บทความวิจัย

ผลของไคโตซานต่อการชักนำความต้านทานเชื้อราในต้นอ่อนมะละกอ

Chitosan Induction of fungal resistance in papaya seedling (Carica papaya L.)

พรรณี อัศวตรีรัตนกุล[1*] และ เกษม อัศวตรีรัตนกุล[2]
Punnee Asawatreratanakul [1*] and Kasem Asawatreratanakul [2]

บทคัดย่อ

การศึกษาเพื่อนำไคโตซานมาประยุกต์ใช้ป้องกันโรคที่เกิดจากเชื้อราในต้นอ่อนมะละกอ โดยการนำสารละลายไคโตซานจากเปลือกกุ้งความเข้มข้น 10-50 mg L^{-1} ไปทดสอบกับต้นอ่อนมะละกออายุ 1 เดือน เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 40 mg L^{-1} ที่ให้ทุกสัปดาห์ สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นมะละกอดีที่สุดโดยมีความสูงเพิ่มขึ้น 18.7 เซนติเมตร คิดเป็น 1.6 เท่า เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้ให้ไคโตซาน ต้นอ่อนมะละกอที่ได้รับการกระตุ้นด้วยไคโตซานจากเปลือกกุ้งเข้มข้น 40 mg L^{-1} เมื่อทดสอบกับเชื้อรา Phytophthora palmivora แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการต้านทานการเกิดนีโครซีส (necrosis) บนใบได้ชัดเจน โดยขนาดของนีโครซีสบนใบมะละกอที่ได้รับไคโตซานมีขนาดเล็กกว่าเป็น 3 เท่าของใบมะละกอที่ไม่ได้กระตุ้นด้วยไคโตซาน ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการกักบริเวณเชื้อราไม่ให้แพร่กระจายไปยังเซลล์ข้างเคียง ส่วนนีโครซีสบนใบที่เป็นชุดควบคุมมีขนาดใหญ่และแผ่กว้างออกไปเรื่อยๆ ซึ่งแสดงถึงการเกิดโรค การศึกษากลไกการต้านเชื้อราดังกล่าวจะนำไปสู่การประยุกต์ใช้ในการควบคุมโรคที่เกิดจากเชื้อราและคัดเลือกพันธุ์ในมะละกอและพืชชนิดอื่นๆ ต่อไป

คำสำคัญ : ไคโตซาน ต้นอ่อนมะละกอ นีโครซีส

Abstract

This study was aimed to apply chitosan for papaya seedling (Carica papaya L.) protection from fungal diseases. Papaya Seedling (1-month old) were treated with the commercial shrimp chitosan at concentration of 10-50 mg L^{-1} for 8 weeks. The result showed that the papaya seedlings treated with 40 mg L^{-1} of chitosan at 7 days interval for 8 weeks could increase the plants height 1.1-1.6 fold higher than the control (18.7 cm.) Moreover, Necrosis test on papaya leaves treated with 40 mg L^{-1} of chitosans clearly indicated the plant resistance

1 ผศ., ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ หาดใหญ่ สงขลา 90112.
2 รศ., สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ สงขลา 90000.
* Corresponding author: e-mail: punnee.a@psu.ac.th Tel. 084-6329963

against Phytophthora palmivora. The lesion in the treated were 3 fold smaller than the control and did not extend out of the treated zones as a hypersensitive cell death. In contrast to the control, the necrosis were large and expanded as a disease lesion. Further elucidation of fungal resistance might be benefit for application of chitosans for fungal disease control in papaya and other plant species.

Keywords : Chitosan , Papaya seedling , Necrosis

บทนำ

มะละกอ (Carica papaya L.) เป็นพืชที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทยชนิดหนึ่ง อยู่ในวงศ์ Caricaceae เป็นไม้เนื้ออ่อนขนาดใหญ่ มีลำต้นเดี่ยว ไม่แตกกิ่งก้านสาขา มียางสีขาว เป็นผลไม้ที่สามารถรับประทานได้ทั้งผลสุกและผลดิบปลูกได้ทุกภาคของประเทศไทยเพราะมีอากาศร้อนชื้นเหมาะกับการเจริญเติบโตของมะละกอ สามารถ เก็บเกี่ยวผลผลิตได้ประมาณ 5-6 เดือนหลังการปลูก เชื้อรา Phytophthora palmivora เป็นเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคราก เน่า โคนเน่าในมะละกอ ส่งผลให้ใบเหลือง และร่วงในที่สุด เชื้อรานี้จะแพร่ระบาดได้ดีในฤดูฝน เนื่องจากสภาพอากาศมีความชื้น เหมาะแก่การเจริญของเชื้อรา

ไคโตซานเป็นสารประกอบพอลิเมอร์ในธรรมชาติโดยเป็นอนุพันธ์ของไคตินที่กำจัดหมู่อะซิทิลออกจากหน่วยย่อยของ N-acetyl glucosamine เกิดเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคซามีน ไคโตซานสกัดได้จากไคตินที่เป็นโครงสร้างของเปลือกกุ้ง กระดองปู แกนปลาหมึกและผนังเซลล์ของเห็ดราบางชนิด ไคโตซานเป็นไบโอพอลิเมอร์ธรรมชาติชนิดหนึ่งที่มีสมบัติพื้นฐาน คือ สามารถย่อยสลายง่าย เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ทั้งนี้เนื่องจากไคโตซานมีหมู่อะมิโน ซึ่งแสดงสมบัติพิเศษหลายประการ เช่น การจับกับไอออนของโลหะได้ดีและการมีฤทธิ์ทางชีวภาพ สามารถนำมาประยุกต์ใช้ในด้านการเกษตร โดยนำมาใช้ในการยับยั้งเชื้อราบางชนิดที่เป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคพืชและเป็นตัวกระตุ้นให้พืชงอกราก เกิดใบใหม่ กระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชหลายๆ ชนิด เช่น ข้าว [1] กล้วยไม้รองเท้านารีลูกผสม Paphiopedilum bellatulum x PAPH. Angthong [2] เป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตให้กับพืชเช่นในกล้วยไม้ Dendrobium [3] นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารยับยั้งเชื้อราและกระตุ้นภูมิคุ้มกันในพืช ทำให้พืชผลิตเอนไซม์และสารเคมีขึ้นมาเพื่อป้องกันตนเองให้รอดพ้นจากการถูกคุกคามโดยจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของโรคพืช [10] ไคโตซานสามารถออกฤทธิ์เป็นตัวกระตุ้นระบบป้องกันตัวเองของพืช [5] และกระตุ้นให้พืชสร้างภูมิคุ้มกันตนเอง [6] ทำให้พืชผลิตโปรตีน และสารเคมีเพื่อป้องกันตัวเองหลายชนิด เช่น การกระตุ้นข้าวทำให้มีความต้านทาน ต่อโรคใบไหม้ กระตุ้นกล้วยไม้รองเท้านารีขาวสตูลให้เกิดความต้านทานต่อเชื้อรา Phythophthora spp. [7] สร้างสารโมเลกุลขนาดเล็ก พวกฟีนอลิก ไฟโตอเล็กซิน (phytoalexin) และสร้าง pathogenesis related proteins (PR protein) ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดที่สำคัญๆ เช่น เอนไซม์ β-1,3-glucanase, peroxidase, chitinase และ superoxide dismutase ส่งผลให้ช่วยลดโอกาสที่จะถูกคุกคามจากศัตรูพืชชนิดต่างๆ ได้อีกทั้งยังเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ช่วยลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายในการกำจัดศัตรูพืชได้อีกด้วย

ในการศึกษาครั้งนี้จึงนำไคโตซานจากเปลือกกุ้งมาประยุกต์ใช้ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นอ่อนมะละกอรวมทั้งกระตุ้นให้มะละกอสร้างภูมิต้านทานและป้องกันตนเองเมื่อได้รับเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรค โดยทดสอบความต้านทานต่อเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคพืชบนใบมะละกอ เพื่อให้ทราบถึงปฏิกิริยาการตอบสนองต่อเชื้อราในมะละกอซึ่งจะนำไปสู่การควบคุมโรคของมะละกอและเพิ่มผลผลิตทางการเกษตรต่อไป

วิธีการวิจัย

มะละกอที่ใช้ทดลอง

ใช้มะละกอพันธุ์แขกดำ (Carica papay L.) เพาะด้วยเมล็ดแล้วแยกต้นอ่อนมาปลูกในกระถางจนกระทั่งอายุ 1 เดือน จึงนำมาทำการทดลอง

เชื้อราที่ใช้ในการทดลอง

ใช้เชื้อรา Phythophthora palmivora เลี้ยงบนอาหาร PDA (Potato dextrose agar) เมื่อต้องการเลี้ยงเพื่อให้สร้างสปอร์ จึงย้ายเชื้อรามาเลี้ยงในอาหาร V 8 agar

ศึกษาผลของไคโตซานจากเปลือกกุ้งต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนมะละกอ

เตรียมต้นอ่อนมะละกอ 2 ชุดคือชุดควบคุมและชุดการทดลองโดยใช้ไคโตซานจากเปลือกกุ้งความเข้มข้น 10, 20, 30, 40 และ 50 mg L-1 ฉีดพ่นต้นมะละกอทุกๆ สัปดาห์บันทึกความสูงของต้นอ่อนจำนวนใบและความยาวของใบมะละกอ บันทึกอย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ทดสอบผลของไคโตซานจากเปลือกกุ้งต่อความต้านทานเชื้อราบนใบมะละกอ

การบ่มสปอร์ของเชื้อราบนใบมะละกอที่ถูกกระตุ้นด้วยไคโตซาน (Inoculation) ทำโดยนำสปอร์เชื้อรา Phythophthora palmivora ที่ความเข้มข้น 105, 106 และ 107 สปอร์/มล. มาหยดลงบนใบมะละกอที่เตรียมไว้แต่ละหยดมีปริมาตร 20 ไมโครลิตร โดยหยดห่างกันประมาณ 4 หยด/ตารางนิ้ว สำหรับการทดลองชุดควบคุมจะใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อหยดแทนน้ำสปอร์ โดยหยดทางด้านหลังใบและเลี้ยงไว้ในจานแก้วปราศจากเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 11 เซนติเมตรที่มีกระดาษกรองและน้ำกลั่นปลอดเชื้อเป็นตัวให้ความชื้นเปรียบเทียบลักษณะและขนาดของบาดแผล (necrosis) บนใบมะละกอ โดยใช้การทดลอง 3 ซ้ำเพื่อหาค่าเฉลี่ย

ผลการวิจัย และอภิปรายผล

ผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนมะละกอ

ผลการกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นอ่อนมะละกอด้วยไคโตซานจากเปลือกกุ้งที่ความเข้มข้น 10-50 mg L-1 พบว่า ความเข้มข้นของไคโตซาน 40 และ 50 mg L-1 ให้การตอบสนองต่อการเจริญเติบโตของต้นมะละกอดีที่สุด โดยระยะเวลา 8 สัปดาห์มีความสูงเพิ่มขึ้นเป็น 18.7 เซนติเมตร (1.6 เท่าของชุดควบคุม) ความยาวของใบเพิ่มขึ้น 9 เซนติเมตร (1.5 เท่าของชุดควบคุม) ดังแสดงในตารางที่ 1 และ ภาพที่ 1 สำหรับไคโตซานเข้มข้น 10 - 30 mg L-1 จะให้การกระตุ้นน้อยกว่า (ความสูงของต้นอ่อนเพิ่มขึ้น 1.1 - 1.4 เท่าของชุดควบคุม) ผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าไคโตซานสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นอ่อนมะละกอพันธุ์แขกดำ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการวิจัยที่ศึกษาอิทธิพลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลหวาย “เอียสกุล” [8] กล้วยไม้ Phalanopsis [9] และกล้วยไม้รองเท้านารีขาวสตูล [7] กลไกของไคโตซานในต้นอ่อนมะละกอที่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตอาจเนื่องมาจากไคโตซานที่เข้าสู่ภายในต้นมะละกอจะกระตุ้นกลไกการป้องกันตนเองทำให้มีความแข็งแรงและสามารถเจริญเติบโตได้ดีขึ้นหรือไคโตซานอาจจะทำหน้าที่เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตและส่งผลโดยอ้อมต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนมะละกอ

จากงานประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 22 ปี 2555

ตารางที่ 1 แสดงความสูงของต้นอ่อนมะละกอแขกดำหลังฉีดพ่นไคโตซานเป็นเวลา 8 สัปดาห์

ความเข้มข้นของไคโตซาน (0-50 mg L^{-1})	ความสูงของต้นอ่อนมะละกอ (เซนติเมตร)						
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 6	สัปดาห์ที่ 8	ความสูงที่เพิ่มขึ้น (ซม.)	ความสูงที่เพิ่ม (เท่า)
0	3.7 ± 0.6	9.2 ± 1.9	10.7 ± 1.8	11.9 ± 2.2	15.3 ± 1.3	11.6	1.0
10	4.5 ± 0.7	9.1 ± 1.3	14.1 ± 2.5	15.8 ± 2.5	19.3 ± 2.9	14.8	1.3
20	5.1 ± 0.8	10.4 ± 1.7	14.6 ± 4.4	18.9 ± 7.5	21.7 ± 8.5	16.6	1.4
30	5.0 ± 0.5	8.0 ± 1.0	12.7 ± 5.7	14.3 ± 6.2	17.8 ± 6.7	12.8	1.1
40	5.1 ± 0.5	15.2 ± 5.7	18.8 ± 4.2	21.5 ± 3.9	23.8 ± 3.9	18.7	1.6
50	5.0 ± 0.9	15.4 ± 8.2	18.6 ± 6.6	20.7 ± 6.6	23.8 ± 7.0	18.8	1.6

ก. ข. ค. ง. จ. ฉ.

ภาพที่ 1 แสดงการเปรียบเทียบต้นอ่อนมะละกอแขกดำที่ได้รับไคโตซานจากเปลือกกุ้งเป็นเวลา 8 สัปดาห์

1. ชุดควบคุม ข. ไคโตซาน 10 mg L^{-1} ค. ไคโตซาน 20 mg L^{-1}
4. ไคโตซาน 30 mg L^{-1} จ. ไคโตซาน 40 mg L^{-1} ฉ. ไคโตซาน 50 mg L^{-1}

ผลของไคโตซานจากเปลือกกุ้งต่อความต้านทานเชื้อราบนใบมะละกอ

จากการบ่มใบมะละกอที่ได้รับไคโตซานจากเปลือกกุ้งด้วยสปอร์ของเชื้อรา P. palmivora มีขนาดของการเกิดนีโครซีสบนใบมะละกอแปรผันตามปริมาณของสปอร์ที่ใช้ในการทดลอง และพบว่าขนาดของนีโครซีสบนใบมีความแตกต่างจากชุดควบคุมที่ไม่ได้รับไคโตซาน กล่าวคือใบมะละกอที่ถูกกระตุ้นด้วยไคโตซานความเข้มข้น 40 mg L-1 จะมีขนาดเล็กและมีขอบบาดแผลที่ชัดเจน (hypersensitive cell death) นั่นคือเซลล์บริเวณที่ติดเชื้อจะเป็นสีน้ำตาล ส่วนเซลล์บริเวณใกล้เคียงจะยังคงเป็นสีเขียว เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับไคโตซาน (ภาพที่ 2) ซึ่งแสดง ถึงความสามารถของเซลล์ใบมะละกอในการกักบริเวณเชื้อราไม่ให้แพร่กระจายไปยังเซลล์ข้างเคียงได้ ส่วนนีโครซีส บนใบมะละกอที่เป็นชุดควบคุมไม่ได้ถูกกระตุ้นด้วยไคโตซาน จะมีขนาดใหญ่และแผ่กว้างออกไปเรื่อยๆ (disease lesion) ซึ่งแสดงว่าใบมะละกอเกิดการเป็นโรคขึ้น เนื่องจากสปอร์ของเชื้อรามีการสร้างสายรา

ลุกลามไปยังเซลล์ข้างเคียงได้ ผลการทดลองพบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง สังเกตเห็นนีโครซีสเกิดขึ้นบนใบมะละกอที่ได้รับไคโตซาน (10 - 40 mg L-1) วัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของบาดแผลได้เท่ากับ 0.23 - 0.27 ซม. ส่วนในใบมะละกอที่ไม่ได้ รับไคโตซานพบว่ามีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของบาดแผลเท่ากับ 0.5 ซม. เมื่อเวลาผ่านไป 48 และ 72 ชม.วัดขนาดของ เส้นผ่าศูนย์กลางบาดแผลบนใบมะละกอที่ได้รับไคโตซาน 40 mg L-1 ได้เท่ากับ 0.3 และ 0.4 ซม.ตามลำดับ ส่วนใบมะละกอที่ไม่ได้รับไคโตซานวัดขนาดของเส้นผ่าศูนย์ของบาดแผลได้เท่ากับ 0.9 และ 1.5ซม.ตามลำดับโดยบาดแผลมีขนาดโตกว่าอย่างชัดเจนและเริ่มแผ่กว้างไปตามเส้นใบ ซึ่งขนาดของบาดแผลจะใหญ่เป็น 3 เท่าของใบมะละกอที่ถูกกระตุ้นด้วยไคโตซาน การกระตุ้นความต้านทานต่อเชื้อรา P. botryosa ด้วยไคโตซานมีรายงานการทดสอบ necrosis บนใบยางพารา [9, 10] และในใบกล้วยไม้ รองเท้านารีขาวสตูลที่กระตุ้นด้วยไคโตซานจากเห็ดพื้นบ้าน [7] ดังนั้น จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำไคโตซานมาประยุกต์ใช้ในการกระตุ้นกลไกการป้องกันโรคเชื้อราในต้นอ่อนมะละกอ นอกจากนี้ขนาดของนีโครซีสสามารถใช้เป็นข้อมูลบ่งชี้ความต้านทานต่อเชื้อรา P. palmivora ของมะละกอเพื่อใช้เป็นแนวทางในการคัดเลือกพันธุ์ที่ดีต่อไป

ก. ข. ค.

ภาพที่ 2 แสดงการเกิดและขนาดของนีโครซีสที่แตกต่างกันเมื่อบ่มใบมะละกอ ด้วยสปอร์ของเชื้อรา Phythophthora palmivora ความเข้มข้น 10 7 สปอร์/มล. เป็นเวลา 72 ชั่วโมง
1. ชุดควบคุม /น้ำกลั่น ข. ชุดควบคุม/เชื้อ ค. ไคโตซาน 40 mg L-1/เชื้อ

สรุปผลการวิจัย

เมื่อนำสารละลายไคโตซานจากเปลือกกุ้งไปทดสอบการเจริญเติบโตกับต้นอ่อนมะละกอ พบว่าไคโตซานสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นอ่อนมะละกอเพิ่มขึ้นเป็น 1.1-1.6 เท่าของชุดควบคุมที่ไม่ได้รับไคโตซานโดยไคโตซานเข้มข้น 40-50 mg L-1 ให้ผลการกระตุ้นที่ดีที่สุด และเมื่อนำใบมะละกอไปทดสอบกับเชื้อราที่ก่อโรคพืช P. palmivora พบว่า ใบมะละกอที่ได้รับไคโตซานจากเปลือกกุ้งเข้มข้น 40 mg L-1 สามารถต้านทานการเกิดนีโครซีสได้ดีกว่าในชุดควบคุมอย่างชัดเจน

จากงานประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 22 ปี 2555

คำขอบคุณ

ผู้วิจัยใคร่ขอขอบคุณ คุณศุภวรรณ แซ่อึ้ง และคุณสุภรณ์ นกแก้ว ในการเก็บและรวบรวมข้อมูล และขอขอบคุณ รศ.ดร.นันทา เชิงเชาว์ ที่ให้ความอนุเคราะห์เชื้อรา Phythophthora palmivora

เอกสารอ้างอิง

[1] Chandrkrachang, S. (2002). “The applications of chitin and chitosan in agriculture in Thailand”, **Advances in Chitin Scince.** 5, 458–462.

[2] ชนัสพร เกลี้ยงแก้ว, สุวลี จันทร์กระจ่าง และพัลภา เศวตศิลา. (2546). “การศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการย้ายปลูกและการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีลูกผสม Paphiopedilum bellatulum x PAPH. Angthong ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ,” **เอกสารประกอบการประชุมไคติน-ไคโตซานแห่งประเทศไทย**, 17-18 กรกฎาคม 2546 อาคารสถาบัน 3 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

[3] Nge, K.L, Nwe, N., Chandrkrachang, S. and Stevens, W.F. (2006). “Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue culture.” **Plant Science** 170, 1185-1190.

[4] Peberdy, J.F. (1990). **Fungal cell walls** – a review : In Kuhn, P.J., Trinci, A.P.J., Jung, M.J., Goosey, M.W., Copping, L.G., **Biochemistry of Cell Wall and Membranes in Fungi**. Springer Verlag, Berlin. pp 5-30.

[5] Taiz, L. and Zeiger, E. (2002). **Plant Physiology** (3 rd edition). Sinauer Associate Inc., Sunderland, USA.

[6] Albersheim, P. and Andersoon–Prouty A. J. (1975). “Carbohydrates, protein, cell surfaces and Biochemistry of Pathogenesis”, **Annu Rev Plant Physiol**. 26, 31-52.

[7] อามีนา สาแม, พรรณี อัศวตรีรัตนกุล และเกษม อัศวตรีรัตนกุล (2551). “การกระตุ้น PR Proteins ในกล้วยไม้รองเท้านารีขาวสตูลโดยไคโตซานจากเห็ดพื้นบ้าน” **เอกสารประกอบการประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยมหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 18**, 25-26 กันยายน 2551. โรงแรมกรีนเวิลด์พาเลซ จ.สงขลา

[8] Limpanavech, P., Chaiyasuta, S., Vongpromek, R., Pichyangkura, R.,Khunwasi, C., Chadchawan, S., Lotrakul, P., Bunjongrat, Chaidee, A. and Bangyeekhun, T. (2008). “Chitosan effects on floral production, gene expression and anatomical changes in the Dendrobium orchid.” **Scientia Horticulture** 116 , 65-72.

[9] Chinnapun, D. and Churngchow, N. (2006). “Defense responses in Hevea brasiliensis induced by polypeptide elicitors secreted by Phytophthora palmivora”. **Arg. Sci. J**. 37(6)(Suppl) 1035-1038.

[10] นุรอามาลี ดีนามอ (2547). **ไอโซไซม์ของเปอร์ออกซิเดสที่เกี่ยวข้องกับการต้านทานโรคของยางพารา** วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สงขลา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

[11] Krishnaveni, S., Liang, G., Muthukrihnan, S. and Manickam, A. 1999. “Purification and partial characterization of chitinase from sorghum seeds”. **Plant Science**. 144 : 1-7.