



การขยายพันธุ์ดาหลาในหลอดทดลอง *In vitro* Propagation of *Etlingera elatior*

สมพร ประเสริฐสงสกุล*

Somporn Prasertsongsun*

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี

Department of Science, Faculty of Science and Technology,

Prince of Songkla University Pattani Campus,

*Corresponding author. E-mail: somporn.pr@psu.ac.th

บทคัดย่อ

ดาหลา (*Etlingera elatior*) เป็นไม้ล้มลุกประเภทใบเลี้ยงเดี่ยว อยู่ในวงศ์เดียวกับขิง การขยายพันธุ์ใช้ลำต้นใต้ดินแต่มีการเกิดต้นน้อย วิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสามารถขยายพันธุ์ได้อย่างรวดเร็วและจำนวนมาก อย่างไรก็ตามปัจจัยในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาหลาให้สำเร็จขึ้นอยู่กับชนิดของชิ้นส่วนพืช วิธีการพอกฆ่าเชื้อ อาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง สารควบคุมการเจริญเติบโต (BAP 13.22-44.4 ไมโครโมลาร์ เหมาะสมในการชักนำให้เกิดยอด NAA 5.37 เหมาะสมในการชักนำให้เกิดราก) การย้ายปลูก รายละเอียดเกี่ยวกับปัจจัยต่างๆ ได้นำเสนอไว้ในบทความปริทัศน์นี้

คำสำคัญ : ดาหลา การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช การขยายพันธุ์

Abstract

Torch ginger *Etlingera elatior* is a perennial herb. It belongs to the family Zingiberaceae. *E. elatior* is normally propagated by its rhizome with low proliferation rate. Plant tissue culture methods can encourage rapid micropropagation. An optimum type of explants, sterilized explants, suitable culture medium, plant growth regulator (13.22-44.4 μ M BAP suitable for the shoot formation, 5.37 μ M NAA suitable for the root formation) and acclimatization mainly require for initiation of in vitro culture. Those factors will be presented in this review article.

Keywords: *Etlingera elatior*, Plant tissue culture, Propagation



บทนำ

ดาหลามีชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Etlingera elatior* มีชื่อภาษาอังกฤษรู้จักกันไป คือ Torch ginger เป็นพืชท้องถิ่นของมาเลเซีย และอินโดนีเซีย ชื่อที่เหมือนกันของ *E. elatior* คือ *Alpinia elatior*, *Elettaria speciosa*, *Nicolaia elatior*, *Nicolaia speciosa* และ *Phaeome-ria speciosa* พบดาหลาปลูกมากทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ สำหรับประเทศไทยปลูกมากทางภาคใต้ซึ่งอยู่ติดกับประเทศมาเลเซีย ดาหลาอยู่ในวงศ์ Zingiberaceae วงศ์เดียวกับขิง ข่า ขมิ้น เป็นต้น ดาหลามีความสำคัญและมีการนำมาใช้ประโยชน์หลายอย่าง เช่น ใช้ประกอบอาหาร ดังนั้นจะเห็นจากการนำดาหลามาเป็นส่วนประกอบของข้าวยาอาหารขึ้นชื่อของภาคใต้ ให้น้ำมันหอมระเหย มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Jaafar et al., 2007; Chan et al., 2008) นอกจากนี้ดาหลามีดอกที่สวยงาม คงทน ไม่บอบช้ำง่าย ดอกออกเป็นช่อ กลีบประดับซ้อนกันหลายชั้น ออกดอกทั้งปี สีของดอกมีตั้งแต่สีขาว สีแดง สีชมพู จึงเป็นไม้ตัดดอกที่บุคคลทั่วไปต้องการ ต้นดาหลาสูง 5-6 เมตร ลำต้นใต้ดิน (Rhizome) มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3-4 เซนติเมตร ใบสีเขียว มีขนาดโตได้ถึง 80x18 เซนติเมตร ไม่นิยมขยายพันธุ์ด้วยการเพาะเมล็ด เพราะมีโอกาสกลายพันธุ์สูง (Chan et al., 2011) การขยายพันธุ์ดาหลาในธรรมชาติอาศัยการแยกหน่อ การปักชำ (อรุณี ม่วงแก้วงาม, 2557) ปัญหาที่สำคัญของดาหลา คือ การขยายพันธุ์ได้ช้าเมื่อใช้ลำต้นใต้ดิน เนื่องจากส่วนของลำต้นใต้ดินมีโอกาสได้รับเชื้อจุลินทรีย์สูง มีรายงานพืชในวงศ์ Zingiberaceae มักจะติดเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิด Rhizome rot ซึ่งมีสาเหตุมาจากจุลินทรีย์พวกรา *Phytophthora* และโรคใบจุด เกิดจากเชื้อ *Colletotrichum* (Keng & Hing, 2004) การแก้ปัญหาการติดเชื้อจุลินทรีย์นี้จำเป็นต้องให้ลำต้นใต้ดินปลอดเชื้อจุลินทรีย์ เพื่อให้เพิ่มจำนวนได้มาก โดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ทำให้ลดปริมาณการนำเข้าไม้ดอกจากประเทศเพื่อนบ้าน โดยเฉพาะประเทศมาเลเซีย การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาหลามีรายงานไม่มาก พบรายงานการขยายพันธุ์จากชิ้นส่วนปลายยอดและตาของลำต้นใต้ดิน (Rhizome bud) (Kambask and Santilata, 2009; Abdelmageed et al., 2011; Yunus et al., 2012) บทความนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาถึงการขยายพันธุ์ดาหลาโดยใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชให้สำเร็จอย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งต้องอาศัยปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ชนิดของชิ้นส่วนพืช การพอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช สารควบคุมการเจริญเติบโต และการย้ายปลูกที่เหมาะสม

ชนิดของชิ้นส่วนพืช

ชิ้นส่วนพืชที่นิยมใช้ในการขยายพันธุ์ดาหลาและพืชที่อยู่ในวงศ์เดียวกัน เช่น ขิง ขมิ้นชัน ได้แก่ ตาของลำต้นใต้ดินและปลายยอด เพราะตอบสนองได้ดี (Kambask & Santilata, 2009; Abdelmageed et al., 2011) นอกจากนี้ชนิดของชิ้นส่วนพืช แล้วขนาดของชิ้นส่วนพืช ก็มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเช่นเดียวกัน ชิ้นส่วนพืชที่มีขนาดเล็กจะมีการปนเปื้อนเชื้อ



จุลินทรีย์น้อย แต่จะเกิดการบอบช้ำได้ง่ายจากการตัด ส่วนชิ้นส่วนพืชที่มีขนาดใหญ่จะได้รับเชื้อจุลินทรีย์ได้ง่าย (George et al., 1996) มีรายงานการใช้ชิ้นส่วนพืชขนาดที่เหมาะสมจากชิ้นส่วนลำต้นใต้ดินของขิง (*Zingiber officinale* Rosc.) ขนาด 0.5 เซนติเมตร เหมาะสมในการเลี้ยง (Sathyagowri & Seran, 2011) สำหรับรายงานการขยายพันธุ์ดาหลาและพืชในวงศ์เดียวกันจากลำต้นใต้ดินแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การขยายพันธุ์ดาหลาและพืชในวงศ์เดียวกันจากชิ้นส่วนลำต้นใต้ดิน

ชนิดพืช	ชิ้นส่วนพืช	อาหารเพาะเลี้ยง	การตอบสนอง	เอกสารอ้างอิง
ดาหลา	Rhizome bud	MS+BAP13.32 μ M MS	เกิดยอดรวม 2.57 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เกิดราก	Yunus et al. (2012)
ดาหลา	Rhizome bud	MS+BAP 22.2 μ M MS+IAA 11.4 μ M	เกิดยอดรวม 3.67 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เกิดราก	Abdelmageed et al. (2011)
ดาหลา	Rhizome bud, Leaf, Root	MS+2,4-D 1 mg/L	เกิดแคลลัส	Gomes-Dias et al. (2014)
ขิง	Rhizome bud	MS+BA 2.5 mg/L +NAA 0.5 mg/L	เกิดยอดรวม>4 ยอด/ชิ้นส่วนพืช	Inden et al. (1988)
ขิง	Rhizome bud	MS+BA 5 mg/L +NAA 0.5 mg/L	เกิดยอดรวม 5.25 ยอด/ชิ้นส่วนพืช	Sathyagowri and Seran (2011)
ขิง	Rhizome bud	B5 + BAP 3 mg/L B5+TDZ 0.5 mg/L	เกิดยอดรวม 3.57 ยอด/ชิ้นส่วนพืช เกิดยอดรวม 8.14 ยอด/ชิ้นส่วนพืช	Hamirah et al. (2007)



การฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนพืช

ชิ้นส่วนของดาหลาที่ใช้ขยายพันธุ์อยู่ใต้ดินจึงทำความสะอาดยาก เพราะมีจุลินทรีย์จำนวนมากปะปนอยู่ในดิน การทำให้ปลอดเชื้อต้องอาศัยสารเคมีที่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์แต่ไม่เป็นพิษต่อชิ้นส่วนพืช ชนิดและความเข้มข้นของสารเคมีฟอกฆ่าเชื้อที่ใช้กันทั่วไป ได้แก่ แอลกอฮอล์ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ และเมอคิวริกคลอไรด์ (HgCl_2) สารฟอกฆ่าเชื้อที่นิยมใช้อยู่ในชื่อการค้า คือ คลอโรกซ์ สารออกฤทธิ์ในคลอโรกซ์ คือ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ มีรายงานการทำให้ปลอดเชื้อของลำต้นใต้ดินของดาหลา โดยนำชิ้นส่วนลำต้นใต้ดินมาฟอกฆ่าเชื้อด้วยคลอโรกซ์ 60 เปอร์เซ็นต์ เดิมทีวิน 20 (Tween 20) จำนวน 6-7 หยด เพื่อลดแรงตึงผิวของน้ำ ทำให้สารละลายคลอโรกซ์สัมผัสกับพื้นผิวของเนื้อเยื่อพืชได้ดี ฟอกฆ่าเชื้อเป็นเวลา 30 นาที ล้างสารละลายคลอโรกซ์ด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 1 ครั้ง จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อต่อด้วยคลอโรกซ์ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ เดิมทีวิน จำนวน 6-7 หยด ฟอกฆ่าเชื้อเป็นเวลา 15 นาที ล้างสารละลายคลอโรกซ์ด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 7 ครั้ง แล้วลอกเนื้อเยื่อส่วนที่ไม่ต้องการออก จะได้เนื้อเยื่อที่ปลอดเชื้อเพื่อนำไปเพาะเลี้ยงต่อไป (Abdelmageed *et al.*, 2011) รายงานการใช้คลอโรกซ์ฟอกฆ่าเชื้อดาหลาอื่นๆ ได้แก่ ใช้คลอโรกซ์ 30 เปอร์เซ็นต์ เดิมทีวิน 20 จำนวน 2 หยด ฟอกฆ่าเชื้อเป็นเวลา 15 นาที ล้างสารละลายคลอโรกซ์ด้วยน้ำกลั่นที่นิ่งฆ่าเชื้อแล้ว 5 ครั้ง (Yunus *et al.*, 2012) การใช้สารฟอกฆ่าเชื้อขึ้นกับการปนเปื้อนของชิ้นส่วนพืชจึงต้องเลือกความเข้มข้นและเวลาในการฟอกฆ่าเชื้อให้เหมาะสม

สารควบคุมการเจริญเติบโต

สูตรอาหาร Murashige & Skoog; MS (Murashige & Skoog, 1962) นิยมใช้ในการขยายพันธุ์พืชไม่ล้มลุก (Herbaceous) สารควบคุมการเจริญเติบโตที่สำคัญ คือ ไซโทโคนิน และออกซิน ไซโทโคนินชักนำให้เกิดตาข้างจากการทำลายปรากฏการณ์ Apical Dominance ออกซินช่วยกระตุ้นการเกิดราก น้ำตาลที่ใช้ในสูตร MS 3 เปอร์เซ็นต์ ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการขยายพันธุ์พืชวงศ์ขิง (Khatun *et al.*, 2003; Hamirah *et al.*, 2007) สารควบคุมการเจริญเติบโต N^6 -benzylaminopurin (BAP) N^6 -furfurylaminopurin (Kinetin) N^6 -(2-isopentenyl) adenine (2ip) ช่วยกระตุ้นการเกิดยอดในดาหลา จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ส่วนของลำต้นใต้ดินของดาหลา บนอาหารสูตร MS เติม BAP (0, 13.32, 22.20, 31.08 และ 44.40 ไมโครโมลาร์) พบว่า สามารถชักนำให้เกิดยอดได้ แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตาม BAP ความเข้มข้นต่ำ 13.32 ไมโครโมลาร์ ให้ปริมาณยอดสูงสุด 2.57 ยอด/ชิ้นส่วนพืช ปริมาณ BAP ความเข้มข้นต่ำสามารถให้การเกิดยอดได้สูงสุดจึงเหมาะสมในการนำมาชักนำให้เกิดยอดเมื่อตัดชิ้นส่วนยอดที่เกิดขึ้นขนาด 1 เซนติเมตร นำมาเลี้ยงบนอาหาร MS เติม BAP (0, 13.32, 22.20, 31.08 และ 44.40 ไมโครโมลาร์) หรือ Kinetin (0, 13.95, 23.25 และ 46.50 ไมโครโมลาร์)



หรือ 2iP (0, 14.76, 24.6, 34.44 และ 49.2 ไมโครโมลาร์) เพื่อเพิ่มปริมาณยอด ผลการทดลองพบว่า BAP ให้ปริมาณยอดรวมดีที่สุดเมื่อเทียบกับ Kinetin และ 2iP (Yunus *et al.*, 2012) นอกจากนี้มีรายงานการใช้ BAP และ Indoleacetic acid (IAA) ชักนำการเกิดยอดและรากจากการเพาะเลี้ยงตาข้างลำต้นใต้ดินของดาหลาบนอาหารสูตร MS แปรผันความเข้มข้นของ BAP และ IAA ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า BAP ทุกความเข้มข้นสามารถชักนำให้เกิดยอดแต่จำนวนยอดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเติม BAP ความเข้มข้น 22.2 ไมโครโมลาร์ ในทางตรงกันข้าม IAA ชักนำให้เกิดจำนวนรากสูงสุด 3 ราก/ยอด ที่ระดับความเข้มข้นของ IAA 11.4 ไมโครโมลาร์ ความเข้มข้นของ IAA สูง ยับยั้งการเกิดราก (Abdelmageed *et al.*, 2011) อรุณี ม่วงแก้วงาม (2557) ศึกษาผลของ Benzyladenine (BA) และ Kinetin (KN) ต่อการชักนำการเกิดยอดของดาหลา นำชิ้นส่วนยอดดาหลาวางเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เติม BA และ KN 5 ระดับความเข้มข้น (1 2 3 4 และ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร) พบว่า ชิ้นส่วนยอดหลังวางเลี้ยงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ อาหารที่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตทุกระดับความเข้มข้นให้อัตราการสร้างยอดรวมไม่แตกต่างกันทางสถิติ BA ความเข้มข้น 3 มิลลิกรัมต่อลิตร (13.32 ไมโครโมลาร์) ชักนำยอดรวมได้สูงสุด 100 เปอร์เซ็นต์ และ BA ให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากกว่าอาหารที่เติม KN พืชในกลุ่มวงศ์อื่นๆ เช่น ชิงเกิดยอดรวมสูงสุดบนอาหาร MS ที่เติม BAP 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (22.2 ไมโครโมลาร์) และ 1-Naphthaleneacetic acid (NAA) 0.05 มิลลิกรัมต่อลิตร (0.27 ไมโครโมลาร์) หลังการวางเลี้ยง 5 สัปดาห์ อย่างไรก็ตามการเกิดยอดลดลงเมื่อความเข้มข้นของ BAP สูงขึ้น 6-8 มิลลิกรัมต่อลิตร (26.6-35.5 ไมโครโมลาร์) แม้ว่า BAP เป็นไซโทไคนินที่ช่วยการขยายพันธุ์ได้ดี Thidiazuron (TDZ) เป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตที่มีการนำมาใช้เช่นกัน มีรายงานการใช้ TDZ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร (2.27 ไมโครโมลาร์) ช่วยทำให้เกิดยอดสูงสุด (Khatun *et al.*, 2003) ในดาหลาสามารถเกิดรากได้ดีบนอาหารเพาะเลี้ยงที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตหรือเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มออกซิน ได้แก่ NAA และ IAA จากการศึกษาของ Yunus *et al.* (2012) การเติม NAA ความเข้มข้น 5.37 ไมโครโมลาร์ ช่วยกระตุ้นการเกิดยอดในดาหลาได้สูงถึง 87.5 ถึง 100 เปอร์เซ็นต์

การย้ายปลูก

ในสภาพหลอดทดลองมีการให้สภาพแวดล้อมที่ควบคุม ได้แก่ ความเข้มแสง อุณหภูมิ ความชื้น ซึ่งมีสภาพที่แตกต่างจากในธรรมชาติ ดังนั้นการย้ายพืชที่อยู่ในสภาพหลอดทดลอง ออกนอกหลอดทดลองต้องมีการปรับสภาพก่อนการย้ายปลูก ความมีชีวิตรอดของพืชที่ย้าย ออกปลูกขึ้นกับสภาวะระหว่างการย้ายปลูก ในดาหลาต้นที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ มีการย้ายปลูกในกระถางที่มีวัสดุปลูกที่ปลอดเชื้อชนิดต่างๆ ได้แก่ ดิน ทราาย พีทมอส หรือส่วนผสมของดิน : ทราาย : พีทมอส (1:1:1) คลุมด้วยพลาสติกเพื่อรักษาความชื้น วางเลี้ยงที่อุณหภูมิ



27±3 องศาเซลเซียส รดน้ำ 2 ครั้งต่อสัปดาห์ พบว่า วัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของดิน : ทราย : พีทมอส (1:1:1) ทำให้ต้นกล้ามีชีวิตรอดได้สูงสุด 93.33 เปอร์เซ็นต์ (Yunus et al., 2012) นอกจากนี้การศึกษาของ Abdelmageed et al. (2011) ย้ายปลูกต้นกล้าดาหลาที่เลี้ยงบนอาหาร MS ที่เติม IAA เพื่อให้เกิดรากที่สมบูรณ์ ย้ายปลูกลงที่มีวัสดุปลูกเป็น พีช มอส และดิน โดยคลุมด้วยพลาสติกเพื่อรักษาความชื้น วางเลี้ยงในโรงเรือนที่ได้รับแสง 50 เปอร์เซ็นต์ หลังวางเลี้ยง 7 วัน จึงนำพลาสติกออก พบว่า ต้นกล้ามีการรอดชีวิต 75 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการย้ายปลูก สิ่งที่สำคัญคือ วัสดุปลูกที่เหมาะสมต่อพืช การรักษาความชื้น อุณหภูมิของสถานที่วางเลี้ยงและการได้รับแสงที่เหมาะสม มีความสำคัญต่อการย้ายปลูกพืช

อภิปรายผล

การเพิ่มปริมาณยอดของดาหลาขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของไซโทไคนิน (BAP หรือ Kinetin หรือ 2ip) ที่เติมลงไปบนอาหารเพาะเลี้ยง ทั้งนี้เพราะสารกลุ่มไซโทไคนินมีคุณสมบัติกระตุ้นการแบ่งเซลล์ กระตุ้นการเจริญเติบโตของตาข้าง พืชในวงศ์เดียวกับดาหลา เช่น *Zingiber zerumbet* Smith การใช้ BAP ที่เหมาะสม คือ 5 มิลลิกรัมต่อลิตร (22.2 ไมโครโมลาร์) ชักนำยอดรวมได้สูงสุดเช่นเดียวกัน (Faridah et al., 2011) การชักนำรากของดาหลาอาศัยชนิด และความเข้มข้นของออกซินที่เหมาะสม (NAA หรือ IAA) สารกลุ่มออกซินมีคุณสมบัติกระตุ้นการยืดยาวของเซลล์และชักนำการเกิดราก (Abdelmageed et al., 2011; Yunus et al., 2012; Sathyagowri and Seran, 2011) ดาหลาเป็นพืชที่มีความสำคัญขยายพันธุ์ด้วยเทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อโดยชิ้นส่วนลำต้นใต้ดิน ซึ่งในธรรมชาติการขยายพันธุ์มักประสบปัญหาเชื้อโรคและให้ผลผลิตต่ำ การใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทำให้เพิ่มจำนวนได้มากและรวดเร็ว ตาของชิ้นส่วนลำต้นใต้ดิน การฟอกฆ่าเชื้อที่ผิว อาหารเพาะเลี้ยงที่เหมาะสม ชนิดและความเข้มข้นของสารควบคุมการเจริญเติบโต จำเป็นต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาหลา อาหารสูตร MS ที่มีไซโทไคนินอย่างเดียวหรือใช้ร่วมกับออกซินช่วยทำให้เกิดยอดรวม เมื่อได้ยอดจำนวนมากนำไปชักนำรากและอนุบาลลงดินปลูกต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- อรุณี ม่วงแก้วงาม. (2557). ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตต่อการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อดาหลา (*Etlingera elatior*). วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์, 1(1), 10-13.
- Abdelmageed, A. H. A., Faridah, Q. Z., Norhana, F. M. A., Julia, A. A. & Kadir, M. A. (2011). Micropropagation of *Etlingera elatior* (Zingiberaceae) by using axillary bud explants. *J. Med. Plant Res*, 5(18), 4465-4469.



- Chan, E. W. C., Lim, Y. Y. & Wong, S. K. (2011). Phytochemistry and pharmacological properties of *Etlingera elatior* : A review. *Pharmacogn. J.*, 3(22), 1-10.
- Chan, E. W. C., Lim, Y. Y., Wong, L. F., Lianto, F. S. & Wong, S. K. (2008). Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of ginger species. *Food Chem.*, 109, 477-483.
- Faridah, Q. Z., Abdelmageed, A. H. A., Julia, A. A. & Nor Hafizah, R. (2011). Efficient *in vitro* regeneration of *Zingiber zerumbet* Smith (a valuable medicinal plant) plantlets from rhizome bud explants. *Afr. J. Biotechnol.*, 10, 9303-9308.
- George, E. F., Hall, M. A. and Klerk, G. J.(1996). *Plant Propagation by Tissue Culture*, 3rd ed, Vol. 1., New York : Springer.
- Gomes-Dias, G. D. M., Almendagna-Rodrigues, F., Rodrigues-Soares, J. D., Pasqual, M. & Portugal-Pinto de Carvalho, A. C. (2014). Embryogenic induction of torch ginger (*Etlingera elatior*) callus. *Agrociencia*, 48(2), 173-184.
- Hamirah, M. N., Sani, H. B., Boyce, P. C. & Sim, S. L. (2007). Micropropagation of red ginger (*Zingiber montanum* Koeing), a medicinal plant. *AsPac. J. Mol.Biol. Biotechnol.*, 18(1), 127-130.
- Inden, H., Asahira, T. & Hirano, A. (1988). Micropropagation of ginger. *Acta Hortic.*, 230, 177-184.
- Jaafar, M. F., Osman, C. P., Ismail, N. H. & Awang, K. (2007). Analysis of essential oils of leaves, stems, flowers and rhizomes of *Etlingera elatior* (Jack) R. M. Malaysian. *J. Anal. Sci.*, 10, 269-273.
- Kambask, K. B. & Santilata, S. (2009). Effect of plant growth regulator on micropropagation of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) cv. Suprava and Suruchi. *J. Agric. Technol.*, 5, 271-280.
- Keng, C. L. & Hing, T. W. (2004). In vitro propagation of Zingiberaceae species with medicinal properties. *J. Plant Biotechnol.*, 6, 181-188.
- Khatun, A., Nasrin, S. & Hossain, M. T.(2003). Large scale multiplication of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) from shoot-tip culture. *J. Biol. Sci.*, 3(1), 59-64.
- Murashige, T. & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497.



- Sathyagowri, S. & Seran, T. H. (2011). *In vitro* plant regeneration of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) with emphasis on initial culture establishment. *Int. J. Med. Aromat. Plants*, 1, 195-202.
- Yunus, M. F., Aziz, M. A., Kadir, M. A. & Rashid, A. A. (2012). *In vitro* propagation of *Etlingera elatior* (Jack) (torch ginger). *Sci. Hortic*, 135, 145-150.