รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

เกษตรและสหกรณ์, กระทรวง, วิชาการเกษตร, กรม. 2545ก. เกษตรดีที่เหมาะสมสำหรับกระเจี๊ยบเขียว. เกษตรดีที่เหมาะสม ลำดับที่ 31. พิมพ์ครั้งแรก, หน้า 1-15. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด.

เกษตรและสหกรณ์, กระทรวง, เศรษฐกิจการเกษตร, สำนัก. 2545ข. ภาวะเศรษฐกิจการเกษตร ปี 2545 แนวโน้มปี 2546 [online]. สำนักนโยบายและแผนการพัฒนาการเกษตรประมาณการเดือนธันวาคม 2545 แหล่งที่มา:http://www.oae.go.th/about/economy_status/2546/pava 2546.pdf [7 กรกฎาคม 2546].

เครือพันธุ์ กิตติปกรณ์ อำนวย อรรถลังรอง และ พิสสวรรณ เจียมสมบัติ. 2542-2543. โรคเส้นใบเหลืองของกระเจี๊ยบเขียว. วารสารโรคพืช . ปีที่ 14-15. ฉบับที่ 1-2, หน้า 16-30.

จารุรัตน์ เชาว์เลิศ และ ขันทอง สุนทราภา. 2546. การกำจัดตะกั่ว และปรอทในน้ำเสียจากสถานกำจัดมูลฝอยอ่อนนุชด้วยเกล็ดไคโตซาน. การประชุมไคติน-ไคโตซานแห่งประเทศไทย, หน้า 45-47. 17-18 กรกฎาคม 2546. ณ อาคารสถาบัน 3 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย.

เฉลิมเกียรติ โภคาวัฒนา และ ภัสรา ชวประดิษฐ์. 2540. รายงานการศึกษาเรื่อง ศึกษาวิเคราะห์ศักยภาพการผลิตและการตลาดกระเจี๊ยบเขียวเพื่อการส่งออก. กลุ่มพืชผัก กองส่งเสริมพืชสวน กรมส่งเสริมการเกษตร. (พิมพ์คอมพิวเตอร์)

ชนัสพร เกลี้ยงแก้ว สุวลี จันทร์กระจ่าง และ พัลภา เศวตศิลา. 2546. การศึกษาผลของไคโตซานที่มีต่อการย้ายปลูกและการเจริญเติบโตของกล้วยไม้สกุลรองเท้านารีลูกผสม *Paphiopedilum bellatulum* × *PAPH. Angthong* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. การประชุมไคติน-ไคโตซานแห่งประเทศไทย, หน้า 65-68. 17-18 กรกฎาคม 2546. ณ อาคารสถาบัน 3 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย.

เต็ม สมิตินันทน์ 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย ฉบับแก้ไขเพิ่มเติม.จัดพิมพ์โดย ส่วนพฤกษศาสตร์ป่าไม้ สำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์บริษัทประชาชน จำกัด.

นัยนันทน์ อริยกานนท์ กัญญาภรณ์ คมคาย และ วัจนา ประจงมูล. 2546. การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของอลูมินั่มซัลเฟต เฟอริกคลอไรด์ และไคโตซาน ในการกำจัดสีของน้ำทิ้งจากโรงงานฟอกย้อม. การประชุมไคติน-ไคโตซานแห่งประเทศไทย, หน้า 168-170. 17-18 กรกฎาคม 2546. ณ อาคารสถาบัน 3 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย.

นิรันดร์ สัพพวิญญู และ ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์. 2546. การกำจัดโลหะหนักมาตรฐาน สังกะสี และ แคดเมียม ด้วยไคโตซานพอรัสบีด. การประชุมไคติน-ไคโตซานแห่งประเทศไทย, หน้า 54-56. 17-18 กรกฎาคม 2546. ณ อาคารสถาบัน 3 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย.

บังอร ลือภักดีสกุล ละเอียด เพ็งโสภา และ ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์. 2546. การบำบัดน้ำล้างฟิล์มเอกซเรย์ด้วยไคโตซานพอรัสบีด. การประชุมไคติน-ไคโตซานแห่งประเทศไทย, หน้า 51-53. 17-18 กรกฎาคม 2546. ณ อาคารสถาบัน 3 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย.

ปัทมา วิศาลนิตย์ ทศพร ทองเที่ยง ปิยทัศน์ ทองไตรภพ และ ณรงค์ชัย พิพัฒน์ธนวงศ์. 2546. การประชุมไคติน-ไคโตซานแห่งประเทศไทย, หน้า 155-157. 17-18 กรกฎาคม 2546. ณ อาคารสถาบัน 3 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย.

ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์. 2543. การประชุมสัมมนาพร้อมนิทรรศการเรื่องเกษตรยุค-ใหม่กับไคติน-ไคโตซาน, หน้า 27-49. 18 กุมภาพันธ์ 2543 ณ ห้องสุธรรมอารีกุล อาคาร 50 ปี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน.

ปิยะบุตร วานิชพงษ์พันธุ์ และ สุวลี จันทร์กระจ่าง. 2542. การพัฒนาแผ่นเยื่อบางไคโตซานเพื่อการกรองแยกชีวสาร. การสัมมนาทางวิชาการเรื่องความร่วมมือของภาครัฐและเอกชนในการพัฒนาการผลิตและการใช้สารไคติน-ไคโตซานแบบครบวงจร, หน้า 34-36. 2-3 เมษายน 2542 ณ โรงแรมไอเฟิล จังหวัดระนอง.

พัชรา ลิมปนะเวช. 2548. การใช้ไคโตซานในการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชบางชนิด. การอบรมเรื่องการใช้ไคโตซานในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช, หน้า 1-9. 7 กรกฎาคม 2548. ณ สถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร.

พิมพร ลีลาพรพิสิฐ, จีรติการณ์ พิทาคำ และ ชาดา ศรีชูชาติ. 2546. การพัฒนาตำรับครีมปะอรผิวที่มีส่วนผสมของไคโตซาน. การประชุมไคติน-ไคโตซานแห่งประเทศไทย, หน้า 122-125. 17-18 กรกฎาคม 2546. ณ อาคารสถาบัน 3 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย.

ไพฑูรย์ พลสนะ, อัครราชทูตที่ปรึกษา (ฝ่ายการเกษตร). 2543. ศักยะภาพการค้าพืชผักในตลาดญี่ปุ่น. กรุงโตเกียว.สำนักที่ปรึกษาการเกษตรต่างประเทศ สถานเอกอัครราชทูตไทย ประจำกรุงโตเกียว. (พิมพ์คอมพิวเตอร์)

ภาวดี เมธะคานนท์. 2543. Application of chitin/Chitosan in Agriculture. การประชุมสัมมนาพร้อมนิทรรศการเรื่องเกษตรยุค-ใหม่กับไคติน-ไคโตซาน, หน้า 14-18. 18 กุมภาพันธ์ 2543 ณ ห้องสุธรรมอารีกุล อาคาร 50 ปี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน.

ภูริวัฒน์ ลี้สวัสดิ์ ศิริชัย เจียตระกูล และ สุภาณุพงศ์ ศรีวิชัย. 2546. การเตรียมฟองน้ำที่สลายตัวได้ทางชีวภาพจากไคโตซาน. การประชุมไคติน-ไคโตซานแห่งประเทศไทย, หน้า 140-142. 17-18 กรกฎาคม 2546. ณ อาคารสถาบัน 3 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย.

มนตรี กลิ่นระรวย วิษณุนิยมเหลา และ ศิริชัย กัลยาณรัตน์. 2546. ผลของสารเคลือบ Chitosan ต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยวและคุณภาพการเก็บรักษาฝรั่งพันธุ์กลมสาลี่. การประชุมไคติน-ไคโตซานแห่งประเทศไทย, หน้า 152-154. 17-18 กรกฎาคม 2546. ณ อาคารสถาบัน 3 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย.

เมษัณฑ์ ปียะอารีธรรม สมพร กมลศิริพิชัยพร และรัฐ พิชญางกูร. 2545. การใช้ไคโตซานในการเร่งการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ตระกูล แคทลียา. วิทยาปฏิบัติ ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

รัฐ พิชญางกูร. 2543. กลไกการใช้ไคติน-ไคโตซานในการเพิ่มผลผลิตของพืชและสัตว์ : คุณสมบัติและกลไกการทำงานของไคติน-ไคโตซานที่สามารถช่วยเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร. การประชุมสัมมนาพร้อมนิทรรศการเรื่องเกษตรยุคใหม่กับไคติน-ไคโตซาน, หน้า 20-23. 18 กุมภาพันธ์ 2543 ณ ห้องสุธรรมอาริกุล อาคาร 50 ปี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน.

เรวดี มีสัตย์ หทัยรัตน์ ริมคีรี และ ธงชัย สุวรรณสิชฌน์. 2546. การพัฒนาโลชั่นบำรุงผิวที่มีส่วนผสมของคาร์บอกซีเมธิลไคติน. การประชุมไคติน-ไคโตซานแห่งประเทศไทย, หน้า 126-130. 17-18 กรกฎาคม 2546. ณ อาคารสถาบัน 3 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย.

โลกของพืชผัก: กระเจี๊ยบเขียวผักเพื่อการส่งออก. 2544. หน้า 140-147. เคหการเกษตร. ปีที่ 25 ฉ.7.

วิมลรัตน์ ศรีจรัสสิน จุฬารัตน์ เอี่ยมสมัย พัชรินทร์ ชาติกุล และ ภัทราภรณ์ สิงห์สถิตย์. 2546. การศึกษาการสกัดขมิ้นจากน้ำทิ้งของบริษัทเครื่องหอมโดยใช้ไคโตซาน. การประชุมไคติน-ไคโตซานแห่งประเทศไทย, หน้า 165-167. 17-18 กรกฎาคม 2546. ณ อาคารสถาบัน 3 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย.

วิมลรัตน์ ศรีจรัสสิน ผุษนีย์ เลิศลัทธภรณ์ วัชรพงษ์ อริยเกรียงไกร และวัชระ เชื้อโชติ. 2546. การผลิตเส้นใยเรยอนผสมไคโตซาน. การประชุมไคติน-ไคโตซานแห่งประเทศไทย, หน้า 69-71. 17-18 กรกฎาคม 2546. ณ อาคารสถาบัน 3 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย.

วิษณุ นิยมเหลา หะริน รุ่งเรืองวรรัตน์ และ ศิริชัย กัลยาณรัตน์. 2546. อิทธิพลของสารเคลือบ Chitosan ต่อคุณภาพและอายุการเก็บรักษามะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้. การประชุมไคติน-ไคโตซานแห่งประเทศไทย, หน้า 149-152. 17-18 กรกฎาคม 2546. ณ อาคารสถาบัน 3 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย.

สถิต พูลทรัพย์. 2543. การใช้ไคติน-ไคโตซานในการเกษตร :เพื่อชีวิตที่ดีกว่าของชาวเกษตร เพื่อชีวิตที่มีค่าของประชาชนกับการใช้ไคโตซาน. การประชุมสัมมนาพร้อมนิทรรศการเรื่องเกษตรยุคใหม่กับไคติน-ไคโตซาน, หน้า 5-13. 18 กุมภาพันธ์ 2543 ณ ห้องสุธรรมอารีกุล อาคาร 50 ปี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน.

สาธารณสุข, กระทรวง, การแพทย์, กรม, การแพทย์แผนไทย, สถาบัน. 2542. ผักพื้นบ้านภาคกลาง. พิมพ์ครั้งแรก. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.

สาธารณสุข, กระทรวง, การแพทย์, กรม, การแพทย์แผนไทย, สถาบัน, ปลัดกระทรวงสาธารณสุข, สำนักงาน, คณะกรรมการสาธารณสุขมูลฐาน, สำนักงานคณะกรรมการ. 2540. ผักพื้นบ้าน: ความหมายและภูมิปัญญาของสามัญชนไทย. พิมพ์ครั้งที่2. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.

สายรุ้ง เทพกรรณ์ โยทะกา แก่นการณ์ จันทร์จรัส เสริมสาธนสวัสดิ์ อุษา ศรีสุวรรณ และ ปราณี เลิศสุทธิวงค์. 2546. การใช้ไคโตซานเป็นสารตกตะกอนในน้ำเสียของโรงงานผลิตกรดมะนาว. การประชุมไคติน-ไคโตซานแห่งประเทศไทย, หน้า 171-174. 17-18 กรกฎาคม 2546. ณ อาคารสถาบัน 3 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย.

สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ. 2526. แมลงศัตรูพืชทางการเกษตรของประเทศไทย. พิมพ์ครั้งแรก. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

สุดีพ ไชยมณี สุชน ตั้งทวีวิพัฒน์ และ บุญล้อม ชีวะอิสระกุล. 2546. การศึกษาเบื้องต้นของการสกัดและใช้สารไคโตซานเสริมในอาหารได้. การประชุมไคติน-ไคโตซานแห่งประเทศไทย, หน้า161-164. 17-18 กรกฎาคม 2546. ณ อาคารสถาบัน 3 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย.

สุดคนึง พึ่มชัย วิษณุ นิยมเหลา และ ศิริชัย กัลยาณรัตน์. 2546. อิทธิพลของสารเคลียบ Chitosan น้ำหนักโมเลกุลต่าง ๆ ต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาหลังการเก็บเกี่ยวและคุณภาพการเก็บรักษามะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้. การประชุมไคติน-ไคโตซานแห่งประเทศไทย, หน้า146-148. 17-18 กรกฎาคม 2546. ณ อาคารสถาบัน 3 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย.

สุวลี จันทร์กระจ่าง. 2542. สารไคตินและไคโตซาน ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ และการประยุกต์ใช้ประโยชน์. การสัมมนาทางวิชาการเรื่องความร่วมมือของภาครัฐและเอกชนในการพัฒนาการผลิตและการใช้สารไคติน-ไคโตซานแบบครบวงจร, หน้า 1-21. 2-3 เมษายน 2542 ณ โรงแรมไอเฟิล จังหวัดระนอง.

สุวลี จันทร์กระจ่าง. 2543. ภาพรวมการใช้สารไคติน/ไคโตซานในประเทศไทย. การประชุมสัมมนาพร้อมนิทรรศการเรื่อง เกษตรยุคใหม่กับไคติน-ไคโตซาน, หน้า 1-4. 18 กุมภาพันธ์ 2543 ณ ห้องสุธรรมอารีกุล อาคาร 50 ปี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน.

สุวลี จันทร์กระจ่าง เพ็ญใจ สมพงษ์ชัยกุล และ สมชาย ต่วนต่าย. 2546. ผลของการใช้ไคโตซานในการปลูกพืชผักสวนครัวแบบผสมผสาน. การประชุมไคติน-ไคโตซานแห่งประเทศไทย, หน้า158-160. 17-18 กรกฎาคม 2546. ณ อาคารสถาบัน 3 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย.

สุวลี จันทร์กระจ่าง และ คิน เล งี. 2547. ผลของไคโตซานในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้. การสัมนาการใช้ไคโตซานในไม้ดอก, หน้า 1-10. 29-30 เมษายน 2547. ณ อาคารสถาบันวิจัยโลหะและวัสดุ ศูนย์วัสดุชีวภาพไคติน-ไคโตซาน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ศูนย์เทคโนโลยีโลหะและวัสดุแห่งชาติ. 2542. ไคติน/ไคโตซาน: การประยุกต์ใช้งาน. การสัมมนาทางวิชาการเรื่องความร่วมมือของภาครัฐและเอกชนในการพัฒนา การผลิตและการใช้สารไคติน-ไคโตซานแบบครบวงจร, หน้า 74-78. 2-3 เมษายน 2542 ณ โรงแรมไอเฟิล จังหวัดระนอง.

อัจฉลีย์ เอี่ยมผ่อง สุวลี จันทร์กระจ่าง บุญเทียม พันธ์เพ็ง และ นวลพรรณ ณ ระนอง. 2542. การหมักเบียร์โดยใช้เซลล์ยีสต์ตรึงรูปด้วยไคโตซาน. การสัมมนาทางวิชาการเรื่องความร่วมมือของภาครัฐและเอกชนในการพัฒนา การผลิตและการใช้สารไคติน-ไคโตซานแบบครบวงจร, หน้า 90. 2-3 เมษายน 2542 ณ โรงแรมไอเฟิล จังหวัดระนอง.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาษาอังกฤษ

Agrawal, G.K., Rakwal, R., Tomogami, Shigeru., Yonekura, M., Kubo, A. and Saji, H. 2002 . Chitosan activatesdefense/stress response(s) in the leaves of *Oryza sativa* seedlings. Plant Physiology and Biochemistry. 40:1061-1069.

Agrios, G. N. 1997. Plant Pathology. 4th ed. Academic Press. U.S.A.

Baley, L.H. 1969. Manual of Cultivated Plants, pp. 663-664. U.S.A.

Barber, M.S., Bertram, R.E., and Ride, J.P. 1989. Chitin oligosaccharides elicit lignification in wounded wheat leaves. Physiological and Molecular Plant Pathology 34:3-12.

Barka, E.A., Eullaffroy, P. Clément, C., and Vernet, G. 2004. Chitosan improves development, and protects *Vitis vinifera* L. against *Botrytis cinerea*. Plant Cell Reports 22:608-614.

Bautista-Baños, S., Hernández-López, M., Bosquez-Molina, E. and Wilson, C.L. 2003. Effect of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. Crop Protection. 22: 1087-1092.

Benhamou, N., Lafontaine, P.J., and Nicole, M. 1994. Induction of systemic resistance to fusarium crown and root rot in tomato plant by seed treatment with chitosan. Phytopathology 84:1432-1444.

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.

Bernasconi, P., Jolles, P. and Pilet, P.E. 1986. Increase of lysozyme and chitinase in *Rubus* calli caused by infection and some polymers. Plant Science. 44:79-83.

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.

Broadway, R.M. 1995. Are Insects Resistant to Plant Proteinase Inhibitors?. Journal of Insect Physiology. 41:107-116.

Brodelius, P., Funk, C., Haner, A., and Villegas, M. 1989. A procedure for the determination of optimal chitosan concentrations for elicitation of cultured plant cells. Phytochemistry. 28:2651-2654.

Campbell, N.A., Reece, J.B., and Mitchell, L.G. 1999. Biology. 5th ed. USA:Addison Wesley Longman, Inc.

Chi, E. and Knaus, E. 1997. Pathogen control strategies for crop plants in space. 1997 Summer REU program at colorado state university.[online]. Richard Stoner, Pres., Aeroponics International, Berthoud, Co (Patent Pending) Available from: http://www. biocontrols. com/aero91.htm[2003,July 9]

Chong, T.M., Abdullah, M.A., Lai, O.M., Nor'Aini, F.M., and Lajis, N.H. 2005. Effective elicitation factors in *Morinda elliptica* cell suspension culture. Process Biochemistry. 40: 3397-3405.

Chung, Y.C., Wang, H.L., Chen, Y.M., and Li, S.L. 2003. Effect of factor on the antibacterial activity of chitosan against waterborne pathogens. Bioresource Technology. 88: 179-184.

Conrath, U., Domard, A., and Kauss, H. 1989. Chitosan-elicited synthesis of callose and of coumarin derivatives in parsley cell suspension cultures. Plant Cell Reports. 8: 152-155.

Dellaporta, S.L., Wood, J., and Hicks, J.B. 1983. Isolation of DNA from higher plants : A plant DNA minipreparation : version II. Plant Molecular Biology Reports. 4: 19-21.

Doares, S.H., Syrovests, T., Weiler, E.W., and Ryan, C.A. 1995. Oligogalacturonides and chitosan activate plant defensive genes through the octadecanoid pathway. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. 92: 4095-4098.

Flocco, C.G., Pitta-Alvarez, S., and Giulietti, A.M. 2001. Effect of chitosan and acetic acid on the peroxidase component of hairy root cultures of *Armoracia lapathifolia*. [online]. Available from: http://www.redbio.org/port/encuentros/enc_ 2001/Poster/02/02 pdf./02-051.pdf [2 Febuary, 2001]

Geurts, R., Fedorova, E. and Bisseling, T. 2005. Nod factor signaling genes and their function in the early stages of Rhizobium infection. Current Opinion in Plant Biology. 8: 346-352.

Hadwiger, L.A., Ogawa, T., and Kuyama, H. 1994. Chitosan polymer size effective in inducing phytoalexin accumulation and fungal suppression are verified with synthesized oligomers. Molecular Plant-Microbe Interactions. 7: 531-533.

Han, W.W.T, Hein, S., Chandrkrachang, S., and Stevens, W.F. 2003. *In Vitro* Evaluation of a chitosan transdermal patch. The National Chitin-Chitosan Conference, pp. 89-91. 17-18 July 2003 At Institute Building III, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.

Hirano, S. 1997. Applications of chitin and chitosan in the ecology and environmental fields. In Mattheus F.A. Goosen(ed). Applications of Chitin and Chitosan. pp.31-54. PA. USA: Technomic Publishing.

Hirano, S., Koishibara, Y., Kitaura, S., Taneko, T., Tsuchida, H., Murae, K., and Yamamoto, T. 1991. Chitin biodegradation in sand dunes. Biochemical Systematics and Ecology. 19: 379-384.

Horton, H.R., Moran, L.A., Ochs, R.S. Rawn, J.D., and Scrimgeour, K.G. 1993. Principles of Biochemistry. USA.

Hoven, V.P., Mutchapato, C., Iwasaki, Y., and Ito, T. 2003. Blood compatibility of chitosan/ Poly(Styrene Sulfonate) assembled thin film. The National Chitin-Chitosan Conference , pp. 30-33. 17-18 July 2003 At Institute Building III, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.

Jangchud, I., Sumitra, P., and Jangchud, A. 2003. Study of Edible film from blends of chitosan and ester-modifled starch. The National Chitin-Chitosan Conference, pp. 143-145. 17-18 July 2003 At Institute Building III, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.

Janvikul, W., Thavornyutikarn, B., and Uppanan, P. 2003. Wound dressing from carboxymethyl chitosan hydrogel. The National Chitin-Chitosan Conference, pp. 26-29. 17-18 July 2003 At Institute Building III, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

Jiang, Y. and Li, Y. 2001. Effects of chitosan coating on postharvest life and quality of longan fruit. Food Chemistry.73:139-143.

Joas, J., Caro, Y., Ducamp., M.N., and Reynes, M. 2005. Postharvest control of pericarp browning of litchi fruit (*Litchi chinensis* Sonn cv. Kwaï Mi) by treatment with chitosan and organic acids I. Effect of pH and pericarp dehydration. Postharvest Biology and Technology. 38:128-136.

Komaraiah, P., Ramakrishna, S.V., Reddanna, P., and Kavi Kishor, P.B. 2003. Enhanced production of plumbagin in immobilized cells of *Plumbago rosea* by elicitation and in situ adsorption. Journal of Biotechnology. 101:181-187.

Laflamme, P., Benhamou, N., Bussières, G. and Dessureault, M. 1999. Differential effect of chitosan on root rot fungal pathogens in for forest nurseries. The Canadian Journal of Botany. 77:1460-1468.

Lee, S., Choi, H., Suh, S., Doo, In-Suk., Oh, Ki-Young., Choi, E.J., Taylor, A.T.A., Low, P.S. and Lee, Y. 1999. Oligogalacturonic acid and chitosan reduce stomatal aperture by inducing the evolution of reactiveoxygen species from guard cells of tomato and *Commelina communis*. Plant Physiology. 121:147-152.

Li, Q., Dunn, E.T., Grandmaison, E.W. and Goosen, M.F.A. 1997. Applications and Properties of chitosan. In Mattheus F.A. Goosen(ed). Applications of Chitin and Chitosan, pp.3-29. PA. USA: Technomic Publishing.

Limpanavech, P., Pichayangkura, R., Khunwasi C., Chadchawan, S., Lotrakul, P., Banjongrat, R.,and Akaraeakpanya, T. 2004. Chitosan effects on vegetative growth of *Dendrobium* 'EISKUL'. Utilization of Chitosan in Flora , pp. 1-8. 29-30 April 2004 at Metallurgy and Materials Science Research Institute Building Chulalongkorn University. Bangkok Thailand.

Limpanavech, P., Pichayangkura, R., Khunwasi, C., Chadchawan, S., Lotrakul, P., Bunjongrat, R., Chaidee, A., and Akaraeakpanya, T. 2003. The Effects of polymer type, concentration, and % DD of biocatalyst-modified chitosan on floral production of *Dendrobium* 'EISKUL'. The National Chitin-Chitosan Conference, pp. 60-64. 17-18 July 2003 At Institute Building III, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.

Lotrakul, P., Valverde, R.A. and Landry, A.D. 2000. Biological and molecular properties of a Begomovirus from *Dicliptera sexangularis*. Phytopathology. 90:723-729.

Mabberley, D.J. 1987. The Plant-Book. 2nd ed. UK:Cambridge University Press.

Marsh, L., Jones, R. and Ellersieck, M. 1990. Growth of okra and fruiting pattern as affected by growth regulators. Hortscience. 25: 431-433.

Mason, M.E. and Davis, J.M. 1997. Defense response in Slash Pine: Chitosan treatment alters the abundance of specific mRNAs. Molecular Plant-Microp Interactions. 10: 135-137.

McAinsh, M.R., Clayton, H., Mansfield, T.A. and Hetherington, A.M. 1996. Changes in stomatal behavior and guard cell cytosolic free calcium in response to oxidative stress. Plant Physiology. 111:1031-1042.

Miller, R.H., Berryman, A.A., and Ryan, C.A. 1986. Biotic elicitors of defense reactions in Lodgepole Pine. Phytochemistry. 25:611-612.

Molloy, C., Cheah, L.H., and Koolaard, J.P. 2004. Induced resistance against *Sclerotinia sclerotiorum* in carrots treated with enzymatically hydrolysed chitosan. Postharvest Biology and Technology. 33:61-65.

Moura, D.S. and Ryan, C.A. 2001. Wound-inducible proteinase inhibitors in pepper: Differential regulation upon wounding, systemin, and methyl jasmonate. Plant Physiology. 126: 289-298.

Muzzarelli, R.A.A. 1976. Chitin., pp. 1-50. Italy.

Muzzarelli, R.A.A. and de Vincenzi, M. 1997. In Mattheus F.A. Goosen(ed). Applications of Chitin and Chitosan. pp. 115-125. PA. USA: Technomic Publishing.

Ohta, K., Taniguchi, A., Konishi, N., and Hosoki, T. 1999. Chitosan treatment affects plant growth and flower quality in *Eustoma grandiflorum*. Hortscience. 34: 233-234

Ortmann, I., Sumowski, G., Bauknecht, H., and Moerschbacher, B.M. 2004. Establishment of a reliable protocol for the quantification of an oxidative burst in suspension-cultured wheat cells upon elicitation. Physiological Molecular and Plant Pathology. 64:227-232.

Pen, L.T. and Jiang, Y.M. 2003. Effects of chitosan coating on shelf life and quality of fresh-cut Chinese water chestnut. Lebensmittel-Wissenchaft und-Technologie. 36: 359-364.

Phaechamud, T. 2003. Orodispersible tablet preparing using chitin as the excipient. The National Chitin-Chitosan Conference, pp. 131-134. 17-18 July 2003 At Institute Building III, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.

Phaechamud, T., Koizumi, T., and Ritthidej, G.C. 2003. New method to determine the dissolution time of chitosan film coated tablets under the influence of storage condition. The National Chitin-Chitosan Conference, pp. 135-139. 17-18 July 2003 At Institute Building III, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.

Pomsila, N., Warotamawit, S., Suabgthook, S., Krisanasuwan, O., and Sang-In, S. 2003. A pilot study of using chitosan fibre as A drug delivery system for tetracycline hydrochloride. The National Chitin-Chitosan Conference, pp. 41-44. 17-18 July 2003 At Institute Building III, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.

Pospieszny, H. 1997. Antiviroid activity of chitosan. Crop Protection. 16: 105-106.

Pospieszny, H. and Atabekov, J.G. 1989. Effect of chitosan on the hypersensitive reaction of bean to alfafa mosaic virus. Plant Science. 62:29-31.

Pospieszny, H., Chirkov, S., and Atabekov, J.G. 1991. Induction of antiviral in plants by chitosan. Plant Science. 79:63-68.

Pranoto, Y., Rakshit, S.K., and Salokhe, V.M. 2005. Enhancing antimicrobial activity of chitosan films by incorporating garlic oil, potassium sorbate and nisin. LWT-Food Science and Technology. 38:859-865.

Promé, J.C., Ferro, M., Debellé F., Promé, D., and Krisnan, H.B. 2002. The pivotal role of tan dem mass spectrometry in structural determinations of Nod factors produced by Rhizobia Nod factors produced by wild-type strains of *Mesorhizobium huakii* and *Rhizobium* sp. *mus10*. International Journal of Mass Spectrometry. 219: 703–716.

Puttipipatkhachorn, S., Tunsutthipanon, P., and Nunthanid, J. 2003. Effect of chitosan on drug release from pellets. The National Chitin-Chitosan Conference, pp. 34-36. 17-18 July 2003 At Institute Building III, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.

Punyodom, W., Sooksamiti, P., Kasiwad, S., Lapanantnoppakhun, S., and Grudpan, K. 2003. Development of some types of chitosan membranes for on-line separation and dilution. The National Chitin-Chitosan Conference, pp. 113-116. 17-18 July 2003 At Institute Building III, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.

Rutnakompituk, M., Boonchu, W., and Phinyocheep, P. 2003. Preparation of siloxane-modified chitosan films. The National Chitin-Chitosan Conference, pp. 16-19. 17-18 July 2003 At Institute Building III, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.

Reddy, M.V.B., Belkacemi, K., Corcuff, R., Castaigne, F. and Arul, J. 2000. Effect of pre-harvest chitosan sprays on post-harvest infection by *Botrytis cinerea* and quality of strawberry fruit. Postharvest Biology and Technology. 20: 39-51.

Ren, Y.Y. and West, C.A. 1992. Elicitation of diterpene biosynthesis in rice (*Oryza sativa* L.) by Chitin. Plant Physiology. 99: 1169-1178.

Rhoades J., and Roller S. 2000. Antimicrobial actions of degraded and native chitosan against spoilage organisms in laboratory media and foods. Applied and Environmental Microbiology. 66:80-86.

Sambrook, J., Fritsh, E.F. and Maniatis, T. 1989. Molecular Cloning A Laboratory Manual. 2nd ed, pp. 9.31-9.57. USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Sasikiran, K., Rekha, M.R. and Padmaja, G. 2002. Proteinase and alpha-amylase inhibitors of sweet potato: Changes during growth phase, sprouting and wound induced alterations. Botanical Bulletin of Academic Sinica. 43: 291-298.

Sathiyabama, M. and Balasubramanian, R. 1998. Chitosan induces resistance components in *Arachis hypogaea* against leaf rust caused by *Puccinia arachidis* Speg.. Crop Protection. 17: 307-313.

Sharathchandra, R.G., Raj, S.N., Shetty, N.P., Amruthesh, K.N. and Shetty, H.S. 2004. A chito - san formulation Elexa™ induces downy mildew disease resistance and growth promotion in pearl millet. Crop Protection. 23:881-888

Siemonsma, J.S. and Kasem P.. 1993. PROSEA: Plant Resources of South-East Asia No.8 Vegetables, pp. 57-59. Wageningen. Netherlands: Podoc Scientific Publishers.

Smith, C.J. 1996. Tansley Review No.86 Accumulation of phytoalexins: defence mechanism and stimulus response system. New phytologist. 132: 1-45.

Songkroah, C., Thiravetyan, P., and Nakbanpote, W. 2003. Application of chitin for recovery of silver from photographic waste. The National Chitin-Chitosan Conference, pp. 48-50. 17-18 July 2003 At Institute Building III, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.

Sriamornsak, P., Nunthanid, J., and Puttipipatkhachorn, S. 2003. Release of indomethacin from pectin-chitosan composite gel spheres. The National Chitin-Chitosan Conference, pp. 34-36. 17-18 July 2003 At Institute Building III, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.

Srinivasa, P.C., Baskaram, R., Ramesh, M.N., Harish Prashanth, K.V. and Tharanathan, R.N. 2002. Storage studies of mango packed using biodegradable chitosan film. European Food Research and Technology. 215: 1438-2377.

Stout, M.J., Workman, K.V., Bostock, R.M. and Duffey, S.S. 1998. Specificity of induced resistance in the tomato, *Lycopersicon esculentum*. Oecologia. 113:74-81.

Struszczyk, H. and Pospieszny, H. 1997. New applications of chitosan and its derivatives in plant protection. In Mattheus F.A. Goosen(ed). Applications of Chitin and Chitosan., pp.171-184. PA. USA: Technomic Publishing.

Taiz, L. and Zeiger, E. 1998. Plant Physiology. 2nd ed., U.S.A: Sinauer Associates.

Takeshi, Y., Yuki, I. and Naoto, S. 2000. (Minireview) Oligosaccharide elicitor and their receptors for plant defense responses. Trends in Glycoscience Glycotechnology. 12:113-120.

Tham, L.X., Nagasawa, N., Matsuhashi, 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.

Trung, T.S., Chuen-How Ng, and Stevens, W.F. 2003. Preparation of decrystallized chitosan from shrimp shell waste and its application in decolorization of textile wastewater. The National Chitin-Chitosan Conference, pp. 92-95. 17-18 July 2003 At Institute Building III, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand

Uddin, A.F.M.J., Hashimoto, F., Shimizu, K. and Sakata, Y. 2004. Monosaccharides and chitosan sensing in bud growth and petal pigmentation in *Eustoma grandiflorum* (Raf.) Shinn. Scientia Horticulturae. 100: 127-138.

Underwood, N., Morris, W., Gross, K. and Lockwood III, J.R. 2000. Induced resistance to Mexican bean beetlies in soybean : variation among genotypes and lack of correlation with constitutive resistance. Oecologia.122: 83-89.

Vander, P., Vårum, K.M., Domard, A., El Gueddari, N.E., and Moerschbacher, B.M. 1998. Comparison of the ability of partially *N*-acetylated chitosans and chitooligosaccharide to elicit resistance reaction in wheat leaves. Plant Physiology. 118:1353-1359.

Vasconsuelo, A.A., Giuletti, A.M., and Boland, R. 2004. Signal transduction events mediating chitosan stimulation of anthraquinone synthesis in *Rubia tinctorum*. Plant Science. 166: 405-413.

Vasconsuelo, A.A., Giuletti, A.M., Picotto, G., Rodriguez-Talou, J., and Boland, R. 2004. Involvement of the PLC/PKC pathway in Chitosan-induced antharquinone production by *Rubia tinctorum* L. cell cultures. Plant Science. 165: 429-436.

Vongchan, P., Kasinrerk, W., and Kongtawelert, P. 2003. Sulfated chitosan inhibits immunoglobulin of human peripheral blood mononuclear cells. The National Chitin-Chitosan Conference, pp. 117-120. 17-18 July 2003 At Institute Building III, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.

Wang, X., Du, Y., and Liu, H. 2004. Preparation, characterization and antimicrobial activity of chitosan-Zn complex. Carbohydrate Polymer. 56: 21-26.

Wanichpongpan, P., Suriyachan, K., and Chandrkrachang, S. 2000. Effects of chitosan on the growth of gerbera flower plant (*Gerbera jamesonii*). The 8th International Chitin and Chitosan Conference and 4th Asia Pacific Chitin and Chitosan Symposium. 21-23 September 2000, Yamaguchi, Japan.

Wongchai, C., Lotrakul, P., Chadchawal, S., and Pichayangkura, R. 2004. Effect of polymer size and concentration of chitosan on germination, survival, and growth of cowpea, okra, rice, and soybean seedlings. Biology in Asia International Conference 2004, pp. 98. 7-10 December 2004 At National Institute of Education, Nanyang Technological University, Nanyang, Singapore.

Zhang, D.and Quantick, P.C. 1997. Effect of chitosan coating on enzymatic browning and decay during postharvest storage of litchi (*Litchi chinessis* Sonn.) fruit. Posthavest Biology and Technology. 12:195-202.

ภาคผนวก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. วิธีเตรียม Equilibrated Phenol Solution (Sambrook, Fritsh and Maniatis, 1989)

1.1. อุ่นเกล็ดฟีนอลใน water bath ที่อุณหภูมิ 65 °C ให้ละลายจนหมด

1.2. เติม 8-Hydroxyquinoline ความเข้มข้น 0.1 % (w/v) ลงในฟีนอลที่ละลายเรียบร้อยแล้ว เขย่าเบา ๆ ให้เข้ากัน

1.3. เติม 1.0 M Tris.HCl (pH 8) ในปริมาตรที่เท่า ๆ กับฟีนอลที่มีอยู่ (ปริมาตร 250 ml)

1.4. นำฟีนอลไปปั่นเบา ๆ ด้วยเครื่อง Magnetic Stirrer (AGIMATIC-N) ความเร็ว 60 rpm นาน 30 นาที ภายในตู้ดูดควัน

1.5. นำฟีนอลไปทำการแยกชั้นออกจาก 1.0 M Tris.HCl (pH 8) ด้วยกรวยแยก นาน 45-60 นาที (กรวยแยกควรหุ้มฟอยล์เพื่อมิให้ฟีนอลได้รับแสง) ภายในตู้ดูดควัน

1.6. ทำซ้ำข้อ 1.3 - 1.5 จำนวน 3 ครั้ง

1.7. ทำเช่น ข้อ 1.3 - 1.5 จำนวน 3 ครั้ง แต่เปลี่ยนไปใช้ 0.5 M Tris.HCl (pH 8)

1.8. ทำเช่น ข้อ 1.3 - 1.5 จำนวน 1 ครั้ง แต่เปลี่ยนไปใช้ 0.1 M Tris.HCl (pH 8) แทน จนได้ pH เท่ากับ 8 (วัดด้วยกระดาษวัด pH Universalindikator pH 0-14 บริษัท Merck เมือง Darmstadt ประเทศเยอรมันนี

1.9. เทฟีนอลที่ปรับ pH เท่ากับ 8 ในขวดสีชา แล้วเติม 0.1 M Tris.HCl (pH 8) เคลือบผิวหน้าฟีนอลไว้ ปิดฝาให้สนิท แล้วเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น

2. การทำ Gel Electrophoresis และ Southern blot hybridization (Sambrook, Fritsh and Maniatis, 1989)

2.1. แยก DNA ด้วยกระแสไฟฟ้า

2.1.1. เตรียมแผ่นเจลที่มีขนาดความเข้มข้น 1.2 % (w/v) โดยชั่ง Agarose หนัก 0.48 g แล้วนำไปเทใส่ขวดรูปชมพู่ จากนั้นเท TBE ความเข้มข้น 1 M ปริมาตร 40 ml ลงไป แล้วทำการปิดฝาขวดด้วยสำลีที่หุ้มด้วยผ้าขาวบางให้เรียบร้อย

2.1.2. นำขวดดังกล่าวไปทำการละลาย Agarose ด้วยคลื่นไมโครเวฟ จากเครื่องไมโครเวฟยี่ห้อ HITACHI เป็นเวลา 3 นาที แล้วจึงนำมาเทลงบน running tray ขนาด 8×10 ซ.ม. ของเครื่อง Electrophoresis apparatus (ยี่ห้อ ATTO CORPORATION รุ่น AE-6100 ผลิตในประเทศญี่ปุ่น) รอจนเจลแข็ง แล้วจึงนำไปวางไว้ใน buffer chamber ที่บรรจุ TBE ความเข้มข้น 1 M ปริมาตร 300 ml แล้วถอด comb ที่เสียบบนเจลออกเบา ๆ

2.1.3. ทำการหยด DNA ตัวอย่างและ DNA ที่ใช้เป็น Marker ที่ได้รับการผสมสีเรียบร้อยแล้ว ด้วย ไมโครปิเปต ลงไปในแต่ละหลุมที่อยู่บนเจลอย่างเบา ๆ และไม่ควรทำให้เกิดฟองอากาศและการฟุ้งกระจายของ DNA ที่หยดลงไป

2.1.4. ปิดฝาครอบเครื่อง Electrophoresis apparatus แล้วทำการแยก DNA ด้วยกระแสไฟฟ้า โดยเครื่อง Power supply (ตรา BIO-RAD รุ่น PowerPac 300 ผลิตในประเทศสหรัฐอเมริกา) โดยให้กระแสไฟฟ้าวิ่งจากขั้วลบไปขั้วบวก เปิด Power switch จากนั้นกดปุ่ม constant key ให้เป็น V จากนั้นใช้ปุ่ม scroll keys ปรับค่า voltage output ให้มีค่าเท่ากับ 120 v และปรับค่า current output ให้มีค่าเท่ากับ 400 mA จากนั้นปรับเวลาในการแยก DNA ให้มีค่าเท่ากับ 60 นาที ทำการแยก DNA ด้วยกระแสไฟฟ้า โดยเริ่มกดปุ่ม Start key

2.1.5. ถ้าเครื่องทำงานแล้วจะสังเกตเห็นฟองอากาศจำนวนมากเกิดขึ้นทั้งส่วนต้นและส่วนปลายของ buffer chamber ที่มีลวดนำไฟฟ้าต่ออยู่กับขั้ว electrode ด้านลบและด้านบวก

2.1.6. เมื่อทำการแยก DNA ไปได้สักระยะหนึ่งจะสังเกตพบว่ามีการเคลื่อนที่ของ DNA โดยดูจากแถบสีที่จะเคลื่อนต่ำลงมา เมื่อเสร็จสิ้นการแยก DNA ตามเวลาที่ตั้งไว้แล้วให้ทำการปิดเครื่องตรงปุ่ม Stop key

2.2. อ่านเจล และเตรียมเจลเพื่อทำ capillary blotting

2.2.1. ยก running tray ออกจาก buffer chamber แล้วค่อย ๆ ย้ายเจลลงบนกล่องพลาสติกที่มี สารEthidium bromind อยู่ นำเจลไปย้อมเป็นเวลา 10-15 นาที ด้วยเครื่องเขย่าแนวราบ จากนั้นทำการ Destrain ด้วยน้ำกลั่นนาน 5 นาที เพื่อชะล้าง back ground ให้จางลง แล้วนำเจลไปถ่ายรูป โดยผ่านรังสี UV ด้วยเครื่องอ่าน Gel พร้อม Document and analysis system

2.2.2. จากนั้นนำเจลไปผ่านการ Denaturing ด้วย Denaturing Solution นาน 25 นาที ด้วยเครื่องเขย่าแนวราบ แล้วทำการล้างน้ำกลั่น

2.2.3. จากนั้นทำการ Neutralizing ด้วย Neutralizing Solution นาน 20 นาที ก่อนนำเจลไปทำ capillary blotting

2.3. การทำ capillary blotting

2.3.1. เตรียมอุปกรณ์สำหรับทำ capillary blotting ดังนี้ กะละมังขนาด 20×40×10 ซ.ม. สำหรับใส่ 10x SSC ที่จะใช้เป็นตัวกลางในการทำ capillary blotting กล่องพลาสติกขนาด ขนาด 12×12×6 ซ.ม. สำหรับวางเจล กระดาษกรองขนาด 8×11 ซ.ม. จำนวน 4 แผ่น และกระดาษกรองขนาด 8×35 ซ.ม. สำหรับทำสะพานให้สารตัวกลางเคลื่อนผ่าน และกระดาษเมมเบรน (Hybond $-N^+$ membrane) ขนาด 8×11 ซ.ม. จำนวน 1 แผ่น หนังสือพิมพ์ตัดขนาด 8×11 ซ.ม. วางซ้อนกันหนาประมาณ 10 ซ.ม.

2.3.2. เท 10x SSC จำนวน 250 ml ลงในกะละมัง จากนั้นนำกล่องพลาสติกขนาดขนาด 12×12×6 ซ.ม. วางลงไปในกะละมังดังกล่าว จากนั้นนำกระดาษกรองขนาด 8×11 ซ.ม. วางลงไปบนกล่อง จากนั้นนำกระดาษที่จะใช้เป็นสะพานมาทำให้เปียกด้วย 10x SSC แล้ววางพาดทับกึ่งกลางกล่องพลาสติกที่จะใช้วางเจล โดยให้ปลายทั้งสองด้านจุ่มลงใน 10x SSC

2.3.3. วางกระดาษกรองขนาด 8×11 ซ.ม. จำนวน 1 แผ่น ซ้อนทับกระดาษที่ทำสะพานตรงกึ่งกลางกล่องพลาสติกที่จะใช้วางเจล จากนั้นนำเจลที่จะทำการดึง DNA ออกมาวางคว่ำหน้าลงบนกระดาษดังกล่าว จากนั้นนำกระดาษเมมเบรนที่มีขนาด 8×11 ซ.ม. ที่เปียกด้วย 10x SSC มาวางทับลงบนเจล แล้วใช้แท่งแก้วคลึงไล่ฟองอากาศที่อยู่ระหว่างเจลและกระดาษเมมเบรนออกให้หมด

2.3.4. วางกระดาษกรองขนาด 8×10 ซ.ม. ที่เปียกด้วย 10x SSC จำนวน 3 แผ่น ซ้อนทับบนกระดาษเมมเบรน นำพลาสติกแรปมาวางพาดกันขอบข้างละ 0.5 ซ.ม. จากนั้นนำกระดาษหนังสือพิมพ์ที่ตัดไว้หนาประมาณ 10 ซ.ม. วางทับเป็นชั้นต่อมา แล้วใช้ทุ่นน้ำหนัก (ขวดแก้วทรงสี่เหลี่ยมขนาด 500 ml บรรจุน้ำ ประมาณ 300 ml ปิดฝาให้สนิด) วางทับเป็นชั้นสุดท้าย

2.3.5. ทำ capillary blotting เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาตามกำหนด นำแผ่นเมมเบรนที่มี DNA ติดอยู่ไปทำการตรึง DNA ด้วยรังสี UV จากเครื่อง UV Crosslink นาน 1 นาที หรือนำไปอบที่ตู้อบอุณหภูมิ 80 °C นาน 2 ช.ม.

2.3.6. นำเจลที่ทำการดึง DNA ออกไปแล้ว ไปทำการตรวจเช็คให้แน่ใจอีกครั้งว่า DNA ถูกดึงไปหมดแล้วด้วยเครื่องอ่านเจล

2.4. การทำ Hybridization

2.4.1. เปิดเครื่อง Hybridization oven ตั้งอุณหภูมิที่ 42 °C จากนั้นนำเติม Hybridization buffer จำนวน 30 ml ลงในหลอด Hybridization แล้วนำไปอุ่นในเครื่อง Hybridization oven นาน 20 นาที

2.4.2. เตรียม Probe โดยนำ Probe จำนวน 10 µl ไปต้มในน้ำเดือนพล่าน ประมาณ 5 นาที จากนั้นนำไปแช่น้ำแข็งที่ผสมเอธิลแอลกอฮอล์ ซึ่งเย็นจัด ทันที จากนั้นเติม DNA labeling และ glutaraldehyde อย่างละ 10 µl ลงในหลอดที่มี Probe อยู่ ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปหยดลงใน Hybridization buffer

2.4.3. นำแผ่นเมมเบรนไปวางในหลอด Hybridization แล้วใช้แท่งแก้วคลึงไล่ฟองอากาศออกให้หมด จากนั้นปิดฝาแล้วนำเข้าเครื่อง Hybridization oven ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 42 °C เป็นเวลา 16 ชั่วโมง

2.5. การ Detection

2.5.1. เท Hybridization buffer จากหลอด Hybridization ออก จากนั้นเท Primary wash solution จำนวน 50 ml ลงไปแทน เพื่อทำการล้างเมมเบรน โดยทำการล้างครั้งละ 25 นาที จำนวน 2 ครั้ง

2.5.2. เท Primary wash solution ออก จากนั้นเท Secondary wash solution จำนวน 50 ml ลงไปแทน เพื่อทำการล้างเมมเบรน โดยทำการล้างครั้งละ 25 นาที จำนวน 2 ครั้ง

3. ระหว่างที่รอการทำความสะอาดเมมเบรน เตรียมน้ำยา Developer จำนวน 100 ml ในอัตราส่วน Developer : น้ำเปล่า เท่ากับ 1:4 เช่นเดียวกับการเตรียมน้ำยา Fixer

2.5.3. นำเมมเบรนที่ทำความสะอาดเรียบร้อยแล้วไปทำการ Detection ในห้องมืด โดยวางเมมเบรน บนพลาสติกแรป หยด Detection buffer จากนั้นห่อเมมเบรนให้เรียบร้อย แล้วตัดฟิล์ม X-ray ขนาดใหญ่กว่าเมมเบรนเล็กน้อย วางลงในตลับประกบฟิล์ม แล้วนำเมมเบรนมาวางประกบ ปิดตลับ ประกบฟิล์ม ทิ้งไว้ 5-10 นาที

2.5.4. เอาฟิล์มออกแล้วแช่ลงใน น้ำยา Developer และ Fixer ตามลำดับ แล้วล้างด้วยน้ำเปล่าอีกครั้ง จากนั้นสะบัดฟิล์มให้แห้งแล้วดูสัญญาณในฟิล์ม X-ray ต่อไป

3.วิธีสกัด DNA plasmid เพื่อเตรียมไปใช้เป็น probe (Sambrook, Fritsh and Maniatis, 1989)

3.1. ปั่นเหวี่ยงแบคทีเรียที่เลี้ยงในอาหารเหลวสูตร LB ที่อุณหภูมิ 4 °C ความเร็ว 14,000 rpm นาน 5 นาที

วิธีเตรียม LB Medium และ LB Agar Medium

การเตรียม LB Medium 500 ml ทำโดยการชั่ง Bacto-tryptone 5 g Bacto-yeast extract 2.5 g และ NaCl 5 g จากนั้นเทลงในขวดรูปชมพู่ เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 500 ml แล้วเขย่าให้เข้ากัน ปิดฝาด้วยสำลีก้อนที่หุ้มด้วยผ้าขาวบาง แล้วหุ้มฟอล์ยอีกชั้นหนึ่ง สำหรับ LB Agar Medium นั้นทำดังเช่นการเตรียม LB Medium แต่จะทำการเติมผงวุ้นลงไปจำนวน 1.5 % (w/v). นำ Medium ทั้งสองชนิดที่เตรียมได้ไปทำการนึ่งฆ่าเชื้อ โดยตู้นึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที

3.2. เ ทส่วนใสทิ้งเก็บตะกอนไว้ จากนั้นเติม solution I จำนวน 100 µl แล้วทำการ vortex ทันที

3.3. เติม solution II จำนวน 200 µl พลิกหลอดไปมา 4-5 ครั้ง เบา ๆ จากนั้นนำไปแช่น้ำแข็ง 5 นาที

3.4. เติม Solution III จำนวน 150 µl พลิกหลอดไปมา 4-5 ครั้ง เบา ๆ จากนั้นนำไปแช่น้ำแข็ง 5 นาที

3.5. ปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 °C ความเร็ว 14,000 rpm นาน 10 นาที

3.6. ดูดเอา supernatant จากนั้นเติม 95% EtOH จำนวนปริมาตร 2 เท่า ของ supernatant

3.7. ปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 °C ความเร็ว 14,000 rpm นาน 10 นาที

3.8. เทส่วนใสทิ้ง เก็บเฉพาะส่วนที่เป็นตะกอน จากนั้นเติม 70% EtOH จำนวน 250 µl แล้วทำการปั่นที่อุณหภูมิ 4 °C ความเร็ว 14,000 rpm นาน 1 นาที

3.9. ทิ้งส่วนที่เป็น 70% EtOH จากนั้นทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

3.10. ละลาย DNA ที่ได้ในน้ำกลั่น จำนวน 50 µl

3.11. คำนวนหาปริมาณ DNA ที่สกัดได้ และโดยทำการวัดค่า OD ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 260 nm โดยใช้ DNA จำนวน 2 µl แล้วเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการ autoclave จำนวน 98 µl (เจือจาง 50 เท่า) (ถ้า OD เท่ากับ 1 จะมี DNA ประมาณ 50 µg/ ml (หรือ 50 ng/ µl))

4. วิธีเตรียมไคโตซาน P80 และ O80

เตรียมไคโตซาน P80 ทำโดยนำไคโตซานจากเปลือกปูซึ่งมี % DD ประมาณ 80-85 % ไปละลายใน 1 % (v/v) acetate buffer (pH 4.5) แล้วปรับให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1 % (w/v) จากนั้นนำ P80 มาเตรียม O80 ต่อ โดยการนำ P80 ไปผ่านการตัดสายโครงสร้างให้สั้นลงด้วยเอนไซม์ Chitinase จาก *Bacillus licheniformis* SK-1 ความเข้มข้น 100 mU ต่อ สารละลายไคโตซาน (2 %) 100 มิลลิลิตร บ่มภายใต้อุณหภูมิ 50 ° C ข้ามคืน ซึ่งจะทำให้ได้ ไคโตซานสายสั้นแบบ oligomer

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายชัชวาล วงค์ชัย เกิดวันจันทร์ที่ 23 เมษายน พ.ศ. 2522 ณ จังหวัดพะเยา มีเชื้อชาติไทย ถือสัญชาติไทย และนับถือศาสนาพุทธ มีภูมิลำเนาอยู่ที่ บ้านเลขที่ 211 บ้านห้วยน้ำขาว หมู่ 13 ตำบลท่าวังทอง อำเภอเมือง จังหวัดพะเยา รหัสไปรษณีย์ 56000 โดยมีบิดาคือนายเชิดชู วงค์ชัย ประกอบอาชีพ นักธุรกิจ และมารดาคือนางสุพัตรา วงค์ชัย ประ กอบอาชีพนักธุรกิจ มีน้องสาวคือ นางสาววันวิสาข์ วงค์ชัย ประกอบอาชีพรับราชการครูระดับมัธยมศึกษา จ.พะเยา

เข้าศึกษาในระดับประถมศึกษา โรงเรียนเทศบาล 1(พะเยาประชานุกูล) จังหวัดพะเยา ในปีการศึกษา2528 และเข้าศึกษาต่อในระดับมัธยมศึกษา โรงเรียนพะเยาพิทยาคม จังหวัดพะเยา ในปีการศึกษา 2534 จากนั้นเข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาตรี ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2540 โดยได้รับทุนจากโครงการผลิตบัณฑิตวิทยาศาสตร์พื้นฐาน-คณิตศาสตร์ (จพ.) และเข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2545

ผลงานทางวิชาการ

1. Wongchai, C., Lotrakul, P., Chadchawan, S. and Pichyangkura. 2004. Effect of polymer size and concentration of chitosan on germination, survival, and growth of cowpea, okra, rice, and soybean seedling. Biology in Asia International Conference 2004, Singapore. 7-10 December 2004. National Institute of Education, Nanyang Technological University.
2. Wongchai, C., Lotrakul, P., Chadchawan, S. and Pichyangkura. 2005. Effects of polymer size and concentration of chitosan on growth and production of okra *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench, infection of *Okra yellow vein mosaic virus*, and feeding of beet armyworm *Spodoptera exigua* Hübner, 1808. 2005. 10th Biology Science Graduate Congress, Singapore. 30 November-2 December 2005. National University of Singapore.