ภาคผนวก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการเตรียม Hoagland's solution (Hoagland and Arnon, 1952)

การเตรียมสารละลายเข้มข้น (stock solution)

ขวดที่ 1 เตรียมเป็นสารละลายเข้มข้น 1000 มล.

KNO_3	101.11	ก.
KH_2PO_4	27.21	ก.
$MgSO_4.7H_2O$	98.60	ก.

ขวดที่ 2 เตรียมเป็นสารละลายเข้มข้น 1000 มล.

$CaNO_3$	295.18	ก.

ขวดที่ 3 เตรียมเป็นสารละลายเข้มข้น 1000 มล.

H_3PO_3	0.71	ก.
$MnSO_4.H_2O$	0.45	ก.
$ZnSO_4.7H_2O$	0.05	ก.
$CuSO_4.5H_2O$	0.02	ก.
$NaMoO_4.2H_2O$	0.02	ก.

ขวดที่ 4 เตรียมเป็นสารละลายเข้มข้น 1000 มล.

$FeSO_4.7H_2O$	1.39	ก.
Na_2EDTA	1.86	ก.

วิธีเตรียมสารละลายนี้ แบ่งปริมาตรเป็น 2 ส่วนเท่ากัน ส่วนหนึ่งเตรียม Na_2EDTA อีกส่วนหนึ่งเตรียม $FeSO_4.7H_2O$ โดยละลายสาร ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 °ซ. แล้วปรับปริมาตรแต่ละส่วนเป็น 500 มล. เทสารละลายทั้งสองรวมกัน

การเตรียมสารละลาย (working solution) สำหรับใช้จริง 1000 มล.

ขวดที่ 1	4	มล.
ขวดที่ 2	5	มล.
ขวดที่ 3	4	มล.
ขวดที่ 4	4	มล.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการเตรียมสี fluorescein diacetate (Jefferies, 1977)

ชั่งสี fluorescein diacetate 10 มก. ละลายสีใน acetone 5 มล. บรรจุในขวดสีชาและเก็บในตู้เย็น

วิธีการเตรียมสี quinacrine HCl เพื่อใช้ย้อมละอองเกสร

การเตรียมสารละลายเข้มข้ม ชั่งสี quinacrine HCl 10 มก. ละลายสีในน้ำกลั่น 5 มล. แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 10 มล. บรรจุในขวดสีชาและเก็บในตู้เย็น

การเตรียมสารละลายสำหรับใช้จริง ดึงสารละลายเข้มข้น 1 มล.แล้วเติมน้ำกลั่นให้ครบ 10 มล.

วิธีการเตรียมอาหารตามสูตร Roberts et al. (1983)

การเตรียมสารละลายเข้มข้นปริมาตร 1000 มล. ประกอบด้วยสารต่าง ๆ ดังนี้

KNO_3	0.1	ก.
$CaCl_2.2H_2O$	0.362	ก.
H_3BO_3	0.01	ก.

วิธีเตรียมอาหาร (working solution) สำหรับเลี้ยงละอองเกสรดังนี้

สารละลายเข้มข้น	15	มล.
น้ำตาลซูโครส	3	ก.
Tris methylamine	2	มก.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 1 แสดงส่วนประกอบของอาหารสูตรต่าง ๆ

ส่วนประกอบ (มก./ล.)	Quazi(1978)	Lichter(1981)	Keller(1984)	ประสาทพร (ติดต่อส่วนตัว)
KNO_3	1900	950	2500	2500
NH_4NO_3	1650	720	-	-
$MgSO_4.7H_2O$	370	185	250	250
$CaCl_2.2H_2O$	440	166	750	750
KH_2PO_4	170	68	-	-
$NaH_2PO_4.H_2O$	-	-	150	150
$(NH_4)_2SO_4$	-	-	134	134
$MnSO_4.H_2O$	22.3	25	10	10
H_3BO_3	6.2	6.2	3	3
$ZnSO_4.7H_2O$	8.6	10	2	2
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.25	0.25	0.35	0.35
$CuSO_4.5H_2O$	0.025	0.025	0.025	0.025
$CoCl_2.6H_2O$	0.025	-	0.025	0.025
KI	0.75	-	0.75	0.75
Na_2EDTA	37.25	37.25	37.25	37.25
$FeSO_4.7H_2O$	27.85	27.85	27.85	27.85
Nicotinic acid	1	5	1	1
Thiamine HCl	10	0.5	10	10
Pyridoxine HCl	1	0.5	1	1
Myo-inositol	100	100	100	100

- มีต่อ -

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 1 (ต่อ)

ส่วนประกอบ (มก./ล.)	Quazi(1978)	Lichter(1981)	Keller(1984)	ประสาทพร (ติดต่อส่วนตัว)
Folic acid	-	0.5	-	-
Biotin	-	0.5	-	-
Glycine	2	2	-	-
Glutamine	800	800	800	800
serine	100	100	100	100
Glutathion	-	30	-	-
Sucrose	20,000	80,000	100,000	40,000
NAA	-	0.5	0.1	0.1
2,4-D	0.44	-	0.1	-
2,4,5-T	-	-	-	0.1
BAP	0.45	0.05	-	-
pH	5.7	6	5.8	5.8

การเตรียมสารละลายเข้มข้น (stock solution)

1. การเตรียมสารละลายเข้มข้นตามสูตร MS (1962) ดัดแปลง แต่ละขวดของสารละลายเข้มข้นประกอบด้วยสารต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

ขวดที่ 1 เตรียมสารละลายเข้มข้นให้มีความเข้มข้นมากกว่าใช้จริง 10 เท่า โดยให้มีปริมาตรสุดท้าย 250 มล.

$CaCl_2.2H_2O$	4.4	ก.
KNO_3	19.0	ก.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ขวดที่ 2 เตรียมสารละลายเข้มข้นให้มีความเข้มข้นมากกว่าใช้จริง 10 เท่า โดยให้มีปริมาตรสุดท้าย 100 มล.

KH_2PO_4	1.7	ก.
NH_4NO_3	16.5	ก.
$MgSO_4.7H_2O$	3.7	ก.

ขวดที่ 3 เตรียมสารละลายเข้มข้นให้มีความเข้มข้นมากกว่าใช้จริง 100 เท่า โดยให้มีปริมาตรสุดท้าย 100 มล.

$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.025	ก.
$MnSO_4.H_2O$	2.23	ก.
H_3BO_3	0.62	ก.
$ZnSO_4.7H_2O$	0.86	ก.
$CuSO_4.5H_2O$	0.0025	ก.
$CoCl_2.6H_2O$	0.0025	ก.

ขวดที่ 4 เตรียมสารละลายเข้มข้นให้มีความเข้มข้นมากกว่าใช้จริง 200 เท่า โดยให้มีปริมาตรสุดท้าย 1000 มล.

Na_2 EDTA	7.45	ก.
$FeSO_4.7H_2O$	5.57	ก.

วิธีเตรียมสารละลายนี้ แบ่งปริมาตรเป็น 2 ส่วนเท่ากัน ส่วนหนึ่งเตรียม Na_2 EDTA อีกส่วนหนึ่งเตรียม $FeSO_4.7H_2O$ โดยละลายในน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 °ซ. แล้วปรับแต่ละส่วนเป็น 500 มล. เทสารละลายทั้งสองรวมกัน

ขวดที่ 5 เตรียมสารละลายเข้มข้นให้มีความเข้มข้นมากกว่าใช้จริง 10 เท่า โดยให้มีปริมาตรสุดท้าย 100 มล.

Glycine	0.02	ก.

2. การเตรียมสารละลายเข้มข้นตามสูตร B_5 (1968) ดัดแปลง แต่ละขวดของสารละลายเข้มข้นประกอบด้วยสารต่างดังต่อไปนี้

ขวดที่ 1 เตรียมสารละลายเข้มข้นให้มีความเข้มข้นมากกว่าใช้จริง 10 เท่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยให้มีปริมาตรสุดท้าย 250 มล.

$CaCl_2.2H_2O$	7.5	ก.
KNO_3	25.0	ก.

ขวดที่ 2 เตรียมสารละลายเข้มข้นให้มีความเข้มข้นมากกว่าใช้จริง 10 เท่า โดยให้มีปริมาตรสุดท้าย 100 มล.

$NaH_2PO_4.2H_2O$	1.5	ก.
$(NH_4)_2SO_4$	1.34	ก.
$MgSO_4.7H_2O$	2.5	ก.

ขวดที่ 3 เตรียมสารละลายเข้มข้นให้มีความเข้มข้นมากกว่าใช้จริง 100 เท่า โดยให้มีปริมาตรสุดท้าย 100 มล.

KI	0.075	ก.

ขวดที่ 4 เตรียมสารละลายเข้มข้นให้มีความเข้มข้นมากกว่าใช้จริง 100 เท่า โดยให้มีปริมาตรสุดท้าย 100 มล.

$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.025	ก.
$MnSO_4.H_2O$	1.0	ก.
H_3BO_3	0.3	ก.
$ZnSO_4.7H_2O$	0.2	ก.
$CuSO_4.5H_2O$	0.0025	ก.
$CoCl_2.6H_2O$	0.0025	ก.

ขวดที่ 5 เตรียมสารละลายเข้มข้นให้มีความเข้มข้นมากกว่าใช้จริง 100 เท่า โดยให้มีปริมาตรสุดท้าย 200 มล.

Nicotinic acid	0.1	ก.
Thiamine HCl	1.0	ก.
Pyridoxine HCl	0.1	ก.
Myo-inositol	10.0	ก.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การเตรียมสารละลายเข้มข้นตามสูตร NN (1969) ดัดแปลง แต่ละขวดของสารละลายเข้มข้นประกอบด้วยสารต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

ขวดที่ 1 เตรียมสารละลายเข้มข้นให้มีความเข้มข้นมากกว่าใช้จริง 10 เท่า โดยให้มีปริมาตรสุดท้าย 250 มล.

$CaCl_2.2H_2O$	1.66	ก.
KNO_3	9.5	ก.

ขวดที่ 2 เตรียมสารละลายเข้มข้นให้มีความเข้มข้นมากกว่าใช้จริง 10 เท่า โดยให้มีปริมาตรสุดท้าย 100 มล.

KH_2PO_4	1.5	ก.
NH_4NO_3	1.34	ก.
$MgSO_4.7H_2O$	2.5	ก.

ขวดที่ 3 เตรียมสารละลายเข้มข้นให้มีความเข้มข้นมากกว่าใช้จริง 100 เท่า โดยให้มีปริมาตรสุดท้าย 100 มล.

$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.025	ก.
$MnSO_4.H_2O$	2.5	ก.
H_3BO_3	1.0	ก.
$ZnSO_4.7H_2O$	1.0	ก.
$CuSO_4.5H_2O$	0.0025	ก.

ขวดที่ 4 เตรียมสารละลายเข้มข้นให้มีความเข้มข้นมากกว่าใช้จริง 100 เท่า โดยให้มีปริมาตรสุดท้าย 200 มล.

Nicotinic acid	0.5	ก.
Thiamine HCl	0.05	ก.
Pyridoxine HCl	0.05	ก.
Folic acid	0.05	ก.
Biotin	0.005	ก.
Glycine	0.2	ก.
Myo-inositol	10.0	ก.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. การเตรียมสารควบคุมการเจริญเติบโต

การเตรียม NAA IAA IBA 2,4-D 2,4,5-T และ GA_3 ชั่ง 10 มก. ละลายด้วยแอลกอฮอล์ 95 % เล็กน้อยแล้วปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น

การเตรียม Kinetin และ BAP ชั่ง 10 มก.ละลายด้วยสารละลาย NaOH 1 N เล็กน้อยแล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 100 มล.ด้วยน้ำกลั่น

5. การเตรียมอาหารตามสูตร Quazi (1978) 1000 มล. มีวิธีการเตรียมดังนี้

ขวดที่ 1 ของสูตร MS	25	มล.
ขวดที่ 2 ของสูตร MS	10	มล.
ขวดที่ 3 ของสูตร MS	1	มล.
ขวดที่ 3 ของสูตร B_5	1	มล.
ขวดที่ 4 ของสูตร MS	5	มล.
ขวดที่ 5 ของสูตร MS	10	มล.
ขวดที่ 6 ของสูตร B_5	2	มล.
Glutamine	800	มก.
serine	100	มก.
น้ำตาลซูโครส	20	ก.
สารละลาย 2,4-D	4.4	มล.
สารละลาย BAP	4.5	มล.

ปรับ pH ให้ได้ 5.7

6. การเตรียมอาหารตามสูตร Lichter (1981) 1000 มล. มีวิธีการเตรียมดังนี้

ขวดที่ 1 ของสูตร NN	25	มล.
ขวดที่ 2 ของสูตร NN	10	มล.
ขวดที่ 3 ของสูตร NN	1	มล.
ขวดที่ 4 ของสูตร MS	5	มล.
ขวดที่ 5 ของสูตร NN	2	มล.
Glutathion	30	มก.
Glutamine	800	มก.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

serine	100	มก.
น้ำตาลซูโครส	80	ก.
สารละลาย NAA	5	มล.
สารละลาย BAP	0.5	มล.

ปรับ pH ให้ได้ 6

7. การเตรียมอาหารตามสูตร Keller (1984) 1000 มล. มีวิธีการเตรียมดังนี้

ขวดที่ 1 ของสูตร B_5	25	มล.
ขวดที่ 2 ของสูตร B_5	10	มล.
ขวดที่ 3 ของสูตร B_5	1	มล.
ขวดที่ 4 ของสูตร B_5	1	มล.
ขวดที่ 4 ของสูตร MS	5	มล.
ขวดที่ 6 ของสูตร B_5	2	มล.
Glutamine	800	มก.
serine	100	มก.
น้ำตาลซูโครส	100	ก.
สารละลาย NAA	1	มล.
สารละลาย 2,4-D	1	มล.

ปรับ pH ให้ได้ 5.8

8. การเตรียมอาหารตามสูตรประสาทพรเตรียมเช่นเดียวกับสูตร Keller (1984) เพียงแต่เติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 4 และเปลี่ยน 2,4-D เป็น 2,4,5-T โดยเติมสารละลาย 2,4,5-T 1 มล./1000 มล.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนอับละอองเกสรผักกาดขาวปลีพันธุ์ #161 ที่พัฒนาเป็น callus เมื่อเลี้ยงบนอาหารสูตรต่าง ๆ ได้ 45 วัน (การทดลองที่ 3)

SOURCE	DF	SS	MS	F
สูตรอาหาร	3	5493.8	1831.26	19.88**
error	12	1104.9	92.07	
TOTAL	15	6598.7		

ตารางผนวกที่ 3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน ของจำนวนอับละอองเกสรผักกาดขาวปลีพันธุ์ #23 ที่พัฒนาเป็น callus เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA ร่วมกับ 2,4,5-T ในระดับความเข้มข้นที่ต่างกันได้ 45 วัน (การทดลองที่ 4)

SOURCE	DF	SS	MS	F
ตำรับอาหาร	15	7608.2	507.21	5.95**
error	32	2729.3	85.29	
TOTAL	47	10337.5		

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน ของจำนวนอับละอองเกสรผักกาดขาวปลีพันธุ์ #161 ที่พัฒนาเป็น callus เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA ร่วมกับ 2,4,5-T ในระดับความเข้มข้นที่ต่างกันได้ 45 วัน (การทดลองที่ 4)

SOURCE	DF	SS	MS	F
ตำรับอาหาร	15	16386.0	1092.40	1.64^{NS}
error	32	21279.0	664.96	
TOTAL	47	37665.0		

ตารางผนวกที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน ของจำนวนอับละอองเกสรผักกาดขาวปลีพันธุ์ #23 ที่พัฒนาเป็น callus เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA ร่วมกับ BAP ในระดับความเข้มข้นที่ต่างกันได้ 45 วัน (การทดลองที่ 5)

SOURCE	DF	SS	MS	F
ตำรับอาหาร	15	2816.0	187.74	1.56^{NS}
error	32	3839.5	119.98	
TOTAL	47	6655.5		

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน ของจำนวนอับละอองเกสรผักกาดขาวปลีพันธุ์ #161 ที่พัฒนาเป็น callus เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มี NAA ร่วมกับ BAP ในระดับความเข้มข้นที่ต่างกันได้ 45 วัน (การทดลองที่ 5)

SOURCE	DF	SS	MS	F
ตำรับอาหาร	15	33594.0	2239.60	6.95**
error	32	10316.0	322.37	
TOTAL	47	43910.3		

ตารางผนวกที่ 7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน ของจำนวนอับละอองเกสรผักกาดขาวปลีพันธุ์ #161 ที่พัฒนาเป็น callus เมื่อนำดอกไปเก็บที่อุณหภูมิ 5 °ซ. เป็นระยะเวลาต่างกันเมื่อเลี้ยงบนอาหารได้ 45 วัน (การทดลองที่ 6)

SOURCE	DF	SS	MS	F
ระยะเวลาที่เก็บที่อุณหภูมิต่ำ	3	7296.9	2432.30	23.56**
error	16	1651.2	103.20	
TOTAL	19	8948.1		

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน ของจำนวนอับละอองเกสรผักกาดขาวปลีพันธุ์ #161 ที่พัฒนาเป็น callus เมื่อเลี้ยงบนอาหารที่มีระดับน้ำตาลซูโครสต่างกัน ได้ 45 วัน (การทดลองที่ 7)

SOURCE	DF	SS	MS	F
น้ำตาลซูโครส	4	11102.0	2775.50	26.55**
error	20	2090.1	104.50	
TOTAL	24	13192.1		

ตารางผนวกที่ 9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน ของจำนวน chloroplast ของต้น diploid และต้นที่ได้จากการเลี้ยงอับละอองเกสร (การทดลองที่ 8)

SOURCE	DF	SS	MS	F
ต้นผักกาดขาวปลี	4	1285.5	321.38	203.83**
error	45	70.95	1.57	
TOTAL	49	1356.5		

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติการศึกษา

ชื่อ	นายพิทักษ์ พุทธวรชัย
วันเดือนปีเกิด	26 มกราคม 2508
วุฒิการศึกษา	- สำเร็จการศึกษาระดับประถมศึกษา(ป.6) เมื่อปี พ.ศ. 2521 จากโรงเรียนสันกำแพงคันธาอนุสรณ์ อ.สันกำแพง จ.เชียงใหม่ - สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายสายเกษตร(ม.6) เมื่อปี พ.ศ. 2527 จากโรงเรียนสันกำแพง อ.สันกำแพง จ.เชียงใหม่ - สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิตสาขาเกษตรศาสตร์ เอกเทคโนโลยีทางการเกษตรเมื่อปี พ.ศ. 2531 จากวิทยาลัยครูเชียงใหม่ อ.เมือง จ.เชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved