



การเจริญเติบโตในสภาพปลอดเชื้อ และการอนุบาลชำน้ำ (*Alpinia mutica* Roxb.) พืชสมุนไพรของไทย

In Vitro Shoot Growth and Acclimatization of Orchid Ginger (*Alpinia mutica* Roxb.)

Thai Medicinal Plant

บันทิตา เพ็ญสุริยะ¹, น้ำฝน ชาชัย¹, มนัสชนก เกตกลางดอน¹, พงศกร นิตยมี¹, เรวัตร จินดาเจีย¹,
พงษ์ศักดิ์ แก้วศรี¹, จรรยา มุ่งงาม¹, ภัทรา ประทับทอง¹, จักรกฤษณ์ ศรีแสง^{1*}, ปราโมทย์ ไตรบุญ²

¹สถานีวิจัยลำตะคอง ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมเกษตรสร้างสรรค์

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ปทุมธานี 12120

²ธนาคารทรัพยากรชีวภาพแห่งชาติ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ

สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) ปทุมธานี 12120

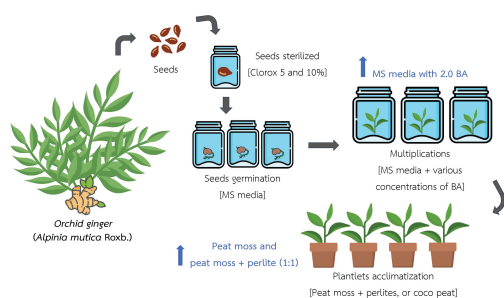
Banthita Pensuriya¹, Namfon Chachai¹, Manaschanok Katklangdon¹, Pongsakorn Nitmee¹,
Rewat Chindachia¹, Pongsak Kaewsri¹, Janya Mungngam¹, Phattra Pratubkong¹, Jakkrit Sreesang^{1*},
Pramote Triboun²

¹Lamtaklong Research Station, Expert Centre of Innovative Agriculture, Thailand Institute of Scientific and Technological Research, Pathum Thani 12120

²National Biobank of Thailand, National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC),
National Science and Technology Development Agency (NSTDA), Pathum Thani 12120

Received 14 July 2023; Received in revised 20 November 2023; Accepted 6 December 2024

GRAPHICAL ABSTRACT



ABSTRACT

There are more than 200 species in the genus *Alpinia*. Plants in this genus are important for medicinal, culinary, and ornamental purposes. The most common method of propagating *Alpinia* species is rhizome division and seed dispersal under natural conditions. Tissue culture is an alternative method that can rapidly increase the number of plant species for commercial use. This experiment aimed to study the *in vitro* growth and propagation of orchid ginger or Ka Nam (*Alpinia mutica* Roxb.). Orchid ginger seeds were sterilized using Clorox solution at concentrations of 5% and 10%, then germinated on modified Murashige and Skoog (MS) medium. In the shoot induction study, orchid ginger shoots were cultured on MS medium supplemented with various

concentrations of BA (0, 0.5, 1.0, 1.5 and 2.0 mg/ L BA) for 6 weeks. The results revealed that MS medium supplemented with 2.0 mg/L BA induced the highest number of shoots (5.4). The greatest root number and root length were observed on MS medium containing 1.5 mg/L BA. Therefore, the propagation of orchid ginger for conservation and commercial purposes can be effectively achieved on MS medium supplemented with 1.5-2.0 mg/L BA. Additionally, peat moss and a combination of peat moss and perlite were found to be effective nursery substrates for promoting the growth of orchid ginger seedlings derived from tissue culture.

คำสำคัญ	บทคัดย่อ
ข่าน้ำ; การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ; พืชสกุลข่า; สภาพปลอดเชื้อ Keywords	พืชสกุลข่ามีความหลากหลายมากกว่า 200 ชนิด เป็นพืชสมุนไพร พืชอาหาร และไม้ประดับที่สำคัญ การขยายพันธุ์พืชสกุลข่าส่วนมากจะใช้วิธีการแยกหน่อ และการกระจายพันธุ์ด้วยเมล็ดในสภาพธรรมชาติ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเป็นอีกหนึ่งวิธีที่สามารถเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์พืชเพื่อการใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ได้อย่างรวดเร็ว การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ข่าน้ำในสภาพปลอดเชื้อ โดยพอกฆ่าเชื้อเมล็ดข่าน้ำในสารละลายคลอโรกซ์ ความเข้มข้น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ เพาะเมล็ดบนอาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (MS) สูตรดัดแปลง เพื่อศึกษาการเพิ่มจำนวนต้นของข่าน้ำที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม Benzyladenine (BA) ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มก./ล. เป็นเวลานาน 6 สัปดาห์ ผลการทดลอง พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มก./ล. สามารถชักนำยอดข่าน้ำได้สูงสุด 5.4 ยอด ความยาวรากและจำนวนรากมีค่าสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.5 มก./ล. ดังนั้น การเพิ่มจำนวนต้นของข่าน้ำในสภาพปลอดเชื้อเพื่อการอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์เชิงการค้าสามารถเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.5 - 2.0 มก./ล. การใช้ฟิโทมอสายเดี่ยว และฟิโทมอสผสมเพอร์ไลต์เป็นวัสดุในการอนุบาล สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นกล้าข่าน้ำที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ดี
Orchid ginger; Plant tissue culture; Genus <i>Alpinia</i>; <i>In vitro</i> culture	*ผู้รับผิดชอบบทความ: Jakkritoneku@gmail.com

DOI: 10.14456/tstj.2025.22

1. บทนำ

การกระจายพันธุ์ของพืชวงศ์ขิง (*Zingiberaceae*) ส่วนใหญ่กระจายพันธุ์ในเขตร้อน และกึ่งร้อนของทวีปเอเชีย พืชวงศ์ขิงทั่วโลกมีจำนวน 53 สกุล มากกว่า 1,600 ชนิด [1, 2] ประเทศไทยมีความหลากหลายของพืชวงศ์ขิง จำนวน 26 สกุล มากกว่า 300 ชนิด พืชสกุลข่าเป็นพืชในวงศ์ขิงที่มีศักยภาพในการใช้เป็นพืชสมุนไพร พืชอาหาร และไม้ประดับ โดยในประเทศไทยมีพืชสกุลข่า จำนวน 17 ชนิด และ 2 พันธุ์ [3] ตัวอย่างพืชสกุลข่าที่มีการใช้ประโยชน์ที่เห็นได้อย่างชัดเจน ได้แก่ ข่า (*A. galanga* (L.) Willd.) ข่าคม (*A. malaccensis* (Burm.f.) Roscoe) ข่าดำ (*A. zerumbet* (Pers.) B.L.Burtt & R.M.Sm.) และหน่อเกลา (*A. nigra* (Gaertn.) Burtt) เป็นต้น [4] นอกจากนี้ ในปัจจุบันมีการใช้ประโยชน์พืชสกุลข่าเพื่อเป็นวัตถุดิบสำหรับประกอบอาหาร สมุนไพร และเกี่ยวข้องกับวัฒนธรรมท้องถิ่นในหลายพื้นที่ อีกทั้งพืชสกุลข่ายังมีคุณสมบัติทางเคมีที่สามารถช่วยในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและแบคทีเรียได้ [5, 6] และน้ำมันหอมระเหยและสารสกัดมีองค์ประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระ ตัวอย่างเช่น ข่าน้ำ (*A. mutica* Roxb.), ข่า (*A. galanga*), Snap ginger (*A. calcarata*), ข่าเล็ก (*A. officinarum*) และ Sharp-leaf galangal (*A. oxyphylla*) เป็นต้น [7, 8, 9, 10, 11, 12]

ข่าน้ำ (*A. mutica* Roxb.) พืชในสกุลข่าที่มีการกระจายพันธุ์อยู่ในประเทศไทยพบบริเวณจังหวัดเชียงใหม่ กาญจนบุรี นครศรีธรรมราช สงขลา ปัตตานี และนราธิวาส ในต่างประเทศพบที่ หมู่เกาะบอร์เนียว อินเดีย มาเลเซีย เมียนมา และเวียดนาม [13, 14] ผลอ่อนข่าน้ำสามารถรับประทานเป็นผัก เหง้าใช้ต้มน้ำดื่มเป็นสมุนไพร ช่วยขับลม แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ [14] นอกจากเป็นพืชอาหาร และสมุนไพร ข่าน้ำนำมาใช้ประโยชน์ด้านเป็นพืชมงคล ความเชื่ออีกด้วย [15] อีกทั้ง ในน้ำมันสกัดจากผลของข่าน้ำยังมีสาร α -Farnesene สารประกอบฟลาโวนอยด์และไตรเทอร์พีนอยด์ [16] สารต้านอนุมูลอิสระ [7] นอกจากนี้ น้ำมันหอมระเหยในใบของข่าน้ำยังมีสาร

ในกลุ่ม Sesquiterpenes และ Monoterpenes [6] ขณะที่ Ibrahim et al. [17] รายงานว่า น้ำมันที่สกัดได้จากผลของข่าน้ำมีสารประกอบ Camphor (15.8%), Camphene (10.2%), β -Pinene (13.5%) และ Trans, Trans-farnesol (11.2%) ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อราและแบคทีเรียได้

การใช้ประโยชน์ความหลากหลายทางชีวภาพพืชวงศ์ขิง - ข่าถือเป็นการอนุรักษ์นอกถิ่นที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติได้อีกทาง [18] การอนุรักษ์และขยายเชื้อพันธุ์กรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อ (*In vitro* conservation) เป็นหนึ่งในรูปแบบของการอนุรักษ์นอกถิ่นที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติ ซึ่งสามารถเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์และเก็บรักษาเชื้อพันธุ์กรรมได้อย่างมีประสิทธิภาพ การศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข่า (*A. galanga*) และหน่อเกลา (*A. nigra*) ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.0 มก./ล. สามารถชักนำให้มีจำนวนรากเฉลี่ยและจำนวนใบเฉลี่ยมากกว่าที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ที่ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. และอาหาร MS ที่ไม่ได้เติม BAP [19] หรือในพืชวงศ์ขิง โดย Kamol et al. [20] ทดลองเลี้ยงชิ้นส่วนยอดขมิ้นขาวบนอาหารสังเคราะห์ที่เติม NAA ร่วมกับ BA พบว่า ชิ้นส่วนที่เลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์ที่เติม BA 2.0 มก./ล. เพียงอย่างเดียว สามารถชักนำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุด (3.61 ยอด) และเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น (5.0 มก./ล.) จะชักนำให้จำนวนยอดและจำนวนรากลดลง แต่มีแนวโน้มชักนำให้เกิดตายอดเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ จากการศึกษาพบว่า พืชวงศ์ขิงโดยส่วนใหญ่สามารถชักนำให้เพิ่มจำนวนยอดได้ด้วยการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ได้แก่ BA และ TDZ โดยเฉพาะ TDZ มีความสามารถในการชักนำให้พืชวงศ์ขิงเพิ่มจำนวนยอดได้มากขึ้นอย่างมีประสิทธิภาพและสามารถชักนำชิ้นส่วนพืชวงศ์ขิงบางชนิดให้เกิดแคลลัสได้ และสารควบคุมการเจริญเติบโตที่นำมาใช้ชักนำต้นอ่อนของพืชวงศ์ขิงให้เกิดรากได้อย่างเช่น ไคนิติน (KN) นั้น สามารถช่วยกระตุ้นการเกิดรากได้อย่างมีประสิทธิภาพเช่นกัน [21]

นอกจากนี้มีการทดลองของ Prachai et al. [22] ได้ทดลองเพาะเลี้ยงยอดกระชายบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 และ 0.5 มก./ล. พบว่า การเกิดยอดใหม่สูงสุด 93.33 ถึง 100 % บนอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 2 และ 3 มก./ล. ร่วมหรือไม่ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. และยอดที่เพาะเลี้ยงบนอาหารที่เติม 2 มก./ล. BA ร่วมกับ 0.5 มก./ล. NAA มีจำนวนยอดใหม่ที่พัฒนา (2.63 ยอด) และมีความยาวยอด (1.55 ซม.) สูงสุด ดังนั้น การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและการเพิ่มจำนวนต้นพันธุ์ข่าน้ำในสภาพปลอดเชื้อ โดยศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินชนิด BA เพื่อเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์เพื่อการใช้ประโยชน์และการอนุรักษ์เชื้อพันธุ์กรรมในสภาพปลอดเชื้อต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข่าน้ำในสภาพปลอดเชื้อ

เก็บตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ข่าน้ำจากสถานีวิจัยเขาคันทรงอันเนื่องมาจากพระราชดำริ จังหวัดฉะเชิงเทรา คัดแยกเมล็ดพันธุ์ที่สมบูรณ์ ล้างเยื่อหุ้มเมล็ดด้วยน้ำสะอาด แช่เมล็ดในแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 2 นาที ฟอกกำจัดเชื้อเมล็ดในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Clorox ®) จำนวน 2 ครั้ง ที่ความเข้มข้น 10 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ที่เติม Tween 20 จำนวน 3 หยด เขย่านาน 15 และ 10 นาที ตามลำดับ หลังจากนั้นล้างเมล็ดด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งกำจัดเชื้อ จำนวน 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที นำเมล็ดที่ผ่านการฟอกกำจัดเชื้อเพาะลงบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร Murashige and skoog (MS) [23] สูตรดัดแปลง ระยะเวลา 4 สัปดาห์ หลังจากนั้นนำต้นกล้าที่งอกไปใช้ในการศึกษาการเพิ่มจำนวนต้นในสภาพปลอดเชื้อ ศึกษาการเจริญเติบโตของยอดข่าน้ำในสภาพปลอดเชื้อ เพาะเลี้ยงยอดข่าน้ำ ขนาด 1 ซม. บนอาหาร MS สูตรดัดแปลง ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 มก./ล. จำนวน 5 สูตร วางแผนการ

ทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomize designed; CRD) จำนวน 10 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ยอด เก็บข้อมูลจำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนราก และความยาวราก ที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายลงอาหารเพาะเลี้ยง

2.2 การอนุบาลข่าน้ำในสภาพโรงเรือนเพาะชำ

นำต้นกล้าข่าน้ำที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อวางที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 สัปดาห์ หลังจากนั้น นำมาล้างทำความสะอาดและล้างอาหารเพาะเลี้ยงออกให้หมด แช่รากด้วยยาฆ่าเชื้อรา 5 นาที คัดเลือกต้นกล้าข่าน้ำที่แข็งแรง สมบูรณ์ มีรากและขนาดใกล้เคียงกัน นำต้นกล้าปลูกในกระถางที่มีวัสดุปลูกที่แตกต่างกัน จำนวน 6 ทรีทเมนต์ ได้แก่ 1. พีทมอส 2. พีทมอสผสมเพอร์ไลต์ (อัตราส่วน 1 : 1) 3. พีทมอสผสมเพอร์ไลต์ (อัตราส่วน 2 : 1) 4. พีทมอสผสมเพอร์ไลต์ (อัตราส่วน 3 : 1) 5. พีทมอสผสมเพอร์ไลต์ผสมขุยมะพร้าว (อัตราส่วน 1 : 1 : 1) 6. พีทมอสผสมเพอร์ไลต์ผสมขุยมะพร้าว (อัตราส่วน 1 : 1 : 2) และ 7. พีทมอสผสมเพอร์ไลต์ผสมขุยมะพร้าว (อัตราส่วน 1 : 1 : 3) ปลูกทดสอบอัตราการรอดชีวิตที่อายุ 5 สัปดาห์หลังย้ายปลูก และเก็บข้อมูลเป็นระยะเวลาความสูงต้น จำนวนใบ ความยาวใบ ความกว้างใบ จำนวนราก ความยาวราก และความเขียวใบ (SPAD value) ที่อายุ 7 สัปดาห์หลังย้ายปลูก

2.3 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ IBM SPSS 22.0 คำนวณอัตราการเจริญเติบโตจากสูตร

$$\text{อัตราการเจริญเติบโต} = ((G_6 - G_4) / G_4) \times 100$$

โดยที่ G_6 คือ การเจริญเติบโตที่อายุ 6 สัปดาห์ หลังเพาะเลี้ยง และ G_4 คือ การเจริญเติบโตที่อายุ 4 สัปดาห์หลังเพาะเลี้ยง

และคำนวณอัตราการรอดตายจากสูตร

อัตราการรอดตาย = (จำนวนต้นที่รอด/จำนวนต้นที่ปลูกทั้งหมด) $\times$ 100

3. ผลและวิจารณ์ผล

3.1 การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข่าน้ำในสภาพปลอดเชื้อ

เมล็ดข่าน้ำที่เพาะในสภาพปลอดเชื้อมีการงอกของเมล็ดค่อนข้างต่ำและใช้ระยะเวลานาน นาขึ้นส่วนของยอดของต้นกล้าที่ได้จากการเพาะในสภาพปลอดเชื้อไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS สูตรดัดแปลง ที่เติม BA ความเข้มข้นต่างกัน พบว่า การเจริญเติบโตของขึ้นส่วนของยอดข่าน้ำที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้นต่างกัน นาน 6 สัปดาห์ หลังย้ายลงบนอาหาร มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกลักษณะที่ศึกษา โดยอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0, 1.5 และ 2.0 มก./ล. สามารถชักนำให้ยอดข่าน้ำมีความยาวยอดสูงและไม่แตกต่างกันทางสถิติ (1.21, 1.47 และ 1.70 ซม.) แต่แตกต่างกันทางสถิติกับความยาวของยอดที่พัฒนามบนอาหารที่ไม่เติม BA และเติม BA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. (Table 1) ลักษณะจำนวนยอด พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มก./ล. ทำให้มีจำนวนยอดสูงที่สุด (5.40 ยอด) อย่างไรก็ตาม จำนวนยอดที่เกิดขึ้นจะมีขนาดเล็กและสั้นกว่ายอดเดิม ในขณะที่ อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 มก./ล. กระตุ้นให้เกิดยอดได้มากกว่าอาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (1.90, 2.80 และ 3.20 ยอดตามลำดับ) การเกิดรากของข่าน้ำในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 และ 1.5 มก./ล. ทำให้ต้นกล้าข่าน้ำมีจำนวนรากมากที่สุด (4.05 และ 5.45 ราก ตามลำดับ) นอกจากนี้ อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ส่งผลให้ความยาวรากของข่าน้ำยาว 2.09 ซม. ไม่แตกต่างกับอาหารสูตรอื่น ๆ อย่างไรก็ตาม อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มก./ล. พบว่า มีความยาวรากน้อยกว่าอาหารสูตรอื่น ซึ่งจากผลการทดลอง พบว่า การขยายพันธุ์ข่าน้ำในสภาพปลอดเชื้อด้วยอาหารสูตร MS ที่เติม BA

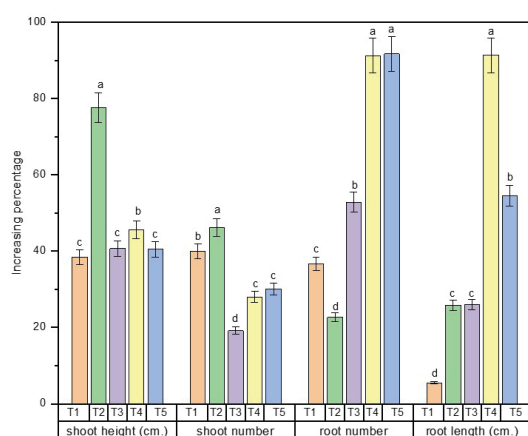
ความเข้มข้นน้อยกว่าหรือเท่ากับ 2.0 มก./ล. ไม่จำเป็นต้องมีการชักนำราก เนื่องจาก ข่าน้ำสามารถเกิดรากที่สมบูรณ์ได้ดี (Figure 1) ในขณะที่ อัตราการเจริญเติบโตของยอดข่าน้ำในสภาพปลอดเชื้อที่อายุ 6 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตที่อายุ 4 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. มีอัตราการเจริญเติบโตในลักษณะความสูงต้นและจำนวนยอดได้ดี และอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.5 และ 2.0 มก./ล. มีอัตราการเจริญเติบโตในลักษณะความยาวรากได้ดี และอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.5 มก./ล. มีอัตราการเจริญเติบโตในลักษณะจำนวนรากดีที่สุด (Figure 2)



Figure 1 *In vitro* shoot growth of orchid ginger (*A. mutica* Roxb.) on MS medium with BA at different concentrations, after culturing for 6 weeks.

Table 1 The *in vitro* shoot and root formation of orchid ginger (*A. mutica* Roxb.) on MS medium with BA at different concentrations after culturing for 6 weeks.

Treatments	Shoot height (cm.)	Shoot number	Root number	Root length (cm)
MS free hormones	0.36 ^c	0.35 ^c	2.05 ^c	2.09 ^{ab}
MS + 0.5 mg/L BA	0.87 ^b	1.90 ^{bc}	3.25 ^{bc}	2.24 ^{ab}
MS + 1.0 mg/L BA	1.21 ^{ab}	2.80 ^b	4.05 ^{ab}	2.76 ^{ab}
MS + 1.5 mg/L BA	1.47 ^a	3.20 ^b	5.45 ^a	3.98 ^a
MS + 2.0 mg/L BA	1.70 ^a	5.40 ^a	2.30 ^c	1.02 ^b
<i>F-test</i>	*	*	*	*
C.V. (%)	60.36	70.82	75.40	74.30

* = significance at $p < 0.05$ **Figure 2** *In vitro* growth rate of orchid ginger (*A. mutica* Roxb.) after culturing on MS medium with BA at different concentrations for 4 and 6 weeks. (T1 = MS free hormone, T2 = MS + 0.5 mg/L BA, T3 = MS + 1.0 mg/L BA, T4 = MS + 1.5 mg/L BA and T5 = MS + 2.0 mg/L BA)

ขาน้ำเป็นพืชที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราและเชื้อแบคทีเรียบางชนิดในระดับปานกลาง โดยน้ำมันหอมระเหยจากส่วนของใบและเมล็ดมีสารในกลุ่มของสารประกอบฟลาโวนอยด์และไตรเทอร์พีนอยด์ [16] สารต้านอนุมูลอิสระ [7] สารในกลุ่ม Sesquiterpenes และ Monoterpenes [6]

สารประกอบ Camphor, Camphene, β -Pinene และ Trans,Trans-farnesol [17] จึงมีความสำคัญในการอนุรักษ์และพัฒนาารูปแบบการนำไปใช้ประโยชน์ในด้านสมุนไพรและเวชสำอางในอนาคต อย่างไรก็ตาม การขยายพันธุ์ขาน้ำหรือพืชสกุลข่า นิยมใช้วิธีการขยายพันธุ์โดยการแยกเหง้าที่ต้องใช้ต้นพันธุ์จำนวนมาก และการขยายพันธุ์เพาะเมล็ดที่ใช้ระยะเวลานานในการงอกและการเจริญเติบโต นอกจากนี้ยังมีการปนเปื้อนของเชื้อราและแบคทีเรียสาเหตุโรคได้ ดังนั้น จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการขยายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรม รวมถึงการใช้ประโยชน์ในด้านสมุนไพรในอนาคต

ซึ่งจากผลการทดลองนี้ พบว่า มีความสอดคล้องกับงานวิจัยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อข่าและหน่อข่าที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP โดยสามารถชักนำยอดและเมื่อเติมสาร BAP ทำให้มีจำนวนยอดเพิ่มมากขึ้น ที่ความเข้มข้น 2.0 มก./ล. ให้จำนวนรากเฉลี่ยและจำนวนใบเฉลี่ยมากกว่าที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ที่ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. และอาหาร MS ที่ไม่ได้เติม BAP [19] นอกจากนี้ Selvakumar และคณะ [24] ได้ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *A. officinarum* Hance ในอาหารสูตร MS ที่เติมโคเนดินซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน ที่ความเข้มข้น 3 มก./ล.ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 1 มก./ล. สามารถ

ชักนำให้เกิดยอดได้ 11 ยอด อีกทั้ง การขยายพันธุ์ *A. galanga* เพื่อการอนุรักษ์ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าอาหารสังเคราะห์ที่เติม BAP เพียงอย่างเดียว (0 - 5 มก./ล.) หรือร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 - 2 มก./ล. พบว่าความเข้มข้นของ BAP ที่ 5.0 มก./ล. ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 2.0 มก./ล. และ BAP ความเข้มข้น 3.0 มก./ล. ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. ทำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุดต่อต้นเมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นอื่นๆ [25] นอกจากนี้ Sahoo et al. [26] ศึกษาการเพิ่มจำนวนยอดชำ (*A. galanga*) ในสูตรอาหาร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีความเข้มข้นที่ต่างกัน ได้แก่ BA ความเข้มข้น 1-4 มก./ล., Kinetin ความเข้มข้น 1-3 มก./ล., IAA ความเข้มข้น 0.5-1 มก./ล. และ NAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. พบว่า สูตรอาหารที่เติม BA (3 มก./ล.) ร่วมกับ NAA (0.5 มก./ล.) ชักนำให้เกิดยอดมากที่สุด อีกทั้ง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ *A. purpurata* จากส่วนของตาดอกบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 10 ไมโครโมลาร์ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 5 ไมโครโมลาร์ พบว่า สามารถทำให้เกิดยอดได้ถึง 15 - 20 ยอดในระยะเวลา 4 สัปดาห์ อีกด้วย [27] โดยสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนินที่ระดับความเข้มข้น 2.0-5.0 มก./ล. หรือที่ใช้ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มออกซิน ที่ระดับความเข้มข้น 0.5-2.0 มก./ล. สามารถชักนำพืชสกุลชำให้เกิดยอดในสภาพปลอดเชื้อได้ดี โดยที่ BA เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน มีคุณสมบัติในการกระตุ้นการแบ่งเซลล์และพัฒนาของตายอดพืช เมื่อใช้ในปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสม สามารถกระตุ้นการเกิดยอดในสภาพปลอดเชื้อของชิ้นส่วนพืชได้

3.2 การอนุบาลชำน้ำในสภาพโรงเรือนเพาะชำ

การศึกษาวสดุที่เหมาะสมต่อการอนุบาลต้นกล้าชำน้ำที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ โดยใช้วัสดุเพาะจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ พีทมอส เพอร์ไลต์ และขุยมะพร้าว ผสมในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน จำนวน 7 ทริทเมนต์ พบว่า วัสดุปลูกทั้ง 7 แบบ สามารถอนุบาลต้นกล้าชำน้ำให้มีอัตราการรอดชีวิตได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (Table 2) ขณะที่ การเจริญเติบโตของต้นกล้าชำน้ำ พบว่า วัสดุที่ใช้ในการอนุบาลกล้าชำน้ำที่แตกต่างกันส่งผลให้ลักษณะจำนวนใบ ความยาวใบ ความกว้างใบ ความยาวรากและจำนวนราก แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นลักษณะความสูงต้น และความเขียวใบ (SPAD) จากผลการทดลอง พบว่า การใช้พีทมอสผสมเพอร์ไลต์ผสมขุยมะพร้าว (1:1:3) เป็นวัสดุอนุบาล ทำให้ต้นกล้าชำน้ำมีจำนวนใบน้อยที่สุด (6.87 ใบ) ลักษณะความยาวใบ พบว่า การอนุบาลต้นกล้าชำน้ำด้วยพีทมอสและพีทมอสผสมเพอร์ไลต์ทั้ง 3 อัตราส่วน ทำให้ต้นกล้าชำน้ำมีใบยาวที่สุด (8.26, 7.91, 8.71 และ 8.36 เซนติเมตร ตามลำดับ) นอกจากนี้ การอนุบาลต้นกล้าชำน้ำด้วยพีทมอส และพีทมอสผสมเพอร์ไลต์ทั้ง 3 อัตราส่วนยังทำให้ต้นกล้าชำน้ำมีความกว้างใบ ความยาวรากและจำนวนรากมากที่สุดอีกด้วย (Figure 3 และ Table 3) จากผลการอนุบาลสามารถสรุปได้ว่า การใช้พีทมอสอย่างเดียว และพีทมอสผสมเพอร์ไลต์เป็นวัสดุปลูกสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นกล้าชำน้ำที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ดี นอกจากนี้ ยังพบว่าขุยมะพร้าวซึ่งมีคุณสมบัติอุ้มน้ำได้ดี แต่มีความเป็นด่างสูง ไม่เหมาะสำหรับการใช้อนุบาลต้นกล้าชำน้ำ อย่างไรก็ตาม Chirangini et al. [28] รายงานว่า การอนุบาล *Kaempferia galanga* L. โดยใช้ทรายผสมกับมูลวัว อัตราส่วน (1:1) สามารถทำให้ต้นกล้ามีอัตราการรอดชีวิต 80-90% ขณะที่ การอนุบาล *Globba schomburgkii* Hook. f. ด้วยทรายเป็นวัสดุปลูกสามารถ (Figure 3) ทำให้ต้นกล้ามีอัตราการรอดชีวิต 80% [29]

Table 2 Survival growth rate of orchid ginger (*A. mutica* Roxb.) on different growing media during 5 weeks after transplantation.

Acclimatization and potting medium	Survival rate (%)
peat moss	100
peat moss + perlite (1:1)	100
peat moss + perlite (2:1)	100
peat moss + perlite (3:1)	100
peat moss + perlite + coco peat (1:1:1)	100
peat moss + perlite + coco peat (1:1:2)	100
peat moss + perlite + coco peat (1:1:3)	100

Table 3 Growth and development of orchid ginger (*A. mutica* Roxb.) on different growing media during 7 weeks after transplantation.

Acclimatization and potting medium	Shoot height (cm)	Leaf number	Leaf length (cm)	Leaf width (cm)	Root number	Root length (cm)	SPAD values
peat moss	12.33	12.13 ^a	8.26 ^a	3.49 ^a	16.93 ^a	19.33 ^a	38.98
peat moss + perlite (1:1)	12.50	9.87 ^{ab}	7.91 ^{ab}	3.23 ^{ab}	15.13 ^{ab}	14.53 ^{bc}	35.83
peat moss + perlite (2:1)	14.23	8.27 ^{bc}	8.71 ^a	3.48 ^a	13.33 ^{bc}	19.21 ^a	37.83
peat moss + perlite (3:1)	13.90	11.40 ^a	8.36 ^a	3.40 ^a	15.93 ^{ab}	16.55 ^{ab}	38.90
peat moss + perlite + coco peat (1:1:1)	11.69	11.40 ^a	6.88 ^{bc}	2.77 ^c	12.33 ^c	12.88 ^{cd}	39.02
peat moss + perlite + coco peat (1:1:2)	13.11	10.27 ^{ab}	5.90 ^c	2.54 ^c	11.53 ^c	11.24 ^d	39.19
peat moss + perlite + coco peat (1:1:3)	9.60	6.87 ^c	5.82 ^c	2.94 ^{bc}	11.47 ^c	11.61 ^d	39.27
<i>F-test</i>	ns	*	*	*	*	*	ns
C.V. (%)	54.08	34.83	25.05	21.41	28.90	31.90	10.90

ns = non-significance, * = significance at $p < 0.05$

Means not sharing a common letter within a column are significantly different by DMRT.

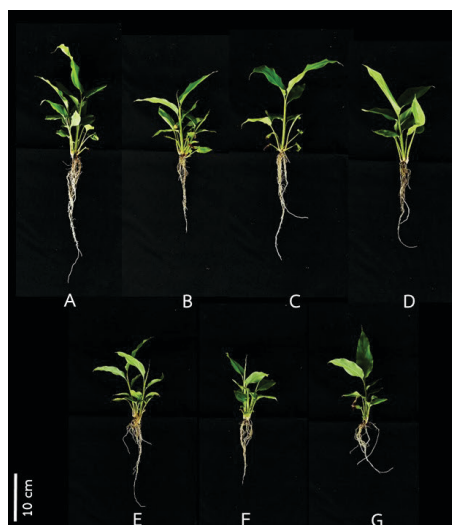


Figure 3 Growing performance of Orchid ginger (*A. mutica* Roxb.) on different growing media during 7 weeks after transplantation. [A = peat moss, B = peat moss + perlite (1:1), C = peat moss + perlite (2:1), D = peat moss + perlite (3:1), E = peat moss + perlite + coco peat (1:1:1), F = peat moss + perlite + coco peat (1:1:2) and G = peat moss + perlite + coco peat (1:1:3)]

4. สรุปผล

การขยายพันธุ์ชำน้ำเพื่อการอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์เชิงการค้าสามารถเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อสามารถเลือกอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มก./ล. เพื่อใช้ในการขยายพันธุ์ชำน้ำในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งสามารถเพิ่มปริมาณต้นได้ดีและมีการเจริญเติบโตของต้นพันธุ์ที่ดี และการใช้ฟืทมอสอย่างเดียวยังและฟืทมอสผสมเพอร์ไลต์เป็นวัสดุในการอนุบาล สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของต้นกล้าชำน้ำที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อได้ดี สามารถนำวิธีการนี้ไปใช้ในงานด้านการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์เชื้อพันธุ์กรรมชำน้ำต่อไป

6. References

- [1] Zhou, Y.Q., Liu, H., He, M.X., Wang, R., Zeng, Q.Q., Wang, Y., Ye W.C. and Zhang, Q.W., 2018, A Review of the Botany, Phytochemical, and Pharmacological Properties of Galangal. Natural and Artificial Flavoring Agents and Food Dyes, Academic Press. pp 351-396.
- [2] Leong-Skornickova, J., Dang, T.H., Binh, N.Q., Hlavata, K., Truong, L.H., Dat, N.Q., Trung, N.T. and Newman, M., 2019, The identity of *Amomum trilobum* and *Amomum unifolium* (Zingiberaceae: Alpinioideae), and description of four new related species from Vietnam. *Phytotaxa* 401(3): 149.
- [3] Saensouk, S., Chantaranothai, P. and Larsen, K., 2003, Notes on the genus *Alpinia* (Zingiberaceae) in Thailand. *Thai For. Bull. (Bot.)* 31: 95-104.
- [4] Palee, J., Kamtaeja, S. and Lakerd, J., 2020, The utilization of the Family *Zingiberaceae* based on local wisdom in Chiang Saen district, Chiang Rai province and its micropropagation for conservation. *Ramkhamhaeng Res. J. Sci. Technol.* 23(1): 27-38. (in Thai)

- [5] Yusoff, M.M., Ibrahim, H. and Hamid, N.A., 2011, Chemical characterization and antimicrobial activity of rhizome essential oils of very closely allied Zingiberaceae species endemic to Borneo: *Alpinia ligulata* K. Schum. and *Alpinia nieuwenhuizii* Val. Chem. Biodivers. 8: 916-923.
- [6] Sirat, M.H. and Jani, N.A., 2013, Chemical constituents of the leaf of *Alpinia mutica* Roxb. Nat. Prod. Res. 27(16): 1468-1470.
- [7] Phang, C.W., Abd Malek, S.N., Ibrahim, H. and Wahab, N.A., 2011, Antioxidant properties of crude and fractionated extracts of *Alpinia mutica* rhizomes and their total phenolic content. Afr. J. Pharm. Pharmacol. 5(7): 842-852.
- [8] Mahae, M. and Chaiseri, S., 2009, Antioxidant activities and antioxidative components in extracts of *Alpinia galanga* (L.) Sw. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 43: 358-369.
- [9] Arambewela, L.S.R., Menuka Arawwawala, L.D.A. and Athauda, N., 2010, Antioxidant and antifungal activities of essential oil of *Alpinia calcarata* Roscoe rhizomes. J. Ayurveda Integr. Med. 1(3): 199-202.
- [10] Srividya, A.R., Dhanabal, S.P., Misra, V.K. and Suja, G., 2010, Antioxidant and antimicrobial activity of *Alpinia officinarum*. Indian J. Pharm. Sci.: 145-148.
- [11] Chan, E.W.C., Pei Ng, V., Tan, V.V. and Low, Y.Y., 2011, Antioxidant and antibacterial properties of *Alpinia galanga*, *Curcuma longa*, and *Etlingera elatior* (Zingiberaceae). Pharmacogn. J. 3(22): 54-61.
- [12] Biana, Q.Y., Wang, S.Y., Xu, L.J., Chan, C.O., Mok, D.K.W. and Chen, S.B., 2013, Two new antioxidant diarylheptanoids from the fruits of *Alpinia oxyphylla*. J. Asian Nat. Prod. Res. 15(10): 1094-1099.
- [13] POWO, 2023, *Alpinia mutica*. Available Source: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:795340-1>, February 18, 2023.
- [14] The National Resources and Environment Policy and Planning Office, 2021. *Alpinia mutica*. Available Source: <https://thbif.onep.go.th/taxons/information/11572>, February 18, 2023. (in Thai)
- [15] Saensouk, S., Saensouk, P. and N. Chanshotikul, 2018, Diversity and traditional uses of Zingiberaceae in Nong Khai province, Thailand. KKU Res. J, 45(3): 574-594. (in Thai)
- [16] Theanphong, O., Jenjittikul, T. and Mingvanish, W., 2019, Chemical Constituents and *In Vitro* antioxidant Activities from *Alpinia mutica* Roxb. Fruit. The 35th International Annual Meeting in Pharmaceutical Sciences and CU-MPU International Collaborative Research Conference: 235-238.
- [17] Ibrahim, H., Sivasothy, Y., Syamsir, D.R., Nagoor, N.H., Jamil, N. and Awang, K., 2014, Essential oil composition and antimicrobial activities of two closely related species, *Alpinia mutica* Roxb. and *Alpinia latilabris* Ridl., from Peninsular Malaysia. Sci. World J. 430831: 1-6.

- [18] Saensouk, S., 2011, Endemic and rare plants of ginger family in Thailand. KKU Res. J, 16(3): 306-330. (in Thai)
- [19] Kankamol, C., 2010, Factors Affecting *In Vitro* Microrhizome Induction of *Alpinia Galanga* Swartz and *Alpinia Nigra* Burrt, Research Report, Suansunandha Rajabhat University, Bangkok, 80 p. (in Thai)
- [20] Kamol, P., Boonpramook, U. and Kongbangkerd, A., 2012, Effect of cytokinins and auxins on development of *Curcuma manga* valeton and zijp. Cultured *in vitro*. Thai. J. Bot. 87-92. (in Thai)
- [21] Mueangsaen, N., Maensiri, D., Grote, P.J., Machikowa, T. and Saensouk, P., 2018, Conservation and Propagation of Rare and Economic Plants (*Zingiberaceae*), Plant Genetic Conservation Project under The Royal Initiative of Her Royal Highness, Princess Maha Chakri Sirindhorn (RSPG), Research Report, Suranaree University of Technology, Nakhon Ratchasima, 102 p. (in Thai)
- [22] Prachai, R., Jirakiattikul, Y. and Rithichai, P., 2019, Effect of BA and NAA on in vitro shoot multiplication of *Boesenbergia rotunda* L. Agricultural Sci. J. 13-16. (in Thai)
- [23] Murashige, T. and Skoog, F., 1962, A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15(3): 473-497.
- [24] Selvakkumar, C., Balakrishnan, A. and Lakshmi, B.S., 2007, Rapid *in vitro* micropropagation of *Alpinia officinarum* hance, An important medicinal plant, through rhizome bud explants. Asian J. Plant Sci. 6(8): 1251-1255.
- [25] Singh, M.N., Chanu, A.L., Devi, Y.P., Singh, W.R.C. and Singh, H.B., 2014, Micropropagation-an *in vitro* technique for the conservation of *Alpinia galanga*. Adv. Appl. Sci. Res. 5(3): 259-263.
- [26] Sahoo, S., Singh, S., Sahoo, A., Sahoo, B.C., Jena, S., Kar, B. and Nayak, S., 2020, Molecular and phytochemical stability of long term micropropagated greater galanga (*Alpinia galanga*) revealed suitable for industrial applications. Ind. Crops Prod. 148: 274-284
- [27] Illg, R.D. and Faria, R.T., 1995, Micropropagation of *Alpinia purpurata* from inflorescence buds. Plant Cell, Tissue Organ Cult. 40: 183-185.
- [28] Chirangini, P., Sinha, S.K. and Sharma, G.J., 2005, *In vitro* propagation and microrhizome induction in *Kaempferia galanga* Linn. and *K. rotunda* Linn. Indian J. Biotechnol. 4: 404-408.
- [29] Saensouk, P., Saensouk, S. and Pimmuen, P., 2017, *In vitro* propagation of *Globba schomburgkii* Hook. f. via bulbil explants. Walailak J. Sci. Technol, 15(10): 701-710.