บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

1. วัสดุและอุปกรณ์

1.1 ดอกกุหลาบพันธุ์ Dallas โดยคัดเลือกดอกกุหลาบให้มีขนาดของดอกและระยะการพัฒนาของดอกสม่ำเสมอกัน ดอกกุหลาบทั้งหมดนำมาจากสวนเอกชนหลังมหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่

1.2 ตู้เย็น

1.3 ขวดปากกว้าง

1.4 กรรไกรตัดแต่งกิ่ง

1.5 เครื่องกรองแบบ suction pump

1.6 เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง รุ่น BA3100P ของบริษัท Sartorius และแบบทศนิยม 4 ตำแหน่งรุ่น AB54 ของบริษัท Mettler Toledo

1.7 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) รุ่น Spectronic +20 ของบริษัท Bausch and Lomb

1.8 เครื่องวัดสี (Chromameter) รุ่น CR-300 ของบริษัท Minolta หัววัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 มิลลิเมตร ซึ่งวัดสีออกมาเป็นค่า L* , a* , b* โดยมีรายละเอียดดังนี้

L* แสดงความสว่างเมื่อมีค่าใกล้ 100 และแสดงความมืดเมื่อมีค่าใกล้ 0

a* ที่เป็นบวกแสดงว่าผลิตผลมีสีออกแดง และที่เป็นลบแสดงว่าผลิตผลมีสีออกเขียว

b* ที่เป็นบวกแสดงว่าผลิตผลมีสีออกเหลือง และที่เป็นลบแสดงว่าผลิตผลมีสีออกน้ำเงิน

1.9 แผ่นเทียบสี ของบริษัท Minolta

1.10 โกร่งบด

1.11 กระดาษกราฟ

1.12 กระดาษกรอง Whatman No. 1

1.13 กระดาษปรู๊ฟ

1.14 กล่องกระดาษ

1.15 เครื่องแก้ว

- ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)
- ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask)
- บิกเกอร์ (beaker)
- กระบอกตวง (cylinder)
- กรวยกรอง (filtering glass funnel)
- แท่งแก้วสำหรับคน (stirrer)
- จานอาหารเลี้ยงเชื้อ (plate)

2. สารเคมีและวิธีการเตรียม

2.1 สารเคมีที่ใช้เพิ่มสารอาหารให้ดอกไม้ (Pulsing)

1) สารละลาย $AgNO_3$ 150 มก./ลิตร ผสมกับ กรดซิตริก 30 มก./ลิตร และน้ำตาลซูโครส 10 เปอร์เซ็นต์

เตรียมโดยชั่ง $AgNO_3$ 0.15 กรัม กรดซิตริก 0.03 กรัม และน้ำตาลซูโครส 100 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่น

2) สารละลาย $AgNO_3$ 150 มก./ลิตร ผสมกับ 8-HQS 400 มก./ลิตร กรดซิตริก 30 มก./ลิตร และน้ำตาลซูโครส 10 เปอร์เซ็นต์

เตรียมโดยชั่ง $AgNO_3$ 0.15 กรัม 8-HQS 0.40 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่น และชั่งกรดซิตริก 0.03 กรัม น้ำตาลซูโครส 100 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่น แล้วนำมาผสมกัน จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้นตามที่ต้องการปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

3) สารละลาย $AgNO_3$ 50 มก./ลิตร ผสมกับ $Na_2S_2O_3$ 500 มก./ลิตร กรดซิตริก 30 มก./ลิตร และน้ำตาลซูโครส 10 เปอร์เซ็นต์

เตรียมโดยชั่ง $AgNO_3$ 0.05 กรัม $Na_2S_2O_3$ 0.50 กรัม ละลาย $AgNO_3$ และ $Na_2S_2O_3$ ในน้ำกลั่น เทสารละลาย $AgNO_3$ ลงใน $Na_2S_2O_3$ พร้อมทั้งคนให้เข้ากันตลอดเวลา ห้ามเทสารละลาย $Na_2S_2O_3$ ลงใน $AgNO_3$ ปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่น และชั่งกรดซิตริก 0.03 กรัม น้ำตาลซูโครส 100 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่น แล้วนำมาผสมกัน จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้นตามที่ต้องการปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

4) สารละลาย $AgNO_3$ 30 มก./ลิตร ผสมกับ DICA 250 มก./ลิตร $Al_2(SO_4)_3$ 300 มก./ลิตร กรดซิตริก 30 มก./ลิตร และน้ำตาลซูโครส 10 เปอร์เซ็นต์

เตรียมโดยชั่ง $AgNO_3$ 0.03 กรัม DICA 0.25 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตรโดยใช้น้ำกลั่น และชั่ง $Al_2(SO_4)_3$ 0.30 กรัม กรดซิตริก 0.03 กรัม และน้ำตาลซูโครส 100 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่น แล้วนำมาผสมกัน จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้นตามที่ต้องการปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

2.2 สารเคมีที่ใช้ปักแจกัน (Holding)

1) สารละลาย $AgNO_3$ 50 มก./ลิตร ผสมกับ 8-HQS 200 มก./ลิตร และน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์

เตรียมโดยชั่ง $AgNO_3$ 0.30 กรัม 8-HQS 1.2 กรัม และน้ำตาลซูโครส 300 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ได้ 6,000 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่น

2) สารละลาย $CaCl_2$ 0.4 เปอร์เซ็นต์ ผสมกับ 8-HQS 200 มก./ลิตร และน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์
เตรียมโดยชั่ง $CaCl_2$ 24 กรัม 8-HQS 1.2 กรัม และน้ำตาลซูโครส 300 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ได้ 6,000 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่น

3) สารละลาย 8-HQS 200 มก./ลิตร ผสมกับน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่ง 8-HQS 1.2 กรัม และน้ำตาลซูโครส 300 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ได้ 6,000 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่น

4) สารละลาย $CoNO_3$ 200 มก./ลิตร ผสมกับน้ำตาลซูโครส 5 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่ง $CoNO_3$ 1.2 กรัม และน้ำตาลซูโครส 300 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ได้ 6,000 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่น

2.3 สารเคมีที่ใช้หาปริมาณแอนโธไซยานิน

- กรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1.5 นอร์มัล เตรียมโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกปริมาตร 62.107 มิลลิลิตร เติมลงในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร
- เอทธาโนลิกไฮโดรคลอริก (เอทธานอล : กรดไฮโดรคลอริก) ใช้เอทธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ กรดไฮโดรคลอริก 1.5 นอร์มัล ผสมกันในอัตราส่วน 85 : 15 แล้วเก็บไว้ในขวดสีชา

2.4 สารเคมีที่ใช้ในการหาคลอโรฟิลล์

- สารละลายอะซิโตน ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยใช้อะซิโตน 800 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่น

3. วัสดุและอุปกรณ์ในการศึกษาเนื้อเยื่อพืชโดยวิธีการ Paraffin embedding method

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 ก้านดอกกุหลาบตัดตามขวางบริเวณเหนือโคนก้านดอกประมาณ 10-15 เซนติเมตร นำมาตัดเป็นท่อนสั้นๆ ประมาณ 0.5 เซนติเมตร

3.1.2 เครื่องตัดชิ้นส่วนพืชแบบล้อหมุน (rotary microtome)

3.1.3 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (hot air oven)

3.1.4 เครื่องอุ่นแผ่นสไลด์ (slide warmer)

3.1.5 แผ่นสไลด์และกระจกปิดสไลด์ ขนาด 22x22 มม.

3.1.6 ขวดแก้วสำหรับย้อมสี (staining jar)

3.1.7 ขวดแก้วสำหรับเก็บตัวอย่างพืช

3.1.8 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.1.9 กล้องจุลทรรศน์ติดตั้งกล้องถ่ายภาพ

3.1.10 วัสดุอื่นๆ ได้แก่ มีดผ่าตัด พู่กัน เข็มเขี่ย

3.2 สารเคมี

3.2.1 95% ethyl alcohol

3.2.2 absolute alcohol

3.2.3 glacial acetic acid

3.2.4 formalin

3.2.5 distilled water

3.2.6 tertiary butyl alcohol

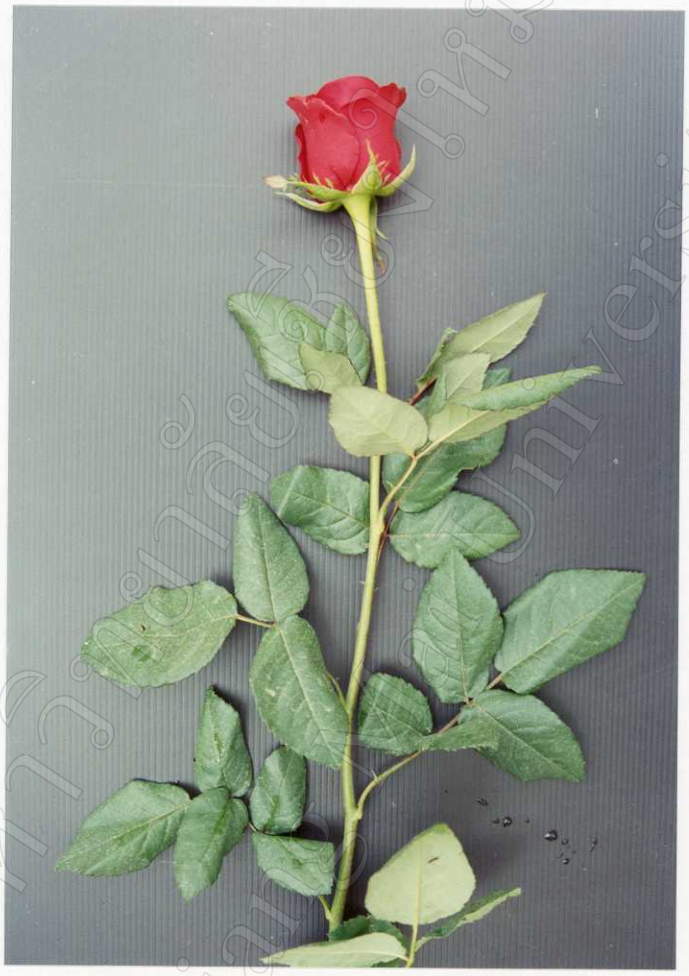
3.2.7 Delafield 's hematoxylin

3.2.8 permount

3.2.9 paraffin

3.2.10 liquid paraffin

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University



ภาพที่ 1 ดอกกุหลาบพันธุ์ Dallas

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

วิธีการ

การทดลองที่ 1 ผลของสารเคมีสำหรับพัลซิ่งต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของดอกกุหลาบหลังการเก็บเกี่ยว

วางแผนการทดลอง แบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) มี 5 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีมี 3 ซ้ำ โดยแต่ละซ้ำใช้ดอกกุหลาบพันธุ์ Dallas จำนวน 10 ดอก

กรรมวิธีที่ 1 น้ำกลั่น (ชุดควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 สารละลายที่ประกอบด้วย $AgNO_3$ 150 มก./ลิตร กรดซิตริก 30มก./ลิตร และน้ำตาลซูโครส 10 %

กรรมวิธีที่ 3 สารละลายที่ประกอบด้วย $AgNO_3$ 150 มก./ลิตร 8-HQS 400 มก./ลิตร กรดซิตริก 30 มก./ลิตร และน้ำตาลซูโครส 10 %

กรรมวิธีที่ 4 สารละลายที่ประกอบด้วย $AgNO_3$ 50 มก./ลิตร $Na_2S_2O_3$ 500 มก./ลิตร กรดซิตริก 30 มก./ลิตร และน้ำตาลซูโครส 10 %

กรรมวิธีที่ 5 สารละลายที่ประกอบด้วย $AgNO_3$ 30 มก./ลิตร DICA 250 มก./ลิตร $Al_2(SO_4)_3$ 300 มก./ลิตร กรดซิตริก 30 มก./ลิตร และน้ำตาลซูโครส 10 %

วิธีการทดลอง

1. นำดอกกุหลาบพันธุ์ Dallas มาคัดขนาดและคุณภาพให้ใกล้เคียงกัน
2. ปลิดใบส่วนล่างออกให้เหลือไว้ระดับเหนือน้ำยาเคมีที่ใช้แช่ และตัดโคนก้านดอกออกประมาณ 2-3 เซนติเมตร โดยตัดเฉียง 45 องศา แล้วแช่ก้านดอกลงในน้ำยาเคมีตามกรรมวิธีต่างๆที่เตรียมไว้ข้างต้น นาน 12 ชั่วโมง
3. เมื่อครบ 12 ชั่วโมงแล้ว นำดอกกุหลาบพันธุ์ Dallas ที่ผ่านการพัลซิ่งแล้วไปปักแจกันในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิห้อง
4. บันทึกผลเกี่ยวกับคุณภาพและอายุการปักแจกัน

การบันทึกผล

1. อายุการปักแจกัน

บันทึกอายุการปักแจกันโดยนับวันที่เริ่มปักแจกันในกรรมวิธีต่าง ๆ จนถึงวันที่เกิดการโค้งงอของคอดอกและ/หรือการเหี่ยวของดอกมากกว่า 50 % มีหน่วยเป็นวัน

2. อัตราการดูดน้ำ

บันทึกอัตราการดูดน้ำของดอกกุหลาบระหว่างการปักแจกัน โดยวัดปริมาณน้ำที่ดอกกุหลาบดูดไปใช้ในแต่ละวันต่อดอก มีหน่วยเป็น มล./ดอก/วัน

3. น้ำหนักสดของดอกกุหลาบ

บันทึกน้ำหนักสดของดอกกุหลาบตั้งแต่เริ่มปักแจกันจนกระทั่งหมดอายุการปักแจกัน โดยให้น้ำหนักสดของดอกกุหลาบเริ่มต้น ในแต่ละกรรมวิธีเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์น้ำหนักสดโดย

$$\text{เปอร์เซ็นต์น้ำหนักสด} = \frac{\text{น้ำหนักดอกหลังปักแจกัน}}{\text{น้ำหนักดอกก่อนปักแจกัน}} \times 100$$

4. สีของใบและกลีบดอกกุหลาบ โดยใช้เครื่องวัดสี (Chromameter)

วัดสีของใบและกลีบดอกกุหลาบ โดยใช้เครื่องวัดสี Chromameter โดยสุ่มตัวอย่างกลีบดอกจำนวน 15 ซ้ำการทดลอง บันทึกค่าในระบบ CIELAB (L* , a* , b*) แล้วคำนวณหาค่า chroma และ hue angle จากสมการดังนี้

$$\text{chroma} = (a^* + b^*)^{\frac{1}{2}}$$

$$\text{hue angle} = \text{arctangent}\left(\frac{a^*}{b^*}\right)$$

5. การหาปริมาณแอนโธไซยานินของกลีบดอกกุหลาบ ตามวิธีของ Rangana (1977) ดังนี้

กลีบดอกกุหลาบ 0.5 กรัม หั่นให้ละเอียด

↓

เติม ethanolic HCl ปริมาตร 25 มิลลิลิตร
เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C 1 คืน

↓

กรองด้วยกระดาษกรอง Whatman NO.1
แล้วปรับปริมาตรด้วย ethanolic HCl ให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

↓

วัดค่าดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร
โดยใช้สารละลาย ethanolic HCl เป็น blank

↓

นำค่า OD ที่ได้ไปแทนค่าในสูตรหาปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมด
มีหน่วยเป็น มิลลิกรัม /100 กรัม น้ำหนักสด

สูตรคำนวณ คือ

$$\text{Total Absorbance} = \frac{\text{OD } 535 \times V \times 100}{W}$$

$$\text{Total anthocyanin content} = \frac{\text{Total Absorbance}}{98.2}$$

โดยที่ V คือ ปริมาตรของสารละลายที่นำมาหาปริมาณแอนโธไซยานิน
W คือ น้ำหนักของกลีบดอกกุหลาบที่นำมาหาปริมาณแอนโธไซยานิน
OD คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากเครื่องสเปคโตรนิค +20 ตามความยาวคลื่นที่กำหนด

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

6. การหาปริมาณคลอโรฟิลล์ของใบกุหลาบ ตามวิธีของ Whitham *et al.*(1971)

ใช้ใบกุหลาบหนัก 1 กรัม บดในโกร่งบด ขณะบดเติมอะซีโตน 80 เปอร์เซ็นต์ ลงไปเล็กน้อย เมื่อบดละเอียดให้กรองผ่านกระดาษกรอง whatman NO.1 ด้วยเครื่องกรองแบบ suction pump ล้างและปรับปริมาตรด้วยอะซีโตนให้ได้ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ในกระบอกตวง นำสารละลายที่กรองแล้วไปวัดค่าดูดกลืนแสง (OD) ที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร บันทึกค่าที่ได้แล้วนำไปคำนวณตามสูตร มีหน่วยเป็นมิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักสด

สูตรคำนวณ คือ

$$\text{chlorophyll a} = (12.7(OD\ 663) - 2.69(OD\ 645)) \times \frac{V}{1{,}000 \times W}$$

$$\text{chlorophyll b} = (22.9(OD\ 645) - 4.68(OD\ 663)) \times \frac{V}{1{,}000 \times W}$$

$$\text{Total chlorophyll} = 20.2(OD\ 645) + 8.02(OD\ 663) \times \frac{V}{1{,}000 \times W}$$

โดยที่ V คือ ปริมาตรของสารละลายที่นำมาหาปริมาณคลอโรฟิลล์

W คือ น้ำหนักของใบกุหลาบที่นำมาหาปริมาณคลอโรฟิลล์

OD คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากเครื่องสเปคโตรนิค +20 ตามความยาวคลื่นที่กำหนด

7. การบานของดอก บันทึกการบานของดอกโดยการให้คะแนนดังนี้

0 = ดอกไม่บาน (0-25%)

1 = ดอกบานเล็กน้อย (26-50%)

3 = ดอกบานปานกลาง (51-75%)

5 = ดอกบานมาก (76-100%)

8. การโค้งงอของคอดอก บันทึกการโค้งงอของคอดอกโดยการให้คะแนนดังนี้

0 = คอดอกไม่เกิดการโค้งงอ (0-25%)

1 = คอดอกเกิดการโค้งงอเล็กน้อย (26-50%)

3 = คอดอกเกิดการโค้งงอปานกลาง (51-75%)

5 = คอดอกเกิดการโค้งงอมาก (76-100%)

9. ความสดของดอก บันทึกความสดของดอกโดยการให้คะแนนดังนี้

0 = ดอกอยู่ในสภาพดีมาก (0-25%)

1 = ดอกเหี่ยวเล็กน้อย (26-50%)

3 = ดอกเหี่ยวปานกลาง (51-75%)

5 = ดอกเหี่ยวมาก (76-100%)

10. ความสดของใบ บันทึกความสดของใบโดยการให้คะแนนดังนี้

0 = ใบไม่เหลือง และไม่เหี่ยว (0-25%)

1 = ใบเหลืองและเหี่ยวเล็กน้อย (26-50%)

3 = ใบเหลืองและเหี่ยวปานกลาง (51-75%)

5 = ใบเหลืองและเหี่ยวมาก (76-100%)

11. การเกิดสีน้ำเงินปนม่วงของกลีบดอก (blueing) โดยการให้คะแนนดังนี้

0 = กลีบดอกไม่มีการเปลี่ยนสี (0-25%)

1 = กลีบดอกมีการเปลี่ยนสีเล็กน้อย (26-50%)

3 = กลีบดอกมีการเปลี่ยนสีปานกลาง (51-75%)

5 = กลีบดอกมีการเปลี่ยนสีมาก (76-100%)

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

การทดลองที่ 2 ผลของสารเคมีสำหรับปักแจกันต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของดอกกุหลาบหลังการเก็บเกี่ยว

วางแผนการทดลอง แบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) มี 5 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีมี 3 ซ้ำ โดยแต่ละซ้ำใช้ดอกกุหลาบพันธุ์ Dallas จำนวน 10 ดอก

กรรมวิธีที่ 1 น้ำกลั่น (ชุดควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 สารละลายที่ประกอบด้วย $AgNO_3$ 50 มก./ลิตร 8-HQS 200 มก./ลิตร และน้ำตาลซูโครส 5%

กรรมวิธีที่ 3 สารละลายที่ประกอบด้วย $CaCl_2$ 0.4 % 8-HQS 200 มก./ลิตร และน้ำตาลซูโครส 5%

กรรมวิธีที่ 4 สารละลายที่ประกอบด้วย 8-HQS 200 มก./ลิตร และน้ำตาลซูโครส 5%

กรรมวิธีที่ 5 สารละลายที่ประกอบด้วย $CoNO_3$ 200 มก./ลิตร และน้ำตาลซูโครส 5%

วิธีการทดลอง

1. นำดอกกุหลาบพันธุ์ Dallas มาคัดขนาดและคุณภาพให้ใกล้เคียงกัน
2. ปลิดใบส่วนล่างออกให้เหลือไว้ระดับเหนือน้ำยาเคมีที่ใช้แช่ และตัดโคนก้านดอกออกประมาณ 2-3 เซนติเมตร โดยตัดเฉียง 45 องศา แล้วแช่ก้านดอกลงในน้ำยาเคมีตามกรรมวิธีต่างๆ ที่เตรียมไว้ข้างต้น
3. บันทึกผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 3 ผลของสารเคมีสำหรับพัลซิ่งและปักแจกันร่วมกับสภาพการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของดอกกุหลาบหลังการเก็บเกี่ยว

วางแผนการทดลอง แบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) มี 4 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีมี 3 ซ้ำ โดยแต่ละซ้ำใช้ดอกกุหลาบพันธุ์ Dallas จำนวน 10 ดอก

นำสูตรสารละลายเคมีที่ให้ผลดีที่สุดในการทดลองที่ 1 ที่ประกอบด้วย $AgNO_3$ 150 มก./ลิตร กรดซิตริก 30 มก./ลิตร และน้ำตาลซูโครส 10 % มาพัลซิ่งดอกกุหลาบพันธุ์ Dallas แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส และ 5 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำมาปักแจกันโดยใช้สูตรสารละลายเคมีที่ให้ผลดีที่สุดของการทดลองที่ 2 ที่ประกอบด้วย $CaCl_2$ 0.4% 8-HQS 200 มก./ลิตร และน้ำตาลซูโครส 5%

กรรมวิธีที่ 1 พัลซิ่งแล้วนำไปเก็บรักษาที่ 2 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำไปปักแจกันในน้ำกลั่น
กรรมวิธีที่ 2 พัลซิ่งแล้วนำไปเก็บรักษาที่ 2 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำไปปักแจกันในสารเคมี
กรรมวิธีที่ 3 พัลซิ่งแล้วนำไปเก็บรักษาที่ 5 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำไปปักแจกันในน้ำกลั่น
กรรมวิธีที่ 4 พัลซิ่งแล้วนำไปเก็บรักษาที่ 5 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำไปปักแจกันในสารเคมี

วิธีการทดลอง

1. นำดอกกุหลาบพันธุ์ Dallas มาคัดขนาดและคุณภาพให้ใกล้เคียงกัน

2. ปลิดใบส่วนล่างออกให้เหลือไว้ระดับเหนือน้ำยาเคมีที่ใช้แช่ และตัดโคนก้านดอกออกประมาณ 2-3 เซนติเมตร โดยตัดเฉียง 45 องศา แล้วแช่ก้านดอกลงในสารละลาย $AgNO_3$ 150 มก./ลิตร กรดซิตริก 30 มก./ลิตร และน้ำตาลซูโครส 10% นาน 12 ชั่วโมง

3. นำดอกกุหลาบพันธุ์ Dallas มาห่อด้วยกระดาษปรู๊ฟแล้วบรรจุลงในกล่องกระดาษที่มีรูระบายอากาศและสารดูดซับเอทธิลีน แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส และ 5 องศาเซลเซียส

4. นำดอกกุหลาบพันธุ์ Dallas ออกมาปักแจกันเมื่อเก็บรักษาได้ 3 วัน 6 วัน 9 วัน และ 12 วัน โดยเมื่อครบเวลาที่กำหนดจึงนำดอกกุหลาบพันธุ์ Dallas ที่เก็บรักษาในห้องเย็นมาตัดโคนก้านดอกออก 2-3 เซนติเมตร แล้วแช่ในสารละลาย $CaCl_2$ 0.4% 8-HQS 200 มก./ลิตร และน้ำตาลซูโครส 5 % ตามกรรมวิธีต่างๆ ข้างต้นตลอดอายุการปักแจกัน

5. บันทึกผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 และ 2

การทดลองที่ 4 ผลของสารเคมีต่อปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำปักแจกัน

วางแผนการทดลอง แบบสุ่มสมบูรณ์ (CRD) มี 4 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีมี 2 ซ้ำ

หาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในสารละลายเคมีที่ให้ผลดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 การทดลองที่ 2 และการทดลองที่ 3 เปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์พร้อมกันทุกกรรมวิธีในวันที่ชุดควบคุมหมดอายุการปักแจกัน

วิธีการทดลอง

1. นำน้ำปักแจกันในแต่ละกรรมวิธีมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น จนได้ความเข้มข้นตั้งแต่ 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} ถึง 10^{-4} (Ueyama and Ichimura, 1998)
2. ดูดตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นมา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ
3. เทอาหาร plate count agar ที่หลอมเหลวแล้ว ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อประมาณ 10-15 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งไว้ให้อาหารแข็งตัว
4. นำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง (Van Doorn and Perik, 1990)
5. นับโคโลนีในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนอยู่ระหว่าง 30 - 300 โคโลนี แล้วคำนวณหาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดต่อปริมาณน้ำปักแจกัน 1 มิลลิลิตร โดยใช้สูตร

$$\text{จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำปักแจกัน} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้}}{\text{ระดับความเข้มข้น}}$$

การทดลองที่ 5 ผลของสารเคมีต่อลักษณะเนื้อเยื่อของท่อลำเลียงน้ำภายในก้านดอก

เปรียบเทียบลักษณะเนื้อเยื่อของท่อลำเลียงน้ำภายในก้านดอกกุหลาบก่อนการปักแจกันกับลักษณะของเนื้อเยื่อภายในก้านดอกเมื่อปักแจกันในสารละลายเคมีที่ให้ผลดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 การทดลองที่ 2 การทดลองที่ 3 และน้ำกลั่น (ชุดควบคุม) ตามวิธีการทำสไลด์ถาวรเนื้อเยื่อพืชโดยการฝังพาราฟิน (paraffin embedding method) ตามเทคนิคของ Johansen (1940)

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการหลังการเก็บเกี่ยวพืชสวน ห้องปฏิบัติการภาควิชาพืชสวน และห้องปฏิบัติการภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ระยะเวลาที่ทำการทดลอง

เริ่มต้น พฤษภาคม 2544

สิ้นสุด มีนาคม 2545

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University