

๒๖๑๘๗

31

32



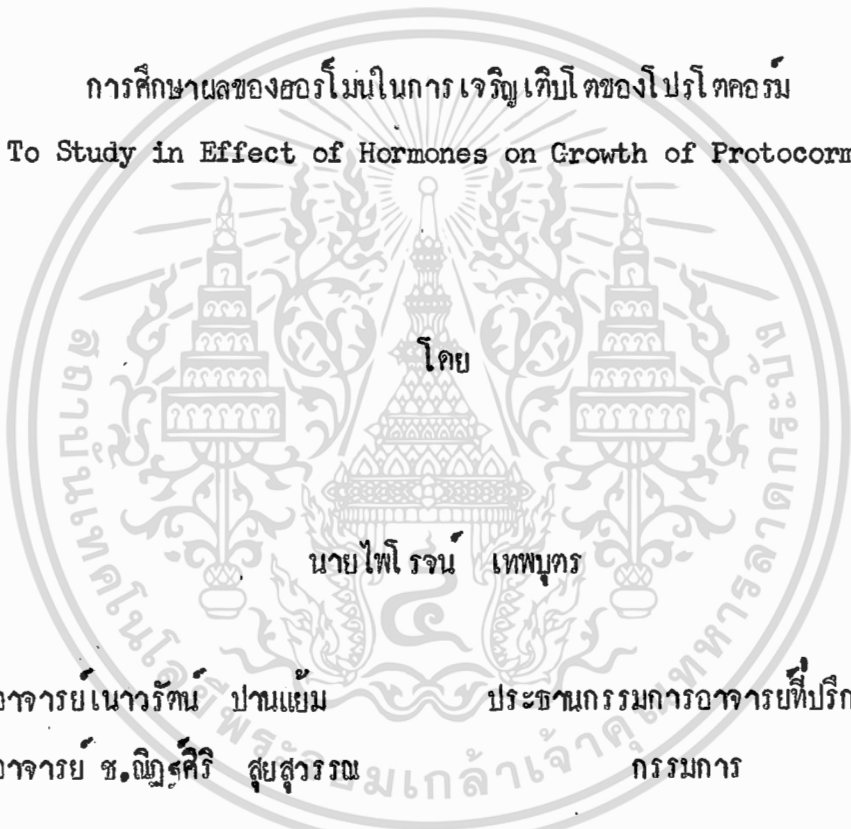
T100384

วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีบุรีรัมย์
ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

เรื่อง

การศึกษานผลของฮอร์โมนในการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม

To Study in Effect of Hormones on Growth of Protocorm



นายไพโรจน์ เทพบุตร

อาจารย์เนาวรัตน์ ปานแย้ม ประธานกรรมการอาจารย์ที่ปรึกษา
อาจารย์ ช.ณัฐศิริ สุธสุพรรณ กรรมการ

ภาควิชารับรองแล้ว

๑/พ.

พ.๑๑๒๗

๒๕๒๔

ของพญ.

เลขทะเบียน 100384

วันเดือนปี.....18 JUN 2009

(นางศรีประไพ จันทร์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

วันที่ ๘ เดือน มิ.ย. พ.ศ. ๒๕๕๔

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

เรื่อง

การศึกษานวลของฮอร์โมนในการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม

To Study in Effects of Hormones on Growth of Protocorm

ความมุ่งหมายของการศึกษาทดลองใช้ ออกซิน (Auxin) และไซโตไคนิน

(Cytokinin) ทดการเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มของกล้วยไม้จำพวก หวาย พันธุ์แจกเกดกลิ่น

โทมาส (Dendrobium Jacquelyn Thomas) เพื่อศึกษาอิทธิพลของ ออกซิน และไซโตไคนิน

ต่อการเจริญเติบโตไปเป็นยอดและรากของโปรโตคอร์มกล้วยไม้

จากการศึกษาได้พบว่า ถ้านำโปรโตคอร์มของกล้วยไม้ไปเลี้ยงในสูตรอาหารที่ระดับความเข้มข้นของ ออกซินและไซโตไคนินต่าง ๆ กัน โดยแบ่งออกเป็น ๒ กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ ๑ ศึกษาของฮอร์โมน NAA กับน้ำมะพร้าวอ่อน ฮอร์โมน NAA มีความเข้มข้น ๑, ๒, ๓ และ ๔ ppm รวมกับน้ำมะพร้าวอ่อน มีความเข้มข้น ๑๐ เปอร์เซ็นต์ และ ๑๕ เปอร์เซ็นต์

กลุ่มที่ ๒ ศึกษาของฮอร์โมน NAA กับ BA ฮอร์โมน NAA มีความเข้มข้น ๑, ๒, ๓ และ ๔ ppm ฮอร์โมน BA มีความเข้มข้น ๑ และ ๒ ppm

ผลปรากฏว่า อาหารที่มีออกซินมาก แต่มีไซโตไคนินน้อย ในระดับความเข้มข้น ๑ และ ๒ ppm โปรโตคอร์มจะเจริญไปเป็นรากได้ดี ปรากฏในสูตร MS+10%CW+2ppmNAA

สูตรอาหารที่มีออกซินน้อย ไซโตไคนินมาก ในระดับความเข้มข้น ๑ และ ๒ ppm โปรโตคอร์มจะเจริญเป็นยอดได้ดี ปรากฏในสูตร MS+15%CW+2ppmNAA, MS+15%CW+1ppmNAA, MS+2ppmBA+1ppmNAA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

สารบัญภาพ	(๒)
คำนำ	๑
การตรวจเอกสาร	๒
อุปกรณ์และวิธีการ	๓
ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล	๑๓
สรุปผล	๒๕
เอกสารอ้างอิง	๓๐
ภาคผนวก	๓๔



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่

หน้า

- ๑ แสดงปริมาณจำนวนยอคเฉลี่ยของโปรโตคอร์ม ที่เพาะเลี้ยงจากสูตรอาหารที่เติม ฮอร์โมน NAA ในปริมาณความเข้มข้น ๑,๒,๓ และ ๔ ppm และเติมน้ำมะพร้าวอ่อน ๑๐ เปอร์เซ็นต์ และ ๑๕ เปอร์เซ็นต์ ในตัวรับต่าง ๆ ๑๘
- ๒ แสดงปริมาณจำนวนรากเฉลี่ยของโปรโตคอร์มที่เพาะเลี้ยงจากสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน NAA ในปริมาณความเข้มข้น ๑,๒,๓ และ ๔ ppm และเติมน้ำมะพร้าวอ่อน ๑๐ เปอร์เซ็นต์ และ ๑๕ เปอร์เซ็นต์ ในตัวรับต่าง ๆ..... ๑๖
- ๓ แสดงปริมาณจำนวนยอคเฉลี่ยของโปรโตคอร์มที่เพาะเลี้ยงจากสูตรอาหารที่เติม ฮอร์โมน NAA ในปริมาณความเข้มข้น ๑ และ ๒ ppm และเติม ฮอร์โมน BA ความเข้มข้น ๑ และ ๒ ppm ในตัวรับต่าง ๆ ๑๘
- ๔ แสดงปริมาณจำนวนรากเฉลี่ยของโปรโตคอร์มที่เพาะเลี้ยงจากสูตรอาหารที่เติมฮอร์โมน NAA ในปริมาณความเข้มข้น ๑ และ ๒ ppm และเติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น ๑ และ ๒ ppm ในตัวรับต่าง ๆ ๒๐

สารบัญตารางผนวก

ตารางผนวกที่

หน้า

- | | | |
|---|---|----|
| ๑ | สูตรอาหารของ Murashige and Skoog (1962) | ๓๔ |
| ๒ | สูตรอาหาร Vacin และ Went (1949) | ๓๖ |



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำและวัตถุประสงค์

คำนำ

กล้วยไม้เป็นพืชสำคัญทางเศรษฐกิจมากขึ้น ทำรายได้ให้แก่ประเทศไทยปีละหลายล้านบาท จากอุตสาหกรรมการผลิตกล้วยไม้ตัดดอกเพื่อส่งไปจำหน่ายยังต่างประเทศ วงการกล้วยไม้ได้นำความเจริญก้าวหน้าทางเทคนิคในการเลี้ยงเนื้อเยื่อมาใช้กับกล้วยไม้ได้ผลดี สามารถที่จะทำเป็นเชิงการค้าได้กว้างขวางโดยเฉพาะอย่างยิ่ง การขยายพันธุ์กล้วยไม้ให้ได้จำนวนต้นที่มากในเวลาอันสั้น และทำได้ต้นพันธุ์ที่ปราศจากโรคต่าง ๆ ได้ ทำให้พันธุ์นี้ให้ผลผลิตสูง และมีคุณภาพดี ซึ่งเทคนิคในการเลี้ยง โปรโตคอร์ม กล้วยไม้ให้ได้ผลดีนั้น ได้มีการคิดค้นหาสูตรอาหารต่าง ๆ ในการเลี้ยงโปรโตคอร์ม และในสูตรอาหารต่าง ๆ ได้มีการปรับปรุงเพื่อที่จะให้ได้สูตรที่ดีในการเลี้ยง โปรโตคอร์ม ฉะนั้นการศึกษาเกี่ยวกับสูตรอาหารที่เหมาะสมในการเลี้ยง โปรโตคอร์ม กล้วยไม้ให้ได้ปริมาณต้นที่มาก เป็นประโยชน์มากกับกล้วยไม้ที่จะใช้ปลูกตัดดอกเป็นการค้า

วัตถุประสงค์

๑. ศึกษาผลของฮอร์โมน NAA, BA และน้ำมะพร้าวอ่อนในการพัฒนาจากโปรโตคอร์ม ไปเป็นยอดและรากของกล้วยไม้ *Dendrobium Jacquelyn Thomas*.
๒. เป็นการฝึกความชำนาญในการเลี้ยงโปรโตคอร์ม
๓. เป็นการเผยแพร่วิธีการขยายพันธุ์กล้วยไม้วิธีหนึ่ง

การตรวจเอกสาร

ในปัจจุบันการขยายพันธุ์กล้วยไม้ให้ได้ผลแน่นอนและรวดเร็ว นิยมการขยายพันธุ์ด้วยการเพาะโปรโตคอร์ม (Protocorm) ¹ ในสูตรอาหารที่มีสารการเร่งความเจริญเติบโต น้ำตาล ไวตามิน, กรดอะมิโน และธาตุอาหารที่พืชต้องการ รวมอยู่ในรูปอาหารแข็ง หรืออาหารเหลว มีรายงานการทดลองเกี่ยวกับสูตรอาหารเสมอ ทั้งนี้การเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มจะประสบผลสำเร็จได้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการดังนี้

๑. สารอนินทรีย์ (Inorganic Salts)

Withner (1942) รายงานว่ากล้วยไม้จะเติบโตได้ดีที่สุด เมื่อไนโตรเจนและแอมโมเนียมี ประกอบอยู่ด้วยกัน มากกว่าที่จะมีไนโตรเจนอย่างเดียว

Curtis (1947) รายงานว่ากล้วยไม้สกุล *Cymbidium* จะใช้ไนโตรเจนในรูปไนเตรตได้ดีกว่าในรูปของแอมโมเนีย และดีกว่าเล็กน้อยสำหรับกล้วยไม้สกุลคัทลียา แต่ให้ผลเร็วในกล้วยไม้สกุลแวนด้า Murashige and Skoog (1962) ได้ทดลองใช้ iron chelate ขนาดต่าง ๆ กันในสูตรอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อสาบ พบว่า iron chelate 0.1 M ให้ผลดีที่สุด

๒. สารอินทรีย์ (Organic Substances) ได้แก่สารที่มีองค์ประกอบคาร์บอน ไฮโดรเจน และ ออกซิเจน แบ่งเป็นหลายพวกคือ

1 Protocorm มีลักษณะเป็นก้อนสีเขียวลึก ๆ ของกล้วยไม้ ซึ่งยังไม่เป็นรูปเป็นร่าง ทอไปจะเจริญเป็นต้นกล้าอ่อน (Withner, C.L. 1974 และระพี สาคริก 2513

๒.๑ น้ำตาล (Sugar) เป็นสารที่ให้พลังงาน

White (1951) กล่าวว่า monosaccharides โดยเฉพาะกลูโคส (glucose) เหมาะสำหรับนำมาใช้เป็นแหล่งให้พลังงาน Withner (1959) กล่าวว่า น้ำตาล ซูโครส (sucrose) เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ดีที่สุด Yates และ Curtis (1949) รายงานว่าอัตราการเจริญเติบโตระหว่างต้นกับราก ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของน้ำตาลและปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลกระทบต่อ metabolism ของคาร์โบไฮเดรต

๒.๒ วิตามิน (Vitamins) ไพบูลย์ (๒๕๒๘) ได้กล่าวว่า วิตามิน บี เป็นวิตามินที่ใช้น้ำมาก ได้แก่ ไทอามีน (thiamine) ไพริดอกซีน (pyridoxine) นีโคตินิกแอซิด (nicotinic acid)

๒.๓ สารเร่งการเจริญเติบโต (growth regulators) สารอินทรีย์มีประสิทธิภาพทางด้าน การเจริญเติบโตของโปรโตคอรัม การแบ่งเซลล์และขยายเซลล์ กลุ่มสารเร่งการเจริญเติบโต ได้แก่

๒.๓.๑ ออกซิน (auxins) ไพบูลย์ (๒๕๒๘) ได้กล่าวว่า สารกลุ่มออกซินที่นิยมใช้ได้แก่ อินโดลอะเซติกแอซิด (indoleacetic acid = IAA) แอลฟาแนฟทา-ลีนอะเซติก แอซิด (α -naphthaleneacetic acid = NAA) และ ๒,๔-ไดคลอโรฟีน็อกซีอะเซติก แอซิด (2,4-dichlorophenoxyacetic acid = 2,4-D) เป็นสารทำให้เกิดการยึดตัวของเซลล์ ยึดตัวของรากและเกิดโปรโตคอรัม Okazawa (1968) และ Quak (1976) พบว่า ออกซิน กระตุ้นให้เกิดรากและความเข้มข้นของออกซินสูงจะเป็นตัวยับยั้งการงอกราก Whit (1951) ได้รวบรวมรายงานการทดลองเกี่ยวกับสารออกซินไว้ว่า เมื่อเติม IAA ลงไปในเนื้อเยื่อของแครอท (carrot) และอาร์ติโชก (artichoke) จะทำให้การเลี้ยงเนื้อเยื่อของผัก ๒ ชนิดนี้ประสบผลสำเร็จ

๒.๓.๒ ไซโตไคนิน (Cytokinins) ไพนูลย์ (๑๙๖๘) ได้กล่าวว่า สารกลุ่ม ไซโตไคนินตัวที่นิยมใช้ได้แก่ ๖ - เพอร์เฟอร์ลอมิโนเพียวรีน (6 - furfurylamino purine = Kinetin) และ ๖ - เบนซิลอเดนีน (6 - benzyle adenine = 6-BA) เป็นสารสามารถชักนำให้มีการเปลี่ยนแปลงทางสรีระได้หลายทาง เป็นตัวนำในการเคลื่อนย้ายธาตุอาหารและเมตาโบลิซึมต่าง ๆ ยับยั้งการร่วงของใบ บรรเทาอาการอันเนื่องจากขาดธาตุอาหารหรืออุณหภูมิไม่เหมาะสม เพิ่มอัตราการคายน้ำของใบและชักนำให้มีการสังเคราะห์โปรตีน และ RNA Quak (1976) พบว่าไซโตไคนิน เป็นตัวกระตุ้นให้เนื้อเยื่อเจริญเติบโต Okazawa และคณะ (๑๙๖๓) พบว่า ไซโตไคนินช่วยทำให้แคลลัสนั้น เจริญไปเป็นต้นอ่อน และถ้าความเข้มข้นของไซโตไคนินสูงจะเป็นตัวยับยั้งการเจริญเติบโตของต้น Overbeek (1941) พบว่า ไซโตไคนิน สารนี้มีในน้ำมะพร้าวและเป็นปัจจัยการเจริญเติบโตที่มีอำนาจอย่างหนึ่ง และทำให้การค้นคว้าเกี่ยวกับการเลี้ยงเนื้อเยื่อประสบความสำเร็จ

๒.๓.๓ ออกซิน และ ไซโตไคนิน สารควบคุมการเจริญเติบโตของพืชมีผลต่อการเพาะเลี้ยง โปรโตคอร์ม ได้แก่ ออกซินและไซโตไคนิน ควรจะอยู่ในอัตราส่วนที่พอเหมาะจึงจะทำให้การเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มเป็นไปด้วยดี Miller and Skoog (1957) ได้รายงานว่าการเกิดเป็นต้น ราก หรือ แคลลัสของพืช แต่ละชนิดนั้นขึ้นกับความสมดุลของปริมาณออกซินและไซโตไคนินในอาหารหาอัตราส่วนของ ออกซิน ต่อไซโตไคนิน มีอยู่ในอัตราส่วนที่เหมาะสมเนื้อเยื่อจะเจริญเป็นต้นและรากที่สมบูรณ์ แต่หาอัตราส่วนของ ออกซินต่อไซโตไคนิน ไม่เหมาะสมเนื้อเยื่อจะเจริญไปเป็นยอดหรือรากมาก ขึ้นกับปริมาณออกซิน และไซโตไคนิน ว่ากลุ่มใดมีมากกว่ากัน หากมีปริมาณออกซินมาก ทำให้อัตราส่วนออกซินต่อไซโตไคนินสูงกว่าอัตราส่วนสมดุล เนื้อเยื่อจะเจริญเป็นก้อนแคลลัสและราก แต่ถ้ามีปริมาณ ออกซินน้อย แต่มีไซโตไคนินมาก ทำให้อัตราส่วนออกซินต่อไซโตไคนินต่ำ ก็จะทำให้เนื้อเยื่อเจริญเป็นยอดมาก Okazawa และคณะ (๑๙๖๓) ศึกษาอัตราส่วนของออกซินต่อไซโตไคนิน โดยเลี้ยงเนื้อเยื่อในอาหารสังเคราะห์ พบว่าแคลลัสจะเจริญเติบโตเป็นต้นได้ต้องมี ออกซินร่วมกับไซโตไคนินในปริมาณที่พอดี โดยออกซินมีผลให้เกิดแคลลัสบนเนื้อเยื่อ และไซโตไคนินช่วยทำให้แคลลัสนั้นพัฒนาไปเป็นต้นอ่อน Isbrahim (1969) ได้นำ

ห้องสมุด
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
เลขทะเบียนหนังสือ.....
เลขหมู่.....

31 ส.ค. 2524

เอาแคลลัสที่ได้จากการเพาะเลี้ยงรากของแครอทที่มีชักนำให้เกิดเป็นต้นโดยพืช NAA และ Kinetin ปริมาณที่เหมาะสมคือ NAA ๒.๒ มิลลิกรัมต่อลิตร และ Kinetin ๐.๒ มิลลิกรัมต่อลิตร

๒.๓.๘ สารกลุ่มอื่น ไพบูลย์ (๒๕๒๔) ได้กล่าวว่า จิบเบอเรลลิน (gibberellins) นั้น ไมคอยนิมิไซ จะใช้บ้างในบางพืช

๒.๔ กรดอะมิโน (amino acid) ไพบูลย์ (๒๕๒๔) กล่าวว่า กรดอะมิโนตัวที่นิยมใช้มาก คือ ไกลซีน (glycine)

๒.๕ สารอินทรีย์อื่น ๆ สารเหล่านี้ส่วนใหญ่ได้จากผลิตภัณฑ์จากพืช

น้ำมะพร้าวอ่อน Miller และคณะ (๑๙๕๕) ได้พบว่าสารนี้มีคุณสมบัติทำให้เกิดมีการแบ่งเซลล์ และกระตุ้นให้เกิดมีการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อพืช ที่ตัดมาเลี้ยงเมื่อเติม ซีทิน (Zeatin) ที่มีความเข้มข้นต่ำกว่า 5×10^{-11} M จะเกิดการแบ่งเซลล์ในท่อนอาหารของแครอทที่นำมาเลี้ยง ไฮโตโคนินยังชักนำให้เกิด ตา และ ยอด เมื่อตัดเอาส่วนของต้นมาเลี้ยง Letham (1969) ได้รายงานว่า ไฮโตโคนินในน้ำมะพร้าวอ่อนเป็นผลของ ซีทิน จะช่วยให้อาหารและเกลือแร่เข้าไปในเซลล์ของพืช Hegarty (1955) พบว่าการเติมน้ำมะพร้าวลงในน้ำ ๑๐ เปอร์เซ็นต์ และ indolebutyric acid (IBA) ๓ มิลลิกรัมต่อลิตร เร่งการงอกของเมล็ดกล้วยไม้ รองเท้านารี และวานิลลา (Vanilla) Sagawa (1962) ใช้น้ำมะพร้าวอ่อน ๒๕ เปอร์เซ็นต์ เติมน้ำลงในสูตรอาหารของแวกซิน และเว็นท์ (Vacin and Went) เพาะเมล็ดกล้วยไม้ สกุลหวายที่มีอายุพัก ๔๕ วัน ขึ้นได้ดี Caplin และ Steward (1948) พบว่าน้ำมะพร้าวมี pH ประมาณ ๕.๖ - ๕.๙ Dunston (1907) พบว่าน้ำตาลในน้ำมะพร้าวอ่อนเป็นน้ำตาลกลูโคส เป็นส่วนมาก (กลูโคส ๓.๙ เปอร์เซ็นต์ และซูโครสเล็กน้อย) เมื่อผลแก่น้ำตาลกลูโคสนี้จะเปลี่ยนเป็นน้ำตาลซูโครส (ซูโครส ๔.๔ เปอร์เซ็นต์และกลูโคสเล็กน้อย) Tulecke (1960) ได้วิเคราะห์น้ำมะพร้าวจากมะพร้าวอ่อนปานกลางและแก่พบว่ามีการคือนทรีย์ที่ไม่ระเหย น้ำตาล

และ RNA - DNA phosphorus ซึ่งสารเหล่านี้จะช่วยเร่งการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อ

Radley และ Dear (1958) พบว่ามีสารประเภทจิบเบอเรลลิน (gibberellin) ในเนื้อและน้ำมะพร้าว ซึ่งในน้ำมะพร้าวอ่อนมีมากกว่าในน้ำมะพร้าวแก่

Cutter and Wilson (1954) รายงานว่าในเนื้อและน้ำมะพร้าวแก่มีสารที่ยับยั้งการเจริญเติบโต สารนี้จะมีอิทธิพลยิ่งขึ้นในที่มีคและ เป็นปัจจัยที่ทนต่อความร้อน ในน้ำมะพร้าวอ่อนเท่านั้นที่มีสารเร่งการเจริญเติบโตของคัพคะที่ยังอ่อนอยู่ ซึ่งจะสลายตัวได้เป็นบางส่วนเมื่อถูกความร้อน Caplin และ Steward (1948) ใช้น้ำมะพร้าวเติมลงในอาหารที่ใช้เลี้ยง

Secondary pholem ซึ่งสกัดมาจากรากของแครอต ปรากฏว่า การเจริญเติบโตที่ดีที่สุด เมื่อเติมน้ำมะพร้าวลงไป ๑๕ - ๒๐ เปอร์เซ็นต์ ถ้าเกิน ๒๐ เปอร์เซ็นต์ อัตราการเจริญเติบโตจะลดลง และไม่มีการเจริญเติบโตในอาหารที่ใช้น้ำมะพร้าวอ่อนอย่างเดียว Caplin (1957) ยังพบว่าถ้าเติม cascien hydrolysate ลงในอาหารร่วมกับน้ำมะพร้าว ก็จะเร่งการเจริญเติบโตของแครอตได้ยิ่งขึ้น มานพ (๒๕๐๕) พบว่าการเติมน้ำมะพร้าวอ่อน น้ำสกัดมันฝรั่ง และกล้วยลงในอาหารแวกซีนและเว็นท เพื่อถ่ายยวคลูกกล้วยไม้สกุลช้าง ทำให้ลูกกล้วยไม้สามารถเจริญเติบโตเพราะสาร ๓ ชนิดข้างกมีผล ร่วมกันในการช่วยการเจริญเติบโตและเป็น buffer ที่ดี ทำให้ความเป็นกรดในวุ้นไม่เปลี่ยนแปลงมาก

อุปกรณ์และวิธีการ ✓

อุปกรณ์

๑. โพรโทคอรึม ของกล้วยไม้ Lendrobium Jacquelin Thomas
๒. เครื่องชั่ง (Balance) เป็นเครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดที่ชั่งได้ละเอียดเป็นกรัมและ

มิลลิกรัม

๓. เตาไฟฟ้า ใช้ผสมส่วนประกอบของอาหารให้เข้ากันและใช้สำหรับให้ความร้อนในการละลายวุ้น

๔. หม้อนึ่ง (Autoclave) แบบอัตโนมัติ ใช้ไฟฟ้าหรือแบบธรรมดาใช้แก๊ส

๕. ตู้เพาะกล้วยไม้ ใช้เป็นตู้เพาะแบบอบแก๊สฟอร์มาลีน

๖. สารเคมี

- เอทิลแอลกอฮอล์ (Ethylalcohol) 70 - 95 %
- เมทิลแอลกอฮอล์ (Methyl alcohol)
- ฟอร์มาลีน (Formaline)
- โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (Potassium permanganate)
- กรดไนตริก (Nitric acid) ความเข้มข้น ๑ นอร์มอล
- โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (Potassium Hydroxide) ความเข้มข้น ๑ นอร์มอล
- กรดเมคิวริก พิคริก (Mercuric piclic acid)
- สารเคมีที่เป็นสูตรอาหาร Murashige I Skoog กูตารางภาคผนวกที่ ๑

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

๗. เครื่องแก้ว

- จานแก้วฝาครอบ (Plate)
- กระจกทรงวง (Cylinder) ขนาด ๑๐, ๒๕, ๕๐, ๑๐๐ และ ๒๕๐ มิลลิลิตร
- ขวดแก้วก้นกลม (Valumetric flask) ขนาด ๑๐๐, ๒๕๐ และ ๑๐๐๐ มิลลิลิตร
- กระจกแก้ว (Beaker) ขนาด ๕๐, ๑๐๐, ๓๐๐, ๕๐๐, ๖๐๐, ๗๐๐ และ ๑๐๐๐ มิลลิลิตร
- ขวดใส่ Stock solution ขนาด ๒๕๐ และ ๑๐๐๐ มิลลิลิตร
- หลอดหยด (dropper)
- กรวยแก้ว (funnel)
- ขวดใส่อาหารเลี้ยงโปรโตคอร่มขนาด ๑๕๐ มิลลิลิตร
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- แท่งแก้วคนสาร เคมี
- ไปเปตต์ (Pipet) ขนาด ๑ และ ๑๐ มิลลิลิตร

๘. อุปกรณ์อื่น ๆ

- สำลี จุกยาง กระจกขนาด ๒ + ๒ นิ้ว หนึ่งยางรัดปากขวด
- กระจกอลูมิเนียม (Aluminum foil)
- อ่างน้ำ
- โตะสำหรับเตรียมอาหาร

- กระจกแก้วสำหรับชั้นสารเคมี
- ชั้นกักสารเคมี
- นีคและกรรไกร
- ปากคีบ
- ไม้ขีดไฟ

วิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ FACTORIAL EXPERIMENT (CRD) ตรวจสอบความแตกต่างแบบ Duncan's new multiple - range test ได้แบ่งการทดลองออกเป็น ๒ กลุ่ม

กลุ่มที่ ๑ ศึกษาผลของ ฮอร์โมน NAA กับน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีต่อความเจริญเติบโตของโปรโตคอร์มในสุกรอาหาร MS แบ่งออกเป็น ๘ คำรับ และคำรับละ ๓ ซ้ำ ดังนี้

- คำรับที่ ๑ MS + 10%CW + 1ppm NAA
- คำรับที่ ๒ MS + 10%CW + 2ppm NAA
- คำรับที่ ๓ MS + 10%CW + 3ppm NAA
- คำรับที่ ๔ MS + 10%CW + 4ppm NAA
- คำรับที่ ๕ MS + 15%CW + 1ppm NAA
- คำรับที่ ๖ MS + 15%CW + 2ppm NAA
- คำรับที่ ๗ MS + 15%CW + 3ppm NAA
- คำรับที่ ๘ MS + 15%CW + 4ppm NAA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลุ่มที่ ๒ ศึกษาของฮอร์โมน NAA กับ BA ที่มีต่อความเจริญเติบโตของโปรโต-
คอรึม ในสูตรอาหาร MS แบ่งออกเป็น ๔ คำรับ และคำรับละ ๓ ซ้ำ

คำรับที่ ๑ MS + 1ppm BA + 1ppm NAA

คำรับที่ ๒ MS + 1ppm BA + 2ppm NAA

คำรับที่ ๓ MS + 2ppm BA + 1ppm NAA

คำรับที่ ๔ MS + 2ppm BA + 2ppm NAA

- 1 MS หมายถึง Murashige and Skoog
- 2 CW หมายถึง น้ำมะพร้าวอ่อนซึ่งมีฮอร์โมน Kinetin ละลายตามธรรมชาติ
- 3 NAA หมายถึง (๑ naphthaleneacetic acid)
- 4 BA หมายถึง (6 - benzyl adenine)

วิธีดำเนินการทดลอง

นำโปรโตคอร์มกล้วยไม้ Dendrobium Jacquelyn Thomas มาเลี้ยงในอาหารแข็ง ซึ่งใช้ฮอร์โมน NAA, BA และน้ำมะพร้าวอ่อนในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ เติมลงในสูตรอาหาร Murashige and Skoog (MS) ^{/1} เพื่อศึกษาว่า ฮอร์โมนดังกล่าวที่ระดับความเข้มข้นใด จึงจะมีผลต่อความเจริญเติบโตของ โปรโตคอร์มดีที่สุด ขั้นตอนในการดำเนินงานมีดังนี้

การเตรียมอาหารแข็ง

เตรียมอาหาร ๑ ลิตร โดยตวงน้ำกลั่น ๑๐๐ มิลลิลิตร ใส่ในภาชนะที่ล้างสะอาดของธาตุอาหาร ไวตามิน กรดอะมิโน และฮอร์โมน ตามปริมาณที่คำนวณได้จากสูตร ถ้าเติมน้ำมะพร้าว ก็เติมน้ำมะพร้าวตามปริมาณที่กำหนดไว้ในกาทดลอง แล้วเติมน้ำกลั่นจนครบ ๑๐๐๐ มิลลิลิตร นำมาวัด pH ปรับ pH 5.6 โดยใช้ 1 N KOH หรือ 1 N HNO₃ เติมน้ำ ๘ กรัมต่อลิตร เพื่อทำอาหารแข็ง ทิ้งให้หืนละลายแล้วเติมน้ำตาลทราย ๓๐ กรัมต่อลิตร คนให้น้ำตาลละลาย บรรจุใส่ขวดขนาด ๑๕๐ มิลลิลิตร ขวดละ ๒๕ มิลลิลิตร อาหาร ๑ ลิตร บรรจุได้ ๔๐ ขวด เช็ดปากขวดให้สะอาดเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ อุดจุกขวดด้วยจุกยาง ซึ่งมีรูอุดสำคัญตรงกลางจุกเอากระดาษหุ้มทับจุกยางอีกชั้นหนึ่งให้ยางรัดแน่นแล้ว นำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดัน โดยให้ความดัน ๑๕ ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา ๓๐ นาที เสร็จแล้วนำขวดอาหาร เก็บไว้ใช้เพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มได้

การเตรียมเครื่องมือ

เครื่องมือที่จำเป็นต้องใช้ในการย้าย โปรโตคอร์มได้แก่ ปากคีบ มีดผ่าตัด เพลทบิกเกอร์ และภาชนะใส่น้ำกลั่น หอด้วยกระดาษ อลูมิเนียม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อ คือนึ่งที่อุณหภูมิ ๑๖๑

/1 สูตรอาหาร Murashige and Skoog (MS) ประกอบด้วย ธาตุอาหาร ไวตามิน กรดอะมิโน ฮอร์โมน น้ำตาล วน (รายละเอียดอยู่ในภาคผนวก)

องศาเซลเซียส เป็นเวลาอย่างน้อย ๑๕ นาที แล้วนำไปเก็บไว้ในตู้ ย้ายโปรโตคอร์ม ตะเกียง แอลกอฮอล์ควรรู้อะไรให้สะอาดด้วย แอลกอฮอล์ ๗๐ - ๘๕ เปอร์เซ็นต์ ก่อนย้ายโปรโตคอร์ม

การเตรียมตู้ย้ายโปรโตคอร์ม

ตู้แบบไม่มีเครื่องระบายอากาศกอนิชอบด้วย โปดัสเซียมเปอร์มังกาเนทและฟอร์มาลิน ๕๐ เปอร์เซ็นต์ โดยทิ้งไว้ ๒๔ ชั่วโมง

วิธีการย้ายโปรโตคอร์ม

นำโปรโตคอร์ม Dendrobium Jacquelyn Thomas และขวดอาหาร เข้าตู้ย้าย โดยเช็ดบริเวณผิวนอกขวดด้วย แอลกอฮอล์ก่อนสนปากขวดอาหารบนเปลวไฟแล้วเปิดจุกออกให้ขวดเปิด ใช้ปากคีบที่สะอาดซึ่งสนไฟเข้าเชื้อและเย็นลงแล้ว คีบโปรโตคอร์ม ไปลงในขวดอาหารให้โปรโตคอร์มสัมผัสกับอาหารปิดปากขวดอาหารด้วยจุกเค็ม เมื่อย้ายเสร็จหมด ขวดแล้วจึงนำขวดอาหารที่มี โปรโตคอร์มไปตั้งไว้ในสถานที่สำหรับเลี้ยง โปรโตคอร์ม ต่อไป

สถานที่เลี้ยงโปรโตคอร์ม

เลี้ยงในห้องที่มีอุณหภูมิห้อง มีแสง ๑๖๐ แสงเทียน โดยใช้หลอดฟลูออเรสเซนต์หลอดละ ๔๐ วัตต์ ๒ หลอด สูงจากโต๊ะ ๑ ฟุต

เวลาและสถานที่ทดลอง

เวลาเริ่มทดลอง ๒ พฤศจิกายน พ.ศ. ๒๕๖๓ สิ้นสุดการทดลอง ๕ กุมภาพันธ์ พ.ศ. ๒๕๖๔ สถานที่ ศึกษาศาสตร์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า วิทยาเขตเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

ผลการทดลอง

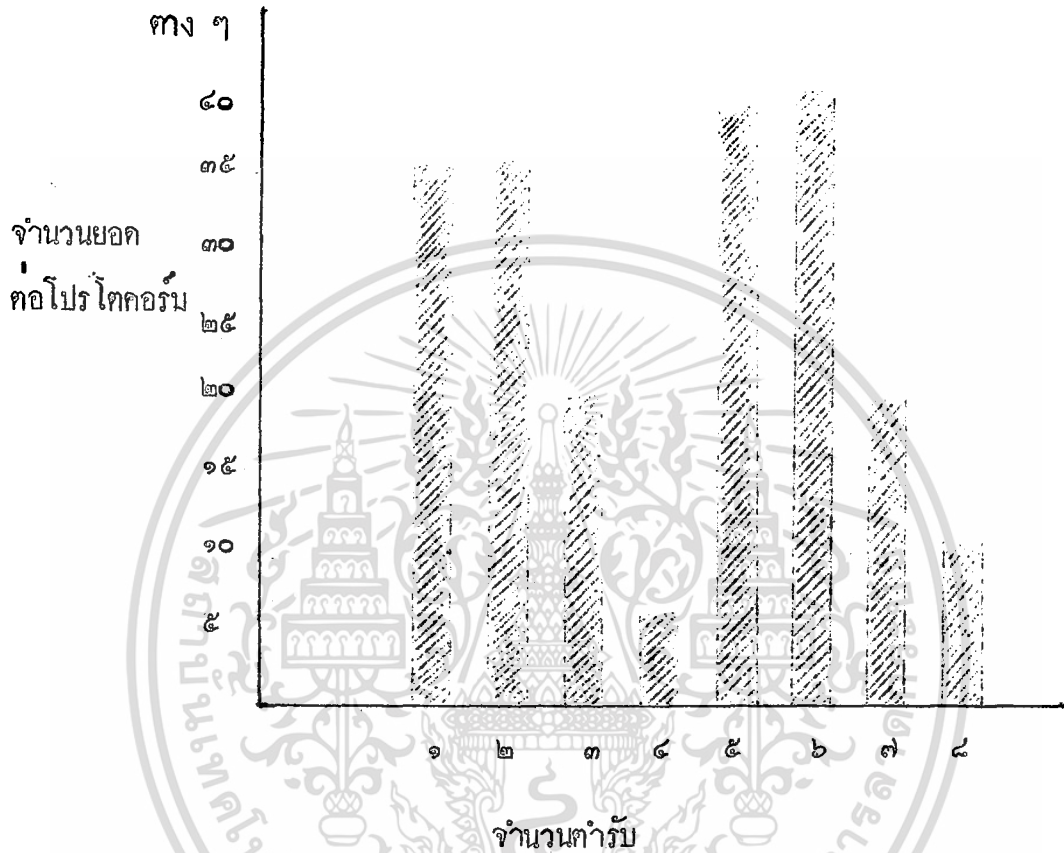
ผลของฮอร์โมน NAA กับน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีต่อจำนวนยอดของโปรอโตคอร์มในสูตรอาหาร MS

จากการทดลองเพาะเลี้ยงโปรอโตคอร์มของ Dendrobium Jacquelyn Thomas ในสูตรอาหารที่มีความแตกต่างของฮอร์โมน NAA และน้ำมะพร้าวอ่อน ปรากฏผลดังนี้

- ก. คำรับมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ ๑) คำรับที่ ๒ ($MS + 15\%CW + 2ppmNAA$) และคำรับที่ ๕ ($MS+15\%CW+1ppmNAA$) ไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งให้จำนวนยอดมากที่สุด มีจำนวนยอดเฉลี่ย ๔๑ และ ๓๘ ยอดต่อ ๑ โปรอโตคอร์ม คำรับที่ ๕ ไม่แตกต่างกับคำรับที่ ๒ ($MS+10\%CW+2ppmNAA$) มีจำนวนยอดเฉลี่ย ๓๗.๓ ยอดต่อ ๑ โปรอโตคอร์ม คำรับที่ ๒ ไม่แตกต่างกับคำรับที่ ๑ ($MS+10\%CW+1ppmNAA$) ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ย ๓๖ ยอดต่อ ๑ โปรอโตคอร์ม คำรับที่ ๓ ($MS+10\%CW+3ppmNAA$) กับคำรับที่ ๓ ($MS+15\%CW+3ppmNAA$) มีจำนวนยอดเฉลี่ย เท่ากันคือ ๒๖ ยอดต่อ ๑ โปรอโตคอร์ม (ตารางที่ ๑.๑)
- ข. น้ำมะพร้าวอ่อนมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ ๑) ที่ระดับความเข้มข้น 15%CW มีจำนวนยอดมากกว่าที่ระดับความเข้มข้น 10%CW มีจำนวนยอดเฉลี่ย ๒๘.๓๓ และ ๒๕.๕ ยอดต่อ ๑ โปรอโตคอร์ม ตามลำดับ (ตารางที่ ๑.๓)

- ค. NAA มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ ๑) ฮอร์โมน NAA ที่ระดับความเข้มข้น ๑ และ ๒ ppm ให้จำนวนยอดมากที่สุดและไม่มีความแตกต่างกันในระดับนี้ คือมีจำนวนยอดเฉลี่ย ๓๗.๕ และ ๓๘.๑๖ ยอดต่อ ๑ โปรอโตคอร์ม ที่ระดับความเข้มข้น ๓ ppm มีจำนวนยอดเฉลี่ย ๔.๖๖ ยอดต่อ ๑ โปรอโตคอร์ม (ตารางที่ ๑.๒)

ภาพที่ ๑ แสดงปริมาณจำนวนยอกเชื้อของ โปรโตคอร์ม ที่เพาะเลี้ยงจากสูตรอาหาร เต็มฮอร์โมน NAA ในปริมาณความเข้มข้น ๑, ๒, ๓ และ ๔ ppm และเติมน้ำมะพร้าวอ่อน ๑๐ เปอร์เซ็นต์ และ ๑๕ เปอร์เซ็นต์ ในตำรับต่าง ๆ



- | | |
|-----------------------------------|-----------------------------------|
| ตำรับที่ ๑ MS + 10% CW + 1ppm NAA | ตำรับที่ ๕ MS + 15% CW + 1ppm NAA |
| ตำรับที่ ๒ MS + 10% CW + 2ppm NAA | ตำรับที่ ๖ MS + 15% CW + 2ppm NAA |
| ตำรับที่ ๓ MS + 10% CW + 3ppm NAA | ตำรับที่ ๗ MS + 15% CW + 3ppm NAA |
| ตำรับที่ ๔ MS + 10% CW + 4ppm NAA | ตำรับที่ ๘ MS + 15% CW + 4ppm NAA |

ผลของฮอร์โมน NAA กับน้ำมะพร้าวอ่อนที่มีต่อจำนวนรากโปรโตคอร์มในสูตรอาหาร

MS

จากการทดลองเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มของ Dendrobium Jacquelyn Thomas ในสูตรอาหารที่มีความแตกต่างของฮอร์โมน NAA และน้ำมะพร้าวอ่อน ปรากฏผลดังนี้

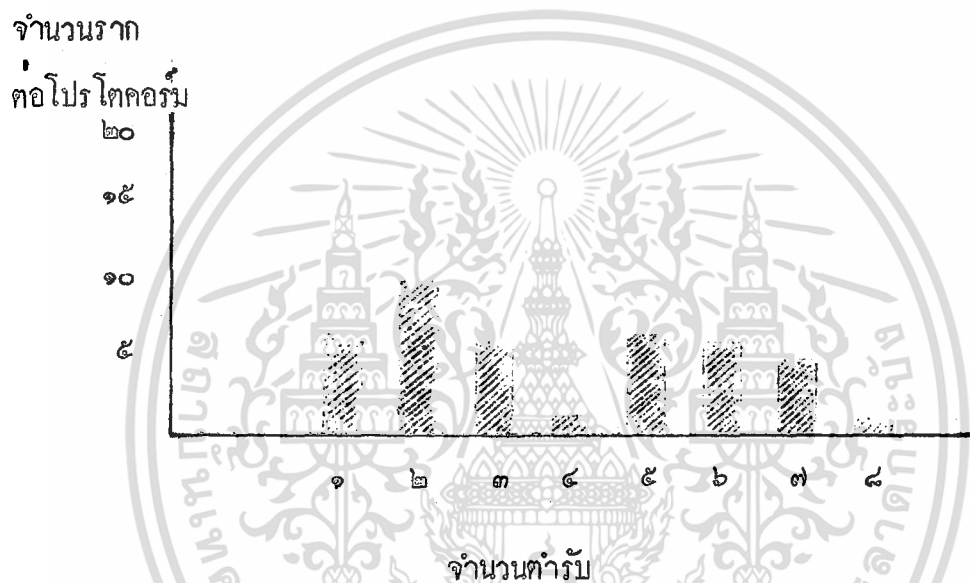
ก. คำรับมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ ๒) คำรับที่ ๒

(MS+10%CW+2ppmNAA) ให้จำนวนรากเฉลี่ย ๘.๖ รากต่อ ๑ โปรโตคอร์ม ให้จำนวนรากมากที่สุดซึ่งแตกต่างกับคำรับที่ ๑ (MS+10%CW+1ppmNAA) คำรับที่ ๕ (MS+15%CW+1ppmNAA) คำรับที่ ๓ (MS+10%CW+3ppmNAA) และคำรับที่ ๖ (MS+15%CW+2ppmNAA) โดยคำรับที่ ๑, ๕, ๓ และ ๖ ไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งมีจำนวนรากเฉลี่ย ๗.๖, ๗.๖, ๖.๖ และ ๖.๖ รากต่อ ๑ โปรโตคอร์ม ตามลำดับ คำรับที่ ๗ (MS+15%CW+3ppmNAA) มีจำนวนรากเฉลี่ย ๘.๖ รากต่อ ๑ โปรโตคอร์ม มีความแตกต่าง คำรับที่ ๘ (MS+10%CW+4ppmNAA) และคำรับที่ ๘ (MS+15%CW+4ppmNAA) ซึ่งมีจำนวนรากเฉลี่ย เท่ากันคือ ๒.๓ รากต่อ ๑ โปรโตคอร์ม (ตารางที่ ๒.๑)

ข. น้ำมะพร้าวอ่อนไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ ๒)

ค. ฮอร์โมน NAA มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ ๒) ฮอร์โมน NAA ที่ระดับความเข้มข้น ๑ และ ๒ ppm ให้จำนวนรากมากที่สุด ไม่มีความแตกต่างกันในระดับนี้ ซึ่งมีจำนวนรากเฉลี่ย ๘.๖๖ และ ๗.๖ รากต่อ ๑ โปรโตคอร์ม ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น ๓ ppm แตกต่างกับที่ระดับความเข้มข้น ๔ ppm NAA ซึ่งมีจำนวนรากเฉลี่ย ๕.๖ และ ๒.๓ รากต่อ ๑ โปรโตคอร์ม ตามลำดับ (ตารางที่ ๒.๒)

ภาพที่ ๒ แสดงปริมาณจำนวนรากเฉลี่ยของโปรโตคอร์มที่เพาะเลี้ยงจากสูตรอาหารที่เต็มธอร์โมน NAA ในปริมาณความเข้มข้น ๑, ๒, ๓ และ ๔ ppm และเติมน้ำมะพร้าวอ่อน ๑๐ เปอร์เซ็นต์ และ ๑๕ เปอร์เซ็นต์ในคำรับต่าง ๆ



- | | | | |
|------------|------------------------|------------|------------------------|
| คำรับที่ ๑ | MS + 10% CW + 1ppm NAA | คำรับที่ ๕ | MS + 15% CW + 1ppm NAA |
| คำรับที่ ๒ | MS + 10% CW + 2ppm NAA | คำรับที่ ๖ | MS + 15% CW + 2ppm NAA |
| คำรับที่ ๓ | MS + 10% CW + 3ppm NAA | คำรับที่ ๗ | MS + 15% CW + 4ppm NAA |
| คำรับที่ ๔ | MS + 10% CW + 4ppm NAA | คำรับที่ ๘ | MS + 15% CW + 4ppm NAA |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลของฮอร์โมน NAA และ BA ที่มีต่อจำนวนยอดของโปรโตคอร์มในสูตรอาหาร

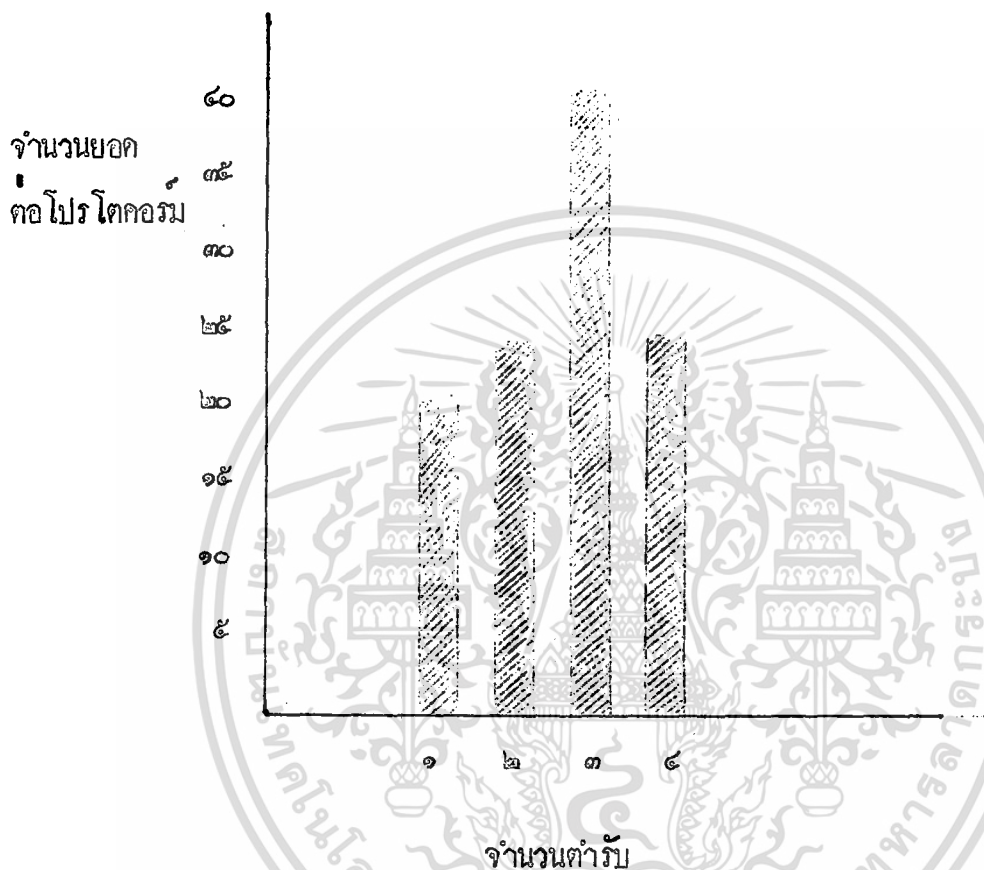
MS

จากการทดลองเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มของ *Dendrobium Jacquelyn Thomas* ในสูตรอาหารที่มีความแตกต่างของฮอร์โมน NAA และ BA ปรากฏผลดังนี้

- ก. คำรับมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ ๓) คำรับที่ ๓ (MS+2ppmBA+1ppmNAA) ให้จำนวนยอดเฉลี่ย ๘๖ ยอดต่อ ๑ โปรโตคอร์ม มีความแตกต่าง คำรับที่ ๔ (MS+2ppmBA+2ppmNAA) คำรับที่ ๖ (MS+1ppmBA+2ppmNAA) และคำรับที่ ๑ (MS+1ppmBA+1ppmNAA) โดยให้จำนวนยอดเฉลี่ย ๖๕.๓, ๖๘ และ ๖๑ ยอดต่อ ๑ โปรโตคอร์มตามลำดับ ซึ่งในคำรับที่ ๔, ๖ และ ๑ ไม่มีความแตกต่างกัน (ตารางที่ ๓.๑)
- ข. ฮอร์โมน BA มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง (ตารางที่ ๓) ฮอร์โมน BA ที่ระดับความเข้มข้น 2ppm มีความแตกต่างกับระดับความเข้มข้น 1ppm ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ย ๓๓.๖ และ ๖๖.๕ ยอดต่อ ๑ โปรโตคอร์ม ตามลำดับ (ตารางที่ ๓.๒)
- ค. ฮอร์โมน NAA มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ ๓) ฮอร์โมน NAA ที่ระดับความเข้มข้น 1ppm มีความแตกต่างกับระดับความเข้มข้น 2ppm ซึ่งมีจำนวนยอดเฉลี่ย ๓๑.๕ และ ๖๘.๖ ยอดต่อ ๑ โปรโตคอร์ม ตามลำดับ (ตารางที่ ๓.๓)

100265

ภาพที่ ๓ แสดงปริมาณจำนวนยอคเฉลี่ยของโปรโตคอรึมที่เพาะเลี้ยงจากสูตรอาหารที่เติม ฮอรัโมน NAA ในปริมาณความเข้มข้น ๑ และ ๒ ppm และเติม ฮอรัโมน BA ความเข้มข้น ๑ และ ๒ ppm ในตัวรับต่าง ๆ



ตัวรับที่ ๑ MS + 1ppm BA + 1ppm NAA

ตัวรับที่ ๓ MS + 2ppm BA + 1ppm NAA

ตัวรับที่ ๒ MS + 1ppm BA + 2ppm NAA

ตัวรับที่ ๔ MS + 2ppm BA + 2ppm NAA

ผลของฮอร์โมน NAA และ BA ที่มีต่อจำนวนรากของโปรโตคอร์มในสูตรอาหาร MS

จากการทดลองเพาะเลี้ยงโปรโตคอร์มของ Dendrobium Jacquelyn Thomas ในสูตรอาหารที่มีความแตกต่างของฮอร์โมน NAA และ BA ปรากฏผลดังนี้

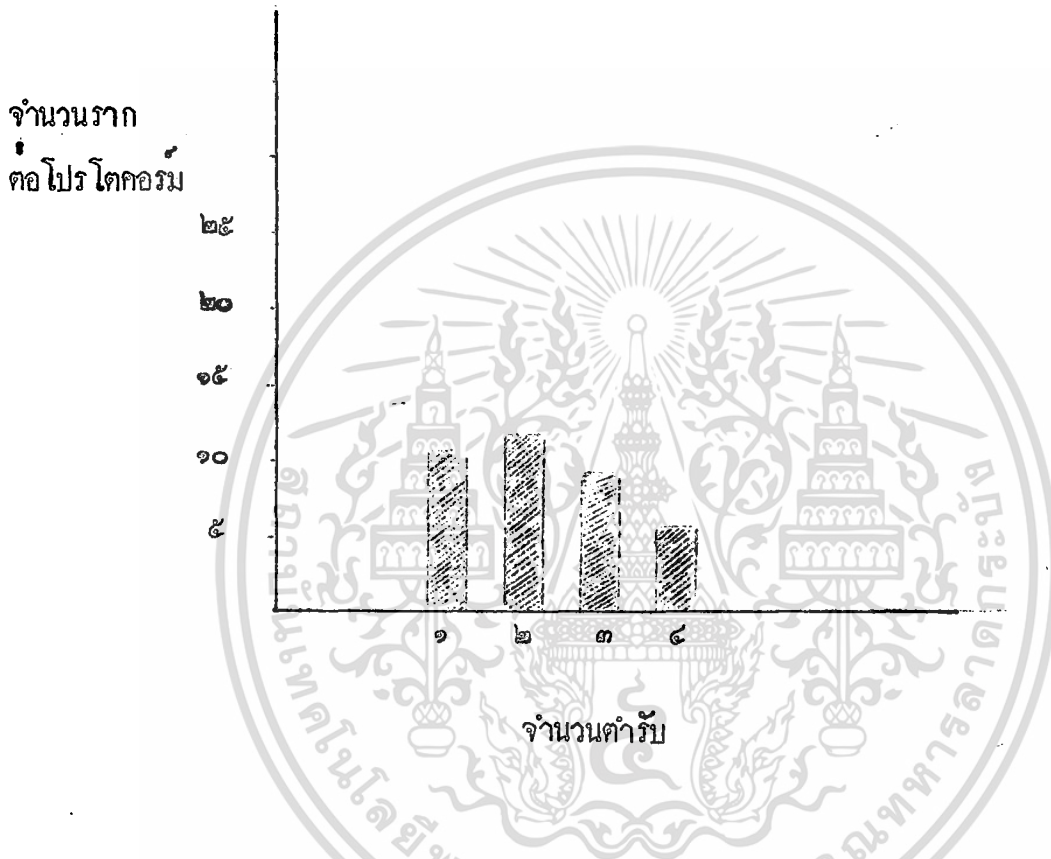
ก. สำหรับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ ๔)

ข. ฮอร์โมน BA มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ ๔) ที่ระดับความเข้มข้น 1ppm ให้จำนวนรากเฉลี่ย ๒๔ รากต่อ ๑ โปรโตคอร์ม มีความแตกต่างกับที่ระดับความเข้มข้น 2ppm ซึ่งให้จำนวนราก ๑๔ ราก ต่อ ๑ โปรโตคอร์ม (ตารางที่ ๔.๑)

ค. ฮอร์โมน NAA ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (ตารางที่ ๔)



ภาพที่ ๔ แสดงปริมาณจำนวนรากเฉลี่ยของโปรโตคอร์มที่เพาะเลี้ยงจากสุทธอาหารที่เติมฮอร์โมน NAA ในปริมาณความเข้มข้น ๑ และ ๒ ppm และเติมฮอร์โมน BA ความเข้มข้น ๑ และ ๒ ppm ใน คำรับต่าง ๆ



คำรับที่ ๑ MS + 1ppm BA + 1ppm NAA

คำรับที่ ๓ MS + 2ppm BA + 1ppm NAA

คำรับที่ ๒ MS + 1ppm BA + 2ppm NAA

คำรับที่ ๔ MS + 2ppm BA + 2ppm NAA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๑ ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนยอดคอ • โปรโตคอร์นของ Dendrobium
 Jacquelyn Thomas ในสูตรอาหารที่มีน้ำมะพร้าวอ่อน และ NAA ในระดับ
 ต่าง ๆ กัน

SOV	d.f	SS	MS	Fcal	F table	
					๐.๐๕	๐.๐๑
ค่าปรับ	๓	๓๕๓๒.๒๘	๕๑๐.๓๖	๕๓.๖๘ **	๒.๓๓	๘.๖๘
CW	๑	๕๕.๓๓	๕๕.๓๓	๕.๓๓ *	๕.๖๐	๘.๘๖
NAA	๓	๓๕๑๐.๕๕	๑๑๗๐.๑๕	๑๒๓.๑๐ **	๓.๓๘	๕.๕๖
Error	๑๖	๑๓๓๐.๐๘	๘๓.๕๐			
Total	๒๓	๓๓๐๕.๒๓				
C.V.	=	๓.๑๘	เปอร์เซ็นต์			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Duncan's new multiple-range test

ตารางที่ ๑.๑ แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนยอดกตอ ๑ โปรงศ์กอร์ม ของ Dendrobium

Jacquelyn Thomas ในตำรับต่าง ๆ เรียงจากมากไปหาน้อย

ลำดับที่	๑	๒	๓	๔	๕	๖	๗	๘
ตำรับ	๒	๕	๒	๑	๓	๗	๘	๔
ค่าเฉลี่ย	๔๑	๓๙	๓๗	๓๖	๒๑	๒๑	๑๖	๑๖

ตารางที่ ๑.๒ แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนยอดกตอ ๑ โปรงศ์กอร์ม ของ Dendrobium

Jacquelyn Thomas ในสูตรอาหารซึ่งใช้ความเข้มข้นของ NAA ในระดับต่าง ๆ

ลำดับที่	๑	๒	๓	๔
NAA	๒ ppm	๑ ppm	๓ ppm	๔ ppm
ค่าเฉลี่ย	๓๙	๓๗.๕๐	๒๑.๓๐	๙.๖๖

ตารางที่ ๑.๓ แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนยอดกตอ ๑ โปรงศ์กอร์มของ Dendrobium

Jacquelyn Thomas ในสูตรอาหารซึ่งใช้ความเข้มข้นของ CW ในระดับต่างๆ

ลำดับที่	๑	๒
CW	๑๕ %	๑๐ %
ค่าเฉลี่ย	๒๘.๓๓	๒๕.๕

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๒ ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนรากต่อ ๑ โปรโตคอร์มของ Dendrobium
Jacquelyn Thomas ในสูตรอาหารที่มี CW และ NAA ในระดับต่าง ๆ กัน

SOV	d.f	SS	MS	Fcal	F table	
					๐.๐๕	๐.๐๑
ทำรับ	๓	๑๔๕.๖๒	๒๐.๘๐	๘.๖๓**	๒.๓๓	๔.๒๘
CW	๑	๕.๓๓	๕.๓๓	๓.๘๕	๔.๒๐	๘.๘๖
NAA	๓	๑๒๖.๑๒	๒๖.๐๔	๑๓.๕๕**	๓.๓๕	๕.๕๖
Error	๑๖	๓๓.๓๕	๒.๐๘			
Total	๒๓	๑๓๕.๓๖				
		C.V. = ๘.๖๘	เปอร์เซ็นต์			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Duncan's new multiple-range test

ตารางที่ ๒๐๑ แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนรากต่อ ๑ โปรโตคอร์มของ Dendrobium Jacquelyn Thomas ในตำรับต่าง ๆ เรียงจากมากไปหาน้อย

ลำดับที่	๑	๒	๓	๔	๕	๖	๗	๘
ตำรับ	๒	๑	๕	๓	๖	๗	๔	๘
ค่าเฉลี่ย	๕๐.๖	๗๐.๖	๗๐.๖	๖๐.๖	๖๐.๖	๕๐.๖	๖๐.๓	๖๐.๓

ตารางที่ ๒๐๒ แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนรากต่อ ๑ โปรโตคอร์มของ Dendrobium Jacquelyn Thomas ในสูตรอาหารซึ่งใช้ความเข้มข้นของ NAA ในระดับต่าง ๆ

ลำดับที่	๑	๒	๓	๔
NAA	๒ ppm	๑ ppm	๓ ppm	๔ ppm
ค่าเฉลี่ย	๕๐.๖	๗๐.๖	๕๐.๖	๖๐.๓

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๓ ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนยอดคอก โปรโตคอร์นของ Dendrobium
 Jacquelyn Thomas ในสูตรอาหารที่มี BA และ NAA ในระดับต่าง ๆ กัน

SOV	d.f	SS	MS	Fcal	F table	
					๐.๐๕	๐.๐๑
ทำรับ	๓	๘๐๔.๒๕	๒๖๘.๐๘	๑๓.๑๒**	๕.๓๒	— ๙.๓๘
BA	๑	๓๓๕.๐๘	๓๓๕.๐๘	๑๘.๓๑**	๕.๕๕	— ๑๓.๓๘
NAA	๑	๑๕๐.๐๘	๑๕๐.๐๘	๖.๘๕*	๕.๕๕	— ๑๓.๓๘
Error	๘	๑๒๖.๕	๒๐.๘๑			
Total	๑๑	๙๖๖.๙๑				
		C.V. = ๕.๓๖	เปอร์เซ็นต์			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Duncan's new multiple range test

ตารางที่ ๓.๑ แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนยอดคต ๑ โปริโทคอร์ม ของ Dendrobium Jacquelyn Thomas ในคำรับต่าง ๆ เรียงจากมากไปหาน้อย

ลำดับที่	๑	๒	๓	๔
คำรับ	๓	๔	๒	๑
ค่าเฉลี่ย	๔.๒	๒๕.๓	๒๔	๒๑

ตารางที่ ๓.๒ แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนยอดคต ๑ โปริโทคอร์มของ Dendrobium Jacquelyn Thomas ในสูตรอาหารซึ่งใช้ความเข้มข้น BA ในระดับต่าง ๆ

ลำดับที่	๑	๒
BA	๒ ppm	๑ ppm
ค่าเฉลี่ย	๓๓.๖	๒๖.๕

ตารางที่ ๓.๓ แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนยอดคต ๑ โปริโทคอร์มของ Dendrobium Jacquelyn Thomas ในสูตรอาหารซึ่งใช้ความเข้มข้นของ NAA ในระดับต่าง ๆ

ลำดับที่	๑	๒
NAA	๑ ppm	๒ ppm
ค่าเฉลี่ย	๓๑.๕	๒๔.๖๖

ตารางที่ ๘ ผลการวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนรากต่อ ๑ โปรโตคอร์มของ Dendrobium
Jacquelyn Thomas ในสูตรอาหารที่มี BA และ NAA ในระดับต่าง ๆ กัน

SOV	d.f	SS	MS	Fcal	F table	
					๐.๐๕	๐.๐๑
ทำรับ	๓	๙๑.๖๖	๓๐.๕๕	๓.๖๐	๔.๓๖	๙.๓๙
BA	๑	๓๕.๐๐	๓๕.๐๐	๘.๘๕*	๕.๕๙	๑๓.๓๙
NAA	๑	๐.๓๓	๐.๓๓	๐.๐๓	๕.๕๙	๑๓.๓๙
Error	๘	๕๐.๘๘				
Total	๑๑	๑๕๒.๕๕				

C.V. = ๑๐.๒๑ เปอร์เซ็นต์

การวิเคราะห์ทางสถิติแบบ Duncan's new multiple-rang test

ตารางที่ ๘.๑ แสดงค่าเฉลี่ยของจำนวนรากต่อ ๑ โปรโตคอร์มของ Dendrobium
Jacquelyn Thomas ในสูตรอาหารซึ่งใช้ความเข้มข้นของ BA ในระดับ
ต่าง ๆ

ลำดับที่	๑	๒
BA	๑ ppm	๒ ppm
ค่าเฉลี่ย	๒๘	๑๘

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิจารณ์ผล

จากการทดลองใช้ ออกซิน และไซโตไคนิน ที่มีต่อความเจริญเติบโตของโปรโตคอร์ม
ในสูตรอาหาร MS

ในกลุ่มที่ ๑ คำรับที่ ๒ ($MS+15\%CW+2ppmNAA$) และ คำรับที่ ๕
($MS+15\%CW+1ppmNAA$) ให้จำนวนยอดเฉลี่ย ๔๑ และ ๓๕ ยอด ต่อ ๑ โปรโตคอร์มและจำนวน
รากเฉลี่ย ๖.๖ และ ๗.๖ รากต่อ ๑ โปรโตคอร์ม ตามลำดับ และในกลุ่มที่ ๒ คำรับที่ ๓
($MS+2ppmBA+1ppmNAA$) ให้จำนวนยอดเฉลี่ย ๔๓ ยอดต่อ ๑ โปรโตคอร์มและจำนวนราก
เฉลี่ย ๘ รากต่อ ๑ โปรโตคอร์ม ในขณะที่คำรับอื่น ๆ ให้จำนวนยอดน้อยกว่า สาเหตุที่คำรับที่ ๒
และ ๕ ในกลุ่มที่ ๑ และคำรับที่ ๓ ในกลุ่มที่ ๒ ให้จำนวนยอดมาก เนื่องจากความเข้มข้นของ
ออกซินและไซโตไคนิน อยู่ในอัตราส่วนที่ไม่เหมาะสม คือ มีออกซินน้อย แต่มีไซโตไคนินมาก ทำให้
เกิดยอดมากดังที่ Miller และ Skoog (1957) ได้รายงานว่าการเกิดเป็นต้น ราก หรือ
แคลลัสของพืชแต่ละชนิดนั้นขึ้นกับความสมดุล ของปริมาณ ออกซินและไซโตไคนินในอาหาร หาก
ออกซินน้อยแต่มีไซโตไคนินมาก ทำให้อัตราส่วนออกซินต่อไซโตไคนินต่ำ ก็จะทำให้เนื้อเยื่อเจริญเป็น
ยอดมาก และจากผลการทดลองในกลุ่มที่ ๑ คำรับที่ ๒ ($MS+10\%2ppmNAA$) ได้รับจำนวนราก
เกิดขึ้นมากที่สุด คือ มีจำนวนรากเฉลี่ย ๘.๖ รากต่อ ๑ โปรโตคอร์ม และจำนวนยอดเฉลี่ย ๓๗
ยอดต่อ ๑ โปรโตคอร์ม สาเหตุที่คำรับที่ ๒ มีจำนวนรากมาก เนื่องจากความเข้มข้นของ ออกซิน
และไซโตไคนินอยู่ในอัตราส่วนไม่เหมาะสม คือมีออกซินมากแต่มีไซโตไคนินน้อย ทำให้เกิดรากมาก
ดังที่ Miller และ Skoog (1957) ได้รายงานไว้ว่า ออกซินมาก ทำให้อัตราส่วน ออกซินต่อ
ไซโตไคนินสูงกว่าอัตราส่วนสมดุล เนื้อเยื่อจะเจริญ เป็นรากมาก

สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองใช้ ออกซินและไซโตไคนิน ที่มีผลต่อความเจริญเติบโตของ โปรโตคอร์รัม ในสูตรอาหาร MS

๑. สูตรอาหาร ออกซินน้อยแต่มีไซโตไคนินมาก ทำให้อัตราส่วน ออกซินต่อไซโตไคนินต่ำ ทำให้ โปรโตคอร์รัมเจริญเป็นยอดมาก ปรากฏในสูตรอาหาร (MS+15%CW+2ppmNAA)

(MS+15%CW+1ppmNAA) และ (MS+2ppmBA+1ppmNAA)

๒. สูตรอาหารที่มี ออกซินมากแต่มีไซโตไคนินน้อย ทำให้อัตราส่วน ออกซินต่อไซโตไคนินสูงกว่าอัตราส่วนสมดุล ทำให้ โปรโตคอร์รัม เจริญ เป็นรากมากปรากฏในสูตรอาหาร

(MS+10%CW+2ppmNAA)



เอกสารอ้างอิง

1. ไพบูลย์ กวินเลิศวัฒนา, พ.ศ. ๒๕๒๘. หลักการและวิธีการเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช. กรุงเทพมหานคร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
2. มานพ แก้วบำรุง, พ.ศ. ๒๕๐๙. การเปรียบเทียบสูตรวุ้นสำหรับถายขวดเพาะกับการเจริญเติบโตของลูกข้าง. พระนคร.
3. ระพี ศาคริก, พ.ศ. ๒๕๑๓. คำบรรยายวิชากล้วยไม้ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. บางเขน (โรเนียว)
4. Caplin, S.M. and F.C. Steward. 1948. Effect of coconut milk on the growth of explants from carrot root. Sci. 108:655-657
5. Caplin, S.M. 1957. Variability of carrot of auxins, casein hydrolysate and coconut milk Amer. Journ of Bot. 43:749-754
6. Cartis, J.T. 1947. Studies on the nitrogen nutrition of orchid embryo. Amer Orch. Soc. Bull. 16(12):654-660
7. Cutter, V.M. Jr and K.S. Wilson 1954. Effect of coconut endosperm and Other growth Stimulants upon the development in of embryo of cocosnucifera Bot. 112:225-227
8. Dunston, W.R. 1907. Report on a sample of coconut water from Ceylon. Coconut Planter Manual. compiled by J. Ferguson Ceylon Observer press, Columbo. CXICXII

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. Hegarty, C.P. 1955. Observation on the germination of orchid.
Amer. Orch. Soc. Bull 27(7)457-464
10. Isbrahim, R.K. 1969. Normal and Abnormal plants from carrot Root
tissue Cultures. Can. J.Bot 47:825-826
11. Kunisaki, J.I., Kim, K.K., Sagawa, Y. 1972. "Shoot Tip Culture
of Vanda" Amer. Orchid Society Bulletin, 41:435-439
12. Letham, D.S. 1969. Cytokinins and their relation to other
phytohormones. Bio Science, 94:350-351
13. Miller, C.O., F. Skoog, MH von Saltza, and F.M. Strong. 1955.
Kinetin, a cell division factor from deoxyribonucleic acid.
J. Am. Chem. Soc. 77:1392
14. Miller, C.O., and F. Skoog. 1957. Chemical regulation of growth
and organ formation in plant tissues culture in vitro.
Symp. Soc. exp. Biol., Univ. press, Cambridge, 11:118-131
15. Murashige, T. and Skoog. 1962. A revised medium for rapid growth
and bioassays with tobacco tissue cultures. Plant physiol.
15:473-496
16. Okazawa, Y., N. Katasura, and T. Tagawa. 1967. Effect of auxin
and Kinetin on the development and differentiation of potato
tissue culture in vitro. Physiol. Plantarum, 20(4):862-869

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

17. Okazawa, Y. 1968. Significance of native Cytokinins in callus growth of potato tissue cultures. proc Crop. Soc. Jap. 37(4)522-527
18. Overbeek, J.V. et al 1941. Factors in coconut milk essential for growth and development of very young *Datura* embryos. Science, 94:350-351
19. Quak, F. 1976. Meristem Culture and Virus Free Plant. Springer Verlag, Berlin, 49:350-351
20. Redley, M. and E. Dear. 1958. Occurrence of Gibberellins like substances in the coconut milk. Nature. 182:1098
21. Sagawa, Y. 1962. Embryo culture in phalaenopsis Amer. Orch. Soc. Bull 31:814-821
22. Sagawa, Y., and Shoji, T., 1966. "Clonal propagation of *Cymbidium* through Shoot. Meristem Culture". Amer. Orch. Soc. Bull. 35: 118-122
23. Sampson, H.C. 1923. The coconut palm. London: John Bale, Sons and Danielsen. 162p
24. Tulecke, W.R. 1960. Analyses of coconut milk and the effect of various fraction on the growth of plant tissue cultures Plant Physiol. 35 (Suppl) XXVII

25. White, P.R. 1951. Nutritional requirements of isolated plant tissues and organs. Ann. Rev Plant Physiol. , 2:231-242
26. Wilmar, C., and M. Hellendoorn. 1968. Growth and morphogenesis of asparagus cells cultivated in vitro. Nature, 217:269-270
27. Withner, C.L. 1942. Nutrition experiment with orchid seedling, Amer. Orch. Soc. Bull 11:112-114
28. Withner, C.L. 1959. The orchids, A scientific survey. New York. The Ronald Press Co 684p
29. Withner, C.L. 1974. The Orchids Scientific Studies. John wiley I Sons, New York.
30. Yates, R.C. and J.T. Curtis, 1949. The effect of sucrose and other factors on the shoot root ratio of orchid seedling Amer. Jour. Bot. 36(5):390-396

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ ๑ สูตรอาหารของ Murashige and Skoog (1962)

ชื่อสารเคมี	สูตร	ปริมาณที่ใช้ในอาหาร ๑ ลิตร
แอมโมเนียมไนเตรท	NH_4NO_3	๑๖๕๐
โพแทสเซียมไนเตรท	KNO_3	๑๕๐๐
แคลเซียมคลอไรด์	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	๘๘๐
แมกนีเซียมซัลเฟต	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	๓๓๐
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	KH_2PO_4	๑๓๐
กรกบอริก	H_3BO_3	๖.๒
แมงกานีสซัลเฟต	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	๖.๕
ซิงค์ซัลเฟต	$\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	๖.๑๘
โพแทสเซียมไอโอไดด์	KI	๐.๘๓
โซเดียมโมลิบเดต	$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	๐.๒๕
คอปเปอร์ซัลเฟต	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	๐.๐๒๕
โคบอลต์คลอไรด์	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	๐.๐๒๕
โซเดียมเอทิลีนไดอามีนเตตราอะซีเตท	Na_2EDTA	๓๗.๒๕
เฟอร์รัสซัลเฟต	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	๒๗.๘๕
ไกลซีน	Glycine	๒.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ ๑ (ต่อ)

ชื่อสารเคมี	สูตร	ปริมาณที่ใช้ในอาหาร ๑ ลิตร
กรดนิโคตินิก	Nicotinic acid	๐.๕
กรดไพริดอกซีนไฮโดรคลอไรด์	Pyridoxine-HCl	๐.๕
กรดไทอามีนไฮโดรคลอไรด์	Thiamine-HCl	๐.๑
ซูโครส	Sucrose	๓๐,๐๐๐.๐๐
pH ๕.๖		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวกที่ ๒ สูตรอาหาร Vacin และ Went (1949)

ชื่อสารเคมี	สูตร	ปริมาณที่ใช้ในอาหาร ๑ ลิตร (mg)
แคลเซียมฟอสเฟต	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	๒๐๐
โพแทสเซียมไนเตรท	KNO_3	๕๒๕
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	KH_2PO_4	๒๕๐
แมกนีเซียมซัลเฟต	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	๒๕๐
แอมโมเนียมซัลเฟต	$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	๕๐๐
เฟอร์ริกคาร์เทท	$\text{Fe}_2(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6)_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	๒๘
แมงกานีสซัลเฟต	$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	๕๐๓
ซูโครส	Sucrose	๒๐,๐๐๐
วุ้น	Agar	๑๐,๐๐๐
น้ำมะพร้าว	Coconut milk	๑๕๐ C.C. (๑๕%)

(PH ๘.๘ - ๕.๐)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้