บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

1. วัสดุและอุปกรณ์

1.1 กล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็กที่ปลูกในกระถางขนาด 4 นิ้ว โดยใช้วัสดุปลูก คือ ดินร่วน : ทรายหยาบ : ขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1 : 1 : 1 ภายใต้โรงเรือนที่พรางแสง 50 เปอร์เซ็นต์

1.2 ปิเปตขนาดต่างๆ

1.3 ขวดวัดปริมาตร

1.4 บีกเกอร์

1.5 กระบอกวัดปริมาตร

1.6 เครื่องชั่งชนิดละเอียด

1.7 ขวดใส่สารละลายเข้มข้น

1.8 ช้อนตักสาร

1.9 แท่งแก้วคนสารเคมี

1.10 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง

1.11 หลอดทดลองขนาด 25 × 150 มม

1.12 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)

1.13 กรวยแก้ว

1.14 หลอดหยด

1.15 เตาไมโครเวฟ

1.16 เตาไฟฟ้า

1.17 เครื่องปั่น

1.18 หม้อนึ่งความดันไอ

1.19 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ

1.20 ตู้กรองอากาศบริสุทธิ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.21 ชั้นเลี้ยงต้นไม้ในขวดเพาะซึ่งมีหลอดฟลูออเรสเซนต์ให้ความเข้มแสงประมาณ 30 มคม/ตรม/ว

1.22 เครื่องเขย่า

1.23 กล้องจุลทรรศน์แบบส่องกลับ (Inverted microscope)

1.24 วัสดุที่ใช้ในตู้กรองอากาศ

1.24.1 ด้ามมีดผ่าตัดเบอร์ 3

1.24.2 ใบมีดผ่าตัดเบอร์ 10 และ 11

1.24.3 ปากคีบ (forceps)

1.24.4 ตะเกียงแอลกอฮอล์

1.24.5 จานเพาะเชื้อที่ใส่พลาสติกสำหรับรองตัด

1.24.6 จานเพาะเชื้อ

1.24.7 หลอดสำหรับใส่แอลกอฮอล์

1.25 วัสดุที่ใช้ศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา

1.25.1 เครื่องตัดล้อหมุน (rotary microtome)

1.25.2 เครื่องอุ่นสไลด์ (slide warmer)

1.25.3 ตู้อบ (hot air oven)

1.25.4 สไลด์และกระจกปิดสไลด์

1.25.5 ขวดแก้วใส่เนื้อเยื่อ (vial) ขนาด 35 ออนซ์

1.25.6 เข็มเขี่ย

1.25.7 แท่งไม้สำหรับยึดเนื้อเยื่อที่ฝังพาราฟิน

1.26 วัสดุอื่นๆ เช่น ยางรัด แผ่นป้ายเขียนกรรมวิธีและวันที่ทำการทดลอง และ พาราฟิล์ม

2. สารเคมี

2.1 สารที่ใช้สำหรับทำความสะอาดและฟอกฆ่าเชื้อ

2.1.1 น้ำยาล้างจาน

2.1.2 เอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์

2.1.3 คลอร็อกซ์ (Clorox)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2 สารที่ใช้สำหรับเตรียมอาหาร

2.2.1 เกลือให้ธาตุอาหารหลักต่างๆ ตามสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง (CMU1) (ตารางที่ 1)

2.2.2 เกลือให้ธาตุอาหารรองต่างๆ ตามสูตร Murashige and Skoog (1962) (ตารางที่ 2)

2.2.3 สารอินทรีย์ต่างๆ

2.2.4 สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

2.2.4.1 Naphthalene acetic acid (NAA)

2.2.4.2 N_6 – benzyladenine (BA)

2.2.5 Potassium hydroxide 1N

2.2.6 Hydrochloric acid 1N

2.2.7 น้ำกลั่น

2.2.8 กล้วยหอมสุก

2.2.9 มันฝรั่ง

2.2.10 น้ำมะพร้าวพันธุ์น้ำหอม

2.2.11 ผงวุ้นตราเฮลิคอปเตอร์

2.2.12 น้ำตาลซูโครส (น้ำตาลทราย)

2.3 สารที่ใช้สำหรับการศึกษาเนื้อเยื่อวิทยา

2.3.1 น้ำยาสำหรับฆ่าและรักษาสภาพเซลล์ (killing and fixing solution) ได้แก่ FAA

2.3.2 น้ำยาสำหรับดึงน้ำออกจากเซลล์ (dehydration solution) ประกอบด้วย ethyl alcohol, tertiary butyl alcohol (TBA) และน้ำกลั่นในอัตราส่วนที่ต่างกันตั้งแต่ระดับ 50% จนถึง 100% ของ TBA

2.3.3 สารตัวกลางที่ใช้ในการฝังเนื้อเยื่อเพื่อการตัด (embedding media) ได้แก่ paraplast

2.3.4 น้ำยายึดเนื้อเยื่อพืชให้ติดแผ่นสไลด์

2.3.5 น้ำยาทำให้เนื้อเยื่อใส (clearing reagent) ได้แก่ xylene

2.3.6 สีสังเคราะห์สำหรับย้อมเนื้อเยื่อคือ hematoxylin

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.3.7 สารตัวกลางสำหรับปิดแผ่นสไลด์ (mounting media) ได้แก่ canada balsum

3. การเตรียมวัสดุพันธุ์พืชสำหรับทดลอง

3.1 การผสมเกสร

การผสมเกสรกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็กทำในตอนเช้า เลือกดอกที่มีความสมบูรณ์และยังไม่ได้รับการผสมเกสร เกสรตัวผู้มีสีเทาอ่อนและแอ่งเกสรตัวเมียมีเมือกเหนียวๆ ใช้ปลายไม้จิ้มฟันที่สะอาดแตะเกสรตัวผู้มาวางลงที่แอ่งเกสรตัวเมียของอดกเดียวกันโดยกดเบาๆ เพื่อให้ติด สนิท แขวนป้ายระบุ วัน เดือน ปี ที่ทำการผสมเกสรไว้ที่ก้านดอกแต่ละดอก

3.2 การดูแลต้นกล้วยไม้หลังการผสมเกสร

รดน้ำเป็นประจำในตอนเช้า รดปุ๋ยเคมีทวินเฟอร์ตี้สูตร 10 – 52 – 17 และพ่นยาป้องกันเชื้อราเป็นครั้งคราว

3.3 การเพาะเมล็ดกล้วยไม้ (สำหรับใช้ในการทดลองที่ 1.1)

นำฝักกล้วยไม้ที่มีอายุครบตามที่กำหนดในแต่ละการทดลอง นำมาตัดส่วนที่แห้งติดปลายฝักออกทำความสะอาดเบื้องต้นโดยล้างด้วยน้ำยาล้างจานใช้แปรงสีฟันขัดตามซอกฝักแล้วล้างน้ำให้สะอาด เช็ดด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นำไปเขย่าในสารละลายคลอร็อก 20 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง นำฝักวางลงบนจานเพาะเชื้อที่มีแผ่นพลาสติกที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ใช้มีดกรีดฝักตามขวางจากนั้นใช้ปลายมีดเขี่ยเมล็ดลงเลี้ยงในขวดเพาะซึ่งมีอาหารเหลวอยู่โดยเพาะ 1 ฝักต่อ 1 ขวดแล้วปิดด้วยพลาสติกและรัดยาง นำไปเลี้ยงบนเครื่องเขย่าที่มีความเร็วประมาณ 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 27 ± 1 องศาเซลเซียส

3.4 การเตรียมต้นอ่อน (สำหรับใช้ในการทดลองที่ 2)

หลังจากที่เลี้ยงเมล็ดในอาหารเหลว 1 สัปดาห์นำเมล็ดมารวมกันแล้วนำมาหยดลงบนอาหารวุ้นนำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิ 27 ± 1 องศาเซลเซียส จนกระทั่งงอกเป็นโปรโตคอร์มแล้วพัฒนาเป็นต้นอ่อนที่มีความสูงประมาณ 2 – 3 มม แล้วจึงนำไปทำการทดลองต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4. การเตรียมสารละลายเข้มข้น (Stock solution)

4.1 การเตรียมธาตุอาหารหลัก

การเตรียมสารละลายเข้มข้นของธาตุอาหารหลักสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง (CMU1) โดยเตรียมเป็นสารละลายเข้มข้นรวมให้มีความเข้มข้นมากกว่าสูตรมาตรฐาน 20 เท่า ปริมาตรสุดท้าย 1000 มล ซึ่งใช้สารเคมีชนิดต่างๆ ในปริมาณตามตาราง 1

ตาราง 1 ชนิดและปริมาณของสารที่ให้ธาตุอาหารหลักสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง (CMU1)

สารเคมี	ปริมาณสารตามสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง (CMU1) (มก/ล)	ปริมาณที่ใช้ในการเตรียมสารละลายเข้มข้น 20 เท่า (ก/ล)
KNO_3	525	10.50
$(NH_4)_2SO_4$	500	10.00
KH_2PO_4	250	5.00
$MgSO_4.7H_2O$	250	5.00
$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	151	3.02

4.2 การเตรียมธาตุอาหารรอง

เตรียมสารละลายเข้มข้นของธาตุอาหารรองสูตร Murashige and Skoog (1962) โดยเตรียมเป็นสารละลายเข้มข้นรวมโดยให้มีความเข้มข้นเป็น 100 เท่า ของสูตรมาตรฐาน ปริมาตรสุดท้าย 1000 มล ซึ่งใช้สารเคมีชนิดต่างๆ ในปริมาณตามตาราง 2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 2 ชนิดและปริมาณของสารที่ให้ธาตุอาหารรองสูตร Murashige and Skoog (1962)

สารเคมี	ปริมาณสารตามสูตร Murashige and Skoog (1962) (มก/ล)	ปริมาณที่ใช้ในการเตรียมสารละลายเข้มข้น 100 เท่า (มก/ล)
$MnSO_4.4H_2O$	22.330	2230.0
$ZnSO_4.7H_2O$	8.600	860.0
H_3BO_3	6.200	620.0
KI	0.830	83.0
$Na_2MoO_4.2H_2O$	0.250	25.0
$CoCl_2.6H_2O$	0. 025	2.5
$CuSO_4.5H_2O$	0.025	2.5

4.3 การเตรียมสารละลายเหล็กในรูป FeEDTA

เตรียมสารละลาย FeEDTA ในสูตร Murashige and Skoog (1962) ประกอบด้วย $FeSO_4.7H_2O$ และ Na_2EDTA โดยทำเป็นสารละลายเข้มข้นรวมให้มีความเข้มข้นเป็น 100 เท่า ปริมาตรสุดท้าย 1000 มล โดยชั่งสารแต่ละชนิดมาละลายในน้ำกลั่นให้มีปริมาตรสุดท้ายแต่ละส่วน 500 มล แล้วจึงนำมาผสมไว้ในขวดสีชาในขวดเดียวกันเพื่อป้องกันแสง ใช้สารเคมีตามปริมาณในตาราง 3

ตาราง 3 ชนิดและสารเคมีในสารละลายเหล็กเข้มข้นสูตร Murashige and Skoog (1962)

สารเคมี	ปริมาณสารตามสูตร Murashige and Skoog (1962) (มก/ล)	ปริมาณที่ใช้ในการเตรียมสารละลายเข้มข้น 100 เท่า (ก/ล)
$FeSO_4.7H_2O$	27.8	2.78
Na_2EDTA	37.3	3.73

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.4 การเตรียมอินทรีย์สาร

การเตรียมอินทรีย์สารที่ประกอบด้วย วิตามิน glycine และ myo – inositol โดยเตรียมเป็นสารละลายเข้มข้นรวมให้มีความเข้มข้นของสารเป็น 100 เท่า ปริมาตรสุดท้าย 1000 มล ซึ่งใช้สารเคมีต่างๆ ตามตาราง 4

ตาราง 4 ชนิดและสารเคมีในสารละลายเข้มข้นของอินทรีย์สารสูตร Murashige and Skoog (1962)

สารเคมี	ปริมาณสารตามสูตร (มก/ล)	ปริมาณที่ใช้ในการเตรียมสารละลายเข้มข้น 100 เท่า (มก/ล)
Myo – inositol	100.00	10,000
Glycine	2.00	200
Thiamine.HCl	0.25	25
Pyridoxin.HCl	0.25	25
Nicotinic acid	0.25	25

4.5 การเตรียมสารควบคุมการเจริญเติบโตของพืช

4.5.1 การเตรียม NAA

ชั่ง NAA 2.0 มก ละลายด้วย absolute ethanol เล็กน้อย แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มล

4.5.2 การเตรียม BA

ชั่ง BA 4.0 มก ละลายด้วย 1N KOH เล็กน้อยแล้วปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มล

4.6 การเตรียมน้ำมันฝรั่งสกัด

นำมันฝรั่งมาล้างให้สะอาดแล้วนำมาปอกเปลือกและหั่นเป็นสีเหลี่ยมลูกเต๋าขนาดประมาณ 1 ซม นำไปชั่งให้ได้ 100 ก ต้มในน้ำกลั่น 500 มล จนกระทั่งเหลือ 250 มล กรองเอาเฉพาะน้ำเตรียมเป็นน้ำมันฝรั่งสกัด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5. วิธีการวิจัย

การศึกษาแบ่งออกเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ

การทดลองที่ 1 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็ก แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 การทดลองย่อยคือ

การทดลองที่ 1.1 ผลของอายุฝักและความเข้มข้นของน้ำตาล

1.1.1 อุปกรณ์การทดลอง

เมล็ดกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็กที่ได้จากฝักอายุต่างกันคือ 4, 5, 6, 7 และ 8 สัปดาห์ หลังการผสมเกสร นำมาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง (CMU1) อายุละ 5 ฝัก เป็นเวลา 1 สัปดาห์แล้วจึงนำเมล็ดมารวมกันในแต่ละอายุ

1.1.2 วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ (Factotrial in CRD) โดยมี 2 ปัจจัยคือ อายุฝัก 5 ระดับ และ น้ำตาล 3 ระดับ รวมเป็น 15 กรรมวิธี ทดลองกรรมวิธีละ 10 ซ้ำ ทำการดูดเมล็ดที่เตรียมไว้ (ตามข้อ 1.1.1 หน้า 24) มาหยอดลงเลี้ยงบนอาหารที่เตรียมไว้ในหลอดขนาด 25 × 150 มม หลอดละ 2 หยด

อาหารที่ใช้เพาะเมล็ดคือ อาหารสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง ที่มีน้ำตาล 3 ระดับ ซึ่งอาหารพื้นฐานประกอบด้วย

1. ธาตุอาหารหลักสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง (CMU1)
2. ธาตุอาหารรองสูตร Murashige and Skoog (1962)
3. อินทรีย์สาร
4. น้ำมะพร้าวร้อยละ 15
5. วุ้นร้อยละ 0.8

ทำการเติมน้ำตาลซูโครส 3 ระดับคือ ร้อยละ 2, 4 และ 6 กรรมวิธีต่างๆ ที่ใช้ทดลองคือ

กรรมวิธีที่ 1 น้ำตาลซูโครสร้อยละ 2 และเมล็ดกล้วยไม้อายุ 4 สัปดาห์
กรรมวิธีที่ 2 น้ำตาลซูโครสร้อยละ 2 และเมล็ดกล้วยไม้อายุ 5 สัปดาห์
กรรมวิธีที่ 3 น้ำตาลซูโครสร้อยละ 2 และเมล็ดกล้วยไม้อายุ 6 สัปดาห์
กรรมวิธีที่ 4 น้ำตาลซูโครสร้อยละ 2 และเมล็ดกล้วยไม้อายุ 7 สัปดาห์
กรรมวิธีที่ 5 น้ำตาลซูโครสร้อยละ 2 และเมล็ดกล้วยไม้อายุ 8 สัปดาห์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กรรมวิธีที่ 6 น้ำตาลซูโครสร้อยละ 4 และเมล็ดกล้วยไม้อายุ 4 สัปดาห์
กรรมวิธีที่ 7 น้ำตาลซูโครสร้อยละ 4 และเมล็ดกล้วยไม้อายุ 5 สัปดาห์
กรรมวิธีที่ 8 น้ำตาลซูโครสร้อยละ 4 และเมล็ดกล้วยไม้อายุ 6 สัปดาห์
กรรมวิธีที่ 9 น้ำตาลซูโครสร้อยละ 4 และเมล็ดกล้วยไม้อายุ 7 สัปดาห์
กรรมวิธีที่ 10 น้ำตาลซูโครสร้อยละ 4 และเมล็ดกล้วยไม้อายุ 8 สัปดาห์
กรรมวิธีที่ 11 น้ำตาลซูโครสร้อยละ 6 และเมล็ดกล้วยไม้อายุ 4 สัปดาห์
กรรมวิธีที่ 12 น้ำตาลซูโครสร้อยละ 6 และเมล็ดกล้วยไม้อายุ 5 สัปดาห์
กรรมวิธีที่ 13 น้ำตาลซูโครสร้อยละ 6 และเมล็ดกล้วยไม้อายุ 6 สัปดาห์
กรรมวิธีที่ 14 น้ำตาลซูโครสร้อยละ 6 และเมล็ดกล้วยไม้อายุ 7 สัปดาห์
กรรมวิธีที่ 15 น้ำตาลซูโครสร้อยละ 6 และเมล็ดกล้วยไม้อายุ 8 สัปดาห์

1.1.3 วิธีการเตรียมอาหาร

ทำการเตรียมอาหาร โดยเตรียมส่วนของอาหารพื้นฐานเหมือนกันกรรมวิธีละ 100 มล รวมเตรียมอาหารทั้งหมด 1500 มล เตรียมอาหารพื้นฐานให้มีความเข้มข้นเป็น 2 เท่า ดังนั้นต้องเตรียมอาหารพื้นฐานทั้งหมดเพื่อเป็น 1000 มล สำหรับเตรียมอาหารปริมาตรสุดท้าย 1500 มล โดยทำตามขั้นตอนดังนี้

1. เติมน้ำกลั่นเล็กน้อยลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1000 มล
2. เติมสารละลายของธาตุอาหารหลักในสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้น 20 เท่าลงไป 100 มล เขย่าให้เข้ากัน
3. เติมสารละลายของธาตุอาหารรองสูตร Murashige and Skoog (1962) ที่มีความเข้มข้น 100 เท่าลงไป 20 มล เขย่าให้เข้ากัน
4. เติมสารละลาย FeEDTA ที่มีความเข้มข้น 100 เท่าลงไป 20 มล เขย่าให้เข้ากัน
5. เติมสารละลายอินทรีย์สารที่มีความเข้มข้น 100 เท่าลงไป 20 มล เขย่าให้เข้ากัน
6. เติมน้ำมะพร้าวลงไป 300 มล ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 มล แล้วเทลงในบีกเกอร์

เตรียมสารละลายซูโครสเข้มข้นโดยชั่งน้ำตาลซูโครส 100 ก มาละลายน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 200 มล

เตรียมอาหารซึ่งมีความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 3 ระดับ โดยเตรียมอาหารปริมาตรสุดท้ายระดับละ 500 มล โดยรวมส่วนของอาหารพื้นฐานและสารละลายน้ำตาล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ซูโครสเข้มข้นลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 500 มล ตามตาราง 5 แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นเป็น 500 มล ปรับความเป็นกรด – ด่าง (pH) ให้เป็น 5.7 เติมผงวุ้นกรรมวิธีละ 4 กรัม ต้มจนวุ้นละลายนำมาบรรจุลงในหลอดทดลองหลอดละ 10 มล ปิดด้วยพลาสติกรัดยาง แล้วหุ้มด้วยกระดาษอีกชั้น นำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที นำมาตั้งทิ้งไว้จนอาหารวุ้นเย็นและแข็งจึงนำไปทำการทดลอง

ตาราง 5 การเตรียมอาหารที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสต่างกัน

สารละลาย (มล)	ร้อยละน้ำตาลซูโครส		
	2	4	6
อาหารพื้นฐาน + สารประกอบอินทรีย์	250	250	250
สารละลายซูโครสเข้มข้น	20	40	60

1.1.4 การบันทึกผลการทดลอง

บันทึกจำนวนวันเมื่อเริ่มงอก และเปอร์เซ็นต์การงอกโดยวัดจากพื้นที่ของหน้าอาหาร

การทดลองที่ 1.2 ผลของสภาพอาหารที่ต่างกันต่อการงอกของเมล็ด

1.2.1 อุปกรณ์การทดลอง

เมล็ดกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็กอายุ 8 สัปดาห์

1.2.2 วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) ทำทั้งหมด 3 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ โดยเพาะเมล็ดกล้วยไม้จากแต่ละฝักโดยแบ่งออกเป็น 3 ส่วนตามยาว ส่วนละ 1 กรรมวิธี ลงในอาหารสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง ที่มีสภาพอาหารต่างกันคือ

กรรมวิธีที่ 1 อาหารวุ้น

กรรมวิธีที่ 2 อาหารวุ้นที่หยดอาหารเหลว

กรรมวิธีที่ 3 อาหารเหลว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2.3 วิธีการเตรียมอาหารสำหรับเพาะเมล็ด

อาหารที่ใช้ในการทดลองเป็นอาหารสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง (CMU1) ที่ประกอบด้วยส่วนต่างๆ ให้มีปริมาตรสุดท้ายเป็น 150 มล. ซึ่งเตรียมตามขั้นตอนดังนี้

1. เติมน้ำกลั่นลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มล เล็กน้อย
2. เติมสารละลายของธาตุอาหารหลักในสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง ที่มีความเข้มข้น 20 เท่าลงไป 7.5 มล เขย่าให้เข้ากัน
3. เติมสารละลายของธาตุอาหารรองสูตร Murashige and Skoog (1962) ที่มีความเข้มข้น 100 เท่าลงไป 7.5 มล เขย่าให้เข้ากัน
4. เติมสารละลาย FeEDTA ที่มีความเข้มข้น 100 เท่าลงไป 7.5 มล เขย่าให้เข้ากัน
5. เติมสารละลายอินทรีย์สารที่มีความเข้มข้น 100 เท่าลงไป 7.5 มล เขย่าให้เข้ากัน
6. เติมน้ำมะพร้าว 22.5 มล
7. น้ำตาลซูโครส 3 ก เขย่าให้น้ำตาลละลาย
8. แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 100 มล แล้วเทลงในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นลงไปอีก 50 มล คนให้เข้ากัน
9. ปรับความเป็นกรด – ด่างเป็น 5.7
10. แบ่งอาหารเป็น 2 ส่วน

ส่วนที่ 1 เติมวุ้น 0.72 ก ลงในอาหารปริมาตร 90 มล ต้มจนกระทั่งวุ้นละลาย บรรจุลงในขวดรูปชมพูขนาด 50 มล ขวดละ 5 มล จำนวน 10 ขวด (กรรมวิธีที่ 1) และขวดละ 4 มล จำนวน 10 ขวด (กรรมวิธีที่ 2)

ส่วนที่ 2 บรรจุอาหารปริมาตร 60 มล ลงในขวดรูปชมพูขนาด 50 มล ขวดละ 5 มล จำนวน 10 ขวด (กรรมวิธีที่ 3) และขวดละ 10 มล จำนวน 1 ขวด (สำหรับหยดลงในกรรมวิธีที่ 2 ซ้ำละ 1 มล)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

หุ้มด้วยพลาสติกและกระดาษรัดยางนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที นำมาตั้งทิ้งไว้จนอาหารวุ้นเย็นและแข็ง จึงนำไปทำการทดลอง

1.2.4 การบันทึกผลการทดลอง

บันทึกขนาดความกว้างและความยาวของคัพภะทุกสัปดาห์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบเลนส์ส่องกลับ และระยะเวลาที่ใช้ในการงอก

การทดลองที่ 2 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของต้นและหัวของกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็ก

แบ่งออกเป็น 5 การทดลองย่อย

การทดลองที่ 2.1 ผลของอุณหภูมิต่อการเจริญของต้นและหัว

2.1.1 อุปกรณ์การทดลอง

ต้นอ่อนกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็กที่มียอด 2 – 3 มม

2.1.2 วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุมสมบูรณ์ (CRD) ทำทั้งหมด 3 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ นำต้นอ่อนมาเลี้ยงบนอาหารสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง (CMU1) แล้วนำไปเลี้ยงที่อุณหภูมิต่างกัน 3 ระดับคือ

กรรมวิธีที่ 1 เลี้ยงที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 2 เลี้ยงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

กรรมวิธีที่ 3 เลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

2.1.3 วิธีการเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงต้นอ่อน

ใช้อาหารวุ้นสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง (CMU1) ซึ่งให้ปริมาตรสุดท้ายเป็น 300 มล และเตรียมตามขั้นตอนข้อ 1.1.3 ในการทดลองที่ 1.1 การทดลองนี้ใช้น้ำมะพร้าวร้อยละ 15.0 และวุ้นร้อยละ 0.8

2.1.4 การบันทึกผลการทดลอง

บันทึกผลทุกสัปดาห์โดยบันทึก ความมีชีวิตรอด ความสูงต้น จำนวนใบ ความยาวใบ ความยาวหัว ความกว้างหัว จำนวนราก และความยาวราก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2.2 ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลและน้ำมะพร้าวต่อการเจริญเติบโตของต้นและหัว

2.2.1 อุปกรณ์การทดลอง

ต้นอ่อนกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็กที่มียอด 2 – 3 มม

2.2.2 วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in CRD) โดยมี 2 ปัจจัย คือความเข้มข้นน้ำตาล 3 ระดับ และความเข้มข้นน้ำมะพร้าว 5 ระดับ รวม 15 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ โดยเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ลงบนอาหารวุ้นสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง (CMU1) ที่ประกอบด้วย

1. ธาตุอาหารหลักสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง (CMU1)
2. ธาตุอาหารรองสูตร Murashige and Skoog (1962)
3. อินทรีย์สาร
4. วุ้นร้อยละ0.8

เติมน้ำตาลแก่อาหาร 3 ระดับ คือร้อยละ 0, 2 และ 4 และน้ำมะพร้าว 5 ระดับคือร้อยละ 0, 7.5, 15, 22.5 และ 30 ตามกรรมวิธีที่ใช้ในการทดลองคือ

กรรมวิธีที่ 1 น้ำตาลร้อยละ 0 น้ำมะพร้าวร้อยละ 0
กรรมวิธีที่ 2 น้ำตาลร้อยละ 0 น้ำมะพร้าวร้อยละ 7.5
กรรมวิธีที่ 3 น้ำตาลร้อยละ 0 น้ำมะพร้าวร้อยละ 15.0
กรรมวิธีที่ 4 น้ำตาลร้อยละ 0 น้ำมะพร้าวร้อยละ 22.5
กรรมวิธีที่ 5 น้ำตาลร้อยละ 0 น้ำมะพร้าวร้อยละ 30.0
กรรมวิธีที่ 6 น้ำตาลร้อยละ 2 น้ำมะพร้าวร้อยละ 0
กรรมวิธีที่ 7 น้ำตาลร้อยละ 2 น้ำมะพร้าวร้อยละ 7.5
กรรมวิธีที่ 8 น้ำตาลร้อยละ 2 น้ำมะพร้าวร้อยละ 15.0
กรรมวิธีที่ 9 น้ำตาลร้อยละ 2 น้ำมะพร้าวร้อยละ 22.5
กรรมวิธีที่ 10 น้ำตาลร้อยละ 2 น้ำมะพร้าวร้อยละ 30.0
กรรมวิธีที่ 11 น้ำตาลร้อยละ 4 น้ำมะพร้าวร้อยละ 0
กรรมวิธีที่ 12 น้ำตาลร้อยละ 4 น้ำมะพร้าวร้อยละ 7.5
กรรมวิธีที่ 13 น้ำตาลร้อยละ 4 น้ำมะพร้าวร้อยละ 15.0
กรรมวิธีที่ 14 น้ำตาลร้อยละ 4 น้ำมะพร้าวร้อยละ 22.5
กรรมวิธีที่ 15 น้ำตาลร้อยละ 4 น้ำมะพร้าวร้อยละ 30.0

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2.3 วิธีการเตรียมอาหาร

แต่ละกรรมวิธีเตรียมอาหาร 100 มล ทำตามขั้นตอนข้อ 1.1.3 ในการทดลองที่ 1.1 แต่ปรับความเข้มข้นน้ำตาล และน้ำมะพร้าว ตามกรรมวิธีดังกล่าว แล้วใช้ปริมาตรของส่วนผสมตามตาราง 6

การเตรียมสารละลายซูโครสเข้มข้น โดยชั่งน้ำตาลซูโครส 40 ก มาละลายในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 200 มล

2.2.4 การบันทึกผลการทดลอง

บันทึกผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1

ตาราง 6 ปริมาตรของอาหาร น้ำตาลซูโครสและน้ำมะพร้าวในกรรมวิธีต่างกัน

ร้อยละ	ร้อยละน้ำตาลซูโครส		
น้ำมะพร้าว	0	2	4
0	อาหารพื้นฐาน 50 มล น้ำตาล 0 มล น้ำมะพร้าว 0 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล น้ำตาล 10 มล น้ำมะพร้าว 0 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล น้ำตาล 20 มล น้ำมะพร้าว 0 มล
7.5	อาหารพื้นฐาน 50 มล น้ำตาล 0 มล น้ำมะพร้าว 7.5 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล น้ำตาล 10 มล น้ำมะพร้าว 7.5 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล น้ำตาล 20 มล น้ำมะพร้าว 7.5 มล
15	อาหารพื้นฐาน 50 มล น้ำตาล 0 มล น้ำมะพร้าว 15 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล น้ำตาล 10 มล น้ำมะพร้าว 15 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล น้ำตาล 20 มล น้ำมะพร้าว 15 มล
22.5	อาหารพื้นฐาน 50 มล น้ำตาล 0 มล น้ำมะพร้าว 22.5 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล น้ำตาล 10 มล น้ำมะพร้าว 22.5 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล น้ำตาล 20 มล น้ำมะพร้าว 22.5 มล
30	อาหารพื้นฐาน 50 มล น้ำตาล 0 มล น้ำมะพร้าว 30 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล น้ำตาล 10 มล น้ำมะพร้าว 30 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล น้ำตาล 20 มล น้ำมะพร้าว 30 มล

เตรียมอาหารปริมาตรสุดท้ายกรรมวิธีละ 100 มล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2.3 ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลและน้ำมันฝรั่งสกัดต่อการเจริญเติบโตของต้นและหัว

2.3.1 อุปกรณ์การทดลอง

ต้นอ่อนกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็กที่มียอด 2 – 3 มม

2.3.2 วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in CRD) โดยมี 2 ปัจจัย คือความเข้มข้นน้ำตาล 3 ระดับ และความเข้มข้นของน้ำมันฝรั่งสกัด 4 ระดับ รวม 12 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ โดยเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ลงบนอาหารวุ้นสูตรVacin and Went (1949) ดัดแปลง (CMU1) ที่ประกอบส่วนต่างๆ ตามข้อ 2.2.2 ในการทดลองที่ 2.2

เติมน้ำตาล 3 ระดับคือร้อยละ 0, 2 และ 4 และน้ำมันฝรั่งสกัด 4 ระดับ คือ 0, 10, 20 และ 30 ก/ล ตามกรรมวิธีที่ใช้ในการทดลองคือ

กรรมวิธีที่ 1 น้ำตาลร้อยละ 0 น้ำมันฝรั่งสกัด 0 ก/ล
กรรมวิธีที่ 2 น้ำตาลร้อยละ 0 น้ำมันฝรั่งสกัด 10 ก/ล
กรรมวิธีที่ 3 น้ำตาลร้อยละ 0 น้ำมันฝรั่งสกัด 20 ก/ล
กรรมวิธีที่ 4 น้ำตาลร้อยละ 0 น้ำมันฝรั่งสกัด 30 ก/ล
กรรมวิธีที่ 5 น้ำตาลร้อยละ 2 น้ำมันฝรั่งสกัด 0 ก/ล
กรรมวิธีที่ 6 น้ำตาลร้อยละ 2 น้ำมันฝรั่งสกัด 10 ก/ล
กรรมวิธีที่ 7 น้ำตาลร้อยละ 2 น้ำมันฝรั่งสกัด 20 ก/ล
กรรมวิธีที่ 8 น้ำตาลร้อยละ 2 น้ำมันฝรั่งสกัด 30 ก/ล
กรรมวิธีที่ 9 น้ำตาลร้อยละ 4 น้ำมันฝรั่งสกัด 0 ก/ล
กรรมวิธีที่ 10 น้ำตาลร้อยละ 4 น้ำมันฝรั่งสกัด 10 ก/ล
กรรมวิธีที่ 11 น้ำตาลร้อยละ 4 น้ำมันฝรั่งสกัด 20 ก/ล
กรรมวิธีที่ 12 น้ำตาลร้อยละ 4 น้ำมันฝรั่งสกัด 30 ก/ล

2.3.3 วิธีการเตรียมอาหาร

แต่ละกรรมวิธีเตรียมอาหาร 100 มล ทำตามขั้นตอนข้อ 1.1.3 ในการทดลองที่ 1.1 แต่ไม่เติมน้ำมะพร้าว และปรับความเข้มข้นน้ำตาล และน้ำมันฝรั่งสกัด ตามกรรมวิธีดังกล่าว แล้วใช้ปริมาตรของส่วนผสมตามตาราง 7

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การเตรียมน้ำมันฝรั่งสกัดทำโดยนำมันฝรั่งมาล้างให้สะอาดแล้วปอกเปลือกและหั่นเป็นสีเหลี่ยมลูกเต๋าขนาดประมาณ 1 ซม นำไปชั่งให้ได้ 100 ก ต้มในน้ำกลั่น 500 มล จนเหลือ 250 มล กรองเอาเฉพาะน้ำได้เป็นน้ำมันฝรั่งสกัด

ตาราง 7 ปริมาตรของอาหาร น้ำตาลซูโครส และน้ำมันฝรั่งสกัดในกรรมวิธีต่างกัน

น้ำมันฝรั่งสกัด (ก/ล)	ร้อยละน้ำตาลซูโครส					
	0		2		4	
0	อาหารพื้นฐาน	50 มล	อาหารพื้นฐาน	50 มล	อาหารพื้นฐาน	50 มล
	น้ำตาล	0 มล	น้ำตาล	10 มล	น้ำตาล	20 มล
	น้ำมันฝรั่งสกัด	0 มล	น้ำมันฝรั่งสกัด	0 มล	น้ำมันฝรั่งสกัด	0 มล
10	อาหารพื้นฐาน	50 มล	อาหารพื้นฐาน	50 มล	อาหารพื้นฐาน	50 มล
	น้ำตาล	0 มล	น้ำตาล	10 มล	น้ำตาล	20 มล
	น้ำมันฝรั่งสกัด	2.5 มล	น้ำมันฝรั่งสกัด	2.5 มล	น้ำมันฝรั่งสกัด	2.5 มล
20	อาหารพื้นฐาน	50 มล	อาหารพื้นฐาน	50 มล	อาหารพื้นฐาน	50 มล
	น้ำตาล	0 มล	น้ำตาล	10 มล	น้ำตาล	20 มล
	น้ำมันฝรั่งสกัด	5 มล	น้ำมันฝรั่งสกัด	5 มล	น้ำมันฝรั่งสกัด	5 มล
30	อาหารพื้นฐาน	50 มล	อาหารพื้นฐาน	50 มล	อาหารพื้นฐาน	50 มล
	น้ำตาล	0 มล	น้ำตาล	10 มล	น้ำตาล	20 มล
	น้ำมันฝรั่งสกัด	7.5 มล	น้ำมันฝรั่งสกัด	7.5 มล	น้ำมันฝรั่งสกัด	7.5 มล

เตรียมอาหารปริมาตรสุดท้ายกรรมวิธีละ 100 มล

2.3.4 การบันทึกผลการทดลอง

บันทึกผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2.4 ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลและกล้วยบดต่อการเจริญเติบโตของต้นและหัว

2.4.1 อุปกรณ์การทดลอง

ต้นอ่อนกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็กที่มียอด 2 – 3 มม

2.4.2 วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in CRD) โดยมี 2 ปัจจัย คือความเข้มข้นน้ำตาล 3 ระดับ และความเข้มข้นของกล้วยบด 3 ระดับ รวม 9 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ โดยเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ลงบนอาหารวุ้นสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง (CMU1) ที่ประกอบส่วนต่างๆ ตามข้อ 2.2.2 ในการทดลองที่ 2.2

เติมน้ำตาล 3 ระดับคือร้อยละ 0, 2 และ 4 และกล้วยบด 3 ระดับคือ ร้อยละ 0, 5 และ 10 ตามกรรมวิธีที่ใช้ในการทดลองคือ

กรรมวิธีที่ 1 น้ำตาลร้อยละ 0 กล้วยบดร้อยละ 0
กรรมวิธีที่ 2 น้ำตาลร้อยละ 0 กล้วยบดร้อยละ 5
กรรมวิธีที่ 3 น้ำตาลร้อยละ 0 กล้วยบดร้อยละ 10
กรรมวิธีที่ 4 น้ำตาลร้อยละ 2 กล้วยบดร้อยละ 0
กรรมวิธีที่ 5 น้ำตาลร้อยละ 2 กล้วยบดร้อยละ 5
กรรมวิธีที่ 6 น้ำตาลร้อยละ 2 กล้วยบดร้อยละ 10
กรรมวิธีที่ 7 น้ำตาลร้อยละ 4 กล้วยบดร้อยละ 0
กรรมวิธีที่ 8 น้ำตาลร้อยละ 4 กล้วยบดร้อยละ 5
กรรมวิธีที่ 9 น้ำตาลร้อยละ 4 กล้วยบดร้อยละ 10

2.4.3 วิธีการเตรียมอาหาร

แต่ละกรรมวิธีเตรียมอาหาร 100 มล ทำตามขั้นตอนข้อ 1.1.3 ในการทดลองที่ 1.1 แต่ไม่เติมน้ำมะพร้าว และปรับความเข้มข้นน้ำตาล และน้ำมันฝรั่งสกัด ตามกรรมวิธีดังกล่าว แล้วใช้ปริมาตรของส่วนผสมตามตาราง 8

การเตรียมกล้วยหอมบดโดยการปั่นกล้วยด้วยเครื่องปั่น

2.4.4 การบันทึกผลการทดลอง

บันทึกผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 8 ปริมาตรของอาหาร น้ำตาลซูโครส และกล้วยบดในกรรมวิธีต่างกัน

ร้อยละ	ร้อยละน้ำตาลซูโครส					
กล้วยบด	0		2		4	
0	อาหารพื้นฐาน น้ำตาล กล้วยบด	50 มล 0 มล 0 ก	อาหารพื้นฐาน น้ำตาล กล้วยบด	50 มล 10 มล 0 ก	อาหารพื้นฐาน น้ำตาล กล้วยบด	50 มล 20 มล 0 ก
5	อาหารพื้นฐาน น้ำตาล กล้วยบด	50 มล 0 มล 5 ก	อาหารพื้นฐาน น้ำตาล กล้วยบด	50 มล 10 มล 5 ก	อาหารพื้นฐาน น้ำตาล กล้วยบด	50 มล 20 มล 5 ก
10	อาหารพื้นฐาน น้ำตาล กล้วยบด	50 มล 0 มล 10 ก	อาหารพื้นฐาน น้ำตาล กล้วยบด	50 มล 10 มล 10 ก	อาหารพื้นฐาน น้ำตาล กล้วยบด	50 มล 20 มล 10 ก

เตรียมอาหารปริมาตรสุดท้ายกรรมวิธีละ 100 มล

การทดลองที่ 2.5 ผลของ NAA และ BA ที่มีผลต่อการเจริญของต้นและหัว

2.5.1 อุปกรณ์การทดลอง

ต้นอ่อนกล้วยไม้ดินท้าวคูลูดอกเล็กที่มียอด 2 – 3 มม

2.5.2 วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมในสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in CRD) โดยมี 2 ปัจจัย คือความเข้มข้นBA 5 ระดับ และความเข้มข้น NAA 4 ระดับ รวม 20 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ โดยเลี้ยงต้นอ่อนกล้วยไม้ลงบนอาหารวุ้นสูตร Vacin and Went (1949) ดัดแปลง (CMU1) ที่ประกอบด้วยต่างๆ ตามข้อ 2.2.2 ในการทดลองที่ 2.2 และเติมน้ำมะพร้าวร้อยละ 15

การเติม BA 5 ระดับคือ 0, 0.5, 1.0, 2.0 และ 4.0 มล/ล และ NAA 4 ระดับ คือ 0, 0.5, 1.0 และ 2.0 มล/ล ตามกรรมวิธีที่ใช้ในการทดลองคือ

กรรมวิธีที่ 1 NAA 0 มล/ล BA 0 มล/ล

กรรมวิธีที่ 2 NAA 0 มล/ล BA 0.5 มล/ล

กรรมวิธีที่ 3 NAA 0 มล/ล BA 1.0 มล/ล

กรรมวิธีที่ 4 NAA 0 มล/ล BA 2.0 มล/ล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

กรรมวิธีที่ 5 NAA 0 มล/ล BA 4.0 มล/ล

กรรมวิธีที่ 6 NAA 0.5 มล/ล BA 0 มล/ล

กรรมวิธีที่ 7 NAA 0.5 มล/ล BA 0.5 มล/ล

กรรมวิธีที่ 8 NAA 0.5 มล/ล BA 1.0 มล/ล

กรรมวิธีที่ 9 NAA 0.5 มล/ล BA 2.0 มล/ล

กรรมวิธีที่ 10 NAA 0.5 มล/ล BA 4.0 มล/ล

กรรมวิธีที่ 11 NAA 1.0 มล/ล BA 0 มล/ล

กรรมวิธีที่ 12 NAA 1.0 มล/ล BA 0.5 มล/ล

กรรมวิธีที่ 13 NAA 1.0 มล/ล BA 1.0 มล/ล

กรรมวิธีที่ 14 NAA 1.0 มล/ล BA 2.0 มล/ล

กรรมวิธีที่ 15 NAA 1.0 มล/ล BA 4.0 มล/ล

กรรมวิธีที่ 16 NAA 2.0 มล/ล BA 0 มล/ล

กรรมวิธีที่ 17 NAA 2.0 มล/ล BA 0.5 มล/ล

กรรมวิธีที่ 18 NAA 2.0 มล/ล BA 1.0 มล/ล

กรรมวิธีที่ 19 NAA 2.0 มล/ล BA 2.0 มล/ล

กรรมวิธีที่ 20 NAA 2.0 มล/ล BA 4.0 มล/ล

2.5.3 วิธีการเตรียมอาหาร

แต่ละกรรมวิธีเตรียมอาหาร 100 มล ทำตามขั้นตอนข้อ 1.1.3 ในการทดลองที่ 1.1 แต่ปรับความเข้มข้น NAA และ BA ตามกรรมวิธีดังกล่าว แล้วใช้ปริมาตรของส่วนผสมตามตาราง 9

การเตรียม NAA โดยชั่ง NAA 2.0 มก ละลายด้วย absolute ethanol เล็กน้อย แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มล

การเตรียม BA โดยชั่ง BA 4.0 มก ละลายด้วย 1N KOH เล็กน้อยแล้วปรับปริมาตรสุดท้ายด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มล

2.5.4 การบันทึกผลการทดลอง

บันทึกผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 2.1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตาราง 9 ปริมาตรของอาหาร ความเข้มข้นของ NAA และ BA ในกรรมวิธีต่างกัน

BA (มก/ล)	NAA (มก/ล)			
	0	0.5	1.0	2.0
0	อาหารพื้นฐาน 50 มล NAA 0 มล BA 0 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล NAA 1.25 มล BA 0 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล NAA 2.5 มล BA 0 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล NAA 5.0 มล BA 0 มล
0.5	อาหารพื้นฐาน 50 มล NAA 0 มล BA 1.25 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล NAA 1.25 มล BA 1.25 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล NAA 2.5 มล BA 1.25 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล NAA 5.0 มล BA 1.25 มล
1.0	อาหารพื้นฐาน 50 มล NAA 0 มล BA 2.5 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล NAA 1.25 มล BA 2.5 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล NAA 2.5 มล BA 2.5 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล NAA 5.0 มล BA 2.5 มล
2.0	อาหารพื้นฐาน 50 มล NAA 0 มล BA 5.0 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล NAA 1.25 มล BA 5.0 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล NAA 2.5 มล BA 5.0 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล NAA 5.0 มล BA 5.0 มล
4.0	อาหารพื้นฐาน 50 มล NAA 0 มล BA 10.0 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล NAA 1.25 มล BA 10.0 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล NAA 2.5 มล BA 10.0 มล	อาหารพื้นฐาน 50 มล NAA 5.0 มล BA 10.0 มล

เตรียมอาหารปริมาตรสุดท้ายกรรมวิธีละ 100 มล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved