



การเตรียมอินทรีย์สาร

1. น้ำมะพร้าวอ่อน

- 1.1 เลือกมะพร้าวน้ำหอมในระยะที่ยังอ่อน โดยสังเกตจากมะพร้าวที่มีน้ำหนักมาก และเนื้อข้างในของมะพร้าวกำลังเป็นวุ้น หรือเมื่อใช้นิ้วกดลงบนเนื้อจะสัมผัสกับกะลามะพร้าวได้
- 1.2 กรองน้ำมะพร้าวด้วยผ้าสี
- 1.2 เก็บน้ำมะพร้าวในภาชนะที่สะอาดเพื่อใช้เตรียมอาหารตามกรรมวิธีที่ศึกษา

2. กกล้วยหอมบด

- 2.1 เลือกกล้วยหอมที่สุกประมาณ 50 - 70 %
- 2.2 ปอกเปลือก และหั่นเฉพาะเนื้อกล้วยให้เป็นท่อนสั้น ๆ นำมาซึ่งปริมาณ 100 กรัมต่อลิตร
- 2.3 บดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ โดยเติมน้ำลงไปเล็กน้อยเพื่อให้เครื่องทำงานได้ดี
- 2.4 เก็บกล้วยบดไว้ในภาชนะที่สะอาดเพื่อใช้เตรียมอาหารตามกรรมวิธีที่ศึกษา

สูตรอาหาร Vacin and Went (1949)

สารเคมี	ปริมาณที่ใช้ในอาหาร 1 ลิตร(mg/l)
$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	200
KNO_3	525
KH_2PO_4	250
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	250
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	500
$\text{Fe}_2(\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6)_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	28
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	5.7
Sucrose	20,000 (20g.)
น้ำมะพร้าว	150 (ml/l)
pH	4.8-5.2

วิธีการเตรียมอาหาร (ครรชิต ธรรมศิริ, 2550)

1. อาหารสำหรับเพาะเมล็ด

อาหารที่ใช้เพาะเมล็ดแบ่งออกเป็น 2 สูตร

1.1 วิธีการเตรียมอาหารสูตร Modified vacin and Went (1949) สำหรับเพาะเมล็ด

1.1.1 ใส่น้ำกลั่นประมาณ 250 มิลลิลิตร ในภาชนะขนาดใหญ่เช่น flask หรือ Beaker

1.1.2 เติม stock solution A จำนวน 100 มิลลิลิตร ซึ่งเตรียมได้จาก

KNO_3	5.25	กรัม/ลิตร
KH_2PO_4	2.50	กรัม/ลิตร
$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	5.00	กรัม/ลิตร
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0.057	กรัม/ลิตร

1.1.3 เติม stock solution B จำนวน 100 มิลลิลิตร ซึ่งเตรียมได้จาก

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2.50	กรัม/ลิตร
---	------	-----------

1.1.4 ผสม $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ กับ Na_2EDTA ปริมาณ 27.85 มิลลิกรัม และ 37.25 มิลลิกรัมตามลำดับ โดยการละลายแต่ละสารในน้ำอุ่นอุณหภูมิประมาณ 60°C แล้วจึงนำมารวมกัน

1.1.5 ค่อย ๆ ละลาย 0.20 กรัมของ $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ใน 1 N HCl เพิ่ม HCl จนกระทั่งสารละลายเริ่มใส ซึ่งจะใช้ HCl ประมาณ 3 - 3.5 มิลลิลิตร

1.1.6 เติมน้ำมะพร้าวอ่อนที่เนื้อมะพร้าวเป็นวุ้น 150 มิลลิลิตร

1.1.7 เติมน้ำตาลทรายขาว 20 กรัม

1.1.8 เติมน้ำกลั่นจนปริมาตรทั้งหมดเป็น 1 ลิตร

1.1.9 ปรับ pH ให้ได้ประมาณ 5.2

1.1.10 ให้ความร้อน

1.1.11 เมื่อส่วนผสมเริ่มร้อน เติมวุ้นประมาณ 8 - 10 กรัม (ขึ้นอยู่กับชนิดของวุ้นและความต้องการให้อาหารแข็งมากน้อยเพียงไร) กวนไปมาเพื่อให้วุ้นละลายหมด จนกระทั่งส่วนผสมใส (ข้อควรระวัง : วุ้นใหม่ไฟได้ง่าย)

1.1.12 เทอาหารลงในภาชนะที่จะใช้เพาะเมล็ด เช่น flask หรือขวดเหล้าทรงเหลี่ยม สำหรับขวดเหล้าทรงเหลี่ยมจะใช้อาหารประมาณ 100 มิลลิลิตร

1.1.13 นำอาหารที่ใส่ภาชนะแล้วไปนึ่งฆ่าเชื้อ โดยนึ่งในหม้อนึ่งความดันที่ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 20 นาที

1.2 วิธีการเตรียมอาหารสูตร Modified Vacin and Went (1949) สำหรับย้ายต้นอ่อน

ขั้นตอนต่าง ๆ เหมือนกับการเตรียมอาหารสำหรับเพาะผักอ่อน ยกเว้น

1.2.1 เติมน้ำตาลทรายขาวเพียง 10 กรัม

1.2.2 เติมหั้วหอมดิบที่แก่เต็มที่แต่เปลือกยังเป็นสีเขียว หรือเริ่มมีสีเหลืองหนัก 100 กรัม (ประมาณ 1 ผลเล็ก) โดยบดด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ประมาณ 15 วินาที

1.2.3 เติมถ่าน (activated charcoal) 0.5 กรัม ต่ออาหาร 1 ลิตร

ขั้นตอนในการเพาะเมล็ดกล้วยไม้ในสภาพปลอดเชื้อ ดำเนินการได้ดังนี้

1. เก็บฝักกล้วยไม้ที่ต้องการจะนำมาเพาะเลี้ยง ควรจะเพาะทันทีภายหลังเก็บ มิฉะนั้น ควรเก็บไว้ในช่องเก็บฝักของตู้เย็น
2. ล้างทำความสะอาดภายนอกของฝักด้วยน้ำประปา ตัดส่วนของดอกที่ติดมากับฝัก ออกให้หมด
3. นำฝักกล้วยไม้เข้ามาในตู้ปลอดเชื้อ จุ่มฝักกล้วยไม้ใน 95% ethyl alcohol แล้วฉีกไฟจากตะเกียงทันที จนกระทั่ง ethyl alcohol ระเหยหมด ในกรณีที่มีฝักแก่และแตกแล้วอาจมี เชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนมากับเมล็ด จึงควรนำเมล็ดแช่ในไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ที่เข้มข้น 3% จากนั้นจึงใช้หลอดยาลดลดตาดูดเมล็ดที่แขวนลอยใน H_2O_2 ลงบนอาหาร โดยที่ไม่ต้อง นำไปลงไฟก่อน
4. ตัดฝักกล้วยไม้ด้วยมีดที่ฆ่าเชื้อแล้ว เชียเมล็ดลงบนอาหารสำหรับเพาะฝักอ่อน (ตามที่กล่าวไว้ข้างต้น) หรืออาจนำเมล็ดใส่ในขวดน้ำที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว แล้วจึงใช้หลอดยาลดลดตา ดูดน้ำที่มีเมล็ดแขวนลอยอยู่ลงบนอาหารวัน ก็จะช่วยให้เมล็ดกระจายทั่วพื้นผิวอาหาร
5. ให้เขียนรายละเอียดที่ฝาหรือภาชนะที่ใส่อาหาร เช่น คู่ผสมที่ ชื่อต้นแม่ และต้นพ่อ และวันที่เพาะเมล็ด ฯลฯ
6. ภายหลังเพาะเมล็ด 0.5 – 1 เดือน ทำการย้ายลงอาหารขวดใหม่
7. ควรย้ายต้นอ่อนหลังจากเพาะเมล็ดประมาณ 2 – 3 เดือน เมื่อต้นกล้วยไม้มีใบให้เห็นชัดเจนโดยไม่จำเป็นต้องมีราก ซึ่งเพิ่มกล้วยหมอดิบเพื่อเร่งการเจริญเติบโต
8. การย้ายต้นอ่อนต้องใช้เทคนิคปลอดเชื้อ ใช้ปากคีบวางต้นอ่อนให้กระจายทั่วผิวหน้าอาหารสำหรับย้ายต้นอ่อน
9. เขียนรายละเอียดที่ฝาหรือภาชนะที่ใส่อาหาร เช่น คู่ผสมที่ ชื่อต้นแม่และต้นพ่อ วันที่เพาะเมล็ด วันที่ต้องย้ายต้นอ่อน ฯลฯ