



ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ตารางที่ ผ. 1 การเตรียมสารละลายเข้มข้น (Stock solution) ในสูตรอาหารของ

Murahige and Skoog (1962)

สต็อก	สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ (กรัม)	ความเข้มข้น (เท่า)	ปริมาตรที่ใช้ (มิลลิลิตร) ในอาหาร 1 ลิตร
1 MS Major Salts	NH_4NO_3 KNO_3 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	33.0 38.0 8.8	20 20 20	50
2 MS Minor Salts	H_3BO_3 KH_2PO_4 KI $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.62 17.0 0.083 0.025 0.0025	100 100 100 100 100	10
3 Sulphate Salts	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	37.5 2.23 0.0025 0.86	100 100 100 100	10
4 Iron salts	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ Na_2EDTA	2.785 3.725	100 100	10
5 MS Vitamins	Glycine Nicotinic acid Pyridoxine HCl Thiamine HCl myoinositol	0.4 0.1 0.1 0.02 0.1	200 200 200 200 1	5

วิธีการเตรียมสารละลายเข้มข้น

สต็อก 1 สารละลายเข้มข้นที่ใช้ปริมาณมาก (MS – Major Salts)

- 1.1 เติมน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร ลงในปิกเกอร์ขนาด 1 ลิตร
- 1.2 ใส่ NH_4NO_3 จำนวน 33.0 กรัม ลงในน้ำกลั่น คนให้ละลายแล้วจึงใส่ KNO_3 จำนวน 38.0 กรัม ลงไป เมื่อคนจนละลายดีแล้วจึงใส่ $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ จำนวน 8.8 กรัม ลงไป
- 1.3 ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร
- 1.4 เทเก็บใส่ขวดสีชา เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

สต็อก 2 สารละลายเข้มข้นที่ใช้ปริมาณน้อย (MS– Minor Salts)

- 2.1 เติมน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ลงในปิกเกอร์ขนาด 1 ลิตร
- 2.2 ใส่สารเคมีลงไปที่ละลายได้แก่ H_3BO_3 จำนวน 0.62 กรัม ตามด้วย KH_2PO_4 จำนวน 17.0 กรัม KI 0.083 กรัม $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ จำนวน 0.025 กรัม และ $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ จำนวน 0.0025 กรัม คนให้ละลาย โดยให้สารละลายตัวแรกที่เทลงไปแล้วละลายจนหมดก่อน แล้วจึงใส่สารตัวต่อไปลงไป จนครบทุกสาร
- 2.3 ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร
- 2.4 เทเก็บใส่ขวดสีชา เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

สต็อก 3 สารละลายเข้มข้นกลุ่มซัลเฟต (Sulphate Salts)

- 3.1 เติมน้ำกลั่น 800 มิลลิลิตร ลงในปิกเกอร์ขนาด 1 ลิตร
- 3.2 ใส่สารเคมีลงไปที่ละลายได้แก่ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ จำนวน 37.5 กรัม ตามด้วย $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ จำนวน 2.23 กรัม $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ จำนวน 0.0025 กรัม และ $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ จำนวน 0.86 กรัม คนให้ละลาย โดยให้สารละลายตัวแรกที่เทลงไปแล้วละลายจนหมดก่อน แล้วจึงใส่สารตัวต่อไปลงไป จนครบทุกสาร
- 3.3 ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร
- 3.4 เทเก็บใส่ขวดสีชา เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

สต็อก 4 สารละลายกลุ่มเหล็ก (Iron Salts)

- 2.1 เติมน้ำกลั่นร้อนประมาณ 80 องศาเซลเซียส ปริมาณ 800 มิลลิลิตร ลงไปใน
ปิកเกอร์ขนาด 1 ลิตร
- 2.2 ใส่ Na_2EDTA จำนวน 3.725 กรัม ลงไปคนให้ละลาย แล้วใส่ $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ จำนวน
2.785 กรัมลงไปคนให้ละลาย
- 2.3 ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร
- 2.4 เทเก็บใส่ขวดสีชา เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

สต็อก 5 สารละลายเข้มข้นกลุ่มวิตามิน (MS – Vitamins)

- 2.1 เติมน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร ไปในปิกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
- 2.2 ใส่สารเคมีลงไปคนทีละสาร ได้แก่ Glycine จำนวน 0.4 กรัม ตามด้วย Nicotinic
acid จำนวน 0.1 กรัม Pyridoxine HCl จำนวน 0.1 กรัม Thiamine HCl จำนวน 0.02
กรัม และ myoinositol จำนวน 0.1 กรัม สำหรับไทอามีนไฮโดรคลอไรด์ ให้นำไปละลาย
ในแอลกอฮอล์ 95% โดยหยดแอลกอฮอล์ลงไปประมาณ 1 มิลลิลิตร ก่อน แล้วจึงเติม
น้ำ และนำมาผสมรวมกับสารตัวอื่นๆ
- 2.3 ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตร
- 2.4 เทเก็บใส่ขวดสีชา เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การเตรียมสารละลายควบคุมการเจริญเติบโต

1. เตรียมโดยชั่ง NAA 0.1 กรัม ใส่ลงในปิกเกอร์ ใส่ NaOH 1 N ลงไปประมาณ 1
มิลลิลิตร คนจนละลายหมด
2. เติมน้ำกลั่นลงไปประมาณ 50 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน แล้วนำไปปรับปริมาตรให้
ครบ 100 มิลลิลิตร
3. เก็บสารละลายไว้ในขวดสีชา ป้องกันแสง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
4. สำหรับ BA ก็เตรียมเช่นเดียวกัน

ภาคผนวก ข

แสดงขั้นตอนวิธีการทดลอง

การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสกุลไพล (*Zingiber spp.*)



ภาพที่ ข.1 หน่ออ่อนที่มีตาอยู่ด้วย

ภาพที่ ข.2 การตัดแบ่งโคนหน่ออ่อนออกเป็น
4 ชิ้น ตามแนวแท่งมุม



ภาพที่ ข.3 การเก็บขวดเพาะเลี้ยงไว้ในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ



ภาพที่ ข.4 ลักษณะของยอดไฟล์เหลืองบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 และ 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการเลี้ยง 5 สัปดาห์



ภาพที่ ข.5 ลักษณะของยอดไฟล์เหลืองบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการเลี้ยง 5 สัปดาห์



ภาพที่ ข.6

ลักษณะของยอดของโพลีเอสเตอร์ที่เลี้ยงบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการทดสอบครบ 10 สัปดาห์



ภาพที่ ข.7

ลักษณะปลายใบของโพลีเอสเตอร์ที่เริ่มมีสีเหลืองซีด บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ ข.8

ลักษณะของยอดที่เกิดขึ้นของโพลต้า มีสีเขียวเข้ม ตามก้านใบและลำต้นเกิดเป็นสีแดงปนม่วง บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการทดลอง 5 สัปดาห์



ภาพที่ ข.9

ลักษณะของโพลต้าบนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อทำการทดลองครบ 10 สัปดาห์



ภาพที่ ข.10 ลักษณะของซิง บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3.5 มิลลิกรัม ต่อลิตร เมื่อทำการทดลอง 5 สัปดาห์



ภาพที่ ข.11 ลักษณะของซิง ที่อยู่บนอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3.5 มิลลิกรัม ต่อลิตร เมื่อทำการทดลองครบ 10 สัปดาห์

ภาพการเจริญของแคลสส์เหี่ยวหวาน



ภาพที่ ข 12 การเจริญของแคลสส์เหี่ยวหวาน ที่ NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ ข 13 การเจริญของแคลสส์เหี่ยวหวาน ที่ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ ข 14 การเจริญของแคลลัสเหี่ยวหวาน ที่ NAA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ ข 15 การเจริญของแคลลัสเหี่ยวหวาน ที่ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ ข 16 การเจริญของแคลลัสหญาหวน ที่ NAA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ ข 17 การเจริญของแคลลัสหญาหวน ที่ NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 1 มิลลิกรัมต่อลิตร



ภาพที่ ข 18 การเจริญของแคลลัสหุ้มหวาน ที่ NAA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA 2 มิลลิกรัมต่อลิตร