

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์

1. รถแทรกเตอร์
2. บัวรดน้ำ
3. ถังฉีดขนาด 5 ลิตร
4. จอบ เสียม
5. มีดคัดเตอร์
6. กรรไกรตัดกิ่ง
7. เชือก
8. สายวัด
9. ไม้บรรทัด
10. สายยาง
11. สมุดและอุปกรณ์จดบันทึก
12. กล้องถ่ายรูป
13. บังกี
14. อุปกรณ์เตรียมสาร
 - บีกเกอร์ (beaker)
 - ปิเปต (pipette)
 - กระบอกตวง (measuring cylinder)
15. ตู้เย็น
16. กรรไกรตัดกิ่ง
17. เครื่องกรองแบบ suction pump
18. เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 2 ตำแหน่ง
19. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)
20. โกร่งบด
21. ขวดน้ำพลาสติกตัดครึ่ง
22. กระดาษกรอง whatman No1.
23. เทอร์โมมิเตอร์
24. เครื่องแก้ว

- ขวดปรับปริมาตร
- บีกเกอร์
- ปีเปต
- แท่งแก้วคน
- กรวยกรอง

ระยะที่ 1 การเตรียมพื้นที่และ ดิน

1. เก็บตัวอย่างดินเพื่อวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารพืช และคุณสมบัติทางเคมีของดิน ทั้งก่อนและหลังการปรับปรุงดังนี้
 - 1.1 ตำรวกและเก็บตัวอย่างใบพืชจำนวน 10 ตัวอย่างแยก ได้ดังนี้ เก็บตัวอย่างดินในแปลงปลูก 3 ระดับ ความลึกจำนวน 5 จุด ทุกเดือนๆละ 1 ครั้ง สกัดและวิเคราะห์ตัวอย่างด้วยวิธี Rapid test method เพื่อหาปริมาณ Available P, Exchangeable K และ Organic Matter (O.M.)
 - 1.2 ปรับปรุงคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของดิน โคนวางแผนการทดลองแบบ Split Plot 3 ซ้ำ หลักการคือใส่ปูนขาว ไม่ใส่ปูนขาว โดยวิธีการดังนี้
 - pH (ดิน : น้ำ 1: 1)
 - Available P (Bray π)
 - Exchangeable K ($\text{NH}_4 \text{OAC}$ 1 N, pH 7)
 - Organic Matter (Walkley Black)

ระยะที่ 2 การป้องกันกำจัดศัตรูพืชของกุหลาบ

3.2 วิธีดำเนินการทดลอง Randomized Complete Block Design(RCBD) แบ่งการทดลองเป็น 5

กรรมวิธี กรรมวิธี ละ 3 ซ้ำๆ ละ 50 ต้นโดยกำหนดดังนี้

| | | | | |
|---------------|----------|-------------|-------|--|
| กรรมวิธีที่ 1 | control | (ชุดควบคุม) | | |
| กรรมวิธีที่ 2 | chitosan | ความเข้มข้น | 0.1 % | |
| กรรมวิธีที่ 3 | chitosan | ความเข้มข้น | 0.3 % | |
| กรรมวิธีที่ 4 | chitosan | ความเข้มข้น | 0.5 % | |
| กรรมวิธีที่ 5 | chitosan | ความเข้มข้น | 0.7 % | |

3.3 ขั้นตอนการทดลอง

- โถพื้นที่ปลูกตากดินทิ้งไว้ 7 วัน ขึ้นแปลงขนาด กว้าง 1.5 เมตร ยาว 4.50 เมตร
- ปลูกกุหลาบลงในแต่ละกรรมวิธีดูแลการเจริญเติบโตของกุหลาบ การให้น้ำจะให้ 2 ครั้ง ต่อสัปดาห์ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพอากาศและสภาพดินที่ปลูกด้วย
- ทำการพ่นสารสกัดในอัตราส่วน 200 มิลลิลิตรต่อต้น ทุกๆ สัปดาห์

3.4 การบันทึกข้อมูล

ทำการบันทึกผลของการทดลองทุกสัปดาห์ โดยการสังเกตการณ์เปลี่ยนแปลง ดังนี้

1. จำนวนการเข้าทำลายของโรคหลักเกณฑ์ในการวัด คือการเข้าทำลายของแมลง โดยการกัดกิน(ใบ) บันทึกเป็น score
2. จำนวนการเข้าทำลายของแมลง หลักเกณฑ์ในการวัด คือลักษณะการทำลาย อาการแสดงบน ใบ กิ่ง คอดอก กลีบเลี้ยง และกลีบดอก การเข้าทำลายส่วนอ่อน หรือส่วนยอดเช่น ใบ หักงอ เหลือง ซีด ดำง มีเชื้อราขึ้น (ใบ) บันทึกเป็น score

| | | |
|---------|----|---------|
| 21 – 30 | ใบ | 5 คะแนน |
| 16 – 20 | ใบ | 4 คะแนน |
| 10 – 15 | ใบ | 3 คะแนน |
| 5 – 9 | ใบ | 2 คะแนน |
| 1 – 4 | ใบ | 1 คะแนน |

3. ความยาวของก้านดอก (เซนติเมตร)
4. จำนวนดอกที่ได้ต่อต้น (ดอก)

3.5 สถานที่ทำการทดลอง

คณะเทคโนโลยีการเกษตรมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ วิทยาเขตสะถว – จีเห่ล็ก ตำบลจีเห่ล็ก อำเภอแมร์ริม จังหวัดเชียงใหม่

ระยะที่ 3 การยี่ดอายุการเก็บรักษาและการปักแจกันของดอกกุหลาบ

วางแผนการทดลองแบบกลุ่มสมบูรณ์ Complete Random Design(CRD) มี 5 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธี มี 3 ซ้ำ โดยแต่ละซ้ำใช้ดอกกุหลาบพันธุ์ Grand Gala จำนวน 10 ดอก

| | |
|---------------|--------------|
| กรรมวิธีที่ 1 | ชุดควบคุม |
| กรรมวิธีที่ 2 | ไคโตซาน 0.1% |
| กรรมวิธีที่ 3 | ไคโตซาน 0.3% |
| กรรมวิธีที่ 4 | ไคโตซาน 0.5% |
| กรรมวิธีที่ 5 | ไคโตซาน 0.7% |

วิธีทดลอง

1. นำดอกกุหลาบ มาคัดขนาดและคุณภาพให้ใกล้เคียงกัน
2. ปลิดใบส่วนล่างออกให้เหลือไว้ระดับเหนือน้ำแช่ และตัดโคนก้านดอกออกประมาณ 2-3 เซนติเมตร โคนตัดเฉียง 45 องศา แล้วแช่ก้านดอกลงในน้ำเปล่าที่มีสารละลายน้ำตาลทรายที่ความเข้มข้น 5% เป็นเวลา 30 นาที
3. นำไปปักในน้ำกลั่น
4. พ่นสารสกัดไลโคซานที่เตรียมไว้ลงบนตัวดอกและบริเวณใบของดอกในปริมาตร 200 มิลลิลิตร ทุกๆ 3 วัน จากนั้นนำไปตั้งไว้ในสภาพอุณหภูมิห้อง 25 ± 1 องศาเซลเซียส
5. บันทึกผลเกี่ยวกับคุณภาพและอายุการปักแจกัน

3.6 การบันทึกผล

1. อายุการปักแจกัน

บันทึกอายุการปักแจกัน โดยนับวันที่เริ่มพ่นสารจนถึงวันที่เกิดการโค้งงอของคอดอกหรือ เกิดการเหี่ยวของดอกมากกว่า 50%

2. น้ำหนักสดของกุหลาบ

บันทึกน้ำหนักสดของดอกกุหลาบตั้งแต่เริ่มพ่นสารจนกระทั่งหมดอายุการปักแจกัน โดยให้น้ำหนักสดของดอกกุหลาบเริ่มต้น เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์น้ำหนักสดโดย

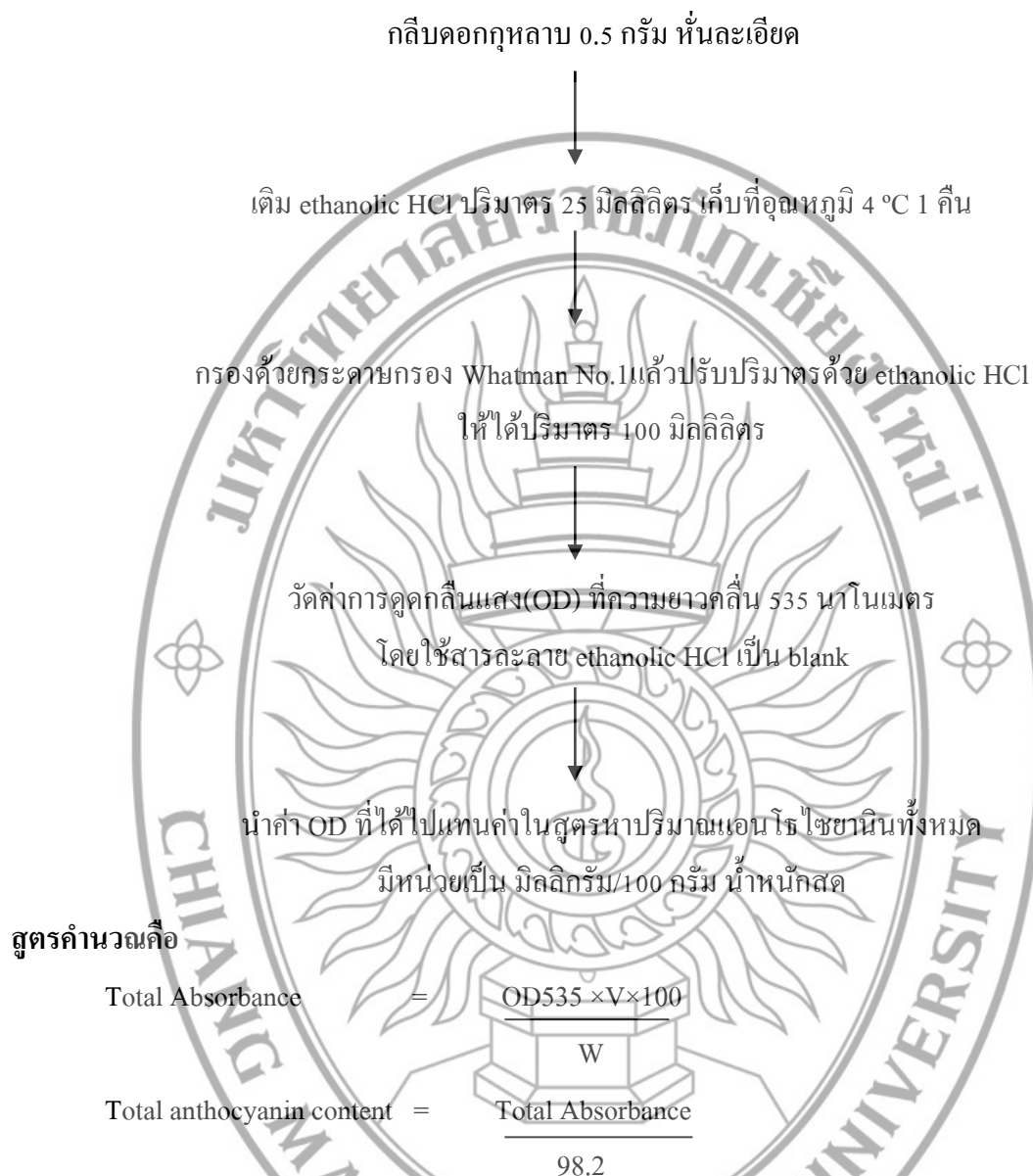
$$\text{เปอร์เซ็นต์น้ำหนักสด} = \frac{\text{น้ำหนักดอกเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักดอก ณ วันที่วัด}}{\text{น้ำหนักดอกเริ่มต้น}} \times 100$$

4. การหาปริมาณแอนโทไซยานินของกลีบดอกกุหลาบ

3.1 สารเคมีที่ใช้ในการหาปริมาณแอนโทไซยานิน

- กรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1.5 นอร์มัล เตรียมโดยใช้กรดไฮโดรคลอริกปริมาตร 62.107 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 500 มิลลิลิตร
- เอทานอลิกไฮโดรคลอริก(เอทานอล : กรดไฮโดรคลอริก) ใช้เอทานอล 95% กรดไฮโดรคลอริก 1.5 นอร์มัล ผสมกันในอัตราส่วน 85:15 แล้วเก็บไว้ในขวดสีชา

4.1 การหาปริมาณแอนโทไซยานินตามวิธีของ Rangana (1977) ดังนี้



โดยที่ V คือ ปริมาตรของสารละลายที่นำมาหาปริมาณแอนโทไซยานิน

W คือ น้ำหนักของกลีบดอกที่นำมาหาปริมาณแอนโทไซยานิน

OD คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากเครื่องสเปกโตรนิคตามความยาวคลื่นที่กำหนด

5. การหาปริมาณคลอโรฟิลล์ของใบกุหลาบ

4.1 สารเคมีที่ใช้หาคลอโรฟิลล์

สารละลายอะซิโตนความเข้มข้น 80% เตรียมโดยใช้อะซิโตน 800 มิลลิลิตรใส่ลงในขวด
ปรับปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร โดยใช้ น้ำกลั่น

5.2 การหาปริมาณคลอโรฟิลล์ ตามวิธีของ whithem *et al.* (1971)

ใช้ใบกุหลาบหนัก 1 กรัม บดในโกรกบด ขณะบดเติมอะซิโตน 80% ลงไปเล็กน้อย เมื่อ
บดละเอียดให้กรองผ่านกระดาษกรองด้วยเครื่องกรองแบบ suction pump ล้างและปรับ
ปริมาตรด้วยอะซิโตนให้ได้ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ในกระบอกตวง นำสารละลายที่กรองแล้ว
ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง(OD) ที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร บันทึกค่าที่ได้แล้ว
ไปคำนวณตามสูตร มีหน่วยเป็นมิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักสด

สูตรคำนวณคือ

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

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

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

โดยที่ V คือ ปริมาตรของสารละลายที่นำมาหาปริมาณคลอโรฟิลล์

W คือ น้ำหนักของใบกุหลาบที่นำมาหาปริมาณคลอโรฟิลล์

OD คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากเครื่องสเปกโตรมิเตอร์ตามความยาว
คลื่นที่กำหนด

6. การบานของดอก บันทึกการบานของดอกโดยการให้คะแนน ดังนี้

5 = ดอกไม่บาน (0-25%)

3 = ดอกบานเล็กน้อย (26-50%)

1 = ดอกบานปานกลาง (51-75%)

0 = ดอกบานมาก (76-100%)

7. การโค้งงอของคอดอก บันทึกการโค้งงอของคอดอกโดยการให้คะแนน ดังนี้

5 = ดอกไม่เกิดการโค้งงอ (0-25%)

3 = ดอกเกิดการโค้งงอเล็กน้อย (26-50%)

1 = ดอกเกิดการโค้งงอปานกลาง (51-75%)

0 = ดอกเกิดการโค้งงอมาก (76-100%)

สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ วิทยาเขตสะลวง-จี้เหล็ก
อำเภอแมริม จังหวัดเชียงใหม่

