

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญเติบโตและการออกดอกในหลอดทดลองของกล้วยไม้ลูกผสมระหว่างหวายชานทานากับเหลืองจันทร์บูร

Effect of Plant Growth Regulators on Growth and *In Vitro* Flowering of Hybrid between *Dendrobium santana* and *D. friedericksianum*

โสภา ชูเพ็ง¹ และ สมปอง เตชะโต^{1*}

Choopeng, S.¹ and Te-chato, S.^{1*}

¹ ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จังหวัดสงขลา 90110

¹ Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hatyai, Songkhla 90110

* Corresponding author: sompong.t@psu.ac.th

Received 02 July 2018; Revised 23 August 2018; Accepted 01 October 2018

บทคัดย่อ

การศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญเติบโตและการออกดอกในหลอดทดลองของลูกผสมระหว่างกล้วยไม้หวายชานทาน (*Dendrobium santana*) กับเหลืองจันทร์บูร (*D. friedericksianum*) โดยการนำต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดบนอาหารสูตร Vacin and Went (VW) ที่ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต แล้วมาเพาะเลี้ยงบนอาหารเติมไคโตซาน ความเข้มข้นต่าง ๆ หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน พบว่า การเติมไคโตซานเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหารเพาะเลี้ยงส่งเสริมให้ต้นกล้าน้ำหนักสดมากที่สุด การศึกษาการออกดอกในหลอดทดลอง โดยนำต้นกล้าเลี้ยงบนอาหารสูตร VW เติม benzyladenine (BA) หรือ paclobutrazol (PBZ) ความเข้มข้นต่าง ๆ หรือ thidiazuron (TDZ) ร่วมกับ PBZ หลังเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน พบว่า การเติม benzyladenine (BA) ทุกความเข้มข้นไม่พบการสร้างดอก อย่างไรก็ตาม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการเพิ่มปริมาณยอด และต้นกล้าน้ำหนักสดมากที่สุด การเพาะเลี้ยงยอดบนอาหารสูตร VW เติม PBZ เข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ เข้มข้น 0.20 และ 0.60 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 45 วัน สามารถชักนำดอกได้ 3.67 และ 3.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แม้ว่าจะมีการสร้างดอกได้แต่เมื่อวางเลี้ยงต่อไปดอกมีสีซีด และเหี่ยวโดยไม่มีบานของดอก

คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, กล้วยไม้หวาย, การออกดอกในหลอดทดลอง

Abstract

Plant growth regulators were studied on growth and *in vitro* flowering of hybrid between *Dendrobium santana* and *D. friedericksianum*. Six-month-old seedlings of hybrid obtained from cultured seed on Vacin and Went (VW) medium were transferred to the same medium supplemented with various concentrations of chitosan. The result showed that VW medium with 2 mg/l chitosan promoted the highest fresh weight of plantlets after culturing for 3 months. *In vitro* flowering was initiated by culturing seedling on the medium supplemented with various concentrations of benzyladenine (BA), paclobutrazol (PBZ) or thidiazuron (TDZ) and PBZ. The result showed that *in vitro* culture seedling after 3 months could not flowering for all concentration of BA of culture medium. Nevertheless, 3 mg/l of BA containing the culture medium could increase shoot number and gave the highest fresh weight of shoot. The shoot cultured on 0.25 mg/l of PBZ combined with 0.20 and 0.60 mg/l of TDZ could induce *in vitro* flowering after 45 days of cultured at 3.67% and 3.00%, respectively. However the flowers had pale colors and no bloom.

Keywords: Micropropagation, *Dendrobium*, *In vitro* flowering

บทนำ

ปัจจุบันกล้วยไม้จัดเป็นไม้ดอกเศรษฐกิจที่สำคัญเป็นหนึ่งในสินค้าที่เป็นสัญลักษณ์ของประเทศไทย มีการส่งทั้งดอกและต้นกล้วยไม้ไปจำหน่ายต่างประเทศปีละหลายพันล้านบาท ในช่วงระยะเวลาไม่กี่ปีที่ผ่านมา การค้ากล้วยไม้เติบโตอย่างมากทั้งในด้านปริมาณและมูลค่า ทำให้การผลิตกล้วยไม้เพื่อการค้ามีการแข่งขันสูงขึ้น ปี พ.ศ. 2560 ประเทศไทยส่งออกต้นกล้วยไม้และดอกกล้วยไม้ มูลค่า 82.63 ล้านดอลลาร์สหรัฐ พันธุ์ที่ส่งออกหลัก ได้แก่ สกุลหวาย (*Dendrobium*) อะแรนด้า (*Aranda*) อะแรคนิส (*Arachnis*) ออนซิเดียม (*Oncidium*) และแวนด้า (*Vanda*) (สำนักส่งเสริมการค้าสินค้าเกษตรและอุตสาหกรรม, 2561) กล้วยไม้สกุลหวายนิยมปลูกโดยทั่วไป เนื่องจากปลูกเลี้ยงง่าย ออกดอกได้ตลอดปี ดอกและลำต้นมีหลายขนาด นอกจากนี้ประโยชน์ในการประดับตกแต่ง กล้วยไม้สกุลหวายบางชนิดมีสรรพคุณเป็นยารักษาโรคอีกด้วย กล้วยไม้หวายชานทานา (*D. santana*) เป็นลูกผสมระหว่างกล้วยไม้ *D. moniliforme* เป็นหวายป่าประเภทอปีเลแควระ (dwarf Noble) กับเหลืองจันทร์บูร (*D. friedericksianum*) ซึ่งเป็นกล้วยไม้ป่าของไทย เมื่อผสมกับเหลืองจันทร์บูรจึงทำให้หวายชานทานาเป็นกล้วยไม้ที่ออกดอกได้ตลอดปี ออกดอกได้ในขนาดเป็นไม้เนื้อเมื่อโตขึ้นดอกดกมาก สีเหลือง กลีบดอกหนาและไม่มีกลิ่นหอม เมื่อนำกล้วยไม้หวายชานทานามาผสมกับกล้วยไม้เหลืองจันทร์บูรอีกชั้นหนึ่ง ลูกผสมที่ได้จะเลี้ยงง่ายยิ่งขึ้นและเป็นสายพันธุ์อปีเลที่เลี้ยงในที่ร้อนได้ดี ออกดอกตลอดปี เหมาะสำหรับปลูกเลี้ยงเป็นกล้วยไม้เศรษฐกิจ และเป็นพืชต้นแบบสำหรับศึกษาการชักนำดอกในหลอดทดลอง เพื่อผลิตเป็นสินค้าที่ระลึก สร้างมูลค่าเพิ่มให้ผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นเทคนิคที่มีประโยชน์เป็นอย่างมากในการขยายพันธุ์และปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ให้ได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันรวดเร็ว เนื่องจากเมล็ดกล้วยไม้มีขนาดเล็กมากตามธรรมชาติมีความงอกน้อย จนในปี ค.ศ. 1922 Dr. Lewis Knudson เป็นบุคคลแรกที่ค้นพบและประสบความสำเร็จในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในอาหารปลอดเชื้อ (Arditti and Ernst, 1993) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมีความสำคัญต่อการขยายพันธุ์กล้วยไม้ ทั้งด้านการเพิ่มปริมาณกล้วยไม้ที่ใกล้สูญพันธุ์ การเพิ่มปริมาณต้นกล้วยไม้เพื่อการค้าและการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ได้ลักษณะที่ดี หรือแปลกใหม่ตรงตามความต้องการ อย่างไรก็ตาม กล้วยไม้แต่ละชนิดมีความต้องการสารควบคุมการเจริญเติบโตและสภาพการเพาะเลี้ยงที่แตกต่างกัน สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่นิยมนำมาเติมในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้มีหลายชนิด เช่น กลุ่มไซโทไคนิน เช่น benzyladenine (BA) kinetin (Kn) 1-phenyl-3-(1, 2, 3-thiadiazol-5-yl)-urea (TDZ) กลุ่มออก

ซิน เช่น α -naphthaleneacetic acid (NAA) Indole-3-butyric acid (IBA) 2,4-dichlorophenoxy acetic acid (2,4-D) indole acetic acid (IAA) และกลุ่มอื่นๆ เช่น triacotanol (TRIA) เป็นต้น

การเกิดดอกในหลอดทดลองของกล้วยไม้ นอกจากความสวยงามแปลกตาแล้วยังช่วยร่นระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ การปรับปรุงพันธุ์กล้วยไม้ด้วยวิธีมาตรฐานใช้เวลานาน เนื่องจากกล้วยไม้สร้างยอด 2-4 ยอดต่อปี และใช้ระยะเวลา 2-3 ปี ในการเจริญเติบโตทางด้านลำต้นจนผลิตดอก ดังนั้นวงจรรอบในการปรับปรุงพันธุ์ ต้องใช้เวลานานอย่างน้อย 3-5 ปี การชักนำดอกในหลอดทดลองสามารถช่วยร่นระยะเวลา เป็น 5-6 เดือน (Hee *et al.*, 2007; Sim *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2009) ดอกในหลอดทดลองใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการคัดเลือกลักษณะสี รูปทรง และขนาดดอก ก่อนที่จะนำต้นที่มีลักษณะตรงตามความต้องการไปเพิ่มปริมาณเพื่อการค้าต่อไป (Sim *et al.*, 2007) หรือเพื่อศึกษาการผสมเกสรและพัฒนาเมล็ดในหลอดทดลอง (Hee *et al.*, 2009; Chang *et al.*, 2010) กล้วยไม้ชนิดแรกที่ประสบความสำเร็จในการชักนำดอกในหลอดทดลอง คือ *Laeliocattleya* (Knudson, 1930)

มีรายงานการศึกษาการชักนำดอกในสภาพปลอดเชื้อ รวมไปถึงการศึกษาชีววิทยาของดอก เพื่อประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ในกล้วยไม้หลายสกุล เช่น สกุลซิมบิเดียม (*Cymbidium*) (Chang and Chang, 2003; Kostenyuk *et al.*, 1999) กล้วยไม้สกุลหวาย (ปรัชพรธณ และสมปอง, 2550; สมพร และวิบูล, 2550; Hee *et al.*, 2007; Hee *et al.*, 2009; Sim *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 1997; Wang *et al.*, 2009) สกุลออนซิเดียม (Kerbaudy, 1984) หรือในไม้ดอกไม้ประดับอื่นๆ เช่น ต้นแก้ว [*Murraya paniculata* (L.) Jack] (Jumin and Nito, 1995; Jumin and Ahmad, 1999) *Spathiphyllum* (Dewir *et al.*, 2007) และ ใฝ่ (Rout and Das, 1994) เป็นต้น การเกิดดอกของพืชแต่ละชนิดในหลอดทดลองต้องการปัจจัยที่แตกต่างกันไป โดยเฉพาะสูตรอาหาร ชนิด และความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต นอกจากนี้ สภาพแวดล้อมในการวางเลี้ยงก็มีผลต่อการออกดอกในหลอดทดลองของพืชเช่นกัน ดังนั้น การศึกษานี้ ศึกษาผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ลูกผสมระหว่างหวายชานทานากับเหลืองจันทร์บูร และผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการออกดอกในหลอดทดลอง เพื่อเป็นต้นแบบในการผลิตกล้วยไม้เชิงการค้าและอนุรักษ์ต่อไป

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

ในการศึกษานี้ใช้ต้นกล้าลูกผสมระหว่างกล้วยไม้หวายชานทานากับเหลืองจันทร์พุดซึ่งได้จากการเพาะเมล็ดเป็นเวลา 6 เดือน บนอาหารสูตร Vacin and Went (VW) เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร น้ำมะพร้าว 150 มิลลิลิตร มันฝรั่งบด 70 กรัมต่อลิตร ผงถ่านกัมมันต์ 1.5 กรัมต่อลิตร วัน 6.7 กรัมต่อลิตร ปรับ pH 5.3 เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 3 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ ย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตรเดิมทุก 2 เดือน เป็นเวลา 6 เดือน

ผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าลูกผสมระหว่างกล้วยไม้หวายชานทานากับเหลืองจันทร์พุด

นำต้นกล้าลูกผสมระหว่างกล้วยไม้หวายชานทานากับเหลืองจันทร์พุด สูงประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร มีใบ 1 คู่ ไม่มีราก ย้ายเลี้ยงบนอาหารสูตร VW เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร มันฝรั่งบด 70 กรัมต่อลิตร ผงถ่านกัมมันต์ 1.5 กรัมต่อลิตร ปรับ pH 5.6 เติมน้ำวัน 6.7 กรัมต่อลิตร วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 3 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน บันทึกผลจำนวนยอด น้ำหนักสด ความสูงต้น จำนวนใบ ความยาวใบ จำนวนราก และความยาวราก ในแต่ละความเข้มข้นของไคโตซานเปรียบเทียบกัน โดยใช้แผนการทดลองแบบ completely randomize design (CRD) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) แต่ละทรีตเมนต์ทำ 3 ซ้ำ ๆ ละ 7 ขวด ๆ ละ 5 ต้น

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการออกดอกในหลอดทดลองของกล้วยไม้ลูกผสมระหว่างหวายชานทานากับเหลืองจันทร์พุด

นำต้นกล้าลูกผสมระหว่างกล้วยไม้หวายชานทานากับเหลืองจันทร์พุด สูงประมาณ 1-1.5 เซนติเมตร มีใบ 1 คู่ ไม่มีราก ย้ายเลี้ยงเพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและการออกดอกบนอาหารสูตร VW เติมน้ำตาลซูโครส 20 กรัมต่อลิตร มันฝรั่งบด 70 กรัมต่อลิตร ผงถ่านกัมมันต์ 1.5 กรัมต่อลิตร วัน 6.7 กรัมต่อลิตร วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 ± 3 องศาเซลเซียส ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 2,000 ลักซ์ หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน บันทึกผลการสร้างยอดรวม และดอก ในแต่ละความเข้มข้นของ BA

PBZ และ PBZ ร่วมกับ TDZ โดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT แต่ละทรีตเมนต์ทำ 3 ซ้ำ ๆ ละ 7 ขวด ๆ ละ 5 ต้น

ผลการทดลอง

ผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของต้นกล้าลูกผสมระหว่างกล้วยไม้หวายชานทานากับเหลืองจันทร์พุด

จากการศึกษาผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของลูกผสมระหว่างหวายชานทานากับเหลืองจันทร์พุด หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ต้นกล้ามีน้ำหนักสดเฉลี่ยระหว่าง 1,061.00-1,782.67 มิลลิกรัม ในแต่ละความเข้มข้นมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยต้นกล้ามีน้ำหนักสดมากที่สุด 1,782.67 มิลลิกรัม บนอาหารเติมไคโตซาน 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาการสร้างยอดรวมจากชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยง พบว่า ไคโตซานทุกความเข้มข้นให้การสร้างยอดรวมสูงกว่าการไม่เติม แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ไคโตซาน เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดมากที่สุด 9.92 ยอด แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยบนอาหารที่ปราศจากไคโตซาน นอกจากนี้ยัง พบว่า การเติมไคโตซานความเข้มข้นสูงขึ้น ช่วยเพิ่มจำนวนรากมากขึ้น อย่างไรก็ตามการเติมไคโตซานไม่มีผลทางสถิติต่อความยาวราก และความสูงต้น (Table 1 Figure 1) ต้นกล้าที่ได้เป็นกลุ่มยอดรวม ลำต้นยืดยาวมีความสูง 5.88-7.00 เซนติเมตร รากยาว 1.68-2.81 เซนติเมตร จำนวน 7.07-14.93 ราก

ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการออกดอกในหลอดทดลองของกล้วยไม้ลูกผสมระหว่างหวายชานทานากับเหลืองจันทร์พุด

จากการศึกษาผลของ BA ต่อการเจริญเติบโตของลูกผสมกล้วยไม้ระหว่างหวายชานทานากับเหลืองจันทร์พุด หลังเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ต้นกล้าลูกผสมระหว่างกล้วยไม้หวายชานทานากับเหลืองจันทร์พุด มีน้ำหนักสดมากที่สุด 1,008.33 มิลลิกรัม เมื่อเลี้ยงบนอาหารเติม BA เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กับการเลี้ยงบนอาหารเติม BA ความเข้มข้นอื่น ๆ (Table 2) อย่างไรก็ตาม จำนวนยอดและความสูงยอดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเลี้ยงบนอาหารเติม BA ความเข้มข้นต่างกัน สูตรอาหารเติม BA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความยาวของราก สูงสุด 2.79 เซนติเมตร รองลงมา คือ การเติม BA เข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร และอาหารปราศจาก BA แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กับการวางเลี้ยงบนอาหารเติม BA เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และไม่พบการสร้างดอกจากการวางเลี้ยงบนอาหารที่เติมและ

ไม่เติม BA ทุกความเข้มข้น ยอดที่ได้จากการศึกษานี้มีลักษณะ 2.79 เซนติเมตร (Figure 2)
สมบูรณ์ มีรากจำนวนมาก (8.72- 12.77 ราก) รากยาว 1.83-

Table 1 Effect of chitosan in VW medium on growth of hybrid orchid between *D. santana* and *D. fredericksianum* after culture for 3 months

Chitosan (mL/l)	Fresh weight (mg)	Shoot number (shoots)	Root number (roots)	Root length (cm)	Shoot height (cm)
0	1,061.00 ^b	5.97 ^b	7.07 ^c	1.68	6.12
1	1,550.00 ^{ab}	7.33 ^{ab}	10.40 ^{bc}	2.81	6.02
2	1,782.67 ^a	9.92 ^a	13.27 ^{ab}	1.87	5.88
3	1,490.00 ^{ab}	7.20 ^{ab}	13.85 ^{ab}	2.41	6.25
4	1,503.67 ^{ab}	6.99 ^{ab}	14.93 ^a	2.47	7.00
F-test	*	*	*	ns	ns
C.V. (%)	18.65	25.62	18.50	44.32	10.47

ns = not significantly different * = Significantly different at $P \leq 0.05$ level

Means followed by the same letters within column are not significantly different according to DMRT.

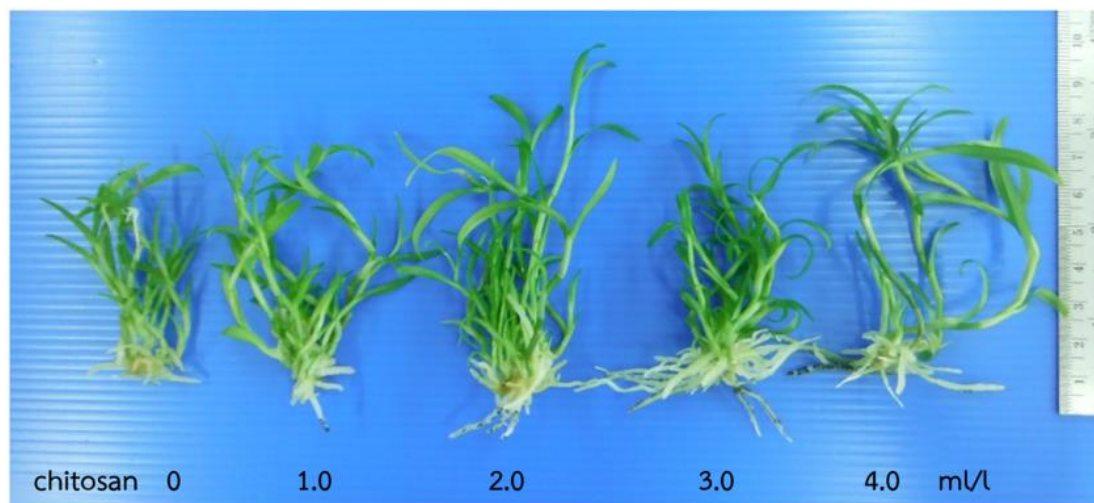


Figure 1 Seedlings of hybrid orchid between *D. santana* and *D. fredericksianum* cultured on VW medium supplemented with various concentrations of chitosan for 3 months

Table 2 Effect of BA in VW medium on growth of hybrid between *D. Santana* and *D. fredericksianum* for 3 months

BA (mg/l)	Fresh weight (mg)	Shoot number (shoots)	Root number (roots)	Root length (cm)	Shoot height (cm)	Flower formation (%)
0	828.63 ^b	2.78	9.53 ^{ab}	2.73 ^a	4.66	0
0.5	813.81 ^b	2.82	9.99 ^{ab}	2.79 ^a	4.78	0
1	799.75 ^b	3.31	11.13 ^{ab}	2.07 ^{ab}	4.31	0
1.5	691.67 ^c	3.17	8.72 ^b	1.95 ^{ab}	4.95	0
2	739.45 ^{bc}	3.17	8.72 ^b	1.83 ^b	5.00	0
3	1,008.33 ^a	2.83	12.77 ^a	2.74 ^a	5.02	0
F-test	*	ns	*	*	ns	-
C.V. (%)	9.46	14.74	17.89	19.39	15.88	-

ns = not significantly different * = Significantly different at $P \leq 0.05$ level

Means followed by the same letters within column are not significantly different according to DMRT.

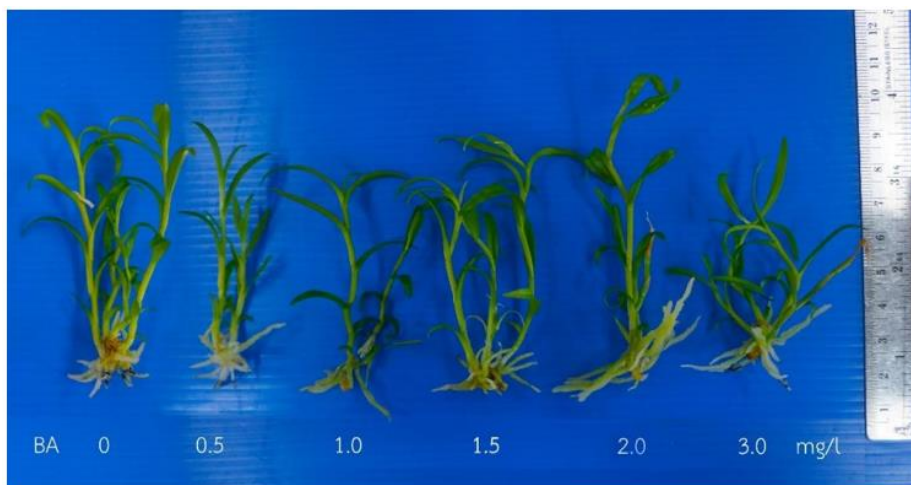


Figure 2 Seedlings of hybrid between *D. santana* and *D. friedericksianum* cultured on VW medium supplemented with various concentrations of BA for 3 months

จากการศึกษาผลของ PBZ ต่อการเจริญเติบโตของ กล้ามเนื้อลูกผสมระหว่างหวายซานตานากับเหลืองจันทบูร หลังวางเลี้ยง 3 เดือน พบว่า การเติม PBZ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติต่อน้ำหนักสดและจำนวนยอด แต่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อจำนวนใบและความยาวใบ PBZ ความเข้มข้นสูงขึ้น ส่งผลให้จำนวนใบ และความยาวใบลดลง (Table 3) การเติม PBZ เข้มข้น 0.75 มิลลิกรัมต่อลิตร ต้น

กล้ามเนื้อจำนวนรากและความยาวรากมากที่สุด 17.10 ราก และ 20.94 เซนติเมตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม พบการสร้างดอก 13.90 เปอร์เซ็นต์ เฉพาะบนอาหารเติม PBZ เข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ดอกมีสีซีด ดอกไม่บาน และเหี่ยวไปในที่สุด (Figure 3) จึงมีการเติม TDZ เพื่อชักนำการเกิดดอกในหลอดทดลองในการศึกษาต่อไป

Table 3 Effect of PBZ alone in VW medium on growth and flower formation of hybrid orchid between *D. santana* and *D. friedericksianum* for 3 months

PBZ (mg/l)	Fresh weight (mg)	Shoot number (shoots)	Root number (roots)	Root length (cm)	Leaf number (leaves)	Leave length (cm)	Flower formation (%)
0	914.19	3.63	13.70 ^{ab}	1.74 ^b	17.93 ^a	2.41 ^a	0 ^b
0.25	933.67	4.07	12.47 ^{ab}	1.61 ^b	15.01 ^{ab}	1.58 ^b	13.90 ^a
0.5	1,105.22	3.83	13.33 ^{ab}	2.49 ^{ab}	14.10 ^b	2.01 ^{ab}	0 ^b
0.75	1,101.33	4.20	17.10 ^a	2.94 ^a	15.23 ^{ab}	1.89 ^{ab}	0 ^b
1	893.33	3.53	13.63 ^{ab}	2.50 ^{ab}	13.97 ^b	1.30 ^b	0 ^b
2	853.67	3.83	10.38 ^b	2.02 ^{ab}	13.50 ^b	1.47 ^b	0 ^b
F-test	ns	ns	*	*	*	*	*
C.V.(%)	25.48	20.28	19.34	26.89	12.65	21.74	8.51

ns = not significantly different

* = Significantly different at $P \leq 0.05$ level

Means followed by the same letters within column are not significantly different according to DMRT.

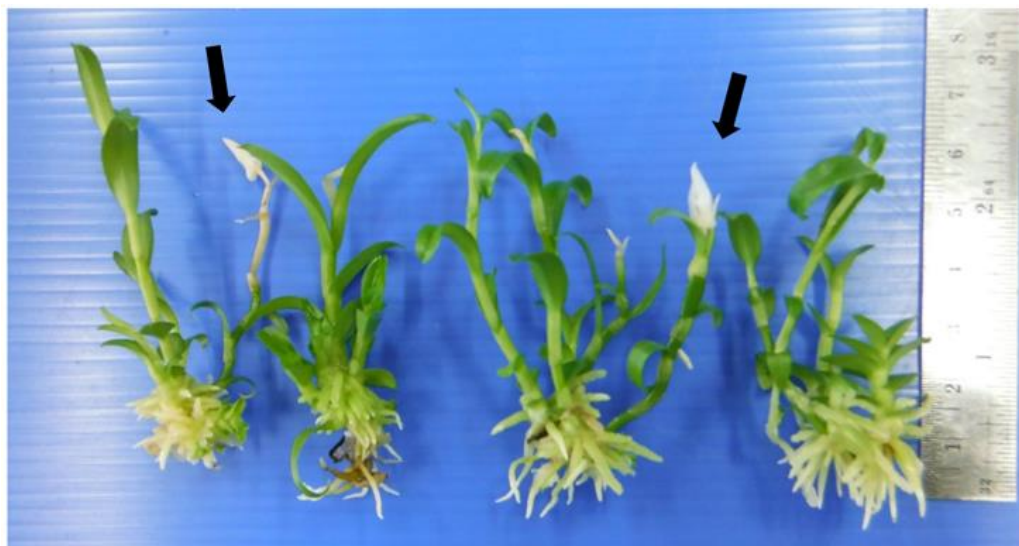


Figure 3 In vitro flower formation (arrows) from shoot of hybrid orchid between *D. santana* and *D. friedericksianum* cultured on VW medium supplemented with 0.25 mg/l PBZ for 4 months

การศึกษาผลของ PBZ ร่วมกับ TDZ ต่อการเจริญเติบโตของลูกผสมระหว่างกล้วยไม้หวายชานทานกับเหลืองจันทร์บุรุษ หลังวางเลี้ยง 3 เดือน พบว่า การเติม PBZ ร่วมกับ TDZ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติต่อน้ำหนักสด (1,283.33-1,891.56 มิลลิกรัม) จำนวนยอด (3.65-4.73 ยอด) จำนวนราก (15.55-23.15 ราก) และความยาวราก (1.10-1.82 เซนติเมตร) ต้นกล้ากล้วยไม้ลูกผสมมีความสูงมากที่สุด (6.08 เซนติเมตร) เมื่อเลี้ยงบนอาหารเติม PBZ เข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ เข้มข้น 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร แตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กับการเลี้ยงบนอาหารเติม

PBZ ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้นอื่น ๆ การเลี้ยงบนอาหารเติม PBZ เพียงอย่างเดียว ส่งเสริมการการสร้างดอกหลังวางเลี้ยง 45 วัน ดีที่สุด 3.67 เปอร์เซ็นต์ (Table 4) แตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับ การเลี้ยงบนอาหารเติม PBZ ร่วมกับ TDZ เข้มข้น 0.04 และ 0.40 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตาม ดอกส่วนใหญ่ไม่บาน เมื่อวางเลี้ยงต่อไป ดอกมีสีขาวซีดและไม่มีการบานของดอก (Figure 4a) จากการศึกษา พบดอกที่บ้านเพียง 1 ดอก และเป็นดอกผิดปกติ คือ มีกลีบเลี้ยง 3 กลีบ กลีบดอก 2 กลีบ เกสรตัวผู้และเกสรตัวเมีย แต่ไม่มีกลีบปาก (Figure 4b)

Table 4 Effect of TDZ together with 0.25 mg/l PBZ in VW medium on growth of hybrid orchid between *D. santana* and *D. friedericksianum* after 3 months of culture

TDZ (mg/l)	Fresh weight (mg)	Shoot number (shoots)	Root number (roots)	Root length (cm)	Shoot height (cm)	Flower formation (%)
0	1,672.00	3.68	23.13	1.68	5.02 ^b	3.67 ^a
0.04	1,888.83	3.90	23.15	1.40	5.10 ^b	1.67 ^b
0.2	1,891.56	4.03	19.34	1.46	6.08 ^a	3.00 ^{ab}
0.4	1,293.17	4.73	15.58	1.82	4.80 ^b	1.33 ^b
0.6	1,283.33	3.65	16.90	1.10	5.15 ^b	3.00 ^{ab}
F-test	ns	ns	ns	ns	*	*
C.V. (%)	19.36	30.22	24.95	30.30	5.88	39.47

ns = not significantly different

* = Significantly different at $P \leq 0.05$ level

Means followed by the same letters within column are not significantly different according to DMRT.

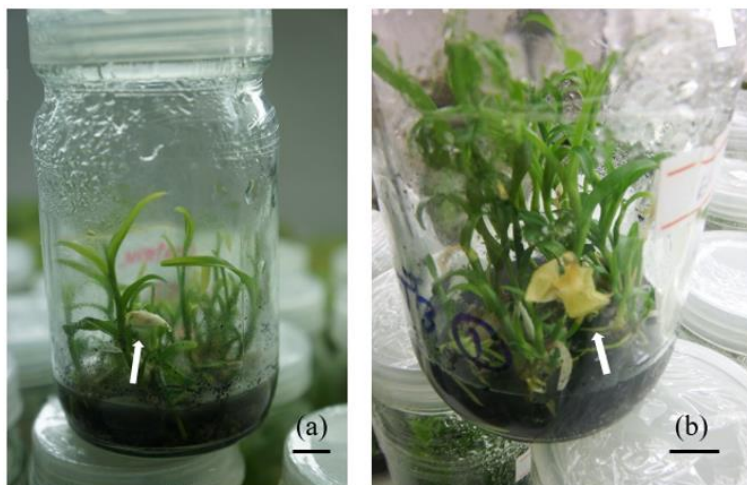


Figure 4 *In vitro* flowering of hybrid orchid between *D. santana* and *D. fredericksianum* cultured on VW medium for 3 months. (a) VW with 0.25 mg/l PBZ. (b) VW with 0.25 mg/l PBZ and 0.20 mg/l TDZ (bar = 1 cm)

วิจารณ์

จากการศึกษาผลสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ลูกผสมระหว่างหวายชานทานากับเหลืองจันทบูร หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ต้นกล้ามีน้ำหนักรากและจำนวนยอดมากที่สุด เมื่อเติมไคโตซาน 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เปรียบเทียบกับการเลี้ยงบนอาหารปราศจากไคโตซาน พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) การเติมไคโตซานความเข้มข้นสูงขึ้น ช่วยเพิ่มจำนวนรากมากขึ้น แต่ไม่มีผลแตกต่างทางสถิติต่อความยาวราก และความสูงต้น จากผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าไคโตซานมีผลในการส่งเสริมการเจริญเติบโตและการสร้างยอดรวมของกล้วยไม้ชนิดนี้ ไคโตซานเป็นสารพอลิเมอร์ชีวภาพตามธรรมชาติ ที่อยู่ในรูปของ N-acetyl-D-glucosamine ซึ่งสามารถกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันต่อการเกิดโรคในพืช ได้แก่ ARnase chitinase β -glucanase phytoalexins lignins และยีนบางชนิดที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมของพืช ไคโตซานจึงช่วยในการเจริญเติบโตและการต้านทานโรคในพืช (Dzung, 2010) มีรายงานการนำไคโตซานมาเติมในอาหารเพาะเลี้ยงกล้วยไม้หลายชนิด อย่างไรก็ตาม กล้วยไม้แต่ละชนิดตอบสนองต่อไคโตซานแตกต่างกันออกไป ขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณที่เหมาะสมกับกล้วยไม้ชนิดนั้น เช่น การเติมไคโตซาน 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมเปอร์เซ็นต์การเกิดยอดจำนวนยอดเฉลี่ย จำนวนใบเฉลี่ย รวมถึงจำนวนรากเฉลี่ยของเอื้องรองสูงที่สุด (วุฒิชัย และคณะ, 2559) Nahar และคณะ (2012) รายงานว่า *Cymbidium insigne* มีการสร้างโพโทคอร์มสูงสุด 87 เปอร์เซ็นต์ และสร้างยอดสูงสุด 80 เปอร์เซ็นต์ บนอาหารเติมไคโตซานเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ Kananont (2010) รายงานว่า ไคโตซานทั้งชนิด polymer และ oligomer ส่งเสริมการออกของเมล็ดกล้วยไม้ *D.*

fomosome โดยไคโตซานชนิด polymer 70 เปอร์เซ็นต์เข้มข้น 10 และ 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมการเจริญเติบโตของโพโทคอร์ม และชนิด oligomer 90 เปอร์เซ็นต์ ส่งเสริมการเจริญเติบโตของ *D. bigibum* var *compactum* สอดคล้องกับ กุลนาถ และกรกช (2553) ซึ่งรายงานว่าการเติมไคโตซานเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร และรายงานเพิ่มเติมอีกว่า ไคโตซานไม่มีผลในการชักนำให้เกิดก้านช่อดอกกล้วยไม้ *Dendrobium* Queen Pink ทั้งนี้เนื่องจากจากการเกิดช่อดอกของกล้วยไม้นั้นเกี่ยวข้องกับหลายปัจจัยรวมไปถึงระยะเวลาและความสมบูรณ์ของต้นมาเกี่ยวข้องด้วย

จากการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเจริญเติบโต และการออกดอกในหลอดทดลองของกล้วยไม้ลูกผสมชานทานากับเหลืองจันทบูร หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน พบว่า ต้นกล้ากล้วยไม้ลูกผสมระหว่างกล้วยไม้หวายชานทานากับเหลืองจันทบูร มีน้ำหนักรากมากที่สุด เมื่อเลี้ยงบนอาหารเติม BA เข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แตกต่างทางสถิติ ($P \leq 0.05$) กับการเลี้ยงบนอาหารเติม BA ความเข้มข้นอื่น ๆ อย่างไรก็ตาม จำนวนยอดและความสูงของยอดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเลี้ยงบนอาหารเติม BA ที่ความเข้มข้นต่างกัน และไม่พบการสร้างดอกจากการวางเลี้ยงบนอาหารทุกสูตร ในขณะที่ ปรัชพรณ และสมปอง (2550) รายงานว่าการเพาะเลี้ยงต้นกล้วยไม้เหลืองจันทบูรบนอาหารเติม NAA เข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA เข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้จำนวนยอดรวมต่อชิ้นส่วนพืชเฉลี่ย 2.75 ยอดต่อชิ้นส่วน ภายในเวลา 30 วัน และสามารถชักนำการออกดอกได้ 87.50 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 60 วันหลัง

การเพาะเลี้ยง อย่างไรก็ตามในการศึกษานี้ไม่ได้ใช้ NAA ร่วมกับ BA ดังนั้นในการศึกษาต่อไปควรมีการศึกษาผลร่วมกันระหว่าง BA และ NAA แม้ว่าการใช้ NAA ร่วมด้วยส่งเสริมการสร้างดอกในอัตราสูง แต่ดอกที่พัฒนามักไม่สมบูรณ์ เช่นเดียวกับการศึกษานี้ที่พบว่าดอกมีอัตราการติดปอกคือ มีสีซีดขาว และเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลในเวลาต่อมา และไม่สามารถบานได้เต็มที่

PBZ เป็นสารชะลอการเจริญเติบโตที่มีกลไกยับยั้งการสร้างเอนไซม์ kaurene oxidase จึงไปหยุดปฏิกิริยาออกซิเดชันในขั้นตอนการเปลี่ยน ent-kaurene เป็น ent-kaurenic acid ในกระบวนการสังเคราะห์กรดจิบเบอเรลลิน (Graebe, 1987) มีรายงานการเติม PBZ เพื่อชักนำดอกในหลอดทดลองของพืชหลายชนิด (Bodhipadma *et al.*, 2011; Sarai *et al.*, 2017) รวมทั้งกล้วยไม้ (Te-chato *et al.*, 2009; Sujjaritthurakarn and Kanchanapoom, 2012) จากการศึกษาผลของ PBZ ต่อการเจริญเติบโตและการออกดอกของลูกผสมระหว่างกล้วยไม้หวายชานทานกับเหลืองจันทร์บูร หลังวางเลี้ยง 5 เดือน ในการศึกษานี้ พบว่าการเติม PBZ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติต่อน้ำหนักสดและจำนวนยอด แต่การเติม PBZ ความเข้มข้นสูงขึ้น ทำให้จำนวนใบ และความยาวใบลดลง การเติม PBZ ส่งเสริมการเพิ่มจำนวนราก ทำนองเดียวกับรายงานของ สุสัณห์ (2546) พบว่า PBZ เข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ต้นกล้วยไม้ *D. sulcatum* Lindl. มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสด ความยาวใบ และจำนวนรากสูงสุด แต่ไม่พบการสร้างดอกจากการวางเลี้ยงทุกสูตรอาหาร Wen และคณะ (2013) รายงานว่า รากของต้นกล้วยไม้ *D. nobile* ที่เลี้ยงบนอาหารเติม PBZ มีขนาดใหญ่และอวบหนากว่ารากของต้นกล้วยไม้ที่เลี้ยงบนอาหารปราศจาก PBZ และมีรายงานว่า PBZ ส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ในหลอดทดลองของกล้วยไม้หลายชนิด และเพิ่มอัตราการรอดชีวิตหลังย้ายปลูกในสภาพโรงเรือน

จากการศึกษาผลของ PBZ และ TDZ ต่อการเจริญเติบโตและออกดอกในหลอดทดลองของกล้วยไม้ลูกผสมระหว่างหวายชานทานกับเหลืองจันทร์บูรครั้งนี้ พบว่า PBZ ร่วมกับ TDZ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติต่อน้ำหนักสด จำนวนยอด จำนวนรากและความยาวราก แต่พบว่า การเติม PBZ เข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ PBZ เข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ เข้มข้น 0.20 มิลลิกรัมต่อลิตร มีการสร้างดอกมากที่สุดหลังวางเลี้ยง 45 วัน อย่างไรก็ตามพบว่า ดอกที่พัฒนาส่วนใหญ่ไม่บาน มีสีซีดและเหี่ยวไปในที่สุด ในขณะที่ Te-chato และคณะ (2009) รายงานว่า PBZ เข้มข้น 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำการสร้างตาออกกล้วยไม้หวายเหลืองจันทร์บูร 29 เปอร์เซ็นต์ และดอกที่ชักนำได้มีลักษณะปกติ Wang และคณะ (2009) รายงานว่า PP₃₃₃

ความเข้มข้นสูง (0.5-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) ส่งเสริมการสร้างตาออกของ *D. nobile* (28.9-33.9 เปอร์เซ็นต์) แต่เปอร์เซ็นต์การสร้างดอกลดลงเมื่อลดความเข้มข้นของ PP₃₃₃ และรายงานเพิ่มเติมว่า TDZ (0.05-0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร) ร่วมกับ PP₃₃₃ เข้มข้น (0.5-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร) มีประสิทธิภาพในการชักนำช่อดอกดีกว่าการเติม BA แตกต่างจาก Kostenyuk และคณะ (1999) ที่รายงานว่า PP₃₃₃ ลดประสิทธิภาพการทำงานของไซโทไคนิน Zhao และคณะ (2013) สามารถชักนำดอก *D. wongliangii* 2 ดอกต่อช่อ บนอาหารสูตร ½ MS เติม TDZ เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ดอก 2-8 ดอกต่อช่อ แต่ดอกที่ชักนำได้มีลักษณะผิดปกติทางสัณฐานวิทยา ในขณะที่อาหารเติม PP₃₃₃ เข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA เข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ดอกมีลักษณะปกติ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 15 มิลลิเมตร อย่างไรก็ตามนอกจากสารควบคุมการเจริญเติบโตมีผลต่อการออกดอกในหลอดทดลองแล้วยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ เช่น การเตรียมชิ้นส่วนหรือต้นกล้าก่อนชักนำดอก อัตราส่วนของธาตุอาหาร ปัจจัยแวดล้อมภายในและภายนอกหลอดทดลอง เป็นต้น

สรุป

การเติมไคโตซาน เข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งผลให้ต้นกล้วยไม้มีน้ำหนักสดมากที่สุด การชักนำดอกลูกผสมระหว่างกล้วยไม้หวายชานทานกับเหลืองจันทร์บูรในสภาพปลอดเชื้อ ให้ผลดีในอาหารสูตร VW เติม PBZ เข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียวหรือใช้ PBZ เข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ เข้มข้น 0.20 และ 0.60 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 45 วัน สามารถชักนำดอกได้ 3.67 และ 3.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม เมื่อวางเลี้ยงต่อไปส่วนใหญ่ดอกมีสีซีดและเหี่ยวโดยไม่มีการบานของดอก ดังนั้นในการศึกษาต่อไปอาจเติม PBZ เข้มข้น 0.5-1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ TDZ ความเข้มข้น 0.05-0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อชักนำการออกดอกในหลอดทดลอง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สถานวิจัยความเป็นเลิศเทคโนโลยีชีวภาพเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ ระยะที่ 2 คณะทรัพยากรธรรมชาติและบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สาขาวิชาการจัดการพืชสวนและภูมิทัศน์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต

เอกสารอ้างอิง

สำนักส่งเสริมการค้าสินค้าเกษตรและอุตสาหกรรม กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ กระทรวงพาณิชย์.

- สถานการณ์กล้วยไม้โลก. เข้าถึงได้จาก: http://www.ditp.go.th/contents_attach/216217/216217.pdf [เข้าถึงเมื่อ 19 สิงหาคม 2561].
- กุลนาถ อบสุวรรณ และกรกช สว่างศรี. 2553. ผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตกล้วยไม้ *Dendrobium Queen Pink*. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 41:477-480.
- ปรัชพรพรรณ หนูจีน และสมปอง เตชะโต. 2550. ผลของสารประกอบอินทรีย์และสารควบคุมการเจริญและการออกดอกของกล้วยไม้เหลืองจันทร์พุดในหลอดทดลอง. วารสารเกษตร 23: 219-226.
- วุฒิชัย ฤทธิ, บุญสนอง ช่วยแก้ว, ปรียาภรณ์ พรหมบางญวน และศุภลักษณ์ ทักษิณ. 2559. ผลของไคโทซานต่อการเจริญเติบโตและพัฒนาการของต้นอ่อนเอื้องรองรอง [*Panisea uniflora* (Lindl.) Lindl.] ในหลอดทดลอง. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์ 3: 8-13.
- สมพร ประเสริฐสงสกุล และวิบูล ไซยภักดี. 2550. การออกดอกของกล้วยไม้หวายเหลืองจันทร์พุด (*Dendrobium friedericksianum* Rchb. f) ในหลอดทดลอง. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย ขอนแก่น 35: 180-185.
- สุลักษณ์ เตชานันท์. 2546. ผลของสูตรอาหารในสภาพปลอดเชื้อที่มีต่อการพัฒนาและการเจริญเติบโตของต้นกล้วยไม้ *Calanthe rosea* (Lindl.) Benth และ *Dendrobium sulcatum* Lindl. วิทยานิพนธ์วิทยาศาตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Arditti, J. and R. Ernst, R. 1993. Micropropagation of Orchids. New York: Wiley Interscience.
- Bodhipadma, K., Noichinda, S., Padyencheun, W., Khunthacharoen, T., Chikhunthod, U. and Leung, D.W. 2011. Influence of preculture treatment and types of explants on shoot growth and *in vitro* flowering of feathered amaranth (*Celosia argentea* var. plumose). Plant Cell, Tissue and Organ Culture 105: 465-469.
- Chang, C. and Chang, W.C. 2003. Cytokinins promotion of flowering in *Cymbidium ensifolium* var. *misericors* *in vitro*. Plant Growth Regulation 39: 217-221.
- Chang, C., Hu, W.H., Chen, Y.C., Su, Y.L. and Chiu, Y.T. 2010. *In vitro* flowering and mating system of *Eulophia graminea* Lindl. Botanical Studies 51: 357-362.
- Dewir, Y.H., Chakrabarty, D., Ali, M. B., Singh, N. Hahn, E.J. and Paek, K.Y. 2007. Influence of GA3, sucrose and solid medium/ bioreactor culture on *in vitro* flowering of *Spathiophyllum* and association of glutathione metabolism. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 90: 225-235.
- Dzung, N.A. 2010. Chitin, chitosan, oligosaccharides and their derivatives. In Biological Activities and Applications. (ed. S.K. Kim) pp. 619-620. New York: CRC Press.
- Graebe, J.E. 1987. Gibberellin biosynthesis and control. Annual Review in Plant Physiology 38: 419-465.
- Hee, K.H., Loh, C.S. and Yeoh, H.H. 2007. Early *in vitro* flowering and seed production in culture in *Dendrobium Chao Praya Smile* (Orchidaceae). Plant Cell Reports 26: 2055-2062.
- Hee, K.H., Yeoh, H.H. and Shiong, C. 2009. *In vitro* flowering and *in vitro* pollination: methods that will benefit the orchid industry. Proceedings of Nagoya International Orchid Congress 2009, Nagoya, Japan, 11 March 2009, pp. 20-24.
- Jumin, H.B. and Ahmad, M. 1999. High-frequency *in vitro* flowering of *Murraya paniculata* (L.) Jack. Plant Cell Reports 18: 764-768.
- Jumin, H. B. and Nito, N. 1995. Embryogenic protoplast cultures of orange Jessamine (*Murraya paniculata*) and their regeneration on plant flowering *in vitro*. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 41: 227-279.
- Kananont, N., Pichyangkura, R., Chanprame, S., Chadchawan, S. and Limpanavech, P. 2010. Chitosan Specificity for the *in vitro* Seed Germination of Two *Dendrobium* Orchids (Asparagales: Orchidaceae), Scientia Horticulturae 124: 239-247.
- Kerbaudy, G.B. 1984. *In vitro* flowering of *Oncidium varicosum* mericlones (Orchidaceae). Plant Science Letters 35: 73-75.
- Knudson, L. 1922. Nonsymbiotic germination of orchid seeds. Botanical gazette 73:1-25.

- Knudson, L. 1930. Flower production by orchid grown non-symbiotically. *Botanical Gazette* 89: 192-199.
- Kostenyuk, I Oh, B.J. and So, I.S. 1999. Induction of early flowering in *Cymbidium neove-marginatum* Mak. *Plant Cell Reports* 19: 1-5.
- Nahar, S. J., Kazuhiko, S. and Haque, S. M. 2012. Effect of polysaccharides including elicitors on organogenesis in protocorm-like body (PLB) of *Cymbidium insigne* *in vitro*. *Journal of Agricultural Science and Technology* 2: 1029-1033.
- Rout, G.R. and Das, P. 1994. Somatic embryogenesis and *in vitro* flowering of 3 species of bamboo. *Plant Cell Reports* 13: 683-686.
- Sarai, N. , Bodhipadma, K. , Noichinda, S. , Luangsriumporn, P. and Leung, D.W. 2017. Microshoot culture of Persian violet: Plant regeneration and *in vitro* flowering. *Annals of Agricultural Sciences* 62: 105-111.
- Sim, G.E., Loh, C.S. and Goh, C.J. 2007. High frequency early *in vitro* flowering of *Dendrobium* madame Thong-In (Orchidaceae). *Plant Cell Reports* 26: 383-393.
- Sujjaritthurakarn, P. and Kanchanapoom, K. 2012. *In vitro* flowering of dwarf *Dendrobium*. The International Symposium on Orchids and Ornamental Plants on the International Horticulture Exposition: Royal Flora Rarchaphruek 2011, 9-12 January 2012, Imperial Mae Ping, Chiang Mai, Thailand.
- Te-chato, S., Nujeen, P. and Muangsorn, S. 2009. Paclobutrazol enhance budbreak and flowering of Friederick's *Dendrobium* orchid *in vitro*. *Journal of Agricultural Technology* 5: 157-165.
- Wang, G., Xu, Z., Chia, T.F. and Chua, N.H. 1997. *In vitro* flowering of *Dendrobium candidum*. *Science in China* 4: 35-42.
- Wang, Z. H. , Wang, L. and Ye, Q.S. 2009. High frequency early flowering from *in vitro* seedlings of *Dendrobium nobile*. *Scientia Horticulturae* 122: 328-331.
- Wen, Z.Z., Lin, Y., Liu, Y.Q., Wang, M., Wang, Y.Q. and Liu, W. 2013. Effects of paclobutrazol *in vitro* on transplanting efficiency and root tip development of *Dendrobium nobile*. *Biologia Plantarum* 57: 576-580.
- Zhao, D., G. Hu, Chen, Z., Shi, Y., Zheng, L., Tang A. and Long, C. 2013. Micropropagation and *in vitro* flowering of *Dendrobium wangliangii*: A critically endangered medicinal orchid. *Journal of Medicinal Plants Research* 7: 2098-2110.

SJPS-I-M02-23082018