บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

1. วัสดุและอุปกรณ์

1.1 วัสดุพันธุ์พืช

หัวพันธุ์ในระยะพักตัวของปทุมมาสีชมพูพันธุ์ เชียงใหม่พิงค์ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 2.33 เซนติเมตร ตุ้มราก 4 ตุ้ม จำนวน 548 หัว

ภาพที่ 1 หัวพันธุ์ปทุมมาสีชมพูพันธุ์ เชียงใหม่พิงค์

1.2 วัสดุสารเคมี

1.2.1 สารเคมีสำหรับการเตรียมสารควบคุมการเจริญเติบโต

1.2.1.1 กรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) (NANTO GIPPER® บริษัท ไคซัน เทรดดิ้ง คัมพานี)

1.2.1.2 ออกซิน (IAA) (Fluka บริษัท Fluka Chemic AG industriestrasse)

1.2.1.3 ไซโตไคนิน (BA) (Fluka บริษัท Fluka Chemic AG industriestrasse)

1.2.1.4 เอทธิฟอน (Ethephon) (Ethrel® PGR 3% บริษัท Aventis Cropscience)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2.2 สารเคมีสำหรับการเตรียมสารละลายธาตุอาหาร ได้แก่

1.2.2.1 แอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3)

1.2.2.2 แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($NH_4H_2PO_4$)

1.2.2.3 โพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3)

1.2.2.4 โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)

1.2.2.5 แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$)

1.2.2.6 แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$)

1.2.2.7 กรดบอริค (H_2BO_3)

1.2.2.8 แมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4$)

1.2.2.9 ซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4$)

1.2.2.10 คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$)

1.2.2.11 โมลิบดินัมออกไซด์ (MoO_2)

1.2.2.12 เหล็กคีเลต (FeEDTA)

1.2.3 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ไนโตรเจน ได้แก่

1.2.3.1 กรดซัลฟูริก (H_2SO_4)

1.2.3.2 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

1.2.3.3 โซเดียมคีเลต (EDTA.2Na)

1.2.3.4 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

1.2.3.5 เอทธานอล (C_2H_5OH)

1.2.3.6 เมธิลเรด (methyl red)

1.2.3.7 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)

1.2.3.8 กรดเบนโซอิค (benzoic acid)

1.2.3.9 โซเดียมไนโตรพลัสไซด์ ($Na_2[Fe(CN)_5NO].2H_2O$)

1.2.3.10 ฟีนอล ($C_6H_6O_6$)

1.2.3.11 ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4)

1.2.3.12 ไตรโซเดียมฟอสเฟต (Na_3PO_4)

1.2.3.13 โซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ (NaClO)

1.2.3.14 แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2.4 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ฟอสฟอรัส ได้แก่

1.2.4.1 กรดซัลฟูริก (H_2SO_4)

1.2.4.2 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

1.2.4.3 กรดไฮโดรคลอริค (HCl)

1.2.4.4 แอมโมเนียมโมลิบเดต ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}$)

1.2.4.5 สเทนัสคลอไรด์ ($SnCl_2$)

1.2.4.6 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)

1.2.5 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์โพแทสเซียม ได้แก่

1.2.5.1 กรดเปอร์คลอริคเข้มข้น ($HClO_4$)

1.2.5.2 กรดไนตริก (HNO_3)

1.2.5.3 กรดไฮโดรคลอริค (HCl)

1.2.5.4 โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)

1.3 อุปกรณ์

1.3.1 ตลับเมตร

1.3.2 เวอร์เนียร์คาร์ลิปเปอร์

1.3.3 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH meter)

1.3.4 เครื่องวัดค่าความนำไฟฟ้า (EC meter)

1.3.5 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ของบริษัท HITACHI รุ่น U-2001

1.3.6 Atomic absorption spectrophotometer ของบริษัท PERKIN ELMER รุ่น 3100

1.3.7 เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.3.8 เครื่องบดตัวอย่างพืช

1.3.9 ถุงพลาสติกเก็บตัวอย่างพืช

1.3.10 ป้ายชื่อพร้อมปากกาเคมี

1.3.11 ตู้เย็น

1.3.12 ตู้อบตัวอย่างพืช

1.3.13 เตาย่อยตัวอย่างพืชของบริษัท TECHNE รุ่น DB – 4

1.3.14 ขวดพลาสติก ขนาด 50 มิลลิเมตร

1.3.15 เครื่องแก้ว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

1.3.15.1 หลอดทดลอง ขนาด 25 x 200 มิลลิเมตร

1.3.15.2 บีกเกอร์

1.3.15.3 กระบอกตวง

1.3.15.4 กรวยกรอง

1.3.15.5 ขวดปรับปริมาตร

1.3.15.6 ปิเปต ไมโครปิเปต

1.3.15.7 หลอดหยดสาร

1.3.15.8 แท่งแก้วคน

1.3.15.9 ขวดสีชา

1.3.15.10 ช้อนตักสาร

2. วิธีการทดลอง

2.1 การศึกษาครั้งนี้แบ่งการทดลองออกเป็น 7 การทดลองดังนี้

การทดลองที่ 1 ผลของระดับกรดจิบเบอเรลลิก ต่อการเจริญเติบโตของปทุมมา

ปลูกปทุมมาพันธุ์ เชียงใหม่พิงค์ โดยใช้หัวพันธุ์ที่พ้นระยะพักตัว จำนวน 32 หัว นำมาปลูกในถุงพลาสติกดำขนาด 6 x 12 นิ้ว จำนวน 1 หัวต่อถุง ใช้วัสดุปลูกที่ประกอบด้วย ดิน ทราย และถ่านแกลบ อัตราส่วน 1:1:1 เมื่อต้นปทุมมางอก เริ่มให้สารควบคุมการเจริญเติบโตโดยการราดลงวัสดุปลูก และให้ซ้ำอีกครั้งหลังจากนั้น 2 สัปดาห์ รดน้ำและให้สารละลายธาตุอาหารสูตรบ้านไร่#1 (ภาคผนวก 1) รดให้แก่พืชสัปดาห์ละครั้ง โดยให้ในปริมาณ 125 มิลลิลิตรต่อ 1 ต้น

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) ราดสาร GA_3 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร/ต้น/ครั้ง ในระดับความเข้มข้นต่างกัน จำนวน 4 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ราดสาร GA_3 เข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (กรรมวิธีควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 ราดสาร GA_3 เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 3 ราดสาร GA_3 เข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 4 ราดสาร GA_3 เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2 บันทึกผลการทดลอง

2.2.1 บันทึกการเจริญเติบโต

2.2.1.1 ความสูงของต้น (เซนติเมตร) วัดจากจุดที่กำหนด (โคนต้น) ถึงส่วนที่สูงที่สุดของต้น โดยการรวบใบขึ้น ทุก 2 สัปดาห์

2.2.1.2 จำนวนใบต่อต้น ทุก 2 สัปดาห์

2.2.1.3 จำนวนหน่อใหม่ต่อกอ

2.2.1.4 จำนวนวันที่ใช้ในการออกดอก (เริ่มปลูกจนถึงดอกจริงดอกแรกบาน)

2.2.1.5 ความยาวก้านดอก (เซนติเมตร) วัดจากโคนจนถึงโคนกลีบประดับล่าง (green bract)

2.2.1.6 ความยาวช่อดอก (เซนติเมตร) วัดจากโคนกลีบประดับล่างจนถึงปลายกลีบประดับบน (coma bract)

2.2.1.7 จำนวนกลีบประดับสีชมพูต่อช่อ

2.2.1.8 จำนวนกลีบประดับสีเขียวต่อช่อ

2.2.1.9 จำนวนดอกต่อกอ

2.2.1.10 น้ำหนักสดหัวพันธุ์ต่อกอ (กรัม)

2.2.1.11 น้ำหนักสดหัวพันธุ์ลำดับที่ 1 (กรัม)

2.2.1.12 ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของหัวใหม่ (เซนติเมตร)

2.2.1.13 ขนาดความยาวหัวใหม่ (เซนติเมตร)

2.2.1.14 จำนวนตุ้มรากใหม่ต่อหัว

2.2.1.15 ความยาวรากสะสมอาหาร (เซนติเมตร)

2.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ส่วนเหนือดินและส่วนใต้ดิน

2.2.2.1 การเตรียมตัวอย่างพืชสำหรับวิเคราะห์ธาตุอาหาร

สุ่มพืชในช่วงออกดอกระยะดอกจริงดอกแรกบาน จำนวน 4 ซ้ำต่อกรรมวิธี นำตัวอย่างที่สุ่มได้มาแยกส่วนเหนือดิน และส่วนใต้ดิน ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา 2 ครั้ง น้ำกลั่น 3 ครั้ง ซับให้แห้งจากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักสด บันทึกน้ำหนักสด แล้วนำไปอบแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จนกระทั่งน้ำหนักแห้งไม่เปลี่ยนแปลง จึงบันทึกน้ำหนักแห้ง แล้ว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

นำไปบดให้เป็นผงละเอียด เก็บใส่ถุงพลาสติกก่อนนำไปชั่งเพื่อใช้ย่อยและวิเคราะห์ธาตุอาหารต่อไป

2.2.2.2 การย่อยตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ไนโตรเจนและฟอสฟอรัส ดัดแปลงโดย (Ohyama *et al*., 1985;1986)

ชั่งตัวอย่างพืชอบแห้งที่บดละเอียดประมาณ 0.05 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น (H_2SO_4) 1 มิลลิลิตร ปิดหลอดด้วยพาราฟิล์มทิ้งไว้ 1 คืน วันต่อมานำมาย่อยที่เตาย่อยตัวอย่าง ปรับอุณหภูมิที่ 180 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที นำหลอดทดลองขึ้นมาพักทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) หลอดละ 0.3 มิลลิลิตร ปั่นให้เข้ากัน นำมาย่อยต่อโดยปรับอุณหภูมิ 230 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หากสารละลายยังไม่ใสให้เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) หลอดละ 0.2 มิลลิลิตร แล้วนำไปย่อยต่อที่อุณหภูมิ 230 องศาเซลเซียส 30 นาที ทำซ้ำเดิมจนกระทั่งสารละลายใส หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 1 คืน วันต่อมานำมาปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร เก็บสารละลายที่ได้ไว้ในขวดพลาสติก เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง สำหรับวิเคราะห์ต่อไป

2.2.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนรวม (Indolphenol Method) (Ohyama *et al*., 1985 ; 1986)

1. เตรียมสารละลายที่ใช้ตรวจสอบปริมาณไนโตรเจน จำนวน 4 ชนิด ดังนี้

A reagent : ชั่งโซเดียมคีเลต (EDTA.2Na) 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับ pH ให้เป็น 10 โดยใช้ 10 N โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เป็นตัวปรับ pH จากนั้นเติมสารละลายเมธิลเรด (methylred) 20 มิลลิลิตร (เมธิลเรด 0.05 กรัม + 60% เอทธานอล 20 มิลลิลิตร)คนให้เข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร

B reagent : ชั่งโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 136.09 กรัม ใส่บีกเกอร์ 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร จากนั้นชั่งกรดเบนโซอิค (benzoic acid) 2.75 กรัม ใส่บีกเกอร์ 500 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร นำไปปั่นโดยใช้ stirer ปรับอุณหภูมิ 30-40 องศา จนละลายหมด นำมารวมกัน แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

C reagent : ชั่งโซเดียมไนโตรพลัสไซด์ (sodium nitroprusside) 0.1 กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) จากนั้นเติมฟีนอล (phenol) 10.25 มิลลิลิตร (นำฟีนอลไปอุ่นที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส จะได้ฟีนอลที่เป็นของเหลว) แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ใช้ได้นาน 2 สัปดาห์

D reagent : ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 10 กรัม ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ($Na_2HPO_4.7H_2O$) 7.06 กรัม และ ไตรโซเดียมฟอสเฟต ($Na_3PO_4.12H_2O$) 31.8

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

กรัม ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นเติมโซเดียมไฮเปอร์คลอไรท์ (sodium hyperchlorite) 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร

2. เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 1 N (ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 40 กรัม ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร)

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานจากแอมโมเนียมซัลเฟต($(NH_4)_2SO_4$ ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน โดยชั่งแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) 0.471 กรัม ละลายด้วยกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) 0.5 N แล้วปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 1 ลิตร จนครบปริมาตร จะได้สารละลายมาตรฐานไนโตรเจนความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำสารละลายไปเจือจางตามความเข้มข้นที่ต้องการ โดยกรดซัลฟูริก 0.5 N เตรียมจาก กรดซัลฟูริก 13.32 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

4. ดูดตัวอย่างที่ย่อยได้จากข้อ 2.2.2.2 ปริมาตร 0.3-0.5 มิลลิลิตร (ขึ้นกับส่วนของพืช) เติม A reagent 0.5 มิลลิลิตร และเติม B reagent 0.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพู แล้วนำมาไตรเตรทโดยหยดโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 1 N ลงไป เขย่าเล็กน้อยให้เปลี่ยนสี ละลายเปลี่ยนเป็นสีเหลือง จากนั้นเติม C reagent 2.5 มิลลิลิตร และ D reagent 2.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ที่ 625 นาโนเมตร บันทึกผล แล้วนำค่าที่อ่านได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานตามกฎของ Beer's-Lambert's Law จากนั้นนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาปริมาณไนโตรเจน (เปอร์เซ็นต์) โดยใช้สูตรคำนวณดังนี้

$$\text{ปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างพืช (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{สาร A x B x C}}{1000 \times \text{DW}}$$

สาร A มิลลิกรัมต่อลิตร = ค่าความเข้มข้นของไนโตรเจนในสารละลายตัวอย่างพืชจากกราฟมาตรฐาน (ส่วนต่อล้าน)

B = อัตราส่วนการเจือจางสารตัวอย่างในปฏิกิริยา Indolphenol

$$= \frac{\text{ปริมาตรสุดท้ายในการวิเคราะห์ (25 มิลลิลิตร)}}{\text{ปริมาตรสารตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์}}$$

C = ปริมาตรสุดท้ายของการย่อยตัวอย่างพืชในข้อ 2.2.2.2 (50 มิลลิลิตร)

DW = น้ำหนักแห้งของตัวอย่างที่ใช้ย่อย (กรัม)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสโดยการวัดการดูดกลืนแสงของสารที่มีสี (colorimetry) (Ohyama *et. al*., 1991) ซึ่งได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างฟอสเฟต และอนุมูลโมลิบเดต ดังนี้

1. เตรียมสารละลายที่ใช้ตรวจสอบปริมาณฟอสฟอรัสจำนวน 3 ชนิดดังนี้

A reagent : ชั่งแอมโมเนียมโมลิบเดต ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}$) 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร จากนั้นนำมากรอง

B reagent : เตรียมกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) 250 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 500 มิลลิลิตร

C reagent : นำ A reagent มาผสม B reagent โดยเท B reagent ลงในบีกเกอร์ ขนาด 1 ลิตร ค่อยๆ เท A reagent ทีละน้อย อย่างช้าๆ ทิ้งไว้ 1 คืน วันต่อมานำมาปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดสีชาตั้งไว้ในที่มืด

2. เตรียมสารละลายสเทนัสคลอไรด์ ($SnCl_2.2H_2O$) โดยชั่งสเทนัสคลอไรด์ 0.25 กรัม เทลงในขวดสีชา (ควรเตรียมในตู้ควัน) เติมกรดไฮโดรคลอริก 5 มิลลิลิตร ละลายให้หมด จากนั้นเติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ใช้ได้ 3 วัน

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานของฟอสฟอรัส จากโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) ปรับให้มีความเข้มข้นตามลำดับคือ 0 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0 1.2 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน โดยชั่งโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 0.716 กรัม ละลายด้วยกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) 4 N แล้วปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตร (volumetric flask) ขนาด 1 ลิตร จนครบปริมาตร ได้สารละลายมาตรฐานฟอสฟอรัสความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นนำสารละลายไปเจือจางตามความเข้มข้นที่ต้องการ

4. ดูดสารละลายตัวอย่างจากข้อ 2.2.2.2 ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย เติม C reagent ขวดละ 1 มิลลิกรัมต่อลิตร และเติมสเทนัสคลอไรด์ 0.2 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ที่ 660 นาโนเมตร นำค่าที่อ่านได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของฟอสฟอรัส จากนั้นนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาปริมาณฟอสฟอรัส (เปอร์เซ็นต์) เช่นเดียวกับการหาปริมาณไนโตรเจน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2.2.5 การย่อยตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์โพแทสเซียม (Mizukoshi *et al.,* 1994)

ชั่งตัวอย่างพืชอบแห้งที่บดละเอียดประมาณ 0.05 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมกรดเปอร์คลอริคเข้มข้น ($HClO_4$) 0.4 มิลลิลิตร และกรดไนตริก (HNO_3) 0.3 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปั่นให้เข้ากัน ปิดหลอดด้วยพาราฟิล์ม ทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นนำมาย่อยที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เพื่อไล่ควันสีเหลืองของ NO_2^- ออกหมด จึงปรับเพิ่มอุณหภูมิเป็น 210 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้จนตัวอย่างแห้ง ระวังอย่าให้ไหม้ นำออกมาทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมสารละลายเจือจาง (HCl : H_2O อัตรา 1:4) หลอดละ 1 มิลลิลิตร ปั่นให้เข้ากัน จากนั้นนำมาตั้งบนเตาที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เพื่อไล่ Cl^- ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมาปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร เทใส่ขวดพลาสติกเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง สำหรับวิเคราะห์ต่อไป

2.2.2.6 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุโพแทสเซียม

1.เตรียมสารละลายมาตรฐานของโพแทสเซียมปรับให้มีความเข้มข้น 0 0.1 0.2 0.3 0.4 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

2.เจือจางสารละลายตัวอย่างจากข้อ 2.2.2.5 โดยใช้สารตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางด้วยน้ำกลั่นเป็น 25 มิลลิลิตร

3.นำสารละลายดังกล่าวไปวัดปริมาณโพแทสเซียม ด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 766.5 นาโนเมตร บันทึกผล และนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาปริมาณโพแทสเซียม (เปอร์เซ็นต์) เช่นเดียวกับการหาปริมาณไนโตรเจน

การทดลองที่ 2 ผลของระดับออกซิน (IAA) ต่อการเจริญเติบโตของปทุมมา

เตรียมพืชทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 โดยให้พืชได้รับออกซิน ปริมาตร 100 มิลลิลิตร/ต้น/ครั้ง ในระดับความเข้มข้นต่างกัน จำนวน 4 กรรมวิธี ดังนี้ในกรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ราดสาร IAA เข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (กรรมวิธีควบคุม)
กรรมวิธีที่ 2 ราดสาร IAA เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร
กรรมวิธีที่ 3 ราดสาร IAA เข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร
กรรมวิธีที่ 4 ราดสาร IAA เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

วางแผนการทดลอง และบันทึกผลการทดลอง เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 3 ผลของระดับไซโตไคนิน (BA; benzyladenine) ต่อการเจริญเติบโตของปทุมมา

เตรียมพืชทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 โดยให้พืชได้รับไซโตไคนิน ปริมาตร 100 มิลลิลิตร/ต้น/ครั้ง ในระดับความเข้มข้นต่างกัน จำนวน 4 กรรมวิธี ดังนี้ในกรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ราดสาร BA เข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 2 ราดสาร BA เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 3 ราดสาร BA เข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

กรรมวิธีที่ 4 ราดสาร BA เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

วางแผนการทดลอง และบันทึกผลการทดลอง เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 4 ผลของระดับเอทธิลีน (Ethephon) ต่อการเจริญเติบโตของปทุมมา

เตรียมพืชทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 โดยให้พืชได้รับเอทธิฟอน ปริมาตร 100 มิลลิลิตร/ต้น/ครั้ง ในระดับความเข้มข้นต่างกัน จำนวน 4 กรรมวิธี ดังนี้ในกรรมวิธี

กรรมวิธีที่ 1 ราดสาร Ethephon เข้มข้น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร (กรรมวิธีควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 ราดสาร Ethephon เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 3 ราดสาร Ethephon เข้มข้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร

กรรมวิธีที่ 4 ราดสาร Ethephon เข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร

วางแผนการทดลอง และบันทึกผลการทดลอง เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 5 ผลของระยะการเจริญของพืชเมื่อได้รับให้กรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ต่อการเจริญเติบโตของปทุมมา

ปลูกปทุมมาพันธุ์ เชียงใหม่พิงค์ โดยใช้หัวพันธุ์ที่พ้นระยะพักตัว จำนวน 150 หัว นำมาปลูกในถุงพลาสติกดำขนาด 6 x 12 นิ้ว จำนวน 1 หัวต่อถุง ใช้วัสดุปลูกที่ประกอบด้วย ดิน ทราย แกลบดิบ และถ่านแกลบ อัตราส่วน 1:1:1:1 รดน้ำและให้สารละลายธาตุอาหารเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 จากนั้นสุ่มพืช 10 ซ้ำ (ต้น) เพื่อบันทึกผลการเจริญเติบโตทุก 2 สัปดาห์ และสุ่มพืช 4 ซ้ำ (ต้น) วิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารในช่วงออกดอกในระยะดอกจริงดอกแรกบาน บันทึกผลการทดลอง เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

วางแผนการทดลองแบบ สุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) โดยให้พืชได้รับกรดจิบเบอเรลลิก ปริมาตร 100 มิลลิลิตร/ต้น/ครั้ง จำนวน 5 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไม่ได้รับสาร GA_3 (กรรมวิธีควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 ราดสาร GA_3 เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระยะเริ่มงอก

กรรมวิธีที่ 3 ราดสาร GA_3 เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระยะ 1 ใบคลี่

กรรมวิธีที่ 4 ราดสาร GA_3 เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระยะ 2 ใบคลี่

กรรมวิธีที่ 5 ราดสาร GA_3 เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ในระยะ 3 ใบคลี่

การทดลองที่ 6 ผลของระยะเวลาในการแช่หัวพันธุ์ด้วยกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ต่อการเจริญเติบโตของปทุมมา

ใช้หัวพันธุ์ที่พ้นระยะพักตัว จำนวน 180 หัว ทำการแช่หัวพันธุ์ด้วยน้ำกลั่น 3 วัน โดยเปลี่ยนน้ำกลั่นทุกวัน หลังจากนั้นแช่หัวปทุมมาด้วยกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยแต่ละกรรมวิธีใช้เวลาในการแช่หัวพันธุ์ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ไม่แช่สาร (กรรมวิธีควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 แช่สาร GA_3 เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร 3 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 3 แช่สาร GA_3 เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร 6 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 4 แช่สาร GA_3 เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร 12 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 5 แช่สาร GA_3 เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร 24 ชั่วโมง

กรรมวิธีที่ 6 แช่สาร GA_3 เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร 48 ชั่วโมง

หลังจากแช่ด้วยสารละลายจิบเบอเรลลินแล้ว นำไปปลูกในถุงพลาสติกดำขนาด 6 x 12 นิ้ว จำนวน 1 หัวต่อถุง ใช้วัสดุปลูกที่ประกอบด้วย ดิน ทราย แกลบดิบ และถ่านแกลบ อัตราส่วน 1:1:1:1 รดน้ำและให้สารละลายธาตุอาหารเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 จากนั้นสุ่มพืช 10 ซ้ำ (ต้น) เพื่อบันทึกผลการเจริญเติบโตทุก 2 สัปดาห์ และสุ่มพืช 4 ซ้ำ (ต้น) วิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารในช่วงออกดอกในระยะดอกจริงดอกแรกบาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 7 ผลของกรดจิบเบอเรลลิก (GA_3) ร่วมกับไซโตไคนิน (BA; benzyladenine) ต่อการเจริญเติบโตของปทุมมา

ปลูกปทุมมาพันธุ์ เชียงใหม่พิงค์ โดยใช้หัวพันธุ์ที่พ้นระยะพักตัว จำนวน 90 หัว นำมาปลูกในถุงพลาสติกดำขนาด 6 x 12 นิ้ว จำนวน 1 หัวต่อถุง ใช้วัสดุปลูกที่ประกอบด้วย ดิน ทราย แกลบดิบ และถ่านแกลบ อัตราส่วน 1:1:1:1 รดน้ำและให้สารละลายธาตุอาหารเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 เมื่อหัวพันธุ์เริ่มงอก ทำการราดสารควบคุมการเจริญ โดยให้สารละลายกรดจิบเบอเรลลิก ด้วยระดับความเข้มข้น 3 ระดับ คือ 0, 150, 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับไซโตไคนิน 3 ระดับ คือ 0, 50, 100 ทำการบันทึกผลการเจริญเติบโตเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD จำนวน 3 x 3 กรรมวิธีๆละ 5 ซ้ำ ตามกรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ระดับความเข้มข้น GA_3 0 และ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร
กรรมวิธีที่ 2 ระดับความเข้มข้น GA_3 0 และ BA 50 มิลลิกรัมต่อลิตร
กรรมวิธีที่ 3 ระดับความเข้มข้น GA_3 0 และ BA 100 มิลลิกรัมต่อลิตร
กรรมวิธีที่ 4 ระดับความเข้มข้น GA_3 150 และ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร
กรรมวิธีที่ 5 ระดับความเข้มข้น GA_3 150 และ BA 50 มิลลิกรัมต่อลิตร
กรรมวิธีที่ 6 ระดับความเข้มข้น GA_3 150 และ BA 100 มิลลิกรัมต่อลิตร
กรรมวิธีที่ 7 ระดับความเข้มข้น GA_3 300 และ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร
กรรมวิธีที่ 8 ระดับความเข้มข้น GA_3 300 และ BA 50 มิลลิกรัมต่อลิตร
กรรมวิธีที่ 9 ระดับความเข้มข้น GA_3 300 และ BA 100 มิลลิกรัมต่อลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved