

ภาคผนวก

การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเอ็มบริโอ

การเตรียมสารละลายเข้มข้น (stock solution)

การเตรียมธาตุอาหารหลัก

เตรียมธาตุอาหารหลักที่ใช้สูตร MS (1962) ความเข้มข้น 10 x โดยชั่งสารแต่ละชนิดดังตารางผนวกที่ 1 ละลายสารแต่ละชนิดในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 1,000มล. แล้วเทใส่ขวดเก็บสารละลายเข้มข้นปิดฝาเก็บในตู้เย็น ตารางภาคผนวกที่ 1 ชนิดและปริมาณสารละลายเข้มข้นของธาตุอาหารหลักสูตร MS(1962)

ชนิดสาร	ปริมาณสารในสูตร MS (1962)	ปริมาณสารในน้ำยาความ เข้มข้น 10 x (ก/ล)
NH_4NO_3	1650	16.50
KNO_3	1900	19.00
$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440	4.40
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370	3.70
KH_2PO_4	170	1.70

การเตรียมธาตุอาหารรอง

การเตรียมธาตุอาหารรองสูตร MS (1962) โดยทำเป็นสารละลายเข้มข้นไว้ในขวดเดียวกัน ให้ความเข้มข้นขอสารมากกว่าที่ใช้จริง 100 เท่า (100X) เตรียมน้ำยาให้มีปริมาตรสุดท้าย 1,000 มล. โดใช้น้ำหนักของสารดังกล่าวต่อไปนี้

ตารางภาคผนวกที่ 2 ชนิดและปริมาณสารละลายเข้มข้นของธาตุอาหารรองสูตร MS(1962)

ชนิดสาร	ปริมาณสารในสูตร MS (1962)	ปริมาณสารในน้ำยาความ เข้มข้น 10 x (ก/ล)
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.025	2.5
KI	0.83	83
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	8.60	860
$\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	22.30	2,230
H_3BO_4	6.20	620
$\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0.25	25
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.025	25

การเตรียมสารอินทรีย์

การเตรียมสารอินทรีย์สูตร MS (1962) ทำเป็นสารละลายเข้มข้น รวมไว้ในขวดเดียวกัน ความเข้มข้นของสารมากกว่าใช้จริง 100 เท่า เตรียมน้ำยาให้มีปริมาตรสุดท้ายคือ 1,000 มล. โดยใช้น้ำหนักของสารดังกล่าวต่อไปนี้ (ตารางภาคผนวกที่ 3)

ตารางภาคผนวกที่ 3 ชนิดและปริมาณสารละลายเข้มข้นของสารอินทรีย์สูตร MS(1962)

ชนิดสาร	ปริมาณสารในสูตร MS (1962)	ปริมาณสารในน้ำยาความ เข้มข้น 10 x (ก/ล)
Glycine	2.00	200
Thiamine. HCl	0.25	25
Pyridoxine. HCl	0.25	25
Nicotinic acid	0.25	25
Myo-inositol	100	10,000

การเตรียมสารละลายเหล็กเข้มข้น

เตรียม FeEDTA สูตร MS (1962) ซึ่งประกอบด้วย FeSO_4 และ $\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ โดยทำเป็นสารละลายเข้มข้นของสารมากกว่าใช้จริง 100X เตรียมน้ำยาให้มีปริมาตรสุดท้าย 1,000 มล. ทำการเตรียมโดยชั่งสารแต่ละชนิดละลายน้ำให้มีปริมาตรสุดท้ายของแต่ละส่วนเป็น 500 มล. (ตารางภาคผนวกที่ 4) แล้วจึงนำมาผสมไว้ในขวดเดียวกันเก็บไว้ในขวดสีชาเพื่อป้องกันแสง ตารางภาคผนวกที่ 4 ชนิดและปริมาณสารละลายเข้มข้นของเหล็กสูตร MS(1962)

ชนิดสาร	ปริมาณสารในสูตร MS (1962)	ปริมาณสารในน้ำยาความ เข้มข้น 10 x (ก/ล)
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8	278
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	37.3	373

การเตรียมอาหารสูตรพื้นฐาน

นำส่วนประกอบของอาหารพื้นฐานสูตร MS (1962) จากน้ำยาเข้มข้นที่เตรียมไว้ในข้อ 1 ผสมให้เข้ากัน โดยใช้สารละลายเข้มข้นแต่ละชนิดดังแสดงไว้ในตารางภาคผนวกที่ 5 ขั้นตอนการเตรียมสูตรอาหาร MS (1962) ทำดังนี้

1. ใส่น้ำกลั่นลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 1,000 มล ประมาณ 1/3 ของขวดแล้วเติมสารละลายเข้มข้นของธาตุอาหารหลักลงทีละชนิด
2. เติมสารละลายเข้มข้นของธาตุอาหารรอง สารอินทรีย์ เหล็ก และสารควบคุมการเจริญเติบโตลงไปตามลำดับ โดยเขย่าขวดให้น้ำยาผสมกันดีระหว่างแต่ละครั้งที่เติม
3. ละลายน้ำตาลใส่ลงไป แล้วจึงเติมน้ำกลั่นลงไปจนปริมาตรสุดท้ายเป็น 1,000 มล
4. เทสารละลายลงในบีกเกอร์ขนาด 2,000 มลจากนั้นนำไปปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้ได้ 1N HCl และ 1N KOH
5. ใส่วุ้นลงไปในการแล้วนำไปต้มจนวุ้นละลาย
6. เตรียมใส่ขวดทดลองขนาด ปริมาตร 10 มล/ขวด แล้วปิดปากขวดด้วยฝาพลาสติก
7. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ตารางภาคผนวกที่ 5 ส่วนประกอบของสารละลายเข้มข้นแต่ละชนิดในอาหารสูตร MS (1962)

ชนิดสารละลาย	ปริมาณสารละลายเข้มข้นในอาหาร 1 ลิตร(มล)
สารละลายธาตุอาหารหลักความเข้มข้น 10X	100
สารละลายธาตุอาหารรองความเข้มข้น 10X	10
สารละลายสารอินทรีย์ความเข้มข้น 100X	10
สารละลายเหล็กความเข้มข้น 100X	10
น้ำมะพร้าว	100
Indole acetic acid	0.5-1 มก.
Benzyladenine	0.5-1 มก.
น้ำตาลซูโครส (น้ำหนัก / ปริมาตร)	30 ก/ล
ผงวุ้น (น้ำหนัก / ปริมาตร)	6 ก/ล

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ขนิษฐา เสนาวงค์	
วัน เดือน ปีเกิด	9 พฤศจิกายน 2507	
ประวัติการศึกษา	วุฒิ - ชื่อสถาบัน	ปีที่จบการศึกษา
	มัธยมศึกษาตอนต้น ผู้ใหญ่พุทธโสภณ เชียงใหม่	2523
	มัธยมศึกษาตอนปลาย สันป่าตองวิทยาคม เชียงใหม่	2525
	ปวส. (สาขาเกษตรกรรม) วิทยาลัยเทคโนโลยีและอาชีวศึกษา วิทยาเขต เกษตรลำปาง	2529
	ศศ.บ (การพัฒนาชุมชน) สถาบันราชภัฏ เชียงใหม่	2537
ที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้	53 หมู่ที่ 3 ตำบลบ้านกลาง อำเภอสันป่าตอง จังหวัดเชียงใหม่	50120
	โทรศัพท์ 053-829429	
ประสบการณ์การทำงาน	บริษัทท้อปคัลเลอร์ล่าเพื่อส่งออกกล้วยไม้	2529
	งานวิจัยไม้ดอก มูลนิธิโครงการหลวง	2530-ปัจจุบัน