

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุและอุปกรณ์การทดลอง

1. เมล็ดคะน้าและบรอกโคลีพันธุ์การค้า (ตารางที่ 2)
2. กล่องพลาสติกใส
3. กระดาษเพาะเมล็ด
4. ถาดเพาะเมล็ด
5. กระถางขนาด 12 นิ้ว
6. กาบมะพร้าวสับ
7. มุ้งตาข่าย
8. ไม้ไผ่
9. ปากคีบ
10. แอลกอฮอล์
11. ไม้พรม
12. ป้าย
13. กระดาษคลุมช่อดอก
14. สารเคมีป้องกันกำจัดแมลง
15. ปุ๋ย ได้แก่ ปุ๋ยคอก ปุ๋ยยูเรีย ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 และปุ๋ยน้ำแคลเซียม โบรอน

วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 การคัดเลือกพันธุ์คะน้าที่มีปริมาณซัลโฟราเฟนสูง

นำเมล็ดพันธุ์คะน้าพันธุ์การค้าจำนวน 9 พันธุ์ ได้แก่ คะน้าฮ่องกง (มะพร้าวคู่), คะน้ายอด (มะพร้าวคู่), คะน้าฮ่องกงกวนอู (สามเอ), คะน้ายอดบึก 456 (ปลาหวา), คะน้าใบ (เจียใต้), คะน้ายอด (เจียใต้), คะน้า (สามเอ), คะน้าใบกลม (สามเอ) และคะน้าใบ (ปลาหวา) มาเพาะในกล่องพลาสติกใสที่รองด้วยกระดาษเพาะเมล็ดเป็นเวลา 5 วัน เพื่อนำต้นอ่อนไปวิเคราะห์หาปริมาณซัลโฟราเฟนและคัดเลือกพันธุ์คะน้าที่มีปริมาณซัลโฟราเฟนสูงจำนวน 3 พันธุ์

ตารางที่ 2 รายชื่อพันธุ์คะน้ำและรายชื่อบริษัทที่มาของเมล็ดพันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง

ลำดับ	รายชื่อพันธุ์	บริษัท
1	คะน้ำ (สามเอ)	ฉั่วย่งเซ่งพันธุ์พืช จำกัด
2	คะน้ำใบกลม (สามเอ)	ฉั่วย่งเซ่งพันธุ์พืช จำกัด
3	คะน้ำฮ่องกงกวนอู (สามเอ)	ฉั่วย่งเซ่งพันธุ์พืช จำกัด
4	คะน้ำใบ (เจียใต้)	เจียใต้ จำกัด
5	คะน้ำยอด (เจียใต้)	เจียใต้ จำกัด
6	คะน้ำใบ (ปลาวาฬ)	ห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคล สยามเคมีเกษตรกรรม
7	คะน้ำยอดบีก 456 (ปลาวาฬ)	ห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคล สยามเคมีเกษตรกรรม
8	คะน้ำยอด (มะพร้าวคู่)	ที. ทรอปีโค จำกัด
9	คะน้ำฮ่องกง (มะพร้าวคู่)	ที. ทรอปีโค จำกัด

การวิเคราะห์ปริมาณซัลโฟราเฟน (Sivakumar *et al.*, 2007)

- นำต้นอ่อนอายุ 5 วัน (ภาพที่ 4) ไป freeze dry เมื่อแห้งนำไปบดให้ละเอียด ชั่งต้นอ่อนที่บดแล้ว 0.25 กรัม เติม HCl ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร
- นำไปบดที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง และเขย่าเป็นครั้งคราว
- นำไปสกัดด้วย dichloromethane และกลั่นด้วยเครื่อง evaporator ให้แห้ง
- เติม methanol ลงไปละลาย 2 ครั้ง ครั้งละ 1 มิลลิลิตร และนำไปกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตร
- นำไปฉีดเข้าเครื่อง HPLC



ภาพที่ 4 ต้นอ่อนคะน้ำที่อายุ 5 วัน หลังเพาะเมล็ด

การทดลองที่ 2 การผลิตลูกผสมระหว่างคะน้าและบรอกโคลี (ลูกผสมชั่วที่ 1)

นำคะน้า 3 พันธุ์ที่มีปริมาณซัลโฟราเฟนสูงจากการทดลองที่ 1 ได้แก่ คะน้าใบกลม, คะน้ายอดบึก 456 และคะน้าฮ่องกงกวนอู และบรอกโคลี 2 พันธุ์ ได้แก่ Big Green และ Top Green ซึ่งได้ทำการตรวจสอบมาแล้วว่ามีปริมาณซัลโฟราเฟนสูง ปลูกที่สถานีเกษตรหลวงปางดะ อ.สะเมิง จ.เชียงใหม่ ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2552 ถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2553 โดยเพาะเมล็ดลงในถาดหลุม เมื่อต้นกล้ามีใบจริง 2-3 ใบ (ภาพที่ 5) ทำการย้ายปลูกลงกระถางขนาด 12 นิ้ว ที่มีดินกาบมะพร้าวสับ และปุ๋ยคอก ในอัตราส่วน 1:1:2 เป็นวัสดุปลูก (ภาพที่ 6 และ 7) ทุก 1-2 สัปดาห์ หลังย้ายปลูกลงกระถาง พ่นสารละลายแคลเซียมโบรอน ให้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 และปุ๋ยยูเรีย และพ่นสารเคมีควบคุมแมลงและสารเคมีควบคุมเชื้อราทุก 1 สัปดาห์ เมื่อดอกคะน้าและบรอกโคลีเริ่มบาน นำมุ้งตาข่ายคลุมต้นคะน้าและบรอกโคลีโดยแยกเป็นพันธุ์ (ภาพที่ 8) ก่อนดอกพร้อมผสม (ภาพที่ 9) ตอนเกษตรเพศผู้ออก (ภาพที่ 10) แล้วจึงทำการผสมข้ามในวันรุ่งขึ้น (ภาพที่ 11) โดยผสมแบบสลับพ่อแม่ (reciprocal cross) เมื่อฝักลูกผสมระหว่างคะน้าและบรอกโคลีเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล 50 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 12) เก็บเกี่ยวฝัก แล้วนำไปฝังในที่ร่มให้แห้ง จากนั้นเปิดฝัก บันทึกจำนวนเมล็ดต่อฝัก เมล็ดที่ได้แบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 นำไปปลูกเพื่อศึกษาลักษณะของลูกผสม ส่วนที่ 2 นำไปเพาะในกล่องพลาสติกใสที่รองด้วยกระดาษเพาะเมล็ดเป็นเวลา 5 วัน จากนั้นนำต้นอ่อนของลูกผสมระหว่างคะน้าและบรอกโคลีไปวิเคราะห์หาปริมาณซัลโฟราเฟน (Sivakumar *et al.*, 2007) โดยใช้เครื่อง HPLC (High-performance liquid chromatography)



ภาพที่ 5 ต้นกล้าคะน้าและบรอกโคลีที่พร้อมย้ายปลูกลงกระถาง



ภาพที่ 6 ต้นคะน้าหลังปลูกลงกระถาง 1 สัปดาห์ ที่ปลูก ณ สถานีเกษตรหลวงปางดะ



ภาพที่ 7 ต้นบรอกโคลีอายุ 42 วันหลังปลูกลงกระถาง ที่ปลูก ณ สถานีเกษตรหลวงปางดะ



ภาพที่ 8 การใช้มุ้งตาข่ายคลุมต้นคะน้าและบรอกโคลี



ภาพที่ 9 ดอกกะน้าที่ใช้เป็นพันธุ์พ่อให้เรณูในการผสมข้าม



ภาพที่ 10 ดอกพันธุ์แม่ที่ได้คอนเกสรเพศผู้ออกก่อนผสมเกสรเป็นเวลา 1 วัน



ภาพที่ 11 การผสมเกสร โดยนำเกสรเพศผู้ของพันธุ์พ่อแตะบนยอดเกสรเพศเมียของพันธุ์แม่

การทดลองที่ 3 การศึกษาลักษณะลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างคะน้ำและบรอกโคลี และการผลิต

เมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2

จากการนำคะน้ำ 3 พันธุ์คือ คะน้ำใบกลม, คะน้ำยอดบึก 456 และคะน้ำฮ่องกงกวนอู มาผสมข้ามกับบรอกโคลี 2 พันธุ์คือ Big Green และ Top Green พบว่ามีคู่ผสมที่สามารถผลิตเมล็ดพันธุ์ได้ทั้งหมด 9 คู่ ได้แก่ คะน้ำใบกลม × บรอกโคลี Big Green, คะน้ำใบกลม × บรอกโคลี Top Green, คะน้ำฮ่องกงกวนอู × บรอกโคลี Big Green, คะน้ำฮ่องกงกวนอู × บรอกโคลี Top Green, คะน้ำยอดบึก 456 × บรอกโคลี Big Green, คะน้ำยอดบึก 456 × บรอกโคลี Top Green, บรอกโคลี Big Green × คะน้ำฮ่องกงกวนอู, บรอกโคลี Big Green × คะน้ำยอดบึก 456 และ บรอกโคลี Top Green × คะน้ำยอดบึก 456 นำลูกผสมชั่วที่ 1 ทั้ง 9 คู่ ไปปลูกที่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนวาง อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่ ระหว่างเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2553 ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2553 วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (RCBD ; Randomized Complete Block Design) จำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 6 ต้นต่อพันธุ์ นำเมล็ดไปเพาะในถาดหลุม เมื่อต้นกล้ามีใบจริง 2-3 ใบ ทำการย้ายปลูกลงแปลงที่รองกันหลุมด้วยปุ๋ยคอกและปุ๋ยสูตร 15-15-15 ทุก 1-2 สัปดาห์หลังย้ายปลูกลงแปลง พันสารละลายแคลเซียม-โบรอน ให้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 และปุ๋ยยูเรีย และพันสารเคมีควบคุมแมลงและสารเคมีควบคุมเชื้อราทุก 1 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโตของต้นเมื่อถึงระยะรับประทานดอก ได้แก่ ความสูงของต้นและความกว้างของทรงพุ่ม เมื่อเริ่มเห็นดอกของลูกผสมระหว่างคะน้ำและบรอกโคลี บันทึกจำนวนวันที่ใช้ในการออกดอก เมื่อดอกลูกผสมระหว่างคะน้ำและบรอกโคลีพร้อมผสม ทำการผสมตัวเอง (selfed-pollination) เพื่อผลิตลูกผสมชั่วที่ 2 (F_2) และเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์เมื่อฝักเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล 50 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 12) นำไปผึ่งให้แห้งในที่ร่ม ทำการเปิดฝัก บันทึกจำนวนเมล็ดต่อฝัก เมล็ดลูกผสมชั่วที่ 2 ที่ได้แบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 นำไปปลูกเพื่อศึกษาการกระจายตัว (segregation) ส่วนที่ 2 นำไปเพาะเป็นเวลา 5 วัน และนำต้นอ่อนไปวิเคราะห์หาปริมาณซัลโฟราเฟน



ภาพที่ 12 ฟักที่ได้จากการผสมข้ามระหว่างคะน้ำและบรอกโคลี ที่มีฝักเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล
50 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 4 การศึกษาการกระจายตัว (segregation) ของลูกผสมชั่วที่ 2 ระหว่างคะน้ำและ บรอกโคลี และการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 3

จากการผสมตัวเอง (selfed-pollination) ของลูกผสมระหว่างคะน้ำและบรอกโคลี ทั้ง 9 คู่ พบว่ามีลูกผสมชั่วที่ 1 ที่สามารถผสมตัวเองติด 2 คู่ คือ คะน้ำใบกลม × บรอกโคลี Top Green และ คะน้ำฮ่องกงกวนอู × บรอกโคลี Top Green นำเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 ของทั้ง 2 คู่ ไปปลูกที่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวงขุนวาง (โป่งลมแรง) อ.แม่วาง จ.เชียงใหม่ ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2554 ถึงเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2554 วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (RCBD ; Randomized Complete Block Design) จำนวน 5 ซ้ำ ซ้ำละ 4 ต้น เพาะเมล็ดในถาดเพาะ เมื่อดันกล้ามีใบจริง ย้ายปลูกลงแปลงภายในโรงเรือน 6 × 12 เมตร ที่รองก้นหลุมด้วยปุ๋ยคอกและปุ๋ยสูตร 15-15-15 จากนั้นพ่นสารละลายแคลเซียม-โบรอนทุก 1-2 สัปดาห์หลังย้ายปลูก ให้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 และปุ๋ยยูเรีย และพ่นสารเคมีควบคุมแมลงและสารเคมีควบคุมเชื้อราทุก 1 สัปดาห์ บันทึกการเจริญเติบโตของต้นเมื่อถึงระยะรับประทานดอก ได้แก่ ความสูงของต้นและความกว้างของทรงพุ่ม เมื่อดอกพร้อมผสม ทำการผสมตัวเอง (selfed-pollination) เพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 3 และเมื่อฝักเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล 50 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 12) เก็บเกี่ยว แล้วนำไปผึ่งในที่ร่มให้แห้ง จากนั้นเปิดฝักและบันทึกจำนวนเมล็ดต่อฝัก เมล็ดลูกผสมชั่วที่ 3 ที่ได้ส่วนหนึ่งนำไปเพาะเป็นเวลา 5 วัน แล้วนำต้นอ่อนไปวิเคราะห์หาปริมาณซัลโฟราเฟน และศึกษาความงอกของเมล็ด

การทดลองที่ 5 การศึกษาความพึงพอใจของผู้บริโภค

การศึกษาคความพึงพอใจของผู้บริโภคที่มีต่อการบริโภคต้นอ่อนสดที่ได้จากการผสมเปิดตามธรรมชาติของลูกผสมระหว่างคะน้าและบรอกโคลี จำนวน 9 คู่ ได้แก่ คะน้าใบกลม × บรอกโคลี Big Green, คะน้าใบกลม × บรอกโคลี Top Green, คะน้าฮ่องกงกวนอู × บรอกโคลี Big Green, คะน้าฮ่องกงกวนอู × บรอกโคลี Top Green, คะน้ายอดบ๊วก 456 × บรอกโคลี Big Green, คะน้ายอดบ๊วก 456 × บรอกโคลี Top Green, บรอกโคลี Big Green × คะน้าฮ่องกงกวนอู, บรอกโคลี Big Green × คะน้ายอดบ๊วก 456 และ บรอกโคลี Top Green × คะน้ายอดบ๊วก 456 โดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส และสอบถามถึงแนวโน้มการซื้อและราคาของผู้บริโภคพึงพอใจซื้อผลิตภัณฑ์ต้นอ่อนลูกผสม (ภาพที่ 13) การทดสอบความพึงพอใจของผู้บริโภค (ภาคผนวกที่ 1) ทำการทดสอบจาก 2 แหล่งคือ งานวันวิชาการ โครงการหลวง 54 ณ สถานีเกษตรหลวงปางดะ จำนวน 60 คน และร้านค้ายำ จำนวน 38 คน โดยใช้แบบสอบถามในการรวบรวมข้อมูล ซึ่งแบบสอบถามแบ่งเป็น 2 ส่วนคือ

- ส่วนที่ 1 เป็นข้อมูลส่วนตัวของผู้ตอบแบบสอบถาม ได้แก่ เพศ อายุ ระดับการศึกษา อาชีพและรายได้ต่อเดือน เป็นต้น
- ส่วนที่ 2 เป็นการสอบถามเกี่ยวกับความชอบ ทักษะคิด และข้อเสนอแนะของผู้บริโภคที่มีต่อต้นอ่อนสดลูกผสมระหว่างคะน้าและบรอกโคลี รวมถึงการประเมินราคาผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคพึงพอใจ



ก ข ค

ภาพที่ 13 ผลิตภัณฑ์ต้นอ่อนลูกผสมระหว่างคะน้าและบรอกโคลี

ก) 1 วัน

ข) 3 วัน

ค) 5 วัน

การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่รวบรวมได้จากแบบสอบถาม นำมาวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ความถี่ โดยมีเกณฑ์การให้คะแนนระดับความพึงพอใจของผู้บริโภคที่มีต่อการบริโภคต้นอ่อนลูกผสมระหว่างคะน้าและบรอกโคลี ซึ่งแบ่งออกเป็น 5 คะแนน ดังนี้

ระดับความพึงพอใจ	คะแนน
ชอบมากที่สุด	5
ชอบมาก	4
ชอบปานกลาง	3
ชอบเล็กน้อย	2
ไม่ชอบ	1