การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวและการชักนำให้เกิดต้นจากไรโซมของไพล ในหลอดทดลอง

In vitro surface sterilization and shoot induction from the rhizome of *Zingiber montanum*

รัตนา ขามฤทธิ์[1*] และ จิตรกร ปรีแม่น[2]

Rattana Khamrit[1*] andJittakron Preeman[2]

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาวิธีการที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวและการชักนำให้เกิดต้นจากชิ้นส่วนไรโซมของไพล พบว่าวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่ผิวไรโซมของไพลที่เหมาะสม คือ การฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 30% เป็นเวลา 30 นาที และตามด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10% เป็นเวลา 10 นาที เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS (Murashige and Skoog) เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ ทำให้ชิ้นส่วนพืชปนเปื้อน 22.22% และมีอัตราการรอดชีวิตสูงสุด77.78% จากนั้นนำไรโซมของไพลเพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0, 1, 3, 5, 7 และ 9 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่า อาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 9 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้ชิ้นส่วนไรโซมเกิดต้นเฉลี่ยสูงสุด 2.50±0.22 ต้น/ชิ้นส่วน
คำสำคัญ: ไพล, การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว, การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

ABSTRACT: The specific purpose of this research was to find out proper method for surface sterilization and shoot induction from the rhizome of *Zingiber montanum*. The highest effectiveness of surface sterilization was achieved when treated with 30% Clorox for 30 minutes followed by 10% Clorox for 10 minutes gave the percentage of contamination (22.22%) and the highest rateof survival (77.78%) after 3 weeks of culturing on Murashige and Skoog (MS) medium. The rhizomes of *Zingiber montanum* were cultured on MS medium supplemented with various concentrations of 0, 1, 3, 5, 7 and 9 mg/l6-benzylaminopurine (6-BAP). Culture after 5 weeks. The results showed that MS medium supplemented with 9 mg/l BAP gave rise to the highest average number of shoots (2.50±0.22 shoots/explant).
Keywords: *Zingiber montanum*, surface sterilization, plant tissue culture

[1] คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย จังหวัดเลย 42000
Faculty of Science and Technology, Loei Rajabhat University, Loei, Thailand 42000

[2] คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย จังหวัดเลย 42000
Faculty of Education, Loei Rajabhat University, Loei, Thailand 42000

* Corresponding author: Rattana_ing@yahoo.com

บทนำ

ไพล (*Zingiber montanum*) จัดอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae มีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชีย ตั้งแต่ประเทศอินเดีย พม่า ไทย มาเลเซีย จนถึงอินโดนีเซีย มีลำต้นใต้ดินเรียกว่าเหง้า (rhizome) แตกแขนงทอดขนานไปกับผิวดินเป็นที่สะสมอาหาร (พวงเพ็ญ, 2532) เหง้ามีสีเหลืองแกมเขียว มีกลิ่นเฉพาะ เปลือกนอกสีน้ำตาลแกมเหลือง เจริญเป็นกอ หน่อใหม่เจริญทางด้านข้างนอกสุด ในช่วงกลางฤดูหนาวถึงต้นฤดูร้อนต้นบนดินจะแห้งตาย และจะงอกใหม่ในต้นฤดูฝน ในปัจจุบันได้มีการนำส่วนต่าง ๆ ของสมุนไพรชนิดนี้ไปประยุกต์ใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยอาจจะใช้ชนิดเดียวหรือผสมกับสมุนไพรชนิดอื่นเพื่อรักษาอาการต่าง ๆ เช่น รักษาอาการอักเสบ แก้เคล็ดขัดยอก ฟกช้ำ เส้นตึงเหน็บชา สมานแผล น้ำมันไพลเมื่อผสมกับแอลกอฮอล์สามารถทากันยุงได้ เหง้าใช้กินเป็นยาขับลม ขับประจำเดือน แก้บิด สมานลำไส้และมีฤทธิ์ระบายอ่อน ๆ และแก้ปวด (วันดี, 2538) นอกจากนี้ยังมีการนำไพลไปผลิตเป็นเครื่องสำอางชนิดต่าง ๆ เช่น ผลิตภัณฑ์ รักษาสิว ผลิตภัณฑ์ถนอมผิว ชะลอริ้วรอยเหี่ยวย่น และผลิตภัณฑ์ทำให้ผิวขาว เนื่องจากสารสกัดไพลมีส่วนประกอบของสารพวกเคอร์คิวมินอยด์ (curcuminoids) ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยบำรุงผิว ทำให้ผิวขาว และปกป้องผิวจากอนุมูลอิสระ (สมบัติ, ม.ป.ป.) ปัจจุบันความต้องการใช้ไพลเพิ่มมากขึ้น แต่การปลูกและเก็บผลผลิตไพลในสภาพแปลงปลูกทำได้เพียงปีละครั้ง โดยเก็บผลผลิตได้เมื่อไพลอายุ 10-12 เดือน เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบประกอบเครื่องยา และเครื่องสำอาง และหากต้องการน้ำมันไพลต้องใช้หัวไพลที่มีอายุ 2ปี (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2556) ทำให้ปริมาณเหง้าไพลไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาดดังนั้นการนำเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชมาใช้ในการขยายพันธุ์พืชจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่สามารถผลิตต้นพืชให้ได้ปริมาณมากในระยะเวลาอันรวดเร็ว

จากการศึกษาการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนของพืช พบว่าวิธีการที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อของพืชแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดพืช และชิ้นส่วนที่นำมาฟอกฆ่าเชื้อ ดังเช่น มณฑล และคณะ (2554) รายงานการฟอกฆ่าเชื้อใบอ่อนบอนสีด้วยการแช่ในสารละลายคลอร็อกซ์เข้มข้น 10% นาน 10 นาที ตามด้วยสารละลายคลอร็อกซ์ 5% นาน 5 นาที พบว่า ชิ้นส่วนใบอ่อนบอนสีมีอัตราการรอดชีวิตถึง 88.88% ปริญา และคณะ (2558) รายงานการทำให้ชิ้นส่วนขมิ้นชันปลอดเชื้อ พบว่า การให้น้ำไหลผ่าน 20 นาที แล้วจุ่มแช่ในแอลกอฮอล์ 70% เป็นเวลา 1 นาที ตามด้วยสารละลายคลอรอกซ์ 20% ร่วมกับ Tween 20 เป็นเวลา 20 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นจุ่มด้วยสารละลายคลอรอกซ์ 10% ร่วมกับ Tween 20 เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที ทำให้ชิ้นส่วนพืชปลอดเชื้อได้สูง 68.5% นอกจากนี้ในการนำชิ้นส่วนพืชมาชักนำให้เกิดต้นใหม่ จำเป็นต้องมีการศึกษาสูตรอาหารและเลือกใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตที่เหมาะสมกับพืชแต่ละชนิด ดังรายงานของ Raihana et al. (2011) พบว่า ไรโซมของขมิ้นขาวที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม BAP 9 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถเกิดต้นได้สูงสุด ส่วน Hiremath (2006) รายงานว่าการเพาะเลี้ยงตาข้างของขิงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม BAP 2 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้ตาข้างของขิงเกิดต้นได้ดีที่สุด

งานวิจัยครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาวิธีการฟอกฆ่าเชื้อที่เหมาะสม และศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำให้ไรโซมไพลเกิดต้นใหม่เพื่อการขยายพันธุ์ไพลให้เพียงพอต่อความต้องการของตลาดต่อไป

วิธีการศึกษา

ศึกษาวิธีการที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนไรโซมของไพล

นำไรโซมของไพลมาล้างด้วยน้ำยาล้างจานเป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำประปาจนสะอาด จากนั้นนำไรโซมของไพลมาแช่ในแอลกอฮอล์ 70%นาน 5 นาทีแล้วฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต่าง ๆ ดังตาม (**Table 1**) โดยแต่ละวิธีเติม tween 20 จำนวน 3 หยด จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ 5 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที ตัดไรโซมให้เป็นท่อนขนาด 0.5–1.0 ซม. โดยแต่ละท่อนมีตาอย่างน้อย 1 ตา เพาะเลี้ยงบน

อาหารสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) นำไปเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงที่มีแสงสว่าง 1,500 ลักซ์ ให้แสง 16 ชั่วโมง/วัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การปนเปื้อน และอัตราการรอดชีวิต ในแต่ละวิธีการฟอกฆ่าเชื้อทำจำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ชิ้นส่วน วางแผนการทดลองแบบ completely randomized design (CRD)

Table 1 Clorox concentrations and time used for sterilizing rhizome of *Zingiber montanum*

Treatments	First Sterilization		Second Sterilization	
	Clorox concentrations (%)	Time (minutes)	Clorox concentrations (%)	Time (minutes)
T1	10	30	-	-
T2	20	30	-	-
T3	30	30	-	-
T4	10	30	10	10
T5	20	30	10	10
T6	30	30	10	10
T7	60	30	30	10

ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำชิ้นส่วนไรโซมของไพลให้เจริญเป็นต้น

นำไรโซมของไพลมาล้างด้วยน้ำยาล้างจานเป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำประปาจนฟองหมด แช่ไรโซมของไพลในแอลกอฮอล์ 70% นาน 5 นาที จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อด้วยวิธีการที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองที่ 1 โดยใช้สารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 30% นาน 30 นาที และตามด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10% นาน 10 นาทีล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ 5 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที ตัดไรโซมให้เป็นท่อนขนาด 0.5–1.0 ซม. โดยแต่ละท่อนมีตาอย่างน้อย 1 ตา เพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAPความเข้มข้น 0, 1, 3, 5, 7 และ 9 มิลลิกรัม/ลิตร นำไปเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงที่มีแสงสว่าง 1,500 ลักซ์ ให้แสง 16 ชั่วโมง/วัน อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 สัปดาห์ บันทึกเปอร์เซ็นต์การเกิดต้น จำนวนต้น/ชิ้นส่วนความสูงต้น แต่ละกลุ่มการทดลองทำจำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 3 ชิ้นส่วน วางแผนการทดลองแบบ CRD วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

ผลการศึกษาและวิจารณ์

วิธีการที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนไรโซมของไพล

จากการนำชิ้นส่วนไรโซมของไพลมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรอกซ์โดยใช้ความเข้มข้น จำนวนครั้งในการฟอกฆ่าเชื้อ และระยะเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อต่างกัน พบว่า วิธีการที่เหมาะสมในการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนไรโซมของไพล คือ ฟอกฆ่าเชื้อครั้งที่ 1 ด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 30% เป็นเวลา 30 นาที และฟอกฆ่าเชื้อด้วยครั้งที่ 2 ด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10% เป็นเวลา 10 นาที (T6) ชิ้นส่วนไรโซมของไพลมีการปนเปื้อน 22.22% และอัตราการรอดชีวิตสูงสุด 77.78% แต่เมื่อลดความเข้มข้นของสารละลายคลอรอกซ์ จำนวนครั้งของการฟอกฆ่าเชื้อ และระยะเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อ (T1-T5) พบว่า ชิ้นส่วนไรโซมของไพลมีการปนเปื้อนเพิ่มสูงขึ้นและอัตราการรอดชีวิตลดลง โดยการปนเปื้อนที่เกิดขึ้นเกิดจากเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ซึ่งส่งผลให้ไรโซมไม่สามารถรอดชีวิตและเจริญเป็นต้นได้และหากใช้ความเข้มข้นของ

สารละลายคลอรอกซ์สูงขึ้น (T7) พบว่าชิ้นส่วนไรโซมไพลมีการปนเปื้อนเท่ากับกลุ่มการทดลองที่ 6 แต่มีอัตราการรอดชีวิตลดลง (Figure 1, Table 2) เนื่องจากความเข้มข้นของสารละลายคลอรอกซ์ที่สูงเกินไปจะเป็นอันตรายต่อเนื้อเยื่อของไพล และทำให้ไรโซมของไพลตายไปในที่สุด จากการวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของสารละลายคลอรอกซ์จำนวนครั้งในการฟอกฆ่าเชื้อ และระยะเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อ มีผลต่อการปนเปื้อนและอัตราการรอดชีวิตของไรโซมไพล เนื่องจากประสิทธิภาพของสารฟอกฆ่าเชื้อจะตอบสนองต่อระยะเวลา และปริมาณความเข้มข้นของสารที่ใช้ ซึ่งปกติแล้วประสิทธิภาพจะมากขึ้นถ้าใช้เวลาและความเข้มข้นของสารมากขึ้น แต่ถ้าใช้มากเกินไปจะเกิดอันตรายต่อเนื้อเยื่อพืชได้ (รังสฤษฎ์, 2540) ดังนั้นจึงควรเลือกความเข้มข้นของสาร รวมทั้งระยะเวลาในสารฟอกฆ่าเชื้อให้เหมาะสมต่อชิ้นส่วนพืช ดังรายงานของ อุบล และคณะ (2556) รายงานว่ามันเสาที่ฟอกฆ่าเชื้อโดยใช้สารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ 1.5% เป็นเวลา 20 นาที จะให้ผลดีที่สุดโดยจะมีร้อยละการปนเปื้อนน้อยที่สุดเท่ากับ 20% แต่เมื่อลดความเข้มข้นของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ และระยะเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อลดลง ชิ้นส่วนมันเสาจะมีการปนเปื้อนเพิ่มสูงขึ้น เช่นเดียวกับ มณฑล และคณะ (2554) รายงานการฟอกฆ่าเชื้อเนื้อเยื่อใบอ่อนบอนสีโดยนำเนื้อเยื่อส่วนของใบอ่อนมาทำการฟอกฆ่าเชื้อบริเวณผิวด้วยการแช่ในสารละลายคลอรอกซ์เข้มข้น 10% นาน 10 นาที ตามด้วยสารละลายคลอรอกซ์ 5% นาน 5 นาที พบว่า ชิ้นส่วนใบอ่อนบอนสีปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยมีอัตราการรอดชีวิตถึง 88.88% แต่อัตราการรอดชีวิตจะลดลงเมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายคลอรอกซ์ให้สูงขึ้น

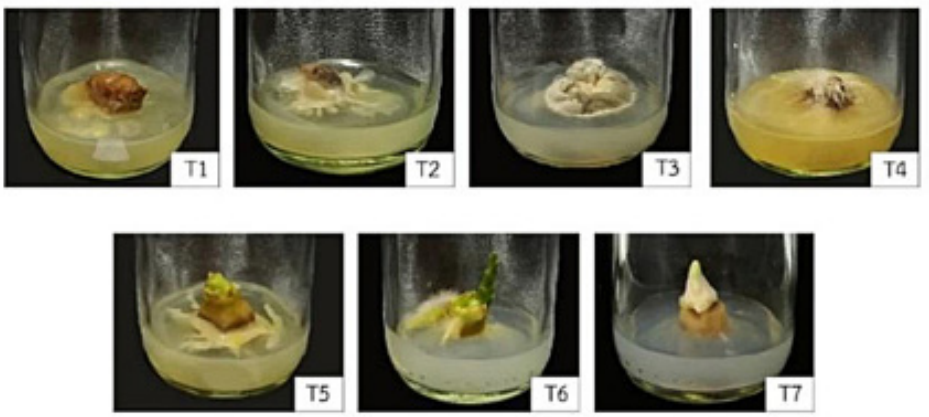

Figure 1 The contaminations of fungus and bacteria grow on explant for different sterilization method

Table 2 Percentage of contamination and survival rate of *Zingiber montanum* after cultured on MSmedium for 3 weeks

Treatment	Contamination (%)		Dead explant (%)	Survival rate (%)
	Bacteria	Fungus		
T1	77.78	22.22	0.00	0.00
T2	66.67	22.22	0.00	11.11
T3	66.67	11.11	0.00	22.22
T4	44.44	11.11	0.00	44.45
T5	44.44	0.00	0.00	55.56
T6	22.22	0.00	0.00	77.78
T7	22.22	0.00	66.67	11.11

สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการชักนำชิ้นส่วนไรโซมของไพลให้เจริญเป็นต้น

จากการนำชิ้นส่วนไรโซมของไพลเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BAP ความเข้มข้น 0, 1, 3, 5, 7 และ 9 มิลลิกรัม/ลิตร เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าชิ้นส่วนไรโซมไพลสามารถเกิดต้นใหม่ได้ในอาหารทุกสูตร (Figure 2) โดยสูตรอาหารที่ชักนำชิ้นส่วนไรโซมไพลให้เกิดต้นได้สูงสุดคือ สูตรอาหาร MS ที่เติมBAPความเข้มข้น 9 มิลลิกรัม/ลิตร มีอัตราการเกิดต้น 100% จำนวนต้น/ชิ้นส่วนเฉลี่ยมากที่สุด 2.50 ต้น/ชิ้นส่วน ส่วนสูตรอาหาร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ต้นไพลมีความสูงเฉลี่ยสูงสุด 8.89±0.32 เซนติเมตร (Table 3) เนื่องจาก BAP มีคุณสมบัติกระตุ้นให้เกิดการแบ่งเซลล์และเกิดการเจริญพัฒนาเปลี่ยนแปลงของเซลล์ได้ (Zhang et al., 2013) โดยการใช้ไซโตไคนินในความเข้มข้นที่เหมาะสมสำหรับพืชแต่ละชนิด จะมีผลกระตุ้นให้ชิ้นส่วนพืชที่นำมาเพาะเลี้ยงสามารถเจริญและพัฒนาเป็นอวัยวะหรือต้นใหม่จำนวนมากได้ (นพดล, 2537) ดังรายงานของ Hiremath (2006) รายงานว่าการเพาะเลี้ยงตาข้างขิงบนสูตรอาหาร MS ที่เติม BAP 2 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นได้มากที่สุด 5.1 ต้นในขณะที่ตาข้างขิงที่เพาะเลี้ยงบนสูตรอาหาร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโต ต้นขิงมีความสูงเฉลี่ยสูงสุด 4.8 เซนติเมตร Raihana et al. (2011) รายงานการเพาะเลี้ยงไรโซมของขมิ้นขาวบนสูตรอาหาร MS ที่เติม BAP 9 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำให้เกิดต้นได้มากที่สุด 3.3 ± 0.9 ต้น/ชิ้นส่วนพืช นอกจากนี้ Shukla et al. (2007) รายงานว่าการใช้ BAP 3.0 มิลลิกรัม/ลิตร สามารถชักนำตายอดของไรโซมของอาวแดงให้เกิดต้นใหม่สูงสุด 1.87 ± 0.28 ต้น

Figure 2 The growth of *Zingiber montanum* regenerated shootson MS medium supplemented with different concentrations of BAP after 5 weeks

Table 3 Theeffect of BAP on number of shoots per explant of *Zingiber montanum*after 5 weeks

Treatment	BAP (mg/l)	Shoot formation (%)	Number of shoots per explant ± SE	Height of shoots (cm)± SE
S1	0	100.00	1.00±0.00[c]	8.89±0.32[a]
S2	1	100.00	1.00±0.00[c]	4.22±0.25[b]
S3	3	100.00	1.00±0.00[c]	8.28±0.24[a]
S4	5	100.00	1.00±0.00[c]	8.29±0.42[a]
S5	7	100.00	1.70±0.26[b]	4.79±0.39[b]
S6	9	100.00	2.50±0.22[a]	2.93±0.18[c]

Means within the column followed by the different letters are significantly different at $p<0.05$

สรุป

วิธีการฟอกฆ่าเชื้อไรโซมของไพลที่ได้ผลดีที่สุด คือ การฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 30% นาน 30 นาที ตามด้วยการฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรอกซ์ความเข้มข้น 10% นาน 10 นาทีไรโซมไพลมีการปนเปื้อน 22.22% และอัตราการรอดชีวิต 77.78% สำหรับสูตรอาหารที่เหมาะสมในการชักนำไรโซมไพลให้เกิดต้นได้ดีที่สุดคือ สูตรอาหาร MS ที่เติม BAPความเข้มข้น 9 มิลลิกรัม/ลิตร โดยมีจำนวนต้นเฉลี่ย 2.50±0.22 ต้น/ชิ้นส่วน

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย ในการให้ความอนุเคราะห์วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือในการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2556. สมุนไพรและเครื่องเทศ. https://bit.ly/2nsoTHJ. ค้นเมื่อ 10 กุมภาพันธ์ 2560.

นพดล จรัสสัมฤทธิ์. 2537. ฮอร์โมนพืชและสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช. กรุงเทพฯ: สหมิตรออฟเซท.

ปริญา สุคนธรัตน์, ทัศนี ขาวเนียม, และสมปอง เตชะโต. 2558. การทำให้ชิ้นส่วนปลอดเชื้อ และการชักนำแคลลัสจากชิ้นส่วนกาบใบของขมิ้นชันในหลอดทดลอง. วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์. 2: 36-40.

พวงเพ็ญ ศิริรักษ์. 2532. รายงานการวิจัยเรื่อง การสำรวจพืชวงศ์ขิง ในบริเวณภาคใต้ของประเทศไทย. ภาควิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

มณฑล สงวนเสริมศรี, วารุต อยู่คง, และภพเก้า พุทธรักษ์. 2554. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อใบอ่อนของบอนสีในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารนเรศวรพะเยา. 4: 17-21.

รังสฤษฎ์ กาวีต๊ะ. 2540. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ: หลักการและเทคนิค. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วันดี กฤษณพันธ์. 2538. สมุนไพรสารพัดประโยชน์. กรุงเทพฯ: ภาควิชาเภสัชวินิจฉัย มหาวิทยาลัยมหิดล.

สมบัติ วนาอุปถัมภ์กุล. ม.ป.ป. ไพลทานอยด์: นวัตกรรมสมุนไพรแห่งชาติ. https://bit.ly/2FViWxp ค้นเมื่อ 10 กุมภาพันธ์ 2560.

อุบล สมทรง, วรรณา กอวัฒนาวรานนท์,และไสว แจ่มแจ้ง. 2556. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อมันเสา. วารสารวิทยาศาสตร์แห่งมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบุรี. 10: 30-39.

Hiremath, R.C. 2006. Micropropagation of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.). M. S. Thesis. University of Agricultural Sciences, Dharwad.

Murashige, T., and F. Skoog. 1962. A Revised Medium for Rapid Growth and Bio Assays with Tobacco Tissue Cultures. Physiologia Plantarum. 15: 473-497.

Raihana, R., Q.Z. Faridah, A.A. Julia,A. H. A.Abdelmageed, and A. K. Mihdzar. 2011. *In vitro* culture of *Curcuma mangga* from rhizome bud. Journal of Medicinal Plants Research. 5: 6418-6422.

Shukla, S.K., S. Shukla,V. Koche, and K. S. Mishra.2007. *In vitro* propagation of tikhur (*Curcuma angustifolia* Roxb.): starch yielding plant. Indian Journal Biotechnology. 6: 274-276.

Zhang, W., R. Swarup,M. Bennett,G. E. Schaller, and J. J. Kieber.2013. Cytokinin induces cell division in the quiescent center of the Arabidopsis root apical meristem. Journal of Current Biology. 23: 1979-1989.