ISSN 3027-6357 (Print)
ISSN 3027-6365 (Online)

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี Homepage : *http://li01.tci-thaijo.org/index.php/tstj*
ปีที่ 32 ฉบับที่ 1 (มกราคม-กุมภาพันธ์ 2567) หน้า [25-32]

การชักนำยอดและการเจริญเติบโตของยอดหน่อกะลา (*Alpinia nigra* (Gaertn.) Burtt) ในสภาพปลอดเชื้อ

In vitro Shoot Induction and Growth of Black Galangal (*Alpinia nigra* (Gaertn.) Burtt)

บัณฑิตา เพ็ญสุริยะ[1], น้ำฝน ชาชัย[1], มนัสชนก เกตกลางดอ[1],น พงศกร นิตย์มี[1], เรวัตร จินดาเจี่ย [1], สุรสิทธิ์ วงษ์สัจจานันท์[1], เตชิตา ปิ่นสันเทียะ[1], ธีระวัฒน์ ศรีสุข[1], จักรกฤษณ์ ศรีแสง[1],* ปราโมทย์ ไตรบุญ[2]

[1]สถานีวิจัยลำตะคอง ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมเกษตรสร้างสรรค์
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ปทุมธานี 12120
[2]ธนาคารทรัพยากรชีวภาพแห่งชาติ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ
สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ปทุมธานี 12120

Banthita Pensuriya[1], Nanfon Chachai[1], Manaschanok Katklangdon[1], Pongsakorn Nitmee[1], Rewat Chindachia[1], Surasit Wongsatchanan[1], Techita Pinsanthia[1], Teerawat Srisuk[1], and Jakkrit Sreesaeng[1],* Pramote Triboun[2]

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

National Biobank of Thailand, National Center for Genetic Engineering and Biotechnology, National Science and Technology Development Agency, Pathum Thani Thailand 12120

Received 31 July 2023; Received in revised 19 November 2023; Accepted 27 November 2023

บทคัดย่อ

การขยายพันธุ์หน่อกะลาส่วนมากจะใช้วิธีการแยกหน่อ และมีการกระจายพันธุ์ด้วยเมล็ดในสภาพธรรมชาติ หน่อกะลาเป็นพืชในสกุลข่าที่มีการใช้เป็นพืชอาหารที่เกี่ยวข้องกับวิถีชีวิต และยังเป็นพืชสมุนไพร รวมถึงใช้เป็นไม้ประดับอีกด้วย การขยายพันธุ์หน่อกะลาด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจะสามารถเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์สำหรับการใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์และการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมได้อย่างรวดเร็ว การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการชักนำยอดของหน่อกะลาในสภาพปลอดเชื้อ ดำเนินการฟอกฆ่าเชื้อเมล็ดหน่อกะลาในสารละลายคลอรอกซ์ที่ความเข้มข้น 10 และ 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 15 และ 10 นาที ตามลำดับ นำเมล็ดเพาะลงบน

***ผู้รับผิดชอบบทความ:** Jakkritoneku@gmail.com **doi:**

อาหารสังเคราะห์สูตร Murashige and Skoog (MS) นำชิ้นส่วนยอดของหน่อกะลามาศึกษาการเจริญเติบโตโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม Benzyladenine (BA) จำนวน 4 ความเข้มข้น (0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มก./ล.) หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5, 1.0 และ 1.5 มก./ล. ชักนำยอดหน่อกะลาได้สูงสุด 2.20, 2.70 และ 2.70 ยอด ตามลำดับ ความยาวรากและจำนวนรากสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ดังนั้น การขยายพันธุ์หน่อกะลาเพื่อการใช้ประโยชน์เชิงการค้าและการอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรมสามารถเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5-1.5 มก./ล.

คำสำคัญ: หน่อกะลา; การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ; สกุลข่า; สภาพปลอดเชื้อ

Abstract

The majority of Black galangal (*A. nigra* (Gaertn.) Burtt) propagation occurs through rhizome separation, and distribution by seeds in natural conditions. Black galangal belonging to the genus *Alpinia* is used as a food plant related to human life, medicinal plant, and ornamental plant. Propagation of Black galangal using tissue culture techniques can quickly increase the number of plants for commercial use and genetic conservation. The objective of this study was to investigate *in vitro* shoot induction and shoot growth of black galangal. Black galangal seeds were sterilized with Clorox solution at concentrations 10 and 5 percent for about 15 and 10 minutes, respectively. Seeds were germinated on Murashige and Skoog (MS). *In vitro* shoots of black galangal were cultured on MS medium supplemented with various concentrations of BA (0, 0.5, 1.0 and 1.5 mg/L). The results showed that the MS medium supplemented with 0.5, 1.0 and 1.5 mg/L BA had the highest number of shoots (2.20, 2.70 and 2.70, respectively). The highest root and root length were found on MS medium without plant growth regulators. Therefore, the propagation of Black galangal for germplasm conservation and commercial use can be cultured on MS medium supplemented with 0.5 - 1.5 mg/l BA.

Keywords: Black galangal; Tissue culture; Genus *Alpinia; In vitro*

1. บทนำ

หน่อกะลา (*Alpinia nigra* (Gaertn.) Burtt) เป็นพืชอาหารอัตลักษณ์ที่มีความสำคัญและเชื่อมโยงกับวิถีชีวิตของผู้คนในพื้นที่เกาะเกร็ด จังหวัดนนทบุรี โดยหน่ออ่อนของหน่อกะลาสามารถนำมาประกอบอาหารได้หลายอย่าง เช่น ต้มจิ้มน้ำพริก ต้มยำ ทอดมัน แกงส้ม และคุกกี้ เป็นต้น [1] นอกจากนี้ หน่อกะลายังเป็นพืชสมุนไพรที่มีความสำคัญ มีสรรพคุณทางสมุนไพรช่วยรักษาอาการผื่นคัน อาการท้องอืด แน่นเฟ้อ จุกเสียด อาการเหนื่อยหอบได้ [2] ขณะที่ Roy และคณะ [3] รายงานว่า มีการใช้หน่อกะลาเพื่อรักษาโรคติดเชื้อพยาธิในลำไส้ในพื้นที่ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของอินเดีย โดยน้ำมันหอมระเหยในพืชสกุลข่ามีส่วนประกอบของสารฟลาโวนอยด์ เทอร์พีนอยด์ และคาวาแลคโตน ซึ่งใช้ในการรักษาอาการอักเสบ ความดันโลหิตสูง การติดเชื้อแบคทีเรียและพยาธิได้ [3-6] ขณะที่ Baruaha และคณะ [7] พบว่า สารสกัดจากเมล็ดหน่อกะลามีส่วนประกอบของสารฟลาโวนอยด์และฟีนอล ความเข้มข้น 718 และ 74.9 มก/ก ตามลำดับ อีกทั้ง หน่อกะลายังมีสาร β-Guaiene ที่สามารถพัฒนาเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารให้กับผู้ป่วยเบาหวานได้ [8]

การพัฒนารูปแบบการใช้ประโยชน์และอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพพืชวงศ์ขิง - ข่าถือว่ามีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องเร่งดำเนินการควบคู่ไปกับการอนุรักษ์ในพื้นที่กระจายพันธุ์ (*in situ*) ด้วยการอนุรักษ์และรักษาสภาพถิ่นอาศัยของพืชให้มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต อย่างไรก็ตาม จากข้อมูลการเพิ่มขึ้นของประชากรการเพิ่มขึ้นของความต้องการใช้พื้นที่เพื่อเป็นที่อยู่อาศัย เกษตรกรรมและดำเนินกิจกรรมต่างๆ ของมนุษย์ ทำให้ส่งผลกระทบโดยตรงต่อพื้นที่ที่เหมาะสมต่อการกระจายพันธุ์และการเจริญเติบโตของหน่อกะลา ดังนั้น การอนุรักษ์นอกพื้นที่กระจายพันธุ์ตามธรรมชาติ (*ex-situ*) และการพัฒนาแนวทางการใช้ประโยชน์จึงเป็นสิ่งที่จะต้องเร่งดำเนินการให้เกิดประสิทธิภาพสูงสุดอย่างรวดเร็ว [9] การอนุรักษ์และเพิ่มปริมาณเชื้อพันธุกรรมพืชในสภาพปลอดเชื้อ (*in vitro* conservation) เป็นหนึ่งในรูปแบบของการอนุรักษ์นอกถิ่นที่อยู่อาศัยตามธรรมชาติ ซึ่งสามารถเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์และเก็บรักษาเชื้อพันธุกรรมได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยมีการศึกษาวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชวงศ์ขิง-ข่าบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 2.0 มก./ล. สามารถชักนำให้มีจำนวนรากเฉลี่ยและจำนวนใบเฉลี่ยมากกว่าที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. และอาหาร MS ที่ไม่ได้เติม BAP [10] อีกทั้ง การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาหลาขาวจากชิ้นส่วนยอด (ขนาด 0.5 ซม.) บนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มก./ล. ให้จำนวนยอดรวมดีที่สุด (6.50 ยอด) [11] นอกจากนี้ การอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรม *G. sherwoodiana* ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่าสามารถเพิ่มจำนวนยอดด้วยการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มก./ล. และการเก็บรักษาในสภาพปลอดเชื้อ 180 วัน โดยไม่ส่งผลให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรม [12] นอกจากนี้ Prachai และคณะ [13] ได้ทดลองเพาะเลี้ยงยอดกระชายบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 และ 0.5 มก./ล. พบว่าการเกิดยอดใหม่เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. มีจำนวนยอดใหม่ที่พัฒนา (2.63 ยอด) และมีความยาวยอด (1.55 ซม.) สูงสุด ดังนั้น การเพิ่มปริมาณเชื้อพันธุกรรมและจำนวนต้นหน่อกะลาในสภาพปลอดเชื้อจะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์หน่อกะลาได้ การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบสูตรอาหารชักนำยอดและศึกษาการเจริญเติบโตของหน่อกะลาในสภาพปลอดเชื้อ โดยศึกษาระดับความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนินชนิด BA เพื่อเพิ่มปริมาณต้นพันธุ์และเพื่อพัฒนาวิธีการที่เหมาะสมต่อการอนุรักษ์หน่อกะลาในสภาพปลอดเชื้อต่อไป

2. อุปกรณ์และวิธีการ

เมล็ดพันธุ์หน่อกะลา (*A. nigra* (Gaertn.) Burtt) ที่เก็บตัวอย่างจากพื้นที่เกาะเกร็ด อำเภอปากเกร็ด จังหวัดนนทบุรี คัดแยกเมล็ดพันธุ์ที่สมบูรณ์ ทำความสะอาดและฟอกกำจัดเชื้อเมล็ด โดยแช่เมล็ดหน่อกะลาในแอลกอฮอล์ความเข้มข้น 70 เปอร์เซ็นต์ ระยะเวลา 2 นาที ฟอกกำจัดเชื้อเมล็ดในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (Clorox®) จำนวน 2 ครั้ง ความเข้มข้น 10 และ 5 เปอร์เซ็นต์ เติม Tween 20 จำนวน 2 - 3 หยด เขย่านาน 15 และ 10 นาที ตามลำดับ หลังจากนั้นล้างเมล็ดด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งกำจัดเชื้อ จำนวน 3 ครั้งๆ ละ 5 นาที นำเมล็ดที่ผ่านการฟอกกำจัดเชื้อแล้วเพาะลงบนอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ Murashige and Skoog (MS) [14] สูตรดัดแปลง ดำเนินการเพาะเมล็ดเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

ศึกษาการเจริญเติบโตของยอดหน่อกะลา โดยเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS สูตรดัดแปลง ที่เติมฮอร์โมน BA จำนวน 4 ความเข้มข้น (0, 0.5, 1.0 และ 1.5 มก./ล.) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomize Designed; CRD) จำนวน 10 ซ้ำ ซ้ำละ 2 ยอด เก็บข้อมูลลักษณะจำนวนยอด ความยาวยอด จำนวนราก และความยาวราก ที่อายุ 4 และ 6 สัปดาห์หลังย้ายเนื้อเยื่อ วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ IBM SPSS 22.0 และคำนวณอัตราการเจริญเติบโตจากสูตร

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

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

3. ผลและวิจารณ์

การเพาะเมล็ดหน่อกะลาในสภาพปลอดเชื้อสามารถชักนำให้เมล็ดงอกได้ค่อนข้างดี เมื่อนำชิ้นส่วนยอดของต้นกล้าหน่อกะลาที่ได้ไปขยายเพิ่มปริมาณต้นบนอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโทไคนิน พบว่า การเจริญเติบโตของชิ้นส่วนยอดหน่อกะลาที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA แต่ละความเข้มข้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกลักษณะ โดยอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 - 1.5 มก./ล. สามารถชักนำให้ความยาวยอดของหน่อกะลายาวมากที่สุด (0.93, 1.06 และ 1.18 ซม. ตามลำดับ) (Table 1) อย่างไรก็ตาม การชักนำให้เกิดยอด พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA แต่ละความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดยอดไม่แตกต่างกันทางสถิติกัน (2.20, 2.70 และ 2.70 ยอด ตามลำดับ) แต่จำนวนยอดสูงกว่าอาหารที่ไม่เติม BA (0.80 ยอด) (Table 1) อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 - 1.5 มก./ล. สามารถชักนำให้เกิดรากมากที่สุด (9.10, 8.80 และ 8.65 ราก ตามลำดับ) ขณะที่ จำนวนรากของหน่อกะลาที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BA มีจำนวนรากน้อยที่สุด (5.45 ราก) นอกจากนี้ อาหารสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ส่งผลให้ความยาวรากของหน่อกะลายาวที่สุด (4.72 ซม.) ยาวกว่ารากของหน่อกะลาที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA จากการทดลอง พบว่า การขยายพันธุ์หน่อกะลาในสภาพปลอดเชื้อไม่จำเป็นต้องมีการทดลองสูตรอาหารที่ชักนำรากเนื่องจากหน่อกะลาสามารถเกิดรากได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต (Figure 1) อย่างไรก็ตาม การใช้ BA ในความเข้มข้นมากขึ้นส่งผลต่อจำนวนรากของต้นหน่อกะลาโดยมีแนวโน้มจำนวนรากมากขึ้นเมื่อเพิ่มปริมาณความเข้มข้นของ BA เนื่องจาก มีจำนวนยอดที่เพิ่มมากขึ้นและรากของหน่อกะลาสามารถงอกจากข้อได้ จึงทำให้มีแนวโน้มที่จะมีรากเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ในขณะที่ อัตราการเจริญเติบโตของยอดหน่อกะลาในสภาพปลอดเชื้อที่อายุ 6 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตที่อายุ 4 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0-1.5 มก./ล. มีอัตราการเจริญเติบโตในลักษณะจำนวนยอดได้ดี และอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5-1.5 มก./ล. มีอัตราการเจริญ

เติบโตในลักษณะจำนวนรากดีที่สุด แต่มีอัตราการเจริญเติบโตของความยาวรากลดลงเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นของ BA (Figure 2)

ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุลข่าและหน่อกะลา ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโต BAP ที่ความเข้มข้น 2.0 มก./ล. ทำให้มีจำนวนยอดเพิ่มมากขึ้นมากกว่าอาหาร MS สูตรไม่เติม BAP และอาหารสูตร MS ที่ไม่เติม BAP ชักนำให้มีจำนวนรากเฉลี่ยมากกว่าที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารความคุมการเจริญเติบโต BAP ที่ความเข้มข้น 1.0 มก./ล. [10] หรือในพืชวงศ์ขิงเดียวกัน [11] ศึกษาการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาหลาขาวโดยการนำชิ้นส่วนยอด (ขนาด 0.5 ซม.) เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่เติม BA จำนวน 5 ความเข้มข้น (1, 2, 3, 4 และ 5 มก./ล.) พบว่าอาหารที่เติม BA ความเข้มข้น 3 มก./ล. ชักนำให้เกิดยอดรวมมากที่สุด 6.50 ยอดต่อชิ้นส่วน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับความเข้มข้นอื่น รวมถึง Zahid และคณะ [15] ได้ศึกษานำชิ้นส่วนของขิงพันธุ์ Bentong เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน พบว่า zeatin ความเข้มข้น 10 µM สามารถชักนำให้มีจำนวนยอดต่อชิ้นส่วนมากที่สุด นอกจากนี้ การอนุรักษ์เชื้อพันธุกรรม G. sherwoodiana ในสภาพปลอดเชื้อ พบว่า สามารถขยายจำนวนบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1 มก./ล. และการเก็บรักษาในสภาพปลอดเชื้อ 180 วัน ไม่ทำให้เกิดความแปรปรวนทางพันธุกรรม [12] นอกจากนี้ Prachai และคณะ [13] ได้ทดลองเพาะเลี้ยงยอดกระชายบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0, 1, 2 และ 3 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0 และ 0.5 มก./ล. พบว่า การเกิดยอดใหม่เมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2 มก./ล. ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. มีจำนวนยอดใหม่ที่พัฒนา (2.63 ยอด) และมีความยาวยอด (1.55 ซม.) สูงสุด และนอกจากนี้มีการทดลองขยายพันธุ์ A. galanga เพื่อการอนุรักษ์โดยเติม BAP ในอาหารเพาะเลี้ยงเพียงอย่างเดียว หรือการใช้ร่วมกันของ BAP และ IAA พบว่า ความเข้มข้นของ BAP ความเข้มข้น 5.0 มก./ล. ร่วมกับ IAA ความเข้มข้น 2.0 มก./ล. หรือ BAP ความเข้มข้น 3.0 มก./ล. และ IAA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. ทำให้เกิดจำนวนยอดเฉลี่ยต่อต้นสูงสุด [16]

MS free hormones MS + 0.5 mg/L BA MS + 1.0 mg/L BA MS + 1.5 mg/L BA

Figure 1 Shoot growth of Black galangal (*A. nigra* (Gaertn.) Burtt) after *in vitro* cultured on MS supplemented with various concentrations of BA for 6 weeks.

Table 1 *In vitro* shoot and root formation of Black galangal (*A. nigra* (Gaertn.) Burtt) after cultured on MS supplemented with various concentrations of BA during 6 weeks.

Treatments	Shoot height (cm.)	Shoot number	Root length (cm.)	Root number
MS free hormones	0.51^{b}	0.80^{b}	4.72^{a}	5.45^{b}
0.5 mg/L BA	0.93^{a}	2.20^{a}	2.07^{b}	9.10^{a}
1.0 mg/L BA	1.06^{a}	2.70^{a}	1.70^{bc}	8.80^{a}
1.5 mg/L BA	1.18^{a}	2.70^{a}	1.47^{c}	8.65^{a}
F-test	*	*	*	*
C.V. (%)	81.15	83.89	68.60	42.80

* = significance at $p<0.05$

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

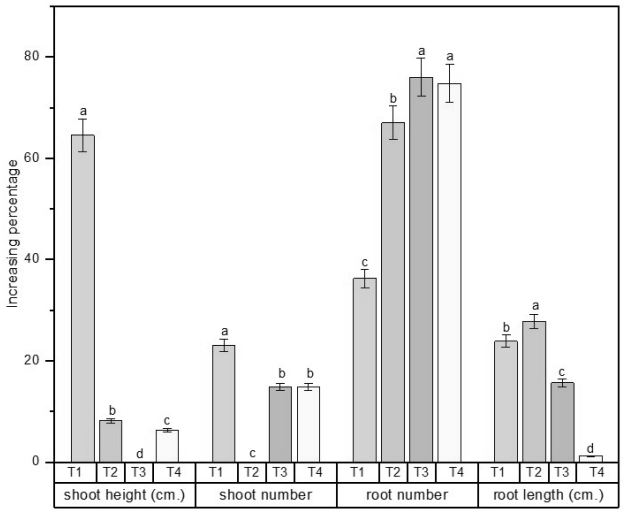

Figure 2 Shoot growth rate of Black galangal (*A. nigra* (Gaertn.) Burtt) after *in vitro* cultured on MS supplemented with various concentrations of BA during 4 and 6 weeks. (T1 = MS free hormone, T2 = MS + 0.5 mg/L BA, T3 = MS + 1.0 mg/L BA and T4 = MS + 1.5 mg/L BA)

4. สรุปผล

การขยายพันธุ์หน่อกะลาเพื่อการอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์เพื่อการวิจัยในอนาคต สามารถดำเนินการขยายพันธุ์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อในสภาพปลอดเชื้อ โดยหากใช้เกณฑ์ต้นทุนในการพิจารณาเลือกสูตรอาหารในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ สามารถเลือกอาหารเพาะเลี้ยงสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.5 มก./ล. เพื่อใช้ในการขยายพันธุ์หน่อกะลาในสภาพปลอดเชื้อ ซึ่งสามารถเพิ่มปริมาณยอดได้ดีและมีการเจริญเติบโตของต้นพันธุ์ที่ดีสามารถนำไปใช้ในการอนุบาลในสภาพโรงเรือนและเพื่อการอนุรักษ์และใช้ประโยชน์เชื้อพันธุกรรมหน่อกะลาต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในการดำเนินงานโครงการวิจัยภายใต้งบประมาณโครงการวิจัยมูลฐาน (Fundamental Fund) ปีงบประมาณ พ.ศ. 2566 และขอขอบคุณสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ที่ให้การสนับสนุนอุปกรณ์ เครื่องมือ สารเคมี ตลอดจนโรงเรือนที่ใช้ในการทดลองและห้องปฏิบัติการฯ รวมถึงขอขอบคุณนักวิจัยและผู้ช่วยวิจัยสถานีวิจัยลำตะคองที่อำนวยความสะดวกและช่วยเหลือในการดำเนินการทดลองในครั้งนี้

6. References

[1] Charoenphun, N., Phanmool, J. and Leasen, S., 2018, Development of Gluten-free *Alpinia nigra* Burrt Cookies. TSTJ. 28(4): 642-655. (in Thai)

[2] National Science and Technology Development Agency (NSTDA), 2022, *Alpinia nigra* (Gaertn.) B. L. Burtt, Koh Kret, Nonthaburi province. Available source: https://oer.learn.in.th/search_detail/result/210767, December, 13, 2022. (in Thai)

[3] Roy, B., Swargiary, A. and Giri, B.R., 2012, *Alpinia nigra* (Family Zingiberaceae): an anthelmintic medicinal plant of North-East India. Adv. Life Sci. 2(3): 39-51.

[4] Abu Ahmed, A.M., Sharmen, F., Mannan, A. and Rahman, M.A., 2014, Phytochemical, analgesic, antibacterial, and cytotoxic effects of *Alpinia nigra* (Gaertn.) Burtt leaf extract. J. Tradit. Complement. Med. DOI: dx.doi.org/10.1016/j.jtcme.2014.11.012

[5] Victório, C.P., 2011, Therapeutic value of the genus *Alpinia*, *Zingiberaceae*. Rev. Bras. Farmacogn. 21(1): 194-201.

[6] Chakrabarttya, I., Kalitac, N.K., Boruah, P., Katiyar, V., Hakeemd, K.R. and Rangana, L., 2020, Physico-rheological characterization of organically derived seed samples from *Alpinia nigra* (Gaertn.) B.L. Burtt, an ethnic medicinal plant of Northeast India. Ind. Crops Prod. 152: 1-7.

[7] Baruaha, D., Singh Yadav, R.N., Yadav, A. and Das, A.M., 2019, *Alpinia nigra* fruits mediated synthesis of silver nanoparticles and their antimicrobial and photocatalytic activities. J. Photochem. Photobiol. B, Biol. 201(111649): 1-9.

[8] Saikia, J., Washmin, N., Borah, T., Sarmah, P., Konwar, P., Siga, A., Haldar, S. and Banik, D., 2023, Physicochemical properties, chemical composition and sensory attributes of *Alpinia nigra* (Gaertn.) B.L. Burtt rhizome: an underutilized spice source. Eur. Food Res. Technol. DOI: doi.org/10.1007/s00217-023-04200-5

[9] Saensouk, S., 2011, Endemic and Rare Plants of Ginger Family in Thailand. KKU Research Journal. 16(3): 306-330. (in Thai)

[10] Kankamol, C., 2010, Factors affecting in vitro microrhizome induction of *Alpinia galanga* Swartz and Alpinia nigra Burrt. Faculty of Science and Technologys, Suansunandha Rajabhat University. (in Thai)

[11] Muangkaewngam, A., 2016, Micropropagation of White Torch Ginger. Songklanakarin J. Sci. Technol. 3(2)(Suppl.): 8-11. (in Thai)

[12] Muktawapai, K. and Wongchaochant, S., 2020, Micropropagation and *in vitro* short-term storage of Globba *sherwoodiana* W.J. Kress & V. Gowda. Agric. Nat. Resour. 54 (2020): 405-414.

[13] 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. 50(2)(Suppl.): 13-16. (in Thai)

[14] Murashige, T. and Skoog, F., 1962, A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15(3): 473-497.

[15] Zahid, N.M., Jaafar, H.Z. and Hakiman, A., 2021, Micropropagation of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) 'Bentong' and evaluation of its secondary metabolites and antioxidant activities compared with the conventionally propagated plant. Plants 10(630): 1-17.

[16] Singh, N.M., Chanu, L.A., 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.