ผลของไคโตซานต่อการเพิ่มจำนวนยอดข้าวเย็นใต้ (*Dioscorea membranacea*) ในสภาพปลอดเชื้อ

Effect of Chitosan on *In Vitro* Shoot Proliferation of *Dioscorea membranacea*

เยาวพา จิระเกียรติกุล*, ภาณุมาศ ฤทธิไชย และกรรณิการ์ เจษฎาการุณ

ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

อรุณพร อิฐรัตน์

สาขาวิชาแพทย์แผนไทยประยุกต์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ ศูนย์รังสิต

ตำบลคลองหนึ่ง อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

Yaowapha Jirakiattikul*, Panumart Rithichai and Kannika Jesadakaroon

Department of Agricultural Technology, Faculty of Science and Technology, Thammasat University,

Rangsit Centre, Klong Nueng, Klong Luang, Prathumthani 12120

Arunporn Itharat

Department of Applied Thai Traditional Medicine, Faculty of Medicine, Thammasat University,

Rangsit Centre, Klong Nueng, Khlong Luang, Pathum Thani 12120

บทคัดย่อ

ศึกษาผลของไคโตซานต่อการเพิ่มจำนวนยอดของข้าวเย็นใต้ (*Dioscorea membranacea*) ในสภาพปลอดเชื้อ โดยเพาะเลี้ยงข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติมไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 80-100 kDa และ 200-230 kDa ความเข้มข้น 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว หรือร่วมกับ BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่ไม่เติมไคโตซานเป็นอาหารสูตรควบคุม จากการทดลองพบว่าการเติมไคโตซานทั้งสองน้ำหนักโมเลกุล และทุกความเข้มข้นเพียงอย่างเดียวมีผลทำให้อัตราการเกิดยอด จำนวนยอด จำนวนข้อต่อยอด และความยาวยอดน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม BA เพียงอย่างเดียวหรือร่วมกับไคโตซาน ดังนั้นการเติมไคโตซานลงในอาหารเพาะเลี้ยงจึงไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนยอดของข้าวเย็นใต้

คำสำคัญ : ข้าวเย็นใต้, ไคโตซาน, จำนวนยอด, อาหารเพาะเลี้ยง

***ผู้รับผิดชอบบทความ :** yjirakia@tu.ac.th

Abstract

The effect of chitosan on *in vitro* shoot proliferation of *Dioscorea membranacea* was investigated. The single nodes from *in vitro* shoots of *D. membranacea* were cultured on MS medium solely supplemented with 80-100 kDa or 200-230 kDa chitosan at the concentrations of 25, 50 and 100 mg/l or in combination with 2 mg/l BA. The control medium was MS medium supplemented with 2 mg/l BA. The results indicated that the percentage of shoot formation, number of shoots, number of nodes per shoot and shoot length on the MS medium containing only chitosan at both molecular weights and all concentrations were significantly lower than those on the medium supplemented with 2 mg/l BA with or without chitosan. Therefore, chitosan at the molecular weight and concentrations tested had no effect on shoot proliferation of *D. membranacea*.

Keywords: *Dioscorea membranacea*, chitosan, shoot number, medium

1. บทนำ

ข้าวเย็นใต้ (*Dioscorea membranacea*) เป็นพืชสมุนไพรที่อยู่ในวงศ์ Dioscoreaceae มีลำต้นใต้ดินเป็นเหง้า ลำต้นบนดินเป็นไม้เถาเนื้อแข็ง มีสารสำคัญทางยาที่มีฤทธิ์แก้การอักเสบ ระงับปวด ลดไข้ [1] ต้านเซลล์มะเร็งปอด [2] นอกจากนี้ยังใช้รักษาอาการน้ำเหลืองเสีย มะเร็ง กามโรค โรคเรื้อนและอาการผิดปกติทางผิวหนัง [3] จากสรรพคุณดังกล่าวทำให้ข้าวเย็นใต้เป็นพืชสมุนไพรที่มีความต้องการมากขึ้น ซึ่งการเพิ่มจำนวนต้นข้าวเย็นใต้ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อนั้นได้มีรายงานแล้ว โดยพบว่าข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 หรือ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอด 1.1 และ 1.3 ยอด ตามลำดับ [4] อย่างไรก็ตามจำนวนยอดที่ได้นี้ยังไม่มาก ซึ่งการเพิ่มจำนวนยอดให้มากขึ้นนั้น อาจจำเป็นต้องเติมสารบางชนิดทั้งที่เป็นสารธรรมชาติ หรือสารสังเคราะห์นอกจากสารควบคุมการเจริญเติบโตที่เติมลงในอาหารเพาะเลี้ยง เพื่อกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์

ไคโตซานเป็นไบโอพอลิเมอร์ที่พบได้จากธรรมชาติที่ปัจจุบันนิยมนำมาใช้ทางด้านการเกษตรมากขึ้น เนื่องจากมีผลต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืช [5] โดยไคโตซานเป็นอนุพันธุ์ของไคตินที่ได้จากการทำปฏิกิริยากำจัดหมู่อะซิทิลของไคติน สามารถพบได้ในเปลือกกุ้ง กระดองปู แกนปลาหมึก แมลง ผนังเซลล์ของเชื้อรา และสาหร่ายบางชนิด [6] ได้มีการนำไคโตซานมาใช้ในงานเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อชักนำให้เกิดยอด หรือเพิ่มจำนวนยอด เช่น การเติมไคโตซานความเข้มข้น 10-100 มิลลิกรัมต่อลิตรลงในอาหารเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มกล้วยไม้ *Cattleya aurentiaca* พบว่าโปรโตคอร์มสามารถพัฒนาเป็นยอดได้สูงสุด 100 % บนอาหารที่มีไคโตซาน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่อาหารที่ไม่มีไคโตซานสามารถชักนำให้เกิดยอดได้เพียง 75 % [7] หรือในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้สกุลหวาย พบว่าการเติมไคโตซานที่สกัดจากเชื้อรา น้ำหนักโมเลกุล 10 kDa หรือสกัดจากเปลือกกุ้ง น้ำหนักโมเลกุล 1 kDa ที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตร ในอาหารเพาะเลี้ยงสามารถกระตุ้นการพัฒนาของโปรโตคอร์มให้เป็นยอดและรากได้ดี [8] นอกจากนี้ในปาล์มน้ำมันพบว่า

การเติมไคโตซานความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีหรือไม่มี 2,4-D สามารถชักนำให้แคลลัสพัฒนาเป็นยอดสีเขียวได้ [9]

จากการทดลองดังกล่าวข้างต้นจะเห็นได้ว่า การเติมไคโตซานลงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อส่งผลดีต่อการเจริญเติบโตของชิ้นส่วนพืช อย่างไรก็ตาม ความเข้มข้นของไคโตซานและ/หรือน้ำหนักโมเลกุลที่เหมาะสมนั้นจะแตกต่างกันไปในพืชแต่ละชนิด ดังนั้นในการทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล และความเข้มข้นต่างกันต่อการเพิ่มจำนวนยอดของข้าวเย็นใต้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

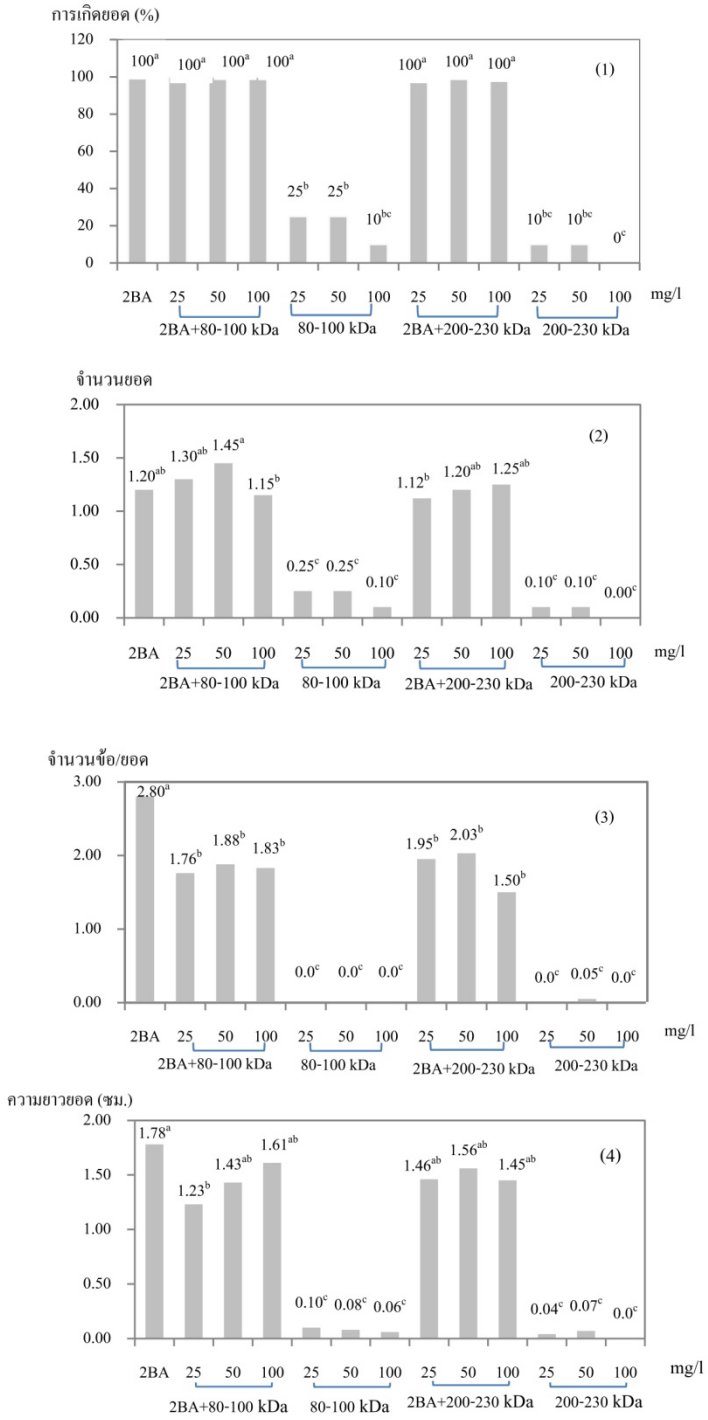
2. อุปกรณ์และวิธีการ

นำยอดข้าวเย็นใต้ที่พัฒนาในสภาพปลอดเชื้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มาตัดเป็นท่อนสั้น ๆ ยาวประมาณ 1 เซนติเมตร แต่ละท่อนมี 1 ข้อ จากนั้นนำแต่ละข้อไปเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog) ที่เติมหรือไม่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับไคโตซานที่มีน้ำหนักโมเลกุล 2 ระดับ คือ 80-100 kDa และ 200-230 kDa แต่ละน้ำหนักโมเลกุลมี 3 ความเข้มข้น คือ 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยละลายไคโตซานด้วยกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.5 % อาหารทุกสูตรเติมน้ำตาลทรายความเข้มข้น 3 % และวุ้นความเข้มข้น 0.8 % ปรับ pH ของอาหารเพาะเลี้ยงให้ได้ 5.8 ก่อนนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) มี 13 สูตรอาหาร แต่ละสูตรอาหารมี 10 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ขวด แต่ละขวดมี 1 ข้อ เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 3,000 ลักซ์ (lux) ด้วยหลอดไฟฟลูออเรสเซนต์สีขาว เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ จากนั้นบันทึกอัตราการเกิดยอด (%) จำนวนยอดที่พัฒนา จำนวนข้อต่อยอด และความยาวยอด

3. ผลการวิจัย

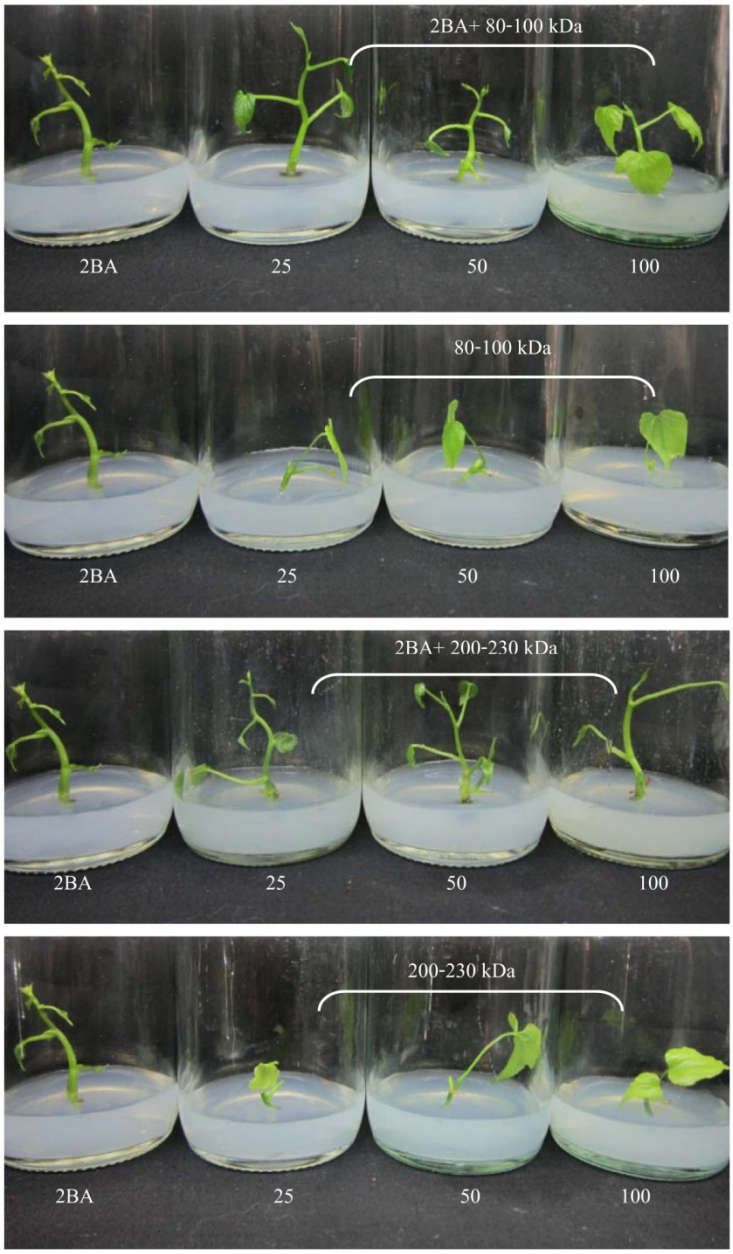
ข้อข้าวเย็นใต้ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ มีอัตราการเกิดยอด จำนวนยอด จำนวนข้อต่อยอด และความยาวยอดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (รูปที่ 1 และ 2) โดยข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว หรือร่วมกับไคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุล 80 -100 kDa หรือ 200 -230 kDa ความเข้มข้น 25, 50 และ100 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่ามีอัตราการพัฒนาเป็นยอด 100 % ในขณะที่ข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมไคโตซานเพียงอย่างเดียวทั้งสองน้ำหนักโมเลกุล และที่ความเข้มข้นทั้ง 3 ระดับ มีอัตราการเกิดยอดต่ำ (0-25 %) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับอัตราการเกิดยอดเมื่อมี BA ในอาหารเพาะเลี้ยง (รูปที่ 1-1) โดยข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมเพียงไคโตซานทั้งสองน้ำหนักโมเลกุล และทุกความเข้มข้นนั้นมักมีการพัฒนาของใบแทนการเกิดยอด (รูปที่ 2)

ส่วนจำนวนยอดที่พัฒนาพบว่า ข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมไคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุล 80-100 kDa ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดที่พัฒนามากที่สุด คือ 1.45 ยอด และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับจำนวนยอดที่พัฒนาบนอาหารสูตร MS ที่เติมเพียงไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 80-100 kDa หรือ 200-230 kDa ทุกความเข้มข้น (รูปที่ 1-2) นอกจากนี้อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพียงอย่างเดียว มีจำนวนข้อต่อยอด และความยาวยอดสูงสุด



รูปที่ 1 อัตราการเกิดยอด (1) จำนวนยอด (2) จำนวนข้อ/ยอด (3) และความยาวยอด (4) ของข้าวเย็นใต้ในสภาพปลอดเชื้อเมื่อเพาะเลี้ยงข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติมหรือไม่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 80-100 kDa และ 200-230 kDa ความเข้มข้น 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

เท่ากับ 2.80 ข้อต่อยอด (รูปที่ 1-3) และ 1.78 เซนติเมตร (รูปที่ 1-4) ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับจำนวนข้อต่อยอดและความยาวยอดที่พัฒนาบนอาหารสูตร MS ที่เติมเพียงไคโตซานทั้งสองน้ำหนักโมเลกุลและทุกความเข้มข้น



รูปที่ 2 การพัฒนาของยอดข้าวเย็นใต้จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อบนอาหารสูตร MS ที่เติมหรือไม่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับไคโตซานน้ำหนักโมเลกุล 80-100 kDa และ 200-230 kDa ความเข้มข้น 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

4. วิจารณ์

จากการเติมไคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุล 80-100 kDa และ 200-230 kDa ความเข้มข้น 25-100 มิลลิกรัมต่อลิตร ลงในอาหารเพาะเลี้ยงข้าวเย็นใต้เพียงอย่างเดียว พบว่ามีผลทำให้อัตราการเกิดยอด จำนวนยอด ความยาวยอด และจำนวนข้อต่อยอดน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารเพาะเลี้ยงที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ข้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติมไคโตซานร่วมกับ BA ก็ให้ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับอาหารเพาะเลี้ยงที่เติม BA เพียงอย่างเดียว แสดงให้เห็นว่าไคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุลและความเข้มข้นดังกล่าวไม่มีผลส่งเสริมต่อการเพิ่มจำนวนยอดหรือการพัฒนายอดในข้าวเย็นใต้ ทั้งนี้อาจเนื่องจากชนิดและความเข้มข้นของไคโตซานที่ใช้ยังไม่เหมาะสม หรือเนื้อเยื่อของข้าวเย็นใต้ไม่ตอบสนองต่อไคโตซานในการเพิ่มจำนวนยอด ดังเช่นที่ Pornpienpakdee และคณะ [5] และ Uthairatanakij และคณะ [10] ได้รายงานว่าการตอบสนองของพืชต่อไคโตซานจะไม่เหมือนกันขึ้นอยู่กับชนิดพืช โดยจำเป็นต้องทดสอบชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมของไคโตซานที่ใช้ในการกระตุ้นพืชแต่ละชนิด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Kananont และคณะ [11] ที่ทำการศึกษาผลของไคโตซานต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ โดยพบว่าอาหารเพาะเลี้ยงที่มีไคโตซานชนิด polymer และ oligomer 70-90 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้น 10-80 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีผลต่ออัตราการงอกของเมล็ด *Dendrobium biggibum* var. campactum แต่ส่งเสริมการงอกของเมล็ด *Dendrobium formosum* หรือใน *Dendrobium* Queen Pink พบว่าการเติมไคโตซานทุกความเข้มข้น (10-60 มิลลิกรัมต่อลิตร) ในอาหารเพาะเลี้ยง VW ที่มี BA ความเข้มข้น 22.2 μMไม่มีผลต่อการเกิดก้านช่อดอกเมื่อนำต้นออกปลูก แต่ไคโตซานที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อลิตรส่งเสริมการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ชนิดดังกล่าว เนื่องจากมีความสูงต้น น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งต้น ขนาดและพื้นที่ใบมากที่สุด และไคโตซานที่ความเข้มข้น 60 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่งเสริมให้เกิดยอดใหม่ได้ดีที่สุด [12]

อย่างไรก็ตามจากการนำไคโตซานมาใช้ประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกล้วยไม้ และพืชอื่น ๆ รวมทั้งการปลูกพืชในสภาพธรรมชาติ พบว่าไคโตซานมักส่งผลดีต่อการเจริญเติบโตของพืช การเพิ่มผลผลิต และความแข็งแรงของพืช รวมทั้งการเพิ่มปริมาณสารสำคัญในพืชสมุนไพรหลายชนิด เช่น ส่งเสริมการพัฒนาของโปรโตคอร์มให้เจริญไปเป็นยอดได้ดีใน *Cattleya aurantiaca* [7] และ *D. phalaenopsis* [8] ส่งเสริมการออกดอกของ *Dendrobium* Eiskul ที่ปลูกในแปลงปลูก ทำให้ต้นกล้วยไม้มีคลอโรพลาสต์ขนาดใหญ่ และออกดอกเร็วกว่าต้นที่ไม่ได้รับไคโตซาน [13] การเติมไคโตซานลงในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีหรือไม่มี 2,4-D สามารถชักนำให้แคลลัสปาล์มน้ำมันพัฒนาเป็นยอดสีเขียวได้ [9] และในมันฝรั่ง พบว่าไคโตซานสามารถเพิ่มคุณภาพของต้นขนาดเล็กในสภาพปลอดเชื้อ นอกจากนี้ยังเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของหัวขนาดเล็กอีกด้วย [14] ทั้งนี้อาจเนื่องจากไคโตซานมีบทบาทในการกระตุ้นการแสดงออกของยีนที่ไปมีผลต่อการทำงานของสารควบคุมการเจริญเติบโตจำพวกออกซินและจิบเบอเรลลิน [15] รวมทั้งกระตุ้นให้พืชสร้างสารจากกลไกการป้องกันตนเอง โดยมักพบว่าไปกระตุ้นการทำงานของ phenylalanine ammonialyase ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) [16] กระตุ้นการสังเคราะห์ phytoalexins [17] และเพิ่มประสิทธิภาพการใช้น้ำของพืช [18]

จากการศึกษาครั้งนี้สามารถกล่าวได้ว่าไคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุล 80 -100 kDa หรือ 200 -230 kDa ความเข้มข้น 25, 50 และ100 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนยอดของข้าวเย็นใต้ อย่างไรก็ตามจากการศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นของการใช้ไคโตซานในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข้าวเย็นใต้ ซึ่งอาจนำไปศึกษาทดลองเปลี่ยนน้ำหนักโมเลกุลและความเข้มข้นของไคโตซาน หรือใช้สารชนิดอื่นร่วมเพื่อเพิ่มจำนวนยอด หรือใช้ไคโตซานเป็นสารกระตุ้น (elicitor) เพื่อเพิ่มปริมาณสารสำคัญต่อไป

5. สรุป

ไคโตซานที่น้ำหนักโมเลกุล 80-100 kDa และ 200-230 kDa ความเข้มข้น 25, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนยอดของข้าวเย็นใต้

6. กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณนกน้อย ชูคงคา และคุณอรอุมา สองศรี ที่ช่วยทำให้งานวิจัยนี้ลุล่วงไปด้วยดี

7. เอกสารอ้างอิง

[1] วันทนา เหรียญมงคล, อรุณพร อิฐรัตน์ และพิศิษฐ์ บัวแก้ว, 2550, ตรวจหาฤทธิ์แก้อักเสบระงับปวดและลดไข้ของสารสกัดจากเหง้าหัวข้าวเย็นในหนูทดลอง, ว.สงขลานครินทร์ ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 29: 49-57.

[2] อาทิมา แซ่ตั้ง, อรุณพร อิฐรัตน์, ชวบูลย์ เดชสุขม, ฉัตรชัย วัฒนาภิรมย์สกุล, นิวัติ แก้วประดับ และปราณี รัตนสุวรรณ, 2548, การศึกษาฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งของสมุนไพรไทยที่ใช้ในการรักษาโรคมะเร็ง, ว.สงขลานครินทร์ ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 27: 469-478.

[3] Tewtrakul, S. and Itharat, A., 2007, Nitric oxide inhibitory substances from the rhizome of *Dioscorea membranacea*, J. Ethnopharmacol. 109: 412-416.

[4] Jirakiattikul, Y. and Itharat, A., 2011, Surface sterilization and *in vitro* shoot multiplication of *Dioscorea membranacea* Pierre ex Prain & Burkill, International PSE Symposium on Phytochemicals in Nutrition and Health, Bari.

[5] Pornpienpakdee, P., Singhasurasuk, R., Chaiyasap, P., Pichyangkun, R., Bunjongrat, R., Chadchawan, S. and Limpanavech, P., 2010, Improving the micropropagation efficiency of hybrid *Dendrobium* orchids with chitosan, Sci. Hortic. 124: 490-499.

[6] อัธยา กังสุวรรณ, พรรณี ครชาตรี และ สมยศ ราชนิยม, 2536, การสกัดไคโตซานจากเปลือกสัตว์น้ำ, รายงานการสัมมนาวิชาการประจำปี 2536, กรมประมง, กรุงเทพฯ.

[7] Yaemrakchat, J. and Thammasiri, K., 2009, Effects of chitosan on *Cattleya aurantiaca* protocorm development, The 35th Congress on Science and Technology of Thailand, The Tide Resort, Chonburi.

[8] Nge, K.L., New, N., Chandrkrachang, S. and Stevens, W.F., 2006, Chitosan as a growth stimulator in orchid tissue culture, Plant Sci. 170: 1185-1190.

[9] Kanchanapoom, K., Phongdara, A. and Kanchanapoom, K., 2010, The effect of chitosan on the organogenesis of oil palm embryo-derived callus, Not. Bot. Horti Agrobo. 38: 213-217.

[10] Uthairatanakij, A., da Silva, J.A.T. and Obsuwan, K., 2007, Chitosan for improving orchid production and quality, Orchid Sci. Biotechnol. 1: 1-5.

[11] 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), Sci. Hortic. 124: 239-247.

[12] กุลนาถ อบสุวรรณ และกรกช สว่างศรี, 2553, ผลของไคโตซานต่อการเจริญเติบโตของกล้วยไม้ *Dendrobium* Queen Pink, ว. วิทยาศาสตร์เกษตร, 41: 477-480.

[13] Limpanavech, P., Chaiyauta, S., Vongpromek, R., Pichyangkura, R., Khunwasi, C., Chadchawan, S., Lotrakul, P., Bunjongrat, R., Chaidee, A. and Bangyeekhun, T., 2008, Chitosan effects on floral production, gene expression, and anatomical changes in the *Dendrobium* orchid, Sci. Hortic. 116: 65-72.

[14] Kowalshi, B., Terry, F.J., Herrera, L. and Penalver, D.A., 2006, Application of soluble chitosan *in vitro* and in the greenhouse to increase yield and seed quality of potato minitubers, Potato Res. 49: 167-176.

[15] Yin, H., Li, S., Zhao, X., Du, Y. and Ma, X., 2006. cDNA microarray analysis of gene expression in *Brassica napus* treated with oligochitosan elicitor, Plant Physiol. Bioch. 44: 910-916.

[16] Vander, P., Varum, K.M., Domatd, A., Gueddari, N.E.E. and Moerschbacher, B.M., 1998, Comparison of the ability of partial N-acetylated chitosans and chitooligosacharides to elicit resistance reactions in wheat leaves, Plant Physiol. 118: 1353-1359.

[17] Agrawal, G.H., Rakwal, R., Tamogami, S., Yonekura, M., Kubo, A. and Saji, H., 2002, Chitosan activates defense/stress reponse (s) in the leaves of *Oryza sativa* seedlings, Plant Physiol. Bioch. 40: 1061-1069.

[18] Bittelli, M., Flury, M., Campbell, G.S. and Nichols, E.J., 2001, Reduction of transpiration through foliar application of chitosan, Agr. Forest Meteorol. 107: 167-175.