บทความวิจัย

ผลของออลิโกไคโตซานต่อการเจริญเติบโตและกลไกการป้องกันตนเองในข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง

Effect of Oligochitosan on Growth and Self Defense Mechanism of Sung Yod Phatthalung Rice

ธัญชนก พูนศิลป์[1] เกษม อัศวตรีรัตนกุล[2*] พรรณี อัศวตรีรัตนกุล[3]
Tanchanok Poonsin[1] Kasem Asawatreratanakul[2*] Punnee Asawatreratanakul[3]

บทคัดย่อ

ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงอายุ 30 วันที่ได้รับออลิโกไคโตซานชนิด O-5 ที่ 20, 40, 100, 500 และ 1,000 mgL^{-1} O-80 และ SCS ที่ 40 และ 500 mgL^{-1}เมื่อทำการทดสอบเอนไซม์ไคติเนสในใบข้าวหลังจากฉีดพ่น 1, 5 และ 28 วัน พบว่า ความเข้มข้นและชนิดของออลิโกไคโตซานมีประสิทธิภาพในการกระตุ้นกลไกการป้องกันตนเองของต้นข้าวได้แตกต่างกันโดยต้นข้าวที่ได้รับออลิโกไคโตซาน O-5 ความเข้มข้น 100mgL^{-1}หลังจากฉีดพ่น 5 วันมีความว่องไวเอนไซม์ไคติเนสสูงที่สุดและต้นข้าวที่ได้รับการฉีดพ่นออลิโกไคโตซาน O-5 ความเข้มข้น 40mgL^{-1} ด้วยความถี่ 2 สัปดาห์/ครั้งจะมีความว่องไวเอนไซม์ไคติเนสสูงกว่าการฉีดพ่นด้วยความถี่ทุกสัปดาห์และ 4 สัปดาห์/ครั้ง นอกจากนี้ออลิโกไคโตซาน O-5, O-80 และ SCS มีความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวได้ใกล้เคียงกัน

คำสำคัญ : ข้าวสังข์หยดพัทลุง ออลิโกไคโตซาน ไคติเนส การเจริญเติบโต

Abstract

The 30 days of Sung Yod Phatthalung rice seedlings (Oryza sativa L.) were treated with oligochitosan O-5 (20, 40, 100, 500 and 1000 mgL^{-1}) O-80 and SCS (40 and 500 mgL^{-1}). The chitinase activity in leave of rice seedlings were evaluated after 1, 5 and 28 days of treatment. Efficiency of oligochitosan to elicit defense response induction was associated with the concentration and type of oligochitosans. The highest chitinase activities were observed within 5 days after oligochitosan treatment. The optimal condition for chitinase activation in rice seedling by using oligochitosan O-5 at 20-100 mgL^{-1} and treated every 2 week. The rice seedling growth could stimulate by treatment of 20-40 mgL^{-1} of oligochitosan O-5, O-80 and SCS.

Keywords : Sung Yod Phatthalung Rice, Oligochitosan, Chitinase, Growth

[1] นิสิตปริญญาโท สาขาเคมีประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ อ.ป่าพะยอม จ.พัทลุง 93110

[2] รองศาสตราจารย์ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ อ.ป่าพะยอม จ.พัทลุง 93110

[3] ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา 90112

* Corresponding author: e-mail:kasemas@yahoo.com

จากงานประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 23 ปี 2556

บทนำ

ข้าวสังข์หยดพัทลุงเป็นพันธุ์ข้าวพื้นเมืองเฉพาะท้องถิ่นในจังหวัดพัทลุงมีคุณสมบัติอันโดดเด่นที่แตกต่างจากข้าวพันธุ์อื่นหลายประการทั้งในด้านรสชาติและคุณค่าทางโภชนาการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นพันธุ์ข้าวที่มีสารสีกลุ่มของ anthocyanins ในปริมาณสูงกว่าข้าวพันธุ์ทั่วไป ซึ่งเป็นจุดเด่นของข้าวสังข์หยดพัทลุงที่จะนำมาประยุกต์ในเชิงโภชนาการและสุขภาพอย่างไรก็ตามแม้ข้าวสังข์หยดพัทลุงจะมีลักษณะอันโดดเด่นหลายประการก็ตาม หากแต่เป็นพันธุ์ข้าวที่กรมการข้าวประกาศเตือนให้เกษตรกรที่ปลูกข้าวพันธุ์นี้ต้องเฝ้าระวังการระบาดของโรคไหม้เนื่องจากข้าวสังข์หยดพัทลุงเป็นพันธุ์ข้าวที่อ่อนแอต่อโรคไหม้

โรคไหม้ข้าวเป็นโรคที่มีความสำคัญโรคหนึ่งของข้าวเนื่องจากสร้างความเสียหายต่อข้าวเป็นอย่างมาก สาเหตุของโรคนี้เกิดจากเชื้อรา *Pyricularia grisea* Sacc. มีความสามารถในการทำลายข้าวได้ตั้งแต่ระยะต้นกล้าจนถึงออกรวงและเข้าทำลายทุกส่วนของต้นข้าว [1] บริเวณที่เชื้อเข้าทำลายมากที่สุดคือ บริเวณใบและรวง [2] วิธีการควบคุมโรคไหม้ในปัจจุบันคือ การปลูกพันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้และการใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราอย่างไรก็ตามการปลูกข้าวที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์มีข้อจำกัดหลายประการเนื่องจากเชื้อ *P.grisea*ที่พบในประเทศไทยมีความแปรปรวนและหลากหลายทั้งยังมีการเปลี่ยนแปลงได้ในระยะเวลาอันสั้น [3] ด้วยเหตุนี้พันธุ์ข้าวต้านทานโรคไหม้ที่ทางกรมวิชาการข้าวแนะนำจึงมีความต้านทานโรคลดลง เชื้อสามารถเข้าทำลายข้าวได้ภายในระยะเวลาไม่กี่ปีหลังจากที่แนะนำเกษตรกรให้ปลูกในสภาพแปลงนา [4] ส่วนการใช้สารเคมีในการกำจัดเชื้อรามีราคาแพงทำให้เป็นภาระต่อเกษตรกรและยังเป็นอันตรายทั้งกับเกษตรกรสิ่งแวดล้อมรวมทั้งผู้บริโภค จากปัญหาดังกล่าวผู้วิจัยจึงสนใจทำการศึกษาวิธีการควบคุมเชื้อราก่อโรคโดยการนำออลิโกไคโตซานซึ่งเป็นสารประกอบทางธรรมชาติที่มีขนาดโมเลกุลเล็กกว่าไคโตซานมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของไมซีเลียมและสปอร์ของเชื้อ *P.grisea* ได้ [5] โดยการนำมาประยุกต์ใช้เป็นตัวกระตุ้น (elicitor) ให้ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงสร้างกลไกการป้องกันตนเองเพื่อต่อต้านเชื้อรา *P.grisea*รวมทั้งกระตุ้นการเจริญเติบโตและเพิ่มผลผลิตแก่ต้นข้าวสังข์หยดพัทลุง ทั้งยังเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะลดการใช้สารเคมีในการควบคุมโรคไหม้ข้าวซึ่งเป็นแนวทางที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและมนุษย์

วิธีการวิจัย

วิเคราะห์ขนาดโมเลกุลของออลิโกไคโตซาน (O-5 และ O-80) และไคโตซาน (SCS) ด้วยเทคนิค Electro spray ionization mass spectrophotometry: ESIMS)

นำ O-5, O-80 และ SCS ในสารละลาย 1%acetic aid ความเข้มข้น 2,000 mgL^{-1} อย่างละ 300 มิลลิลิตรไปวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ Electro spray ionizationmass spectrometer

ผลของออลิโกไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุง

ชุดควบคุม ข้าวสังข์หยดพัทลุงที่ให้น้ำและปุ๋ย

ชุดทดลอง ข้าวสังข์หยดพัทลุงที่กระตุ้นด้วย O-5 ที่ความเข้มข้น 20, 40, 100, 500 และ 1000 mgL^{-1}O-80 และ SCS ที่ความเข้มข้น 40 และ 500 mgL^{-1}พร้อมให้น้ำและปุ๋ย

เตรียมต้นข้าวที่มีอายุ 1 เดือนหลังจากปักดำฉีดพ่นด้วยสารละลาย O-5, O-80 และ SCS ที่ความเข้มข้นต่างๆ อย่างละ 10 มิลลิลิตร โดยทำการฉีดพ่นทุกสองสัปดาห์พร้อมทั้งวัดการเจริญเติบโตของต้นข้าวโดยการวัดความสูงของต้นข้าวซึ่งวัดจากข้อแรกของลำต้นจนถึงปลายยอดของใบของต้นข้าวจำนวน 3 ใบต่อต้นข้าว 1 ต้น ทำการวัดการเจริญเติบโตของต้นข้าวทุกๆ สัปดาห์พร้อมทั้งวัดความว่องไวของเอนไซม์ไคติเนสในใบข้าว

ผลของออลิโกไคโตซานต่อความว่องไวของเอนไซม์ไคติเนสในสารสกัดจากใบข้าวสังข์หยดพัทลุง

เลือกใบข้าวที่สมบูรณ์ เลือกตัดเฉพาะส่วนของใบข้าวทำการเก็บตัวอย่างหลังจากฉีดพ่นต้นข้าวด้วย O-5, O-80 และ SCS เป็นเวลา 1, 3, 5, 7, 14, 21 และ 28 วัน

การเตรียมสารสกัดเอนไซม์

นำใบข้าวหนัก 1 กรัมมาบดเป็นผงละเอียดด้วยไนโตรเจนเหลว เติมสารละลายบัฟเฟอร์ผสม (0.1M acetate buffer pH 5, 2.5% (v/v) mercaptoethanol, 5% (w/v) polyvinyl polypyrolidone) อัตราส่วน 1:3 จากนั้นนำไปเซนติฟิวก์ที่ความเร็ว 12,000 rpm ที่อุณหภูมิ 4^{o}C เป็นระยะเวลา 10 นาที นำส่วนใสมาหาความว่องไวของเอนไซม์ไคติเนส

การวิเคราะห์ความว่องไวของเอนไซม์ไคติเนสด้วยเทคนิค spectrophotometry ดัดแปลงจาก Krishnaveni [6]

นำสารสกัดเอนไซม์ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 1.0% (w/v) colloidal chitin ใน acetate buffer pH 5.0 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร นำไปบ่มในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 37^{o}C เป็นระยะเวลา 60 นาที นำไปเซนติฟิวก์ที่ความเร็ว 10,000 รอบ/นาที นาน 10นาที นำสารละลายส่วนใส 0.1มิลลิลิตร เติมสารละลาย Dinitrosalicylate1.5 มิลลิลิตร ต้มให้เดือดนาน 5 นาที ตั้งไว้ให้เย็นมาเติมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตรวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของ*N*-acetyl glucosamine คำนวณค่าความว่องไวของเอนไซม์ไคติเนส โดยกำหนดให้ 1 ยูนิตของไคติเนส = ปริมาณเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายไคตินให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ 1 μmol ในระยะเวลา 1 นาทีต่อปริมาณโปรตีนทั้งหมด 1 มิลลิกรัม

ผลการวิจัยและอภิปรายผลการวิจัย

ผลของออลิโกไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุง

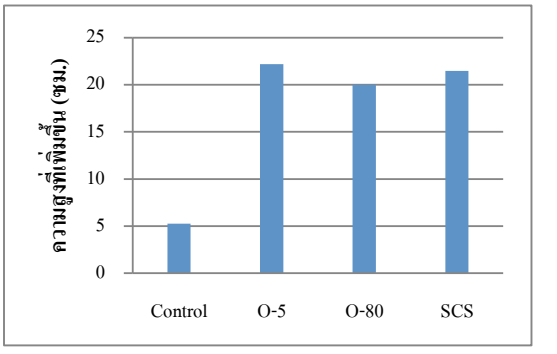
จากการศึกษาผลของออลิโกไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงพบว่า ออลิโกไคโตซานขนาดโมเลกุลเล็ก (O-5) ให้ผลการกระตุ้นดีที่สุดโดยภายในระยะเวลา 30 วัน สามารถกระตุ้นให้ต้นข้าวมีความสูงเพิ่มขึ้น 22.18 ซม. (เพิ่มขึ้น 4.22 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม) ดังแสดงในตารางที่ 1 สำหรับออลิโกไคโตซานขนาดกลาง (O-80) และไคโตซาน (SCS) สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตได้ใกล้เคียงกัน โดยกระตุ้นให้ต้นข้าวสูงเพิ่มขึ้น 20 และ 21.48 ซม. ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของออลิโกไคโตซาน (O-5) ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุง (ตารางที่ 2) พบว่า ที่ความเข้มข้น 40mgL^{-1}ของ O-5 สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตได้ดีที่สุดโดยสามารถเพิ่มความสูงของต้นข้าว 22.18 ซม. (4.22 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม) สำหรับ O-5 ที่เข้มข้น 20 mgL^{-1}ให้ผลในการกระตุ้น

จากผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าออลิโกไคโตซานและไคโตซานสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงได้ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของไพฑูรย์ แสนบัวหลวง ที่ทำการวิจัยในข้าวปทุมธานี 1 (ไพฑูรย์ แสนบัวหลวง, 2550)และยังพบว่าความเข้มข้น 20-40 mgL^{-1}เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุง ซึ่งมีความเป็นไปได้ที่ออลิโกไคโตซานเมื่อเข้าไปภายในเซลล์ของต้นข้าวอาจจะไปกระตุ้นกลไก signal transduction และส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงฮอร์โมนพืช

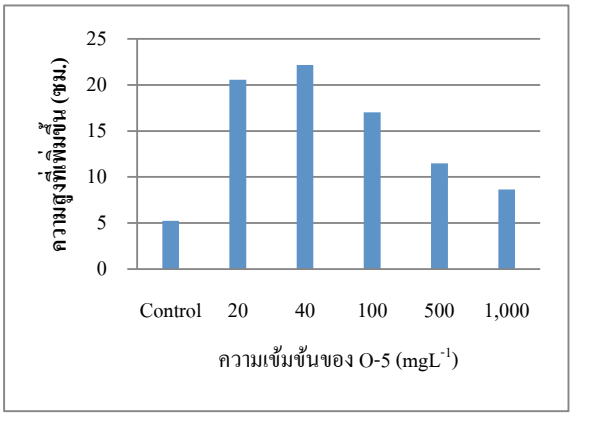
ตารางที่ 1 อิทธิพลของออลิโกไคโตซานและไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุง

ชนิดของออลิโกไคโตซาน	ความสูงต้นข้าวที่เพิ่มขึ้น(ซม.)
Control	5.25
O-5	22.18[a]
O-80	20.00[a,b]
SCS	21.48[a,b]



ตารางที่ 2ความเข้มข้นของออลิโกไคโตซาน (O-5) ต่อการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุง

ความเข้มข้นของ O-5 (mgL^{-1})	ความสูงต้นข้าวที่เพิ่มขึ้น(ซม.)
Control	5.25
20	20.55[a]
40	22.18[a,c]
100	17.03[d]
500	11.49[d]
1,000	8.66[d]

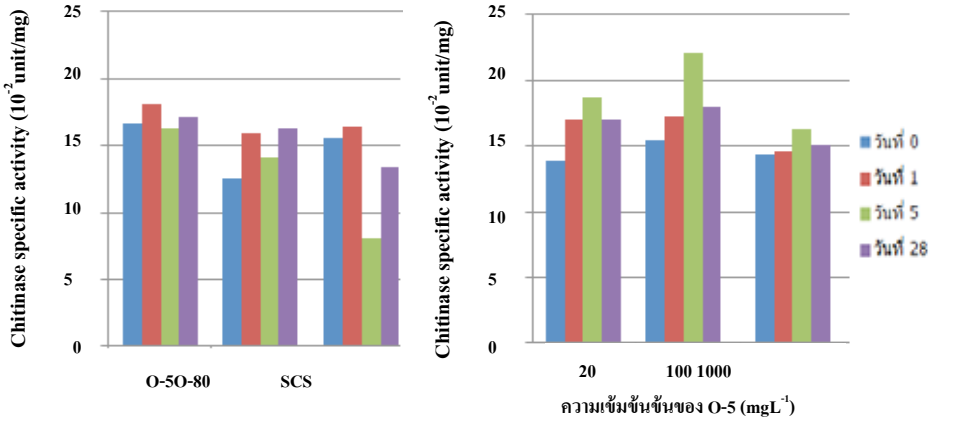


a มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)เมื่อเทียบกับ Control

b ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)เมื่อเทียบกับ O-5

c ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)เมื่อเทียบกับ O-5 เข้มข้น 20 mgL^{-1}

d ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)เมื่อเทียบกับ Control

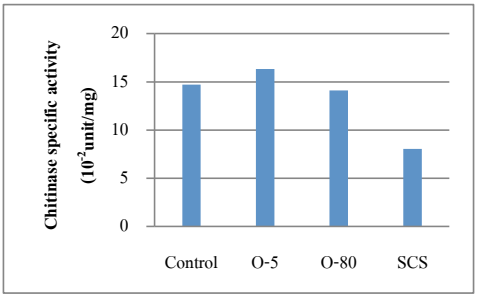


(A) **(B)**

ภาพที่ 1 ผลของออลิโกไคโตซานต่อเอนไซม์ไคติเนสในสารสกัดจากใบข้าวสังข์หยดพัทลุง ; (A) แสดงผลของออลิโกไคโตซานและไคโตซาน ;(B) แสดงผลของความเข้มข้นของออลิโกไคโตซาน (O-5)

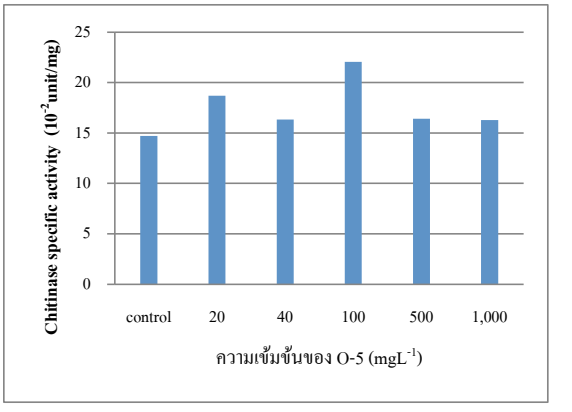
ตารางที่ 3 ผลของชนิดของออลิโกไคโตซานต่อความว่องไวของเอนไซม์ไคติเนสในสารสกัดจากใบข้าวสังข์หยดพัทลุง

ชนิดของออลิโกไคโตซาน	Chitinase Specific activity (10^{-2}unit/mg)
Control	14.71
O-5	16.34
O-80	14.11
SCS	8.05



ตารางที่ 4ผลของความเข้มข้นออลิโกไคโตซาน(O-5) ต่อความว่องไวของเอนไซม์ไคติเนสในสารสกัดจากใบข้าวสังข์หยดพัทลุง

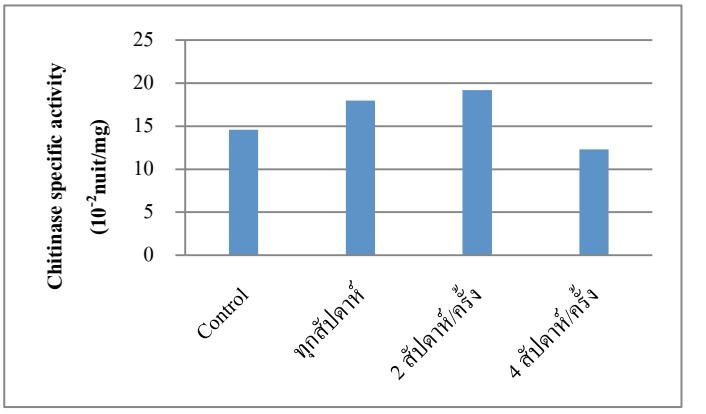
ความเข้มข้น ออโอลิโกไคโตซาน (mgL^{-1})	Chitinase Specific activity (10^{-2}unit/mg)
Control	14.71
20	18.68
40	16.34
100	22.05
500	16.42
1,000	16.28



จากงานประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 23 ปี 2556

ตารางที่ 5 ผลของความถี่ในการฉีดพ่นออลิโกไคโตซานต่อเอนไซม์ไคติเนสในสารสกัดจากใบข้าวสังข์หยดพัทลุง

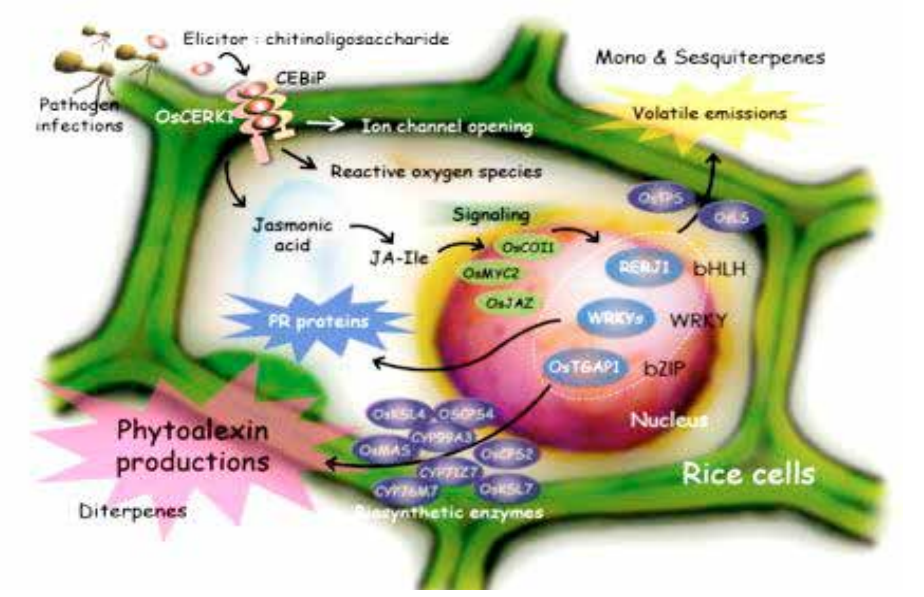
ความถี่ในการฉีดพ่น	Chitinase Specific activity (10^{-2}unit/mg)
Control	14.57
ทุกสัปดาห์	17.96
2 สัปดาห์/ครั้ง	19.20
4สัปดาห์/ครั้ง	12.32



ผลของออลิโกไคโตซานต่อเอนไซม์ไคติเนสในสารสกัดจากใบข้าวสังข์หยดพัทลุง

จากการศึกษาผลของออลิโกไคโตซานที่มีต่อการกระตุ้นเอนไซม์ไคติเนสในข้าวสังข์หยดพัทลุง พบว่า ออลิโกไคโตซานชนิด O-5 และ O-80 สามารถกระตุ้นความว่องไวของเอนไซม์ไคติเนสได้เล็กน้อยเมื่อเทียบกับชุดควบคุม (ตารางที่ 3 และภาพที่1A) โดย O-5 ที่ความเข้มข้น 100mgL^{-1}จะให้ผลการกระตุ้นเอนไซม์ไคติเนสมากที่สุดเป็น 22.05×10^{-2} unit/mg(1.5เท่าของชุดควบคุม) ดังแสดงในตารางที่ 4 และการฉีดพ่นออลิโกไคโตซาน 2 สัปดาห์/ครั้งจะเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นเอนไซม์ไคติเนสในต้นข้าว (ตารางที่ 5) สำหรับช่วงเวลาในการตอบสนองของต้นข้าวต่อการกระตุ้นด้วยออลิโกไคโตซาน (O-5) พบว่า หลังจากให้ O-5 เป็นเวลา 5 วันจะแสดงการกระตุ้นความว่องไวของเอนไซม์ได้สูงที่สุด (ภาพที่ 1B) และการทดลองเพื่อศึกษาผลของออลิโกไคโตซานต่อความต้านทานเชื้อรา *P.grisea* ที่เป็นสาเหตุของโรคไหม้ข้าวกำลังอยู่ในระหว่างดำเนินการ

จากผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าออลิโกไคโตซานขนาดโมเลกุลเล็ก(O-5) มีความสามารถในการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ไคติเนสได้ดีกว่าไคโตซานที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยในต้นอ่อนของข้าว [8]และพืชชนิดอื่น [9]โดยออลิโกไคโตซานอาจจะทำหน้าที่เป็น elicitor แบบ PAMPs (Pathogen-associated molecular patterns) ซึ่งมีโครงสร้างคล้ายคลึงกับไคตินที่เป็นองค์ประกอบหลักของผนังเซลล์ในเชื้อราหลายชนิด[10] PAMPs จะไปกระตุ้นกลไก signal transduction ภายในเซลล์ต้นข้าวให้สังเคราะห์สารกลุ่ม PR protein (Pathogen related protein) เช่น chitinase, glucanase, peroxidase หรือ phytoalexin เพื่อไปทำลายเชื้อรา ดังแสดงเป็นแผนภาพกลไกการป้องกันตนเองของเซลล์ข้าวในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 กลไกการป้องกันตนเองเพื่อต่อต้านเชื้อราบุกรุกในเซลล์ข้าว
ที่มา : Yamane [11]

สรุปผลการวิจัย

ออลิโกไคโตซานโมเลกุลขนาดเล็ก (O-5)โมเลกุลขนาดกลาง (O-80) และไคโตซาน (SCS) สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นข้าวสังข์หยดพัทลุงโดยใช้ความเข้มข้น 20-40mgL^{-1}และฉีดพ่น 2 สัปดาห์/ครั้ง เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการกระตุ้น

ออลิโกไคโตซานโมเลกุลขนาดเล็ก (O-5) มีประสิทธิภาพในการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ไคติเนสสูงกว่าออลิโกไคโตซานโมเลกุลขนาดกลาง (O-80) และไคโตซาน (SCS) และสภาวะที่เหมาะสมในการกระตุ้นเอนไซม์จะใช้ความเข้มข้น 20-100mgL^{-1}โดยฉีดพ่น 2 สัปดาห์/ครั้ง ซึ่งการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ไคติเนส หรือ PR protein ชนิดอื่นในต้นข้าวจะเป็นกลไกสำคัญในการป้องกันตนเองของต้นข้าวต่อการบุกรุกของเชื้อรา

จากงานประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 23 ปี 2556

เอกสารอ้างอิง

[1] พูนศักดิ์ เมฆวัฒนากาญจน์. (2548). **โรคไหม้ข้าว : ความหลากหลายและแนวทางการพัฒนาข้าวต้านทานโรคไหม้**. อุบลราชธานี : กลุ่มวิจัย ศูนย์วิจัยข้าวอุบลราชธานี สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 4 กรมวิชาการเกษตร.

[2] อภิชาติ วรรณวิจิตร, ธานี ศรีวงศ์ชัยและธีรยุทธ ตู้จินดา. (2552). "การค้นหายีนต้านทานโรคไหม้ในข้าว," ใน **นิทรรศการงานวิจัย "บนเส้นทางงานวิจัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปี 2552**", วันที่ 30 มกราคม – 7 กุมภาพันธ์ 2552 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์.

[4] ชุลีกร ลีโนนลาน, สมใจ สาลีโทและณราวุฒิ ปิยโชติสกุลชัย. (2552). "การทดสอบปฏิกิริยาของพันธุ์ข้าวต่อโรคไหม้ที่จังหวัดหนองคาย," ใน **การประชุมแถลงผลงาน กลุ่มศูนย์วิจัยข้าวภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ประจำปี 2551**, (หน้า 12 - 23). วันที่10-11 มีนาคม 2552 สกลนคร. อุบลราชธานี : สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว.

[7] ไพฑูรย์แสนบัวหลวง. (2550).**ผลของไคโตซานต่อการเติบโตและปริมาณผลผลิตในข้าว *Oryza sativa* L. พันธุ์ปทุมธานี 1**. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. กรุงเทพฯ : จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

[10] ยุรฉัตร ยอดโยธี. (2554). **การชักนำการต้านทานโรคและการแสดงออกของยีน *PR-1*ในยางพาราโดยใช้ตัวกระตุ้นชนิดต่างๆ**. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สงขลา : มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

[3] Ou, S. H. (1980). Pathogen Variability and Host Resistance in Rice Blast Disease.**Annual Review of Phytopathology**. (18), 167-187.

[5] Rodríguez, A. T., Ramírez, M. A., Cárdenas, R. M., Hernández, A. N., Velázquez, M. G. and Bautista, S. (2007).Induction of defense response of *Oryza sativa* L. against *Pyricularia grisea* (Cooke) Sacc. by treating seeds with chitosan and hydrolyzed chitosan.**Pesticide Biochemistry and Physiology**. **89**(3), 206-215.

[6] Krishnaveni, S., Liang, G. H., Muthukrishnan, S. and Manickam, A. (1999). Purification and partial characterization of chitinases from sorghum seeds.**Plant Science.**(1), 1-7.

[8] Vasyukova, N.I., Zinoveva,S.V., IIinskaya, L.I., Perekhod, E.A., Chalenko, G.I., Gerasimova, N.G., Ilina,A.V., Varlamov,V.P. and Ozeretskovskaya, O.L. (2001). Modulation of plant resistance to disease by water soluble chitosan.**Applied Biochemistry and Microbiology**. (37), 103-109.

[9] Xu,J., Zhao,X., Han, X. and Du Y. (2007). Antifungal activity of oligochitosan against Phytophthora capsici and other plant pathogenic fungi in vitro.**Pesticide Biochemistry and Physiology**. (87), 220-228.

[11] Yamane, H. (2012). **Plant research**. Japan : Biotechnology Research Center The University of Tokyo. สืบค้นเมื่อ 24 กันยายน 2555, จาก http://park.itc.u-tokyo.ac.jp.