สามารถผลิตจากชีวมวลของราได้เช่นกัน (plant-/fungal-derived) โดยความแตกต่างของวัตถุดิบและกระบวนการผลิตอาจสะท้อนเป็นความแตกต่างด้านคุณลักษณะเชิงโมเลกุลและนำไปสู่การตอบสนองของพืชที่ไม่เหมือนกัน [5] นอกจากผลต่อการเจริญเติบโตที่สังเกตได้ภายนอกแล้ว ไคโตซานยังมีรายงานว่าส่งผลต่อเมแทบอลิซึมขั้นปฐมและการสะสมเมแทบอลิต์ รวมถึงผลลัพธ์ที่เกี่ยวข้องกับการโบไฮเดรตซึ่งสัมพันธ์กับความแข็งแรงของต้นกล้าและคุณภาพผลผลิต [6] อีกทั้งหลักฐานจากการประยุกต์ใช้กับเมล็ดระบุว่า การปรับสภาพเมล็ดด้วยไคโตซาน (chitosan pretreatment) อาจช่วยเพิ่มการงอกและเปลี่ยนแปลงตัวชี้วัดทางชีวเคมีที่เกี่ยวข้องกับการตั้งตัวระยะแรก [7] นอกจากการเปรียบเทียบแหล่งที่มาของไคโตซานแล้ว ช่วงเวลาของการให้ไคโตซานอาจมีความสำคัญต่อการตอบสนองของพืช โดยเฉพาะการให้ในระยะเริ่มต้นของการงอกหรือการตั้งตัว ซึ่งอาจช่วยกระตุ้นการพัฒนาของต้นกล้าและส่งผลต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมในระยะต่อมา อย่างไรก็ตาม ยังมีข้อจำกัดเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้ไคโตซานในลักษณะ “chitosan starter” ร่วมกับการจัดการปุ๋ยเคมีแบบเป็นลำดับขั้น

ถั่วเขียว (*Vigna radiata* L.) เป็นพืชตระกูลถั่วที่ปลูกแพร่หลายในเอเชีย มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และเหมาะสมต่อการใช้เป็นแบบจำลองเพื่อประเมินผลของชีวปัจจัยนำเข้า (bio-inputs) ต่อการเจริญระยะเริ่มต้นและลักษณะที่เชื่อมโยงกับการโบไฮเดรต [8] อย่างไรก็ตาม ยังมีช่องว่างขององค์ความรู้เกี่ยวกับการเปรียบเทียบเชิงระบบระหว่างไคโตซานจากแหล่งสัตว์และจากแหล่งพืช/รา ต่อ “ตัวชี้วัดการโบไฮเดรต” (เช่น สัญญาณแป้งและน้ำตาลรีดิวซ์) ในระยะต้นกล้า รวมถึงแนวทางการจัดการแบบเป็นลำดับขั้นที่ผสานชีวภัณฑ์กับปุ๋ยเคมีเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการสะสมคาร์โบไฮเดรต

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อ (1) เปรียบเทียบผลของไคโตซานจากแหล่งสัตว์กับไคโตซานจากแหล่งพืช/ราต่อการเจริญเติบโตระยะเริ่มต้นของถั่วเขียวและลักษณะที่เกี่ยวข้องกับการโบไฮเดรต (ตัวบ่งชี้แป้งและน้ำตาลรีดิวซ์) และ (2) ประเมินแนวทางแบบเป็นลำดับขั้น “chitosan starter” โดยให้ไคโตซานจากสัตว์ในช่วงเริ่มตั้งตัวก่อนตามด้วยการให้ปุ๋ยเคมี เพื่อทดสอบว่าการไพร้มด้วยไคโตซานระยะแรกเริ่มสามารถส่งเสริมการสะสมคาร์โบไฮเดรตในระยะถัดไปได้เหนือกว่าการใช้ปัจจัยนำเข้าเพียงชนิดเดียว

## 2. วัตถุประสงค์การศึกษา

1. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของไคโตซานชนิดต่าง ๆ ต่อการเจริญเติบโตของพืช ปริมาณ/จำนวนเมล็ดแบ่ง และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในถั่วเขียว (*Vigna radiata* L.)
2. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการใช้ไคโตซานแบบ “chitosan starter” ต่อการเจริญเติบโตของพืชและการเพิ่มจำนวนเมล็ดแบ่ง

## 3. ขอบเขตการศึกษา

การศึกษานี้มุ่งประเมินผลของไคโตซานในฐานะสารกระตุ้นชีวภาพจากธรรมชาติต่อการพัฒนาระยะเริ่มต้น โดยทำการศึกษา ดังนี้

1. พืชที่ใช้ในการศึกษาค้นคว้า ได้แก่ ถั่วเขียว (*Vigna radiata* L.)
2. กลุ่มตัวอย่างสารที่ใช้ในการทดลองได้แก่ ไคโตซานจากพืช (CS1) ไคโตซานจากสัตว์ (CS2) ปุ๋ยเคมีสูตร (11-12-26) (กลุ่มควบคุมเชิงบวก) และน้ำกลั่น (กลุ่มควบคุมเชิงลบ)
3. ศึกษาการงอกของเมล็ดด้วยตาเปล่าและวัดความสูงของลำต้นด้วยไม้บรรทัด หน่วยเซนติเมตร
4. ศึกษาเมล็ดแบ่งในเนื้อเยื่อด้วยการตัดชิ้นเนื้อตามขวางและย้อมด้วยสารละลายไอโอดีน และส่องใต้กล้องจุลทรรศน์
5. ศึกษาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing's sugar) ด้วยการทดสอบด้วยเบนเนดิกซ์ (Benedict's test) และใช้มาตราส่วนเชิงคุณภาพปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยไปมากที่สุด ตั้งแต่ (+) ถึง (++++)

## 4. วิธีการศึกษา

### 4.1. ศึกษาไคโตซานจากพืชและสัตว์ต่อการเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียว

เตรียมสารละลาย 3 ชนิด ได้แก่ ปุ๋ยเคมี ไคโตซานจากพืช และไคโตซานจากสัตว์ โดยใช้อัตราส่วนสารละลายต่อน้ำ (1 : 1,000 ml) ซึ่งสำหรับ 3 กรัมต่อภาชนะ และใส่เมล็ดถั่วเขียว จำนวน 15 เมล็ดต่อตัวอย่างการทดลอง การทดลองนี้ใช้ปุ๋ยเคมี (ควบคุมเชิงบวก), น้ำกลั่น (ควบคุมเชิงลบ), ไคโตซานพืช (CS1), และไคโตซานสัตว์ (CS2) ทำการทดลองโดยการให้สารละลาย 4 กลุ่ม ปริมาตร 20 mL/วัน โดยใช้กระบอกฉีดยา (syringe) ติดต่อกันเป็นเวลา 8 วัน ทำการสังเกตและบันทึกการงอกของเมล็ด และวัดความสูงของต้นกล้า โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

### 4.2. การสะสมแป้งและน้ำตาลรีดิวซ์ในต้นถั่วเขียว

หลังจาก 8 วัน นำต้นถั่วเขียว (จำนวน 5 ต้น ต่อ 1 การทดลอง) มาบดด้วยถ้วยบดจนละเอียด ระหว่างบดเติมน้ำกลั่น 10 mL ลงไป หลังจากนั้นทำการกรองด้วยกระดาษกรอง และนำสารสกัดที่ได้หยดใส่หลอดทดลองจำนวน 10 หลอด และเติมสารละลายไอโอดีน 5 หลอด สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสีหลังการเติม หลังจากนั้นนำสารสกัดหยดใส่หลอดทดลองจำนวน 10 หลอด เติมด้วยสารละลายเบนเนดิกซ์จำนวน 5 หลอด แล้วนำไปแช่ในอ่างน้ำร้อน (Water bath) เป็นเวลา 5 นาที สังเกตการเปลี่ยนแปลงของสี บันทึกผลที่ได้ และประเมินด้วยมาตราส่วนคุณภาพ น้อยไปมากที่สุด ตั้งแต่ (+) ถึง (++++ โดยทำการทดลองซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง

### 4.3. การศึกษาการสะสมเมล็ดแบ่ง (Strach granule) ในเนื้อเยื่อพืช

เมื่อครบ 8 วัน นำต้นอ่อนมาตัดตามขวาง โดยใช้เทคนิคตัดด้วยมือ (Free hand section) โดยตัดชิ้นมาจากโคน 3 เซนติเมตร หลังจากนั้นทำการย้อมด้วยสารละลายไอโอดีน (Iodine' solution) เป็นเวลา 1 นาที ดูดสารละลายทิ้ง หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น เมื่อเสร็จแล้วนำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ เพื่อตรวจสอบและนับจำนวนเมล็ดแบ่งในเนื้อเยื่อลำต้น โดยนับจาก 15 ช่องของภาพ (fields) ที่สุ่มเลือก (random fields) ทำซ้ำ 3 ครั้ง (triplicate)

#### 4.4. ศึกษาการเจริญเติบโตและการสะสมแป้งหลังใช้ไคโตซานเป็นตัวเริ่มต้น (Chitosan starter)

ทำการเพาะต้นกล้าเขียว เติร์มสารละลาย 3 ชนิด ได้แก่สารละลายไคโตซานสัตว์ (ตัวควบคุมเชิงบวก) ปุ๋ยเคมี (ตัวควบคุมเชิงลบ) น้ำกลั่น (ตัวควบคุมเชิงลบ) อัตราส่วนสารละลายต่อน้ำ (1 : 1,000 ml) ทำการทดลองเป็นเวลา 8 วัน สำหรับการทดลองไคโตซานสัตว์เป็นตัวเริ่มต้น ทำการเพาะต้นกล้าเขียวโดยเพาะด้วยสารละลายไคโตซานสัตว์เป็นระยะเวลา 5 วัน (วันที่ 0-5) หลังจากนั้น เปลี่ยนเป็นปุ๋ยเคมีต่ออีก 3 วัน (วันที่ 6-8) ทำการสังเกตการงอกของเมล็ด ความสูงของต้น เมื่อครบเวลา 8 วัน นำต้นกล้าเขียวทำการศึกษากการสะสมเม็ดแป้งเช่นเดียวกับวิธีในข้อ 4.3 โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง

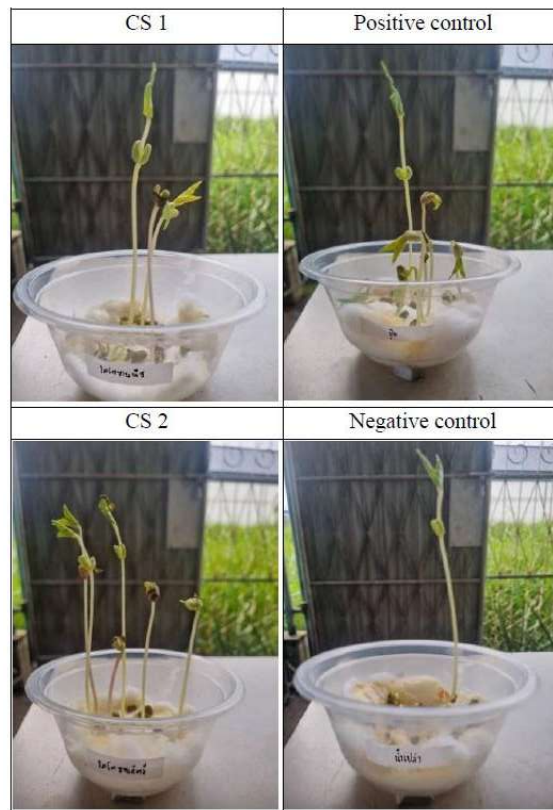
#### 4.5. สถิติที่ใช้ในการศึกษา

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้สถิติพื้นฐาน ได้แก่ ค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation; SD) เพื่อแสดงแนวโน้มของผลการทดลอง และใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One-way ANOVA) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มทดลอง โดยกำหนดระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05

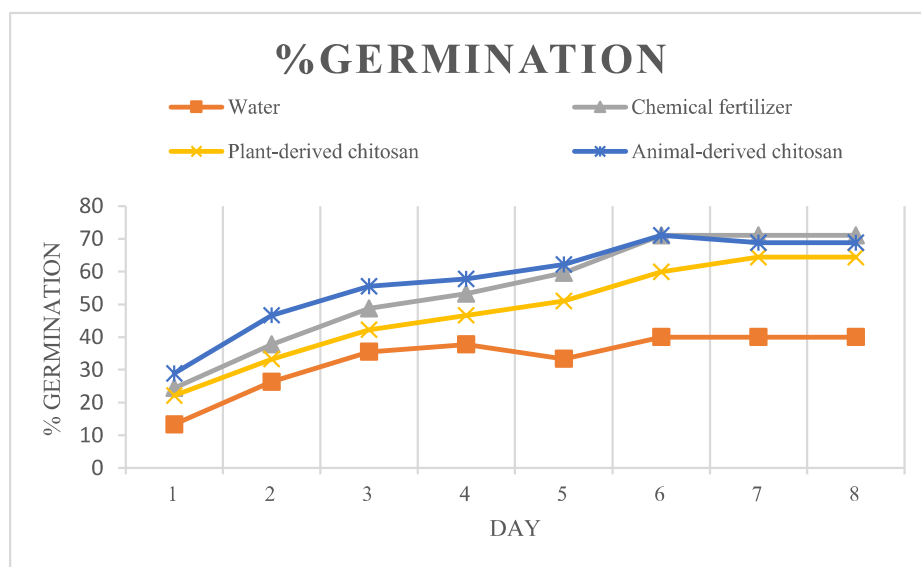
### 5. ผลการศึกษา

#### 5.1 ผลของไคโตซานจากพืชและจากสัตว์ต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าเขียว

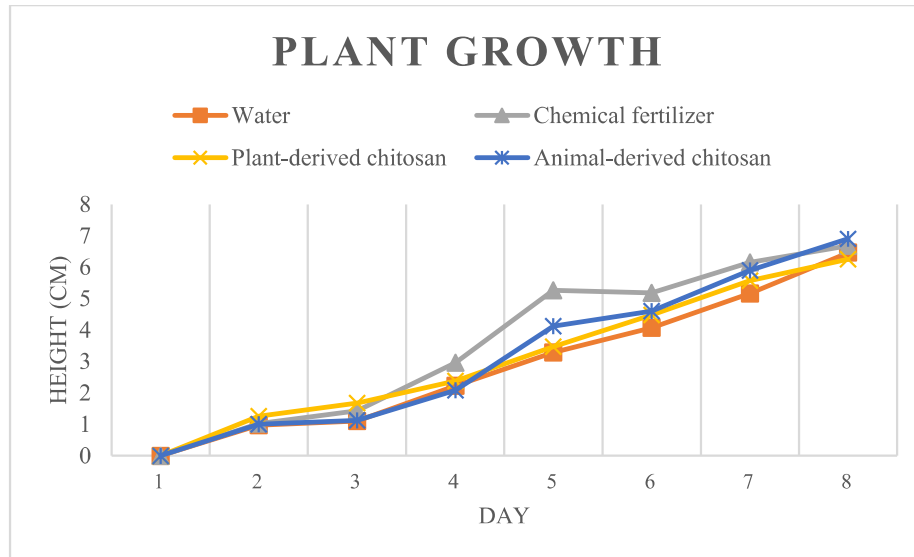
การศึกษานี้ประเมินประสิทธิภาพของไคโตซาน 2 ชนิด ได้แก่ ไคโตซานจากพืช (plant-derived chitosan; CS1) และไคโตซานจากสัตว์ (animal-derived chitosan; CS2) ต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าเขียว โดยให้น้ำ/สารละลายไคโตซานตามสภาวะการทดลองเป็นเวลา 8 วัน ได้ผลดังภาพที่ 1 โดยต้นกล้าเขียวที่มีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดพบในการทดลองโดยใช้ไคโตซานจากสัตว์ (CS2) ผลการศึกษานี้ไคโตซานต่อการงอกของเมล็ด พบว่าการทดลองโดยใช้ไคโตซานจากสัตว์ (CS2) ให้ผลร้อยละการงอกสูงที่สุด ในระยะเวลา 1-5 วันแรก ตามด้วยปุ๋ยเคมี และไคโตซานจากพืช (CS1) (ภาพที่ 2) ผลการศึกษากการเจริญเติบโตของพืชโดยวัดความสูงของลำต้นเพื่อศึกษาการยืดยาวและการเร่งการเจริญเติบโตของพืช พบว่าปุ๋ยเคมีให้ผลค่าเฉลี่ยความสูงของลำต้นสูงกว่าทุกกลุ่มการทดลองอื่น ตามด้วยไคโตซานจากสัตว์ (CS2) และไคโตซานจากพืช (CS1) ตามลำดับ แต่เมื่อครบ 8 วัน พบว่าไคโตซานแสดงถึงศักยภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตสูงสุดภายใต้สภาวะที่ทดสอบ โดยลำดับสมรรถนะการเจริญเติบโตโดยรวมเป็น ไคโตซานจากสัตว์ (CS2) > ปุ๋ยเคมี > ไคโตซานจากพืช (CS1) > น้ำกลั่น ดังแสดงในภาพที่ 3 ดังนั้น ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าไคโตซานจากสัตว์มีศักยภาพสูงในการส่งเสริมการงอกของเมล็ดและเจริญเติบโตของต้นกล้าเขียว



ภาพที่ 1 การเจริญของต้นกล้าถั่วเขียว (*Vigna radiata* L.) หลังได้รับการให้สารละลาย/ปุ๋ยชนิดต่าง ๆ เป็นเวลา 8 วัน (CS1; ไคโตซานจากพืช, CS2; ไคโตซานจากสัตว์)



ภาพที่ 2 อัตราการงอกของเมล็ดถั่วเขียว (*Vigna radiata* L.)

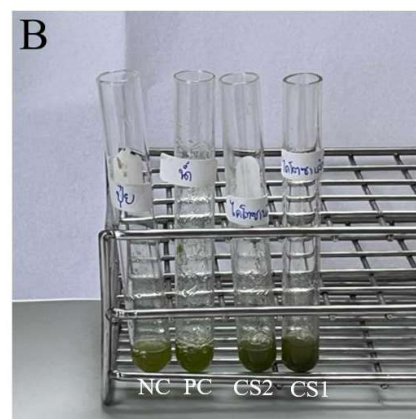
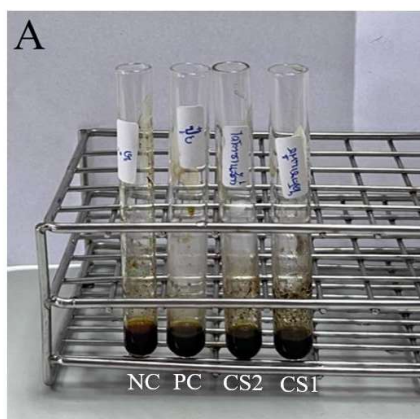


ภาพที่ 3 การเจริญเติบโตของต้นกล้าถั่วเขียว (*Vigna radiata* L.)

## 5.2 การประเมินการสะสมแป้งและน้ำตาลรีดิวซ์ในต้นกล้าถั่วเขียว

การศึกษานี้ประเมินประสิทธิภาพของการทดลองใช้ไคโตซานต่อการส่งเสริมการสะสมแป้งและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในต้นกล้าถั่วเขียว โดยใช้สารละลายไอโอดีน ( $I_2/KI$ ) สำหรับประเมินปริมาณแป้งเบื้องต้น และสารละลายเบนเดกต์สำหรับประเมินปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เบื้องต้น ผลการศึกษา ให้ผลดังนี้

- **ไคโตซานจากพืช (CS1):** ผลการทดสอบสารสกัดด้วยไอโอดีนและเบนเดกต์
  - หลังเติมสารละลายไอโอดีน: ตัวอย่างเปลี่ยนเป็น สีนํ้าตาลเข้ม (ภาพที่ 4A)
  - หลังเติมสารละลายเบนเดกต์: ตัวอย่างเปลี่ยนเป็น สีเขียว (ภาพที่ 4B)
- **ไคโตซานจากสัตว์ (CS2):** ผลการทดสอบสารสกัดด้วยไอโอดีนและเบนเดกต์
  - หลังเติมสารละลายไอโอดีน: ตัวอย่างเปลี่ยนเป็น สีนํ้าตาลเข้ม (ภาพที่ 4A)
  - หลังเติมสารละลายเบนเดกต์: ตัวอย่างเปลี่ยนเป็น สีเขียวเข้ม (ภาพที่ 4B)



ภาพที่ 4 การเปลี่ยนแปลงสีของสารสกัดหลังการทดสอบแป้งด้วยสารละลายไอโอดีน (A) และการทดสอบน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยสารละลายเบนเดกต์ (B) (NC; Negative control, PC; Positive control, CS1; ไคโตซานจากพืช, CS2; ไคโตซานจากสัตว์)

ตารางที่ 1 ผลการเปลี่ยนแปลงสีของตัวอย่างจากการทดสอบน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยสารละลายเบนดิคต์และการทดสอบแป้งด้วยสารละลายไอโอดีน

| Test                                       | Benedict's solution | Iodine's solution |
|--------------------------------------------|---------------------|-------------------|
| Water (Negative control; NC)               | +                   | +                 |
| Chemical fertilizer (Positive control; PC) | ++                  | ++                |
| Plant-derived chitosan (CS1)               | +++                 | +++               |
| Animal-derived chitosan (CS2)              | ++++                | ++++              |

| เกณฑ์การประเมินสี             | คะแนน | เกณฑ์การประเมินสี            | คะแนน |
|-------------------------------|-------|------------------------------|-------|
| หลังทดสอบด้วยสารละลายเบนดิคต์ |       | หลังทดสอบด้วยสารละลายไอโอดีน |       |
| สีเขียวเข้ม                   | ++++  | น้ำตาลเข้ม                   | ++++  |
| สีเขียว                       | +++   | น้ำตาล                       | +++   |
| สีเขียวอ่อน                   | ++    | น้ำตาลอ่อน                   | ++    |
| สีเขียวกมเหลือง               | +     | สีน้ำตาลกมเหลือง             | +     |

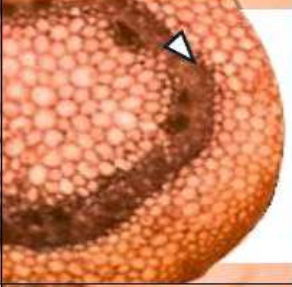
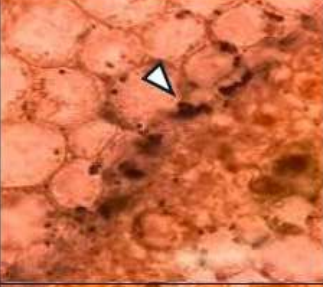
### 5.3 ผลการศึกษาการสะสมแป้งในเนื้อเยื่อพืช

การศึกษานี้ทำการประเมินการสะสมของเม็ดแป้ง (Starch granule) ที่สะสมอยู่ในเนื้อเยื่อพืช (ground tissue) ของพืช หลังการทดลอง แสดงดังภาพที่ 5 ผลการศึกษาพบว่ากลุ่มที่ได้รับไคโตซานจากสัตว์มีจำนวนเม็ดแป้งมากที่สุด ( $31.5 \pm 3.5$ ) รองลงมาคือ ไคโตซานจากพืช ( $20.0 \pm 2.0$ ) ปุ๋ยเคมี ( $13.5 \pm 1.5$ ) และน้ำกลั่น ( $6.0 \pm 1.0$ ) ตามลำดับ (ตารางที่ 2) ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าไคโตซานจากสัตว์สามารถส่งเสริมการสะสมแป้งได้สูงกว่าปุ๋ยเคมี

ตารางที่ 2 จำนวนเม็ดแป้งโดยประมาณต่อหนึ่งช่องมองภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (กำลังขยาย 40x)

| Treatment                              | number of starch granules (40X) |
|----------------------------------------|---------------------------------|
| Water (negative control)               | $6.0 \pm 1.0^*$                 |
| Chemical fertilizer (positive control) | $13.5 \pm 1.5^*$                |
| Plant-derived chitosan                 | $20.0 \pm 2.0^*$                |
| Animal-derived chitosan                | $31.5 \pm 3.5^*$                |

Mean  $\pm$  Standard deviation, \*p-value < 0.05

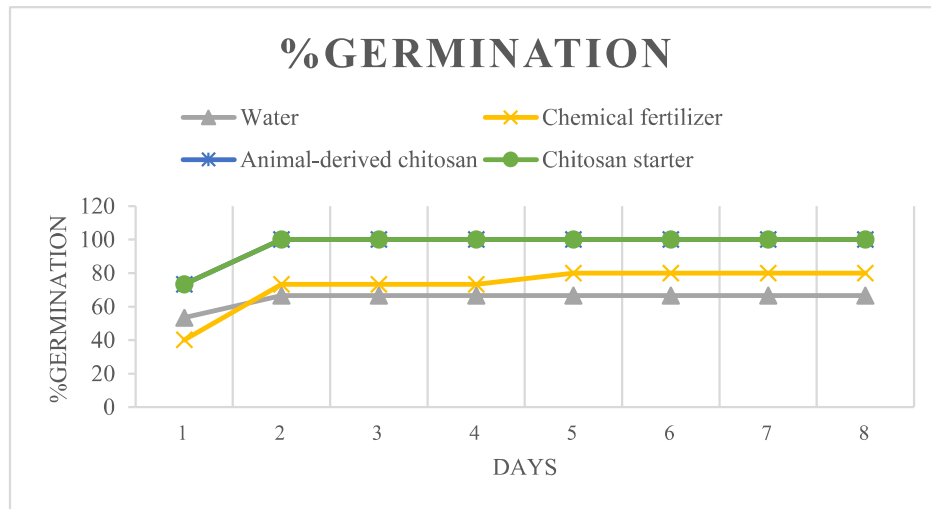
| Type                    | Starch granules in plant tissues after iodine staining.                             |                                                                                      |
|-------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
|                         | 10X                                                                                 | 40X                                                                                  |
| Water                   |    |    |
| Chemical fertilizer     |    |    |
| Plant-derived chitosan  |   |   |
| Animal-derived chitosan |  |  |

ภาพที่ 5 จำนวนเม็ดแป้งในเนื้อเยื่อลำต้นของต้นกล้าถั่วเขียว (*Vigna radiata* L.) หลังการทดลอง 8 วัน

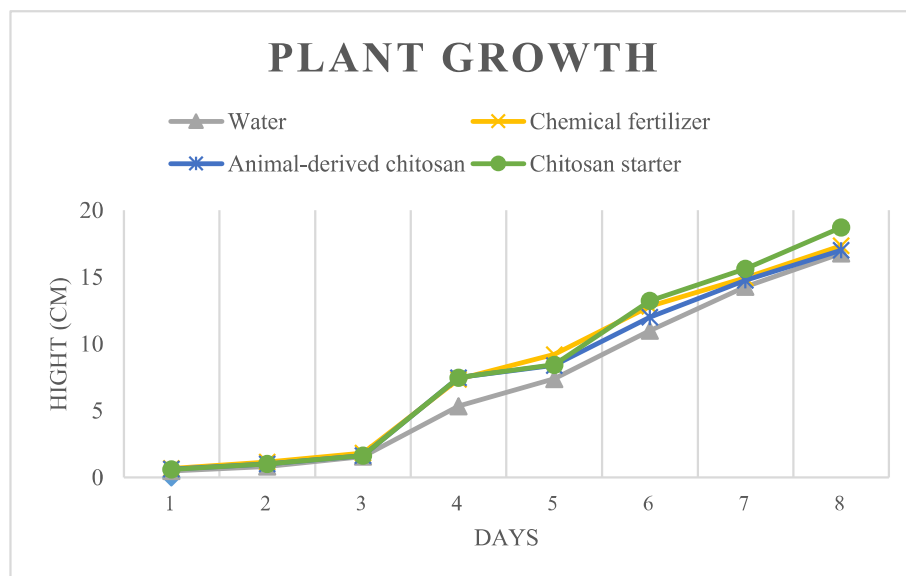
#### 5.4 ผลการศึกษาการงอกของเมล็ด การเจริญเติบโตและการสะสมแป้งภายหลังการใช้ไคโตซานจากสัตว์เป็นสารเริ่มต้น (Starter)

ผลการศึกษาการงอกของเมล็ด การเจริญเติบโตของต้นกล้าหลังการงอก และการสะสมแป้ง โดยใช้รูปแบบ “chitosan starter” (ให้ไคโตซานจากสัตว์ในวันที่ 1–5 และให้ปุ๋ยเคมีในวันที่ 6–8) พบว่าการใช้ไคโตซานสัตว์เป็นตัวเริ่มต้นให้ผลการงอกของเมล็ดร้อยละการงอกสูงที่สุด ขณะที่กลุ่มที่ให้ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียวและกลุ่มน้ำกลั่นมีร้อยละการงอกต่ำกว่าชัดเจน ผลดังภาพที่ 6 ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของพืช แสดงให้เห็นว่า รูปแบบ chitosan starter สามารถเพิ่มขึ้นการเจริญเติบโตสูงที่สุดหลังวันที่ 5 ซึ่งสอดคล้องกับช่วงเริ่มให้ปุ๋ยเคมี และให้ผลการเจริญเติบโตสูงกว่าทั้งการให้ปุ๋ยเคมีเพียงอย่างเดียวหรือการให้ไคโตซานจากสัตว์เพียงอย่างเดียว ผลการศึกษาการสะสมแป้ง พบว่าการให้ไคโตซานจากสัตว์ในวันที่ 1–5

ตามด้วยปุ๋ยเคมีให้จำนวนเม็ดแป้งโดยประมาณสูงที่สุด ( $41.5 \pm 1.5$ ) (ตารางที่ 3) ผลดังกล่าวสอดคล้องกับการยับยั้งไอโอดีนในภาพที่ 8 ซึ่งยืนยันเชิงคุณภาพว่ากลุ่ม chitosan starter มีการสะสมแป้งในเนื้อเยื่อเพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัด



ภาพที่ 6 การออกของเมล็ดถั่วเขียว (*Vigna radiata* L.) ภายหลังการใช้ไคโตซานจากสัตว์เป็นสารเริ่มต้น (starter)

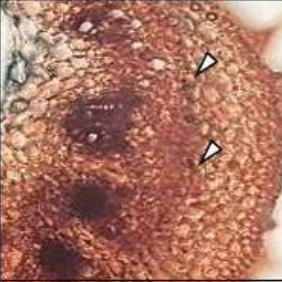


ภาพที่ 7 การเจริญเติบโตของต้นถั่วเขียว (*Vigna radiata* L.) ภายหลังการใช้ไคโตซานจากสัตว์เป็นสารเริ่มต้น (starter)

ตารางที่ 3 จำนวนเม็ดแป้งโดยประมาณต่อหนึ่งช่องมองภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (กำลังขยาย 40X)

| Treatment                                     | Day        | number of starch granules (40X) |
|-----------------------------------------------|------------|---------------------------------|
| Water (negative control)                      | 1-8        | 4.5±1.0*                        |
| Chemical fertilizer (positive control)        | 1-8        | 10.5±1.0*                       |
| Animal-derived chitosan                       | 1-8        | 29.0±1.5*                       |
| Animal-derived chitosan & Chemical fertilizer | 1-5<br>6-8 | 41.5±1.5*                       |

Mean ± Standard deviation, \*p-value < 0.05

| Types                                                         | Starch granules in plant tissues after iodine staining.                             |                                                                                      |
|---------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                               | 10X                                                                                 | 40X                                                                                  |
| 1-8 Day -Water                                                |    |    |
| 1-8 Day-Chemical fertilizer                                   |    |    |
| 1-8 Day-Animal derived chitosan                               |   |   |
| 1-5 Day-Animal derived chitosan & 6-8 Day-Chemical fertilizer |  |  |

ภาพที่ 8 จำนวนเม็ดแป้งในเนื้อเยื่อลำต้นของต้นกล้าถั่วเขียว (*Vigna radiata* L.) ภายหลังจากใช้ไคโตซานจากสัตว์เป็นสารเริ่มต้น (starter)

## 5. อภิปรายผลการศึกษา

ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าไคโตซานสามารถส่งเสริมการงอกของเมล็ดและการเจริญเติบโตระยะเริ่มต้นของต้นกล้าถั่วเขียว (*Vigna radiata* L.) ได้ โดยเฉพาะไคโตซานที่ได้จากสัตว์ (CS2) ซึ่งให้ประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้ไคโตซานจากพืช (CS1) ปุ๋ยเคมี และน้ำกลั่น ทั้งในด้านร้อยละการงอก ความสูงของต้นกล้า และการสะสมเม็ดแป้งในเนื้อเยื่อ ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานก่อนหน้านี้ที่ระบุว่าไคโตซานทำหน้าที่เป็นสารกระตุ้นชีวภาพ (biostimulant) และสารชักนำการตอบสนองของพืช (elicitor) ซึ่งสามารถกระตุ้นกระบวนการสรีรวิทยาของพืชและเพิ่มความแข็งแรงของต้นกล้าในระยะเริ่มต้น [3, 9]

ผลการศึกษาพบว่าไคโตซานจากสัตว์ (CS2) ส่งผลให้ร้อยละการงอกของเมล็ดถั่วเขียวสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองอื่น ซึ่งอาจอธิบายได้จากบทบาทของไคโตซานในการกระตุ้นกระบวนการเมแทบอลิซึมของเมล็ดและการทำงาน

ของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการงอก เช่น เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสลายคาร์โบไฮเดรตและการเคลื่อนย้ายสารอาหารภายในเมล็ด ทั้งนี้ มีรายงานว่า การปรับสภาพเมล็ดด้วยไคโตซานสามารถเพิ่มอัตราการงอกและปรับเปลี่ยนตัวชี้วัดทางชีวเคมีของพืชในระยะเริ่มต้นได้อย่างมีนัยสำคัญ [7, 10]

นอกจากผลต่อการงอกแล้ว ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่าไคโตซานจากสัตว์สามารถส่งเสริมการสะสมเม็ดแป้งในเนื้อเยื่อพืชได้มากที่สุด โดยพบจำนวนเม็ดแป้งเฉลี่ยสูงกว่าทุกกลุ่มการทดลอง ( $31.5 \pm 3.5$ ) รองลงมาคือไคโตซานจากพืช ( $20.0 \pm 2.0$ ) ปุ๋ยเคมี ( $13.5 \pm 1.5$ ) และน้ำกลั่น ( $6.0 \pm 1.0$ ) ตามลำดับ ผลดังกล่าวสอดคล้องกับรายงานที่ระบุว่าไคโตซานสามารถกระตุ้นกระบวนการสังเคราะห์แสงและการเผาผลาญคาร์บอน ส่งผลให้มีการสะสมเมแทบอลิต์ชั้นปฐม เช่น คาร์โบไฮเดรตและแป้งเพิ่มขึ้นในเนื้อเยื่อพืช [6, 11] ทั้งนี้ การสะสมแป้งในเนื้อเยื่อพืชเป็นตัวบ่งชี้สำคัญของสถานะทางเมแทบอลิซึมและความสามารถในการสะสมพลังงานของพืช ซึ่งมีความสัมพันธ์กับความแข็งแรงและการเจริญเติบโตของต้นกล้า [12]

การประเมินปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยการทดสอบด้วยสารละลายเบนดิคต์ยังสนับสนุนผลการศึกษาดังกล่าว โดยกลุ่มที่ได้รับไคโตซานจากสัตว์ให้ความเข้มข้นของปฏิกิริยาสูงที่สุด (++++) รองลงมาคือ CS1 (+++) ปุ๋ยเคมี (++) และน้ำกลั่น (+) ซึ่งสะท้อนถึงแนวโน้มของการเพิ่มขึ้นของน้ำตาลรีดิวซ์ในเนื้อเยื่อพืช ผลลัพธ์ดังกล่าวสอดคล้องกับแนวคิดที่ว่าไคโตซานสามารถกระตุ้นการเผาผลาญคาร์โบไฮเดรตและการเคลื่อนย้ายพลังงานภายในพืช ส่งผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นของสารเมแทบอลิต์ที่เกี่ยวข้องกับการเจริญเติบโต [11, 13]

นอกจากนี้ การใช้รูปแบบการให้สารแบบลำดับขั้น (chitosan starter regimen) ซึ่งให้ไคโตซานจากสัตว์ในช่วงเริ่มต้นของการงอก (วันที่ 1–5) และตามด้วยการให้ปุ๋ยเคมีในช่วงวันที่ 6–8 พบว่าสามารถเพิ่มจำนวนเม็ดแป้งได้สูงที่สุด ( $41.5 \pm 1.5$ ) ซึ่งสูงกว่าการให้สารเพียงชนิดเดียว ผลการศึกษานี้สะท้อนแนวคิดของกลไก “priming effect” ของไคโตซาน ซึ่งทำหน้าที่กระตุ้นกระบวนการสรีรวิทยาและเมแทบอลิซึมของพืชในระยะเริ่มต้น ทำให้พืชมีศักยภาพในการตอบสนองต่อการได้รับธาตุอาหารในระยะถัดไปได้ดียิ่งขึ้น [10, 14]

ดังนั้น ผลการศึกษานี้สนับสนุนว่าไคโตซานจากสัตว์เป็นปัจจัยชีวภาพที่มีศักยภาพในการส่งเสริมการงอก การเจริญเติบโตระยะแรก และการสะสมคาร์โบไฮเดรตในต้นกล้าถั่วเขียว อีกทั้งการใช้ไคโตซานเป็นสารเริ่มต้นก่อนการให้ปุ๋ยเคมีอาจเป็นแนวทางการจัดการธาตุอาหารที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มการสะสมเม็ดแป้งในเนื้อเยื่อพืช และอาจมีศักยภาพในการประยุกต์ใช้ในระบบการผลิตพืชที่มุ่งเน้นการลดการใช้สารเคมีและเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของพืชในระยะเริ่มต้น

## 6. สรุปผลการศึกษา

การศึกษานี้ประเมินผลของไคโตซานจากพืช (CS1) และไคโตซานจากสัตว์ (CS2) ต่อการเจริญเติบโตระยะแรกของถั่วเขียว (*Vigna radiata* L.) โดยเปรียบเทียบกับปุ๋ยเคมีซึ่งใช้เป็นชุดควบคุมเชิงบวก และน้ำกลั่นซึ่งใช้เป็นชุดควบคุมเชิงลบ ผลการทดลองพบว่า ไคโตซานจากสัตว์ (CS2) ให้ผลการตอบสนองสูงที่สุดทั้งในด้านการงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้า โดยต้นกล้าที่ได้รับ CS2 มีอัตราการงอกสูงที่สุดและความยาวลำต้นมากที่สุดภายในวันที่ 8 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ได้รับ CS1 ปุ๋ยเคมี และน้ำกลั่น การตรวจสอบทางชีวเคมีเชิงคุณภาพพบว่า การทดสอบด้วยสารละลายไอโอดีนและสารละลายเบนดิคต์ ให้ความเข้มข้นของปฏิกิริยาสูงที่สุดในกลุ่มที่ได้รับ CS2 ซึ่งบ่งชี้ถึงการสะสมของแป้งและน้ำตาลรีดิวซ์ในระดับสูงกว่าชุดทดลองอื่น ๆ นอกจากนี้ การสังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์ยังพบว่าตัวอย่างที่ได้รับ CS2 มีการสะสมของเกรนูลแป้งในเนื้อเยื่อมากกว่าชุดทดลองอื่น นอกจากนี้ การใช้ไคโตซานเป็นตัวเริ่มต้น (starter regimen) โดยให้ CS2 ในช่วงวันที่ 1–5 และตามด้วยปุ๋ยเคมีในช่วงวันที่ 6–8 ส่งผลให้จำนวนเม็ดแป้งเฉลี่ยสูงที่สุด ( $41.5 \pm 1.5$ ) ซึ่งสูงกว่าการให้สารเพียงชนิดเดียว แสดงให้เห็นว่าการกระตุ้นการเจริญเติบโตในระยะเริ่มต้นด้วยไคโตซานร่วมกับการเสริมธาตุอาหารในระยะต่อมา สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการเจริญเติบโตและการสะสมเม็ดแป้งในต้นกล้าถั่วเขียวได้ดียิ่งขึ้น



## 7. เอกสารอ้างอิง (References)

- [1] Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2018). *Pollutants from agriculture: A serious threat to the world's water*. Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- [2] United Nations. (2025). *Sustainable Development Goals*. United Nations.
- [3] Aranaz, I., Alcántara, A. R., Civera, M. C., Arias, C., Elorza, B., Heras, A., & Acosta, N. (2021). Chitosan: An overview of its properties and applications. *Polymers*, 13(19), 3256.
- [4] Román-Doval, R., Torres-Arellanes, S. P., Tenorio-Barajas, A. Y., Gómez-Sánchez, A., & Valencia-Lazcano, A. A. (2023). Chitosan: Properties and its application in agriculture in context of molecular weight. *Polymers*, 15(13), 2867.
- [5] Crognale, S., Russo, C., Petruccioli, M., & D'Annibale, A. (2022). Chitosan production by fungi: Current state of knowledge, future opportunities and constraints. *Fermentation*, 8(2), 76.
- [6] Ávila, R. G., Magalhães, P. C., Vitorino, L. C., Bessa, L. A., de Souza, K. R. D., Queiroz, R. B., Jakelaitis, A., & Teixeira, M. B. (2023). Chitosan induces sorghum tolerance to water deficits by positively regulating photosynthesis and the production of primary metabolites, osmoregulators, and antioxidants. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 23, 1156–1172.
- [7] Behboud, M., Sharifzadeh, F., Alizadeh, O., & Mousavi, A. (2020). Germination and biochemical response of soybean seeds to chitosan and salicylic acid under salt stress. *Iranian Journal of Seed Research*, 7(1), 1–16.
- [8] Mehta, A., Sharma, A., Kumar, V., & Nanda, V. (2021). Mung bean (*Vigna radiata*): A review on nutritional composition and health benefits. *BioTechnologia*, 102(4), 425–435.
- [9] Sharif, R., Mujtaba, M., Ur Rahman, M., Qadir, A., Ahmad, H., Anwar, T., Tianchan, D., & Wang, X. (2018). The multifunctional role of chitosan in horticultural crops: A review. *Molecules*, 23(4), 872.
- [10] Riseh, R. S., Vazvani, M. G., Vatankhah, M., & Kennedy, J. F. (2024). Chitosan coating of seeds improves the germination and growth performance of plants: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 254, 127909.
- [11] Zhang, X., Li, K., Xing, R., Liu, S., & Li, P. (2017). Metabolite profiling of wheat seedlings induced by chitosan: Revelation of the enhanced carbon and nitrogen metabolism. *Frontiers in Plant Science*, 8, 2017.
- [12] Brust, H., Orzechowski, S., & Fettke, J. (2020). Starch and glycogen analyses: Methods and techniques. *Biomolecules*, 10(7), 1020.
- [13] Hernández-López, A., Sánchez Félix, D. A., Zuñiga Sierra, Z., García Bravo, I., Dinkova, T. D., & Avila-Alejandre, A. X. (2020). Quantification of reducing sugars based on the qualitative technique of Benedict. *ACS Omega*, 5(50), 32403–32410.
- [14] Rabêlo, V. M., Magalhães, P. C., Bressanin, L. A., Ávila, R. G., de Souza, T. C., Alvarenga, A. A., & de Oliveira, P. D. (2019). The foliar application of a mixture of semisynthetic chitosan derivatives



*induces tolerance to water deficit in maize, improving the antioxidant system and increasing photosynthesis and grain yield. Scientific Reports, 9, 8164.*