บทความวิจัย (Research Article)

ผลของ 6-เบนซิลามิโนพิวรีนและกรดอินโดล-3-บิวทิริกต่อการชักนำยอดและรากว่านชักมดลูกในสภาพปลอดเชื้อ

ธนภูมิ ศิริงาม[1*] และ วาสินี พงษ์ประยูร[2]

Influence of 6-Benzylaminopurine (BAP) and Indole-3-butyric acid (IBA) on shoot and root inductions of *Curcuma comosa* Roxb. through *in vitro* culture

Thanapoom Siringam[1*] and Wasinee Pongprayoon[2]

[1] Faculty of Science and Technology, Phranakhon Rajabhat University, Bangkok, 10220

[2] Faculty of Science, Burapha University, Chonburi, 20131

* Corresponding author: thanapoom@pnru.ac.th

Naresuan Phayao J. 2022;15(2):99-110.

Received; 1 September 2021; Revised: 17 August 2022; Accepted: 26 August 2022

บทคัดย่อ

ว่านชักมดลูก (*Curcuma comosa* Roxb.) จัดอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ใช้ในการบำบัดอาการผิดปกติของมนุษย์ อย่างไรก็ตามว่านชักมดลูกต้องใช้ระยะเวลาในการขยายพันธุ์เป็นเวลานาน ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของ 6-Benzylaminopurine (BAP) และ Indole-3-butyric acid (IBA) ต่อการชักนำยอดและรากว่านชักมดลูกภายใต้สภาพปลอดเชื้อ ในการศึกษาครั้งนี้แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง ได้แก่ 1) ผลของความเข้มข้น ของ 6-เบนซิลามิโนพิวรีนที่แตกต่างกัน (0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร) ต่อการชักนำยอด และ 2) ผลของความเข้มข้นของกรดอินโดล-3-บิวทิริกที่แตกต่างกัน (0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร) ต่อการชักนำราก โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) สิ่งทดลองละ 5 ซ้ำ จากการวิจัย พบว่าเนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดมากที่สุด เท่ากับ 2.00±0.00 ยอดต่อต้น แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่จำนวนใบของเนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนใบมากที่สุด เท่ากับ 3.00±0.00 ใบต่อต้น แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับเนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่เนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BAP มีความสูงมากที่สุด เท่ากับ 7.50±0.29 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับเนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่เนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BAP มีความยาวใบมากที่สุด เท่ากับ 7.00±0.58 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับเนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Murashige and Skoog (MS) ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนเนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีผลต่อจำนวนยอด ความสูง จำนวนราก และ

---

[1] คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร กรุงเทพมหานคร 10220

[2] คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา จังหวัดชลบุรี 20131

ความยาวราก โดยมีจำนวนยอดอยู่ระหว่าง 1.21±0.15 - 1.67±0.17 ยอดต่อต้น ความสูงอยู่ระหว่าง 4.17±0.17 - 4.67±0.44 เซนติเมตร จำนวนรากอยู่ระหว่าง 2.33±1.45 - 6.00±0.00 รากต่อต้น และความยาวรากอยู่ระหว่าง 2.33±1.20 - 6.33±1.09 เซนติเมตร

คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช, สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช, 6-เบนซิลามิโนพิวรีน, กรดอินโดล-3-บิวทิริก

Abstract

Wan chak mod look (*Curcuma comosa* Roxb.) belongs to the Zingiberaceae contained bioactive compounds to cure the disorder symptoms of human. However, the wan chak mod look used long period for cultivation, harvesting and propagation. Therefore, the objective of this research was to evaluate the effect of 6-Benzylaminopurine (BAP) and Indole-3-butyric acid (IBA) on micropropagation of wan chak mod look. This research was divided into two experiments 1) effect of different 6-benzylaminopurine concentrations (0, 1, 2 and 3 mg L^{-1}) on shoot induction and 2) effect of different indole-3-butyric acid concentrations (0, 0.5 and 1 mg L^{-1}) on root induction. The experimental design was as Completely Randomized Design (CRD) with 5 replications per treatment. From the result showed that the greatest of shoot number of wan chak mod look when cultured on Murashige and Skoog (MS) medium supplemented with 3 mg L^{-1} BAP (2.00±0.00 shoots $plant^{-1}$), but it was not statistically significant difference with MS medium supplemented 1 and 2 mg L^{-1} BAP. Addition, the leaf number of wan chak mod look was highest when cultured on MS medium supplemented with 3 mg L^{-1} BAP at 3.00 leaves $plant^{-1}$, but there was no statistically difference with MS medium supplemented 2 mg L^{-1} BAP. While, the greatest of shoot height was found at MS medium without BAP (7.50±0.29 cm), but it was no statistically difference with MS medium supplemented with 1 mg L^{-1} BAP. In addition, the wan chak mod look cultured on MS medium without BAP showed the greatest of leaf length (7.00±0.58 cm), but it was no statistically difference with MS medium supplemented with 1 and 2 mg L^{-1} BAP. The wan chak mod look cultured on MS medium supplemented with different IBA concentrations (0, 0.5 and 1 mg L^{-1}) did not affect the shoot number, height, root number and root length. The range of shoot number, shoot height, root number and root length were expressed at 1.21±0.15 - 1.67±0.17 shoots $plant^{-1}$, 4.17±0.17 - 4.67±0.44 cm, 2.33±1.45 - 6.00±0.00 roots $plant^{-1}$ and 2.33±1.20-6.33±1.09 cm, respectively.

Keywords: Micropropagation, Plant growth regulators, BAP, IBA

บทนำ

ว่านชักมดลูก (*Curcuma comosa* Roxb.) จัดอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae เป็นพืชที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารและสมุนไพรตั้งแต่อดีตจนถึงปัจจุบัน ในตำรายาไทยว่านชักมดลูกถูกนำมาใช้ในการแก้อาการทวารหนักอักเสบ แก้ริดสีดวงทวาร แก้ประจำเดือนมาไม่ปกติ แก้มดลูกอักเสบ ขับลม และช่วยให้มดลูกเข้าอู่เร็วในหญิงหลังคลอด [1] ในปัจจุบันมีรายงานวิจัยที่แสดงให้เห็นว่าว่านชักมดลูกมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ ลดไขมันในเลือด ต้านออกซิเดชัน ต้านเซลล์มะเร็ง ยับยั้งการสร้างเมลานิน เหนี่ยวนำการสร้างฮีโมโกลบินของทารก และฆ่าหนอนตัวกลม รวมทั้งยังพบว่าภายในว่านชักมดลูกมีสารประกอบทุติยภูมิที่สำคัญ ได้แก่ สารกลุ่มไดแอริลเฮปตานอยด์ สารกลุ่มเทอร์ปีน สารกลุ่มฟีนอลิก [2] นอกจากนี้ว่านชักมดลูกยังมีสารประกอบที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ คือ สารประกอบในกลุ่มไฟโตเอสโตรเจน (phytoestrogen) เป็นสารประกอบที่มีฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเอสโตรเจน แต่มีระดับการออกฤทธิ์ต่ำกว่าฮอร์โมนเอสโตรเจน สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการบรรเทาอาการที่

เกี่ยวข้องกับการหมดประจำเดือน [3] นอกจากนี้ยังมีรายงานอีกว่าว่านชักมดลูกมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ ได้แก่ xanthorrhizol [4] มีฤทธิ์ในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย [5] ต่อต้านเชื้อรา [6] ต่อต้านเชื้อมาลาสซิเซีย [7] ต่อต้านจุลชีพที่สร้างเส้นใย [8] โดยทั่วไปการขยายพันธุ์พืชวงศ์ Zingiberaceae นิยมใช้ส่วนของเหง้าซึ่งเป็นลำต้นที่เจริญอยู่ใต้ดิน อย่างไรก็ตามการขยายพันธุ์โดยใช้เหง้าในสภาพธรรมชาติต้องใช้ระยะเวลานาน รวมทั้งประสบปัญหาโรคเน่าของเหง้าที่มีผลทำให้อัตราการรอดชีวิตลดลง [9] ดังนั้นการศึกษาแนวทางการขยายพันธุ์ว่านชักมดลูกโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเพื่อให้ได้ปริมาณต้นใหม่ที่มากเพียงพอจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นวิธีการขยายพันธุ์พืชเพื่อใช้ในการเพิ่มปริมาณต้นพืชภายใต้การควบคุมสภาพแวดล้อม รวมทั้งใช้ในการอนุรักษ์ความหลากหลายของพันธุกรรมพืช ลักษณะต้นพืชที่ได้มีความสม่ำเสมอ และลักษณะตรงตามพันธุ์ และปราศจากการปนเปื้อนของจุลินทรีย์และศัตรูพืช [10, 11] ในปัจจุบันมีการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ในการขยายพันธุ์พืชหลายชนิดเพื่อให้ได้ปริมาณมากภายในระยะเวลาอันรวดเร็ว ได้แก่ กุหลาบ [12] ทาร์รากอน [13] กาบหอยแครง [14] ดาหลา [15] ว่านค้างคาวดำ [16] สตรอเบอรี [17] มะละกอ [18] โดยเฉพาะอย่างยิ่งพืชที่มีอัตราการรอดชีวิต การขยายพันธุ์ต่ำในสภาพธรรมชาติ และการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อสาเหตุโรคพืช จึงนิยมนำเนื้อเยื่อส่วนต่าง ๆ ของพืช แต่ละชนิดมาขยายพันธุ์ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เช่น ขมิ้นชัน [19-21] กระชายดำ [22] ขิง [23] ว่านชักมดลูก [24] เป็นต้น อย่างไรก็ตามในการขยายพันธุ์พืชยังมีปัจจัยหลายประการที่มีผลต่อการประสบความสำเร็จในการเพิ่มปริมาณต้นพืชโดยเฉพาะอย่างยิ่งสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช ดังนั้นการศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชต่อการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อพืชที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ

สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชเป็นสารประกอบที่มีบทบาทสำคัญในการควบคุมการเจริญและพัฒนาของพืช โดยสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชที่นิยมนำมาใช้ประโยชน์ในการขยายพันธุ์พืช ได้แก่ ไซโตไคนินและออกซิน โดย Nasirujjaman *et al.* [19] รายงานว่า ขมิ้นชันที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Woody Plant Medium [25] ที่เติม BAP ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้จำนวนยอดต่อชิ้นส่วนพืชมากที่สุด ในขณะที่ Theanphong *et al.* [26] รายงานว่า ว่านมหาเมฆที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้จำนวนยอดใหม่ จำนวนรากใหม่ และความยาวยอดมากที่สุด ส่วน Sukontharat *et al*. [21] รายงานว่า หน่อขมิ้นชันที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม Thidiazuron (TDZ) ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร รวมทั้งอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม 6-benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลในการส่งเสริมการเกิดยอดมากที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ในขณะที่หน่อขมิ้นชันที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลในการส่งเสริมการเกิดรากมากที่สุด เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในขณะที่ Kamoltham *et al*. [22] รายงานว่า หน่ออ่อนกระชายดำที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลในการชักนำให้เกิดยอดเพิ่มขึ้น เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน ในขณะที่ Abdelmageed *et al.* [27] รายงานว่า ชิ้นส่วนตาข้างของดาหลาที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ดัดแปลง ที่เติม BAP ความเข้มข้น 5 และ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้จำนวนยอดและความยาวยอดมากที่สุด ตามลำดับ ในขณะที่อาหาร MS ดัดแปลง ที่เติม IAA ความเข้มข้น 2 และ 6 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้จำนวนรากและความยาวรากมากที่สุด ส่วน Miri [28] รายงานว่า IBA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้จำนวนรากและความยาวรากของขิงมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับ IAA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ในขณะที่ Keng and Hing [29] รายงานว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2

มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มปริมาณข่าลิง (*Alpinia conchigera*) ข่า (*Alpinia galanga*) ขมิ้นชัน (*Curcuma domestica*) ขมิ้นอ้อย (*Curcuma zedoaria*) และเปราะหอม *Kaempferia galanga*) ได้

ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อศึกษาผลของ 6-Benzylaminopurine (BAP) และ Indole-3-butyric acid (IBA) ต่อการชักนำยอดและรากของว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ

วัสดุและวิธีการศึกษา

1. การเตรียมชิ้นเนื้อเยื่อว่านชักมดลูก

นำชิ้นส่วนตาข้างของว่านชักมดลูกมาล้างด้วยน้ำประปาไหลและทำความสะอาดด้วยน้ำยาล้างจาน หลังจากนั้นล้างชิ้นส่วนตาข้างด้วยน้ำประปาไหลเป็นเวลา 15 นาที แล้วนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ ความเข้มข้น ร้อยละ 10 โดยปริมาตร และเติมน้ำยาล้างจาน จำนวน 1 มิลลิลิตร ภายในตู้ปลอดเชื้อ เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายไฮเตอร์ ความเข้มข้น ร้อยละ 20 โดยปริมาตร เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วจนกระทั่งหมดฟอง หลังจากนั้นทำการตัดแต่งชิ้นส่วนตาข้างให้มีขนาด 2 เซนติเมตร นำมาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมน้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร Gellan Gum (Kelcogel® CP Kelco A HUBER COMPANY, USA) จำนวน 3 กรัมต่อลิตร และมีค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 5.60 หลังจากนั้นนำไปวางบนชั้นเพาะเลี้ยงภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส และได้รับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ (TLD 36 W/84 Cool White 3350 lm, Philips, Thailand) ความเข้มแสง 60 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 6 สัปดาห์

2. การศึกษาผลของความเข้มข้นของ 6-Benzylaminopurine (BAP) ต่อการชักนำยอดของว่านชักมดลูก

นำเนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีอายุ 6 สัปดาห์ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BAP (Merck, Germany) ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร Gellan Gum (Kelcogel® CP Kelco A HUBER COMPANY, USA) จำนวน 3 กรัมต่อลิตร และมีค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 5.60 หลังจากนั้นนำไปวางบนชั้นเพาะเลี้ยงภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่มีอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส และได้รับแสงจากหลอดฟลูออเรสเซนส์ (TLD 36 W/84 Cool White 3350 lm, Philips, Thailand) ความเข้มแสง 60 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ทำการบันทึกข้อมูลจำนวนยอด (ยอดต่อต้น) โดยนับยอดที่มีการเจริญอย่างสมบูรณ์ ความสูง (เซนติเมตร) โดยวัดความสูงจากบริเวณโคนต้นที่อยู่เหนืออาหารเพาะเลี้ยงไปจนถึงบริเวณข้อบนสุดของต้น จำนวนใบ (ใบต่อต้น) โดยนับใบที่มีแผ่ขยายอย่างอย่างสมบูรณ์ และความยาวใบ (เซนติเมตร) โดยวัดความยาวใบจากบริเวณโคนใบไปจนถึงบริเวณปลายสุดของใบ

3. การศึกษาผลของความเข้มข้นของ Indole-3-butyric acid (IBA) ต่อการชักนำรากของว่านชักมดลูก

นำเนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่มีอายุ 6 สัปดาห์ มาเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม IBA (Merck, Germany) ความเข้มข้น 0 (ชุดควบคุม), 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร น้ำตาลซูโครส 30 กรัมต่อลิตร Gellan Gum (Kelcogel® CP Kelco A HUBER COMPANY, USA) จำนวน 3 กรัมต่อลิตร และมีค่าความเป็นกรด-เบส เท่ากับ 5.60 หลังจากนั้นนำไปวางบนชั้นเพาะเลี้ยงภายในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่มีอุณหภูมิ

25±2 องศาเซลเซียส และได้รับแสงจากหลอดฟลูออ-เรสเซนส์ (TLD 36 W/84 Cool White 3350 lm, Philips, Thailand) ความเข้มแสง 60 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมงต่อวัน หลังการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ทำการบันทึกข้อมูลจำนวนยอด (ยอดต่อต้น) โดยนับยอดที่มีการเจริญอย่างสมบูรณ์ ความสูง (เซนติเมตร) โดยวัดความสูงจากบริเวณโคนต้นที่อยู่เหนืออาหารเพาะเลี้ยงไปจนถึงบริเวณข้อบนสุดของต้น จำนวนราก (รากต่อต้น) โดยนับรากที่มีเจริญอย่างสมบูรณ์ และความยาวราก (เซนติเมตร) โดยวัดความยาวรากจากบริเวณโคนรากไปจนถึงบริเวณปลายราก

4. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) จำนวน 5 ซ้ำ โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ด้วยโปรแกรมประยุกต์ทางสถิติ SPSS for Window และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างสิ่งทดลองโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ $P \leq 0.05$

ผลการศึกษา

1. การศึกษาผลของความเข้มข้นของ 6-Benzylaminopurine (BAP) ต่อการชักนำยอดของว่านชักมดลูก

จากการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นของ BAP ที่แตกต่างกันมีผลต่อจำนวนยอด ความสูง จำนวนใบ และความยาวใบของว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 6 สัปดาห์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตาราง 1) โดยเนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดมากที่สุด เท่ากับ 2.00±0.00 ยอดต่อต้น ให้ผลเช่นเดียวกับ เนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2, 1 และ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอด เท่ากับ 1.67±0.33, 1.00±0.00 และ 0.67±0.33 ยอดต่อต้น ตามลำดับ (ตาราง 1) ส่วนความสูงของเนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BAP มีความสูงมากที่สุด เท่ากับ 7.50±0.29 เซนติเมตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับเนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีความสูง เท่ากับ 6.83±0.44 เซนติเมตร ในขณะที่เนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสูง เท่ากับ 4.17±0.44 และ 4.00±0.00 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตาราง 1)

ในขณะที่เนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนใบมากที่สุด เท่ากับ 3.00±0.00 ใบต่อต้น แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับเนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนใบ เท่ากับ 2.00±0.00 ใบต่อต้น ในขณะเดียวกันจำนวนใบของเนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับเนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 และ 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีจำนวนใบ เท่ากับ 1.33±0.33 และ 1.33±0.33 ใบต่อต้น ตามลำดับ (ตาราง 1) ส่วนเนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BAP มีความยาวใบมากที่สุด เท่ากับ 7.00±0.58 เซนติเมตร ให้ผลเช่นเดียวกับเนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1 และ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวใบ เท่ากับ 6.00±0.29 และ 4.67±0.17 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตาราง 1) ในขณะที่เนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BAP ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวใบ เท่ากับ 3.00±1.50 เซนติเมตร (ตาราง 1)

ตาราง 1 จำนวนยอด (ยอดต่อต้น), ความสูง (เซนติเมตร), จำนวนใบ (ใบต่อต้น) และความยาวใบ (เซนติเมตร) ของว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ดัดแปลง ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

BAP (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนยอด (ยอดต่อต้น)	ความสูง (เซนติเมตร)	จำนวนใบ (ใบต่อต้น)	ความยาวใบ (เซนติเมตร)
0	0.67±0.33 b[1/]	7.50±0.29 a	1.33±0.33 b	7.00±0.58 a
1	1.00±0.00 ab	6.83±0.44 a	1.33±0.33 b	6.00±0.29 ab
2	1.67±0.33 ab	4.17±0.44 b	2.00±0.00 ab	4.67±0.17 ab
3	2.00±0.00 a	4.00±0.00 b	3.00±0.00 a	3.00±1.50 b
ANOVA	*	*	*	*

* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p \leq 0.05$)

[1/] ค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (n = 5) ที่ตามด้วยตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์ด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

2. ศึกษาผลของความเข้มข้นของ Indole-3-butyric acid (IBA) ต่อการชักนำรากของว่านชักมดลูก

จากการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นของ IBA ที่แตกต่างกันไม่มีผลต่อจำนวนยอด ความสูง จำนวนราก และความยาวรากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ตาราง 2) โดยเนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอด เท่ากับ 1.21±0.15, 1.33±0.17 และ 1.67±0.17 ยอดต่อต้น (ตาราง 2) ในขณะที่ความสูงของเนื้อเยื่อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความสูง เท่ากับ 4.17±0.17, 4.17±0.44 และ 4.67±0.44 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตาราง 2)

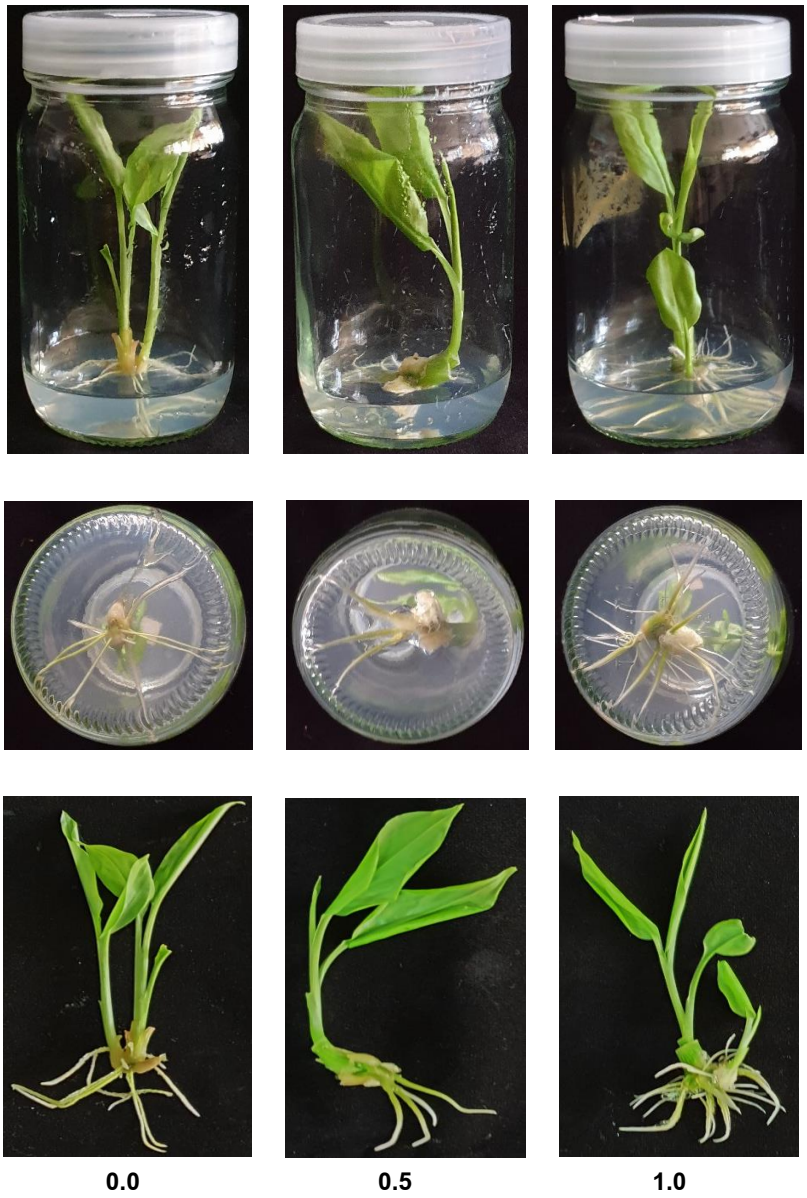
ส่วนเนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนราก เท่ากับ 2.33±1.45, 4.33±0.33 และ 6.00±0.00 รากต่อต้น ตามลำดับ (ตาราง 2) ในขณะที่เนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวรากเท่ากับ 2.33±1.20, 3.50±0.29 และ 6.33±1.09 เซนติเมตร ตามลำดับ (ตาราง 2)

รูป 1 การเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ดัดแปลง ที่เติม BAP ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

ตาราง 2 จำนวนยอด (ยอด), ความสูง (เซนติเมตร), จำนวนราก (ราก) และความยาวราก (เซนติเมตร) ของว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ดัดแปลง ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0.0, 0.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

IBA (มิลลิกรัมต่อลิตร)	จำนวนยอด (ยอดต่อต้น)	ความสูง (เซนติเมตร)	จำนวนราก (รากต่อต้น)	ความยาวราก (เซนติเมตร)
0.0	1.21±0.15	4.17±0.44	2.33±1.45	2.33±1.20
0.5	1.33±0.17	4.17±0.17	4.33±0.33	3.50±0.29
1.0	1.67±0.17	4.67±0.44	6.00±0.00	6.33±1.09
ANOVA	ns	ns	ns	ns

ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p \leq 0.05$)



รูป 2 การเจริญเติบโตของว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (1962) ดัดแปลง ที่เติม IBA ความเข้มข้นที่แตกต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์

วิจารณ์

สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินที่มีผลในการควบคุมการขยายตัวและการเปลี่ยนแปลงในระดับเซลล์และเนื้อเยื่อของพืช ทำให้กระตุ้นการเจริญและพัฒนาของเนื้อเยื่อส่วนตาข้างของพืชมีผลทำให้เกิดการเพิ่มจำนวนยอดและจำนวนใบใหม่ Dello *et al.* [30] ในผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1-3 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดได้ดีที่สุด และจำนวนใบมากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Sukontharat *et al.* [21] ที่รายงานว่า หน่อขมิ้นชันที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลในการส่งเสริมการเกิดยอดได้มากที่สุด เท่ากับ 4.17 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 สัปดาห์

ส่วน Kunwanlop *et al.* [31] รายงานว่า กล้วยไม้เถางูเขียว (*V. aphylla*) และวานิลลา (*V. planifolia* sp. variegate) ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร Gamborg's (B5) ดัดแปลง ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้จำนวนยอดเพิ่มขึ้น ร้อยละ 80 และ 60 ตามลำดับ เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในขณะที่ Tudses *et al.* [32] รายงานว่า ต้นอ่อนของกล้วยหินที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนใบมากที่สุด เท่ากับ 2.17±0.67 ใบต่อต้น อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของ BAP ที่เพิ่มขึ้นอาจส่งผลต่อสมดุลของฮอร์โมนภายในพืชจนส่งผลกระทบทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อที่กำลังเจริญและพัฒนา ในการทดลองนี้พบว่าความยาวใบของว่านชักมดลูกมีแนวโน้มลดลงเมื่อได้รับ BAP ความเข้มข้น 1-2 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติกับว่านชักมดลูกที่ไม่ได้รับ BAP ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของ Abdelmageed *et al.* [27] ที่พบว่า ชิ้นส่วนตาข้างของดาหลาที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ดัดแปลง ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1-5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับตาข้างของดาหลาที่เพาะเลี้ยงบนอาหาร MS ดัดแปลง ที่ไม่ได้รับ BAP

Kachonpadungkitti & Jala [33] รายงานว่า แก้วมังกรที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BA และ kinetin ในระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น มีผลทำให้ความยาวรากและความยาวยอดลดลง โดยแก้วมังกรที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BA และ kinetin ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้ความยาวรากและความยาวยอดมากที่สุด เช่นเดียวกันกับงานทดลองของ Kachonpadungkitti & Jala [34] รายงานว่า เนื้อเยื่อพรมมิ (*Bacopa monaneiri* (L.) Pennel) ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดมากที่สุด เท่ากับ 8.0 ยอดต่อชิ้นส่วนพืช แต่ความสูงของยอดของเนื้อเยื่อพรมมิมีแนวโน้มลดลงตามความเข้มข้นของ BA ที่เพิ่มขึ้น เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ อย่างไรก็ตามการเพิ่มความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชกลุ่มไซโตไคนินมีผลทำให้ปริมาณยอดและความยาวยอดของว่านมหาเมฆลดลง Theanphong *et al.* [26]

สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซินที่มีผลในการแบ่งเซลล์และการยืดตัวของเซลล์และเนื้อเยื่อโดยเฉพาะอย่างยิ่งบริเวณราก จึงมีผลต่อการชักนำการออกรากของพืช Martins [35] ดังเช่นผลการทดลองที่แสดงให้เห็นว่าว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนราก และความยาวรากที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับงานทดลองของส่วน Miri [28] รายงานว่า IBA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้จำนวนรากและความยาวรากของขิงมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับ IAA และ NAA ที่ระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับงานทดลองของ Keng and Hing [29] รายงานว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ IBA ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถเพิ่มปริมาณและส่งเสริมการเจริญและพัฒนาไปเป็นต้นที่สมบูรณ์ของข่าลิง (*Alpinia conchigera*) ข่า (*Alpinia galanga*) ขมิ้นชัน (*Curcuma domestica*) ขมิ้นอ้อย (*Curcuma zedoaria*) และเปราะหอม (*Kaempferia galanga*) ได้ ในขณะที่ Koarapatchaikol *et al.* [20] ที่รายงานว่า เนื้อเยื่อขมิ้นชันที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เกิดรากต่อชิ้นส่วนพืชมากที่สุด ในขณะที่เนื้อเยื่อส่วนยอดของว่านค้างคาวเขียวที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม IAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เกิดรากและจำนวนรากมากที่สุด เท่ากับ 23.98±9.36 เปอร์เซ็นต์ และ 3.28±1.59 รากต่อชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 เดือน Ramasoot *et al.* [36]

ส่วน Sukontharat *et al.* [21] รายงานว่า หน่อขมิ้นชันที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เกิดรากมากที่สุด เท่ากับ 19.75 รากต่อชิ้นส่วนพืช เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ในขณะที่ Theanphong *et al.* [26] รายงานว่า ว่านมหาเมฆที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BA

ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เกิดรากและความยาวยอดมากที่สุด เท่ากับ 10.0±0.11 รากต่อชิ้นส่วนพืช และ 3.56±0.16 เซนติเมตร ตามลำดับ รวมทั้งยังพบว่าขมิ้นชันที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร WPM ดัดแปลง ที่เติม BAP ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เกิดจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนพืชมากที่สุด Nasirujjaman et al. [19] เช่นเดียวกันกับหน่ออ่อนกระชายดำที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BA ความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลในการชักนำให้เกิดยอดเพิ่มขึ้น 5 เท่า เมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน Kamoltham [22]

สรุปผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1, 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เนื้อเยื่อว่านชักมดลูกสามารถเพิ่มจำนวนยอดได้ดีที่สุด ส่วนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2 และ 3 มิลลิกรัมต่อลิตร มีผลทำให้เนื้อเยื่อว่านชักมดลูกสามารถเพิ่มจำนวนใบได้ดีที่สุด ในขณะที่เนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BAP มีความสูงและความยาวใบมากที่สุด ส่วนเนื้อเยื่อว่านชักมดลูกที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลง ที่เติม IBA ความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีผลต่อจำนวนยอด ความสูง จำนวนราก และความยาวราก

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนคร ที่สนับสนุนสถานที่ วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือในการดำเนินงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

1. Pongboonrod S. Mai Thet Muang Thai. Kasembanakit Press. Bangkok. 1959.
2. Kaewamatawong R. Secondary metabolites and biological activities of wan chak mod look distributed in Thai markets. J. Sci. Tech. UBU. 2017;19(1):1-22.
3. Tricky R. Women, Hormones and the Menstrual Cycle Sydney. 1998, Allen and Unwin, 680 p.
4. Ab Halim MR, Zabri Tan MSM, Ismail S, Mahmud R. Standardization and phytochemical studies of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 2012;4(3):606-610.
5. Rukayadi Y, Hwang JK. *In vitro* activity of xanthorrhizol against *Streptococcus mutans* biofilms. Lett. Appl. Microbiol. 2006;42(4):400-404.
6. Rukayadi Y, Yong D, Hwang JK. *In vitro* anticandidal activity of xanthorrhizol isolated from *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. J. Antimicrob. Chemother. 2006;57(6) : 1231-1234.
7. Rukayadi Y, Hwang JK. *In vitro* anti-malassezia activity of xanthorrhizol isolated from *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. Lett. Appl. Microbiol. 2007a;44(2):126-130.
8. Rukayadi Y, Hwang JK. *In vitro* antimycotic activity of xanthorrhizol isolated from *Curcuma xanthorrhiza* Roxb. against opportunistic filamentous fungi. Phytother. Res. 2007b;21 (5):434-438.

9. Pimmuen P, Saensouk P, Saensouk S. *In vitro* propagation of *Globba marantina* L. KKU. Res. J. (GS). 2014;19(4):596-605.
10. Cardoso J, Sheng L, Teixeira da Silva J. Micropropagation in the twenty- first century. Methods Mol. Biol. 2018;1815:7-46.
11. Kane M. Micropropagation from pre- existing meristems. *In* Trigiano RN, Gray DJ (Eds.), Plant tissue culture concepts and laboratory exercises. 1996, CRC Press.
12. Hameed N, Shabbir A, Ali A, Bajwa R. *In vitro* micropropagation of disease free rose (*Rosa indica* L.). Mycopath. 2006;4(2):35-38.
13. Fernández-Lizarazo JC, Mosquera-Vásquez T. Efficient micropropagation of french tarragon (*Artemisia dracunculus* L.). Agron. Colomb. 2012;30(3):335-343.
14. Jala A, Paitoon S. Micropropagation of *Dionaea muscipula* by tissue culture. TJST. 2013;2(2):134-139.
15. Prasertsongskun S. *In vitro* propagation of *Etlingera elatior.* J. YRU. 2015;10(2):21-28.
16. Sukkeaw T, Ramasoot S, Parinyapong Chareonsap P. Microprapagation of black bat flower. Wichcha J. NSTRU. 2016;35(2):33-40.
17. Topoonyanont N, Audtama N, Kaewdam T. Factors affecting micropropagation system of strawberry cv. Praratchatan 80 and cv. 329. TJST. 2019;8(2):176-189.
18. Rungrueng P, Sungthongwises K, Luangsuwalai, K. Propagation of papaya (*Carica papaya* L.) cv. Holland in tissue culture. Khon Kaen Agr. J. 2019;47(3):459-466.
19. Nasirujjaman K, Uddin S, Zaman S, Reza MA. Micropropagation of turmeric (*Curcuma longa* Linn.) through *in vitro* rhizome bud culture. J. Biol. Sci. 2005;5(4):490-492.
20. Koarapatchaikol K, Kanmarangkol S, Klomnara Kaewraksa J. *In vitro* plant regeneration *via* callus culture in turmeric (*Curcuma longa* L.). BUSCIJ. 2017;22(1):1-13.
21. Sukontharat P, Khawniam T, Te- chato S. Micropropagation of *Curcuma longa* Linn. by tissue culture from *ex vitro* sprouted rhizome. Songklanakarin J. Pl. Sci. 2016;3(2):1-5.
22. Kamoltham M, Phumkonsan S, Chanapan S. Tissue culture of herbal plant, *Kaempferia parviflora* Wallich. ex Baker. Songklanakarin J. Pl. Sci. 2016;3 (Suppl. III):74-78.
23. Seran TH. *In vitro* propagation of ginger *Zingiber officinale* Rosc) through direct organogenesis: A review. 2013;PJBS16(24): 1826-1835.
24. Lo- apirukkul S, Jenjittikul T, Saralamp P, Prathanturarug S. Micropropagation of a Thai medicinal plant for women's health, *Curcuma comosa* Roxb., via shoot and microrhizome inductions. J. Nat. Med. 2012;66:265-270.
25. Lloyd GB, McCown BH. Commercially feasible micropropagation of mountain laurel (*Kalmia latifolia*) by use of shoot-tip culture. Proc. Int. Plant Propag. Soc. 1981;30:421-437.
26. Theanphong O, Songsak T, Kirdmanee C. Effect of plant growth regulators on micropropagation of *Curcuma aeruginosa* Roxb. 2010;TJB2(Special Issue):135-142.
27. Abdelmageed AHA, Faridah, QZ, Norhana, FMA, Julia AA, Kadir MA. Micropropagation of *Etlingera elatior* (Zingiberaceae*)* by using axillary bud explants. J. Med. Plant. Res. 2011;5(18):4465-4469.
28. Miri SM. Micropropagation, Callus induction and regeneration of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). Open Agriculture 2020;5:75-84
29. Keng CL, Hing TW. *In vitro* propagation of zingiberaceae species with medicinal properties. J. Plant Biotech. 2004;6(3): 181-188.

30. Dello IR, Linhares FS, Scacchi E, Casamitjana- Martinez E, Heidstra R, Costantino P. Cytokinins determine *Arabidopsis* root- meristem size by controlling cell differentiation. Curr. Biol. 2007;17: 678-682
31. Kunwanlop W, Boonmee W, Laipasu P, Chareonsap PP, Krajangvuth T, Poeaim A. Effect of plant growth regulators on micropropagation of *Vanilla aphylla* and *Vanilla planifolia* sp. Variegate. Int. J. of Agric. Technol. 2018;14(7):1357-1364.
32. Tudses N, Phungbunhan K, Audta L. Effects of BA and NAA on growth and development of *Musa sapientum* (ABB group) cv 'Kluai Hin' *in vitro* and effects of substrate on growth *in vivo*. King Mongkut's Agricultural Journal. 2019;37(2):262-273.
33. Kachonpadungkitti Y, Jala A. Influence of BA, IAA, 2,4- D and kinetin on micropropagation of *Hylocereus undatus* from segments of hypocotyl and true leaf. TJST. 2015;4(2):147-154.
34. Kachonpadungkitti Y, Jala A. Influence of BA and NAA on inducing new shoots and roots in *Bacopa monaneiri* (L.) Pennel *in vitro.* TJST. 2014;3(1):7-14.
35. Martins JP, Schimildt ER, Alexandre RS, Santos BR, Magevski GC. Effect of synthetic auxins on *in vitro* and *ex vitro* bromeliad rooting. Pesqui Agropecu Trop. 2013;43(2):138–46
36. Ramasoot S, Kongchamnan K, Somboon, B. Micropropagation of green bat flower by organogenesis. PNUJR. 2017;9(3):140-148.