

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. อุปกรณ์

1.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการประเมินพันธุ์

1.1.1 เมล็ดพันธุ์ฝักกาดเขียวปลี ได้แก่ พันธุ์ (4-3×19H1) × 4OR₂₋₃₋₄, (4-4×4OR₂₋₃₋₄) × 61IR4, BC7 (4-3×19H1) × 4OR₂₋₃₋₄, BC8 (4-3×19H1) × 4OR₂₋₃₋₄, กังฟู, เขียวเด่น, No.29-03, BC8 (4-3×19H1), BC7 (4-4×4OR₂₋₃₋₄), 4OR₂₋₃₋₄, 61IR4 และ 19H1

1.1.2 อุปกรณ์ในการเตรียมดิน เช่น รถไถ เชือก ปูนขาว จอบ ปู๋ย

1.1.3 อุปกรณ์ในการให้น้ำ เช่น บัวรดน้ำ สายยาง

1.1.4 เครื่องพ่นยา

1.1.5 พลาสติกคลุมแปลง

1.1.6 วัสดุเพาะกล้า และถาดหลุมสำหรับเพาะเมล็ด

1.1.7 ป้ายชื่อพันธุ์สำหรับปักในแปลง

1.1.8 อุปกรณ์ในการเก็บข้อมูล เช่น มีด ไม้บรรทัด เครื่องชั่ง

1.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตเมล็ดพันธุ์แท้ และเมล็ดพันธุ์ลูกผสมกลับ

1.2.1 เมล็ดพันธุ์ฝักกาดเขียวปลี ได้แก่ พันธุ์ BC8 (4-3×19H1), BC8 (4-4×2M7R21), BC8 (4-4×4OR₂₋₃₋₄), BC10 (4-4×4OR₂₋₃₋₄), 19H1, 2M7R21 และ 4OR₂₋₃₋₄

1.2.2 จานแก้ว

1.2.3 หลอดฟิล์ม

1.2.4 ฝารีทาน์

1.2.5 แผ่นโฟมขนาด 30x40 ซม.

1.2.6 ถาดอะลูมิเนียม ขนาด 40x50 ซม.

1.2.7 น้ำกลั่น

1.2.8 คีมคีบ

1.2.9 ปู๋ยออสโมโคทสูตร 14-14-14

1.2.10 เอทิลแอลกอฮอล์

1.2.11 วัสดุเพาะกล้า

1.2.12 กระดาษชำระ หรือ สำลี

1.2.13 Hoagland 's solution

สถานที่ทำการทดลอง

- ห้องปฏิบัติการเมล็ดพันธุ์ผัก ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- แปลงทดลอง ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ระยะเวลาทำการทดลอง

ระหว่างเดือน พฤศจิกายน 2550 – มีนาคม 2551

2. วิธีการทดลอง

2.1 การเปรียบเทียบพันธุ์ผักกาดเขียวปลี

2.1.1 ทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (randomized complete block design) จำนวน 3 ซ้ำ

2.1.2 นำเมล็ดพันธุ์ที่เตรียมไว้เพาะกล้าในกระบะพลาสติก

2.1.3 หลังจากเพาะกล้าได้ 25 วัน คัดเอาต้นที่สมบูรณ์ดี ย้ายปลูกในแปลงขนาด 1×3 เมตร ใช้พลาสติกคลุมแปลงปลูก ระยะปลูก 50×50 ซม.

2.1.4 หลังจากย้ายปลูกให้น้ำโดยใช้บัวรดน้ำ หรือ ใช้สายยางรดน้ำ โดยรดวันละ 1 ครั้ง และ หลังจากย้ายปลูกทุกๆ 7 วัน ใส่ปุ๋ยสูตร 15-0-0 ปริมาณ 300 กรัม, 13-0-46 ปริมาณ 130 กรัม, 0-52-34 ปริมาณ 150 กรัม, micronutrient ปริมาณ 5 กรัม โดยนำปุ๋ยทั้งหมดละลายน้ำ ปริมาณ 200 ลิตร รดเป็นประจำทุกอาทิตย์ ทำการพรวนดิน กำจัดวัชพืช และฉีดพ่นยากำจัดโรค และแมลงตามปกติ

2.1.5 หลังจากย้ายปลูกได้ 55 วัน เก็บเกี่ยวผลผลิต และทำการเก็บข้อมูลโดยชั่งน้ำหนัก ก่อนตัดแต่งและหลังตัดแต่ง วัดความยาวและความกว้างของลำต้นและหัว รวมทั้งบันทึกลักษณะการเหี่ยว การแทงช่อดอก และการเกิดโรคเน่า

2.2. คัดเลือกต้นที่มีลักษณะดีจากแปลงพ่อและแม่พันธุ์ผักกาดเขียวปลี

คัดเลือกต้นพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ที่มีลักษณะดี มีขนาดหัวเล็ก การเข้าหัวแน่น แทงช่อดอก ช้ำ ทำเครื่องหมายและใส่หมายเลขแต่ละต้น

2.3 การผสมพันธุ์เพื่อผลิตพันธุ์พ่อ พันธุ์แม่และลูกผสมชั่วที่ 1

พันธุ์พ่อ 4OR₂₋₃₋₄ และ 19H1 เป็นพันธุ์ปกติที่ได้คัดเลือกจากการทดลองที่ 2.1 การรักษาสายพันธุ์พ่อทำได้โดยครอบดอกด้วยถุงให้ผสมตัวเอง และเก็บเมล็ดแยกต้น พันธุ์แม่ 4-3×19H1 ที่คัดเลือกจากการทดลองที่ 2.1 ควรมีลักษณะเกสรเพศผู้เป็นหมันทำการผสมกลับโดยนำพันธุ์ 19H1 ที่คัดเลือกเป็นพันธุ์พ่อผสมกับพันธุ์แม่ 4-3×19H1 การผสมต้นต่อต้น ทำการผสมจนครบทุกกลุ่มผสมแล้วเก็บเมล็ดแยกต้น พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 ผลิตโดยนำพันธุ์พ่อ 4OR₂₋₃₋₄ ที่คัดเลือกแล้วผสมกับพันธุ์แม่ 4-3×19H1 ที่คัดเลือกแล้วผสมต้นต่อต้น ทำการผสมจนครบทุกกลุ่มผสม เก็บเมล็ดแยกต้น

2.4 การผลิตเมล็ดพันธุ์แท้ และเมล็ดพันธุ์ลูกผสมกลับในห้องเลี้ยงต้นไม้

การเตรียมอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

สภาพห้องเลี้ยงต้นไม้ต้องมีอุณหภูมิภายในห้องควบคุมคงที่เสมอ ที่อุณหภูมิ 20±3 องศาเซลเซียส ให้แสงตลอดเวลาด้วยหลอดฟลูออเรสเซนต์ ความเข้มแสง 9,000 ลักซ์ มีความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 80%

นำหลอดฟิล์มสีดำที่ถูกเจาะรูกันหลอดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.5 ซม. สอดด้วยฟัรริลาน่ ขนาด 1.5×110 ซม. โดยให้ปลายฟัรริลาน่ในหลอดสัมผัสกับผิวของหลอดฟิล์มและปล่อยชายอีกด้านหนึ่งออกมาเพื่อให้ดูดซับอาหารและน้ำ แล้วใส่ปุ๋ยออสโมโตท สูตร 14-14-14 ลงไปประมาณ 3-4 เม็ด จากนั้นใส่วัสดุเพาะลงไปหลอดฟิล์มจนเต็ม เพื่อใช้สำหรับเพาะปลูกต้นกล้า และต้องทำการห่อฟัรริลาน่บนแผ่นโฟมซึ่งตัดเป็นรูปสี่เหลี่ยมขนาด 30×40 ซม.

เมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลีต้องผ่านการกระตุ้นด้วยอุณหภูมิต่ำเพื่อให้เกิดการออกดอก (vernalization) ซึ่งทำได้โดยการนำกระดาษชำระตัดเป็นวงกลม 2 ชั้นให้มีขนาดเท่ากับจานแก้วที่ใช้เพาะ จากนั้นรดน้ำให้กระดาษชุ่ม นำเมล็ดพันธุ์ผักกาดเขียวปลีวางลงในจานแก้วแล้วปิดฝาทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 1-2 วัน หรือรอจนกว่าเมล็ดงอก จากนั้นนำเข้าแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 5-10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

นำต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดในจานแก้ว มาปลูกในหลอดฟิล์มที่มีวัสดุปลูกแล้วนำหลอดฟิล์มนี้วางบนแผ่นโฟมที่หุ้มด้วยฟัรริลาน่จากนั้นนำทั้งหมดไปวางในถาดอะลูมิเนียมขนาด 40×50 ซม. เติมน้ำให้เต็มถาดและให้ฟัรริลาน่เปียกทั่วทั้งแผ่นเลี้ยงต้นกล้าด้วยน้ำเปล่าเพื่อให้ต้นกล้าฟื้นตัวประมาณ 3 วัน หลังจากนั้นเติมสารละลาย Hoagland 's solution ลงไป

โดยในช่วง 2 สัปดาห์แรกหลังจากที่ย้ายกล้าขึ้นให้ครั้งละ 100 มิลลิลิตร/สัปดาห์ เมื่อเข้าสู่สัปดาห์ที่ 3 จะให้ครั้งละ 200 มิลลิลิตรทุกสัปดาห์ และเติมน้ำจนเต็มถาดเป็นประจำทุกวัน

การผสมพันธุ์ผักกาดเขียวปลีเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ได้ทำการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์แม่ BC8 4-4×4OR₂₋₃₋₄ ผสมกับพันธุ์พ่อ 4OR₂₋₃₋₄ , พันธุ์แม่ BC8 4-4×2M7R21 ผสมกับพันธุ์พ่อ 2M7R21, พันธุ์แม่ BC10 4-4×4OR₂₋₃₋₄ ผสมกับพันธุ์พ่อ 4OR₂₋₃₋₄ และ พันธุ์แม่ BC9 4-3×19H1 ผสมกับพันธุ์พ่อ 19H1 ซึ่งพันธุ์พ่อก็จะแบ่งคอกไว้ผสมตัวเองเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์แท้ทุกต้น

2.5 การประเมินลักษณะทางพืชสวนของผักกาดเขียวปลีตาม IBPGR descriptor (1981) โดยใช้วิธีการประเมิน ดังนี้

1. ต้นผักกาดเขียวปลีโตเต็มที่

1.1 การห่อ

มุมของก้านใบรอบนอกที่เจริญเต็มที่กับพื้นดิน

1 ตั้งตรง (>87°)

3 เปิด (~67°)

5 กึ่งเลี้ยว (~45°)

7 เลี้ยว (<30°)

1.2 รูปร่างแผ่นใบที่เจริญเต็มที่

1 กลม (orbicular)

2 รูปไข่กลับ (obovate)

3 รูปรี (elliptic)

4 รูปไข่ (ovate)

5 ไวโอลิน (pandurate)

6 ใบหอก (lanceolate)

7 อื่นๆ

1.3 การแบ่งของใบแก่

1 เรียบ (entire)

2 รูปดิ่งหู (auricular)

3 รูปพิณ (lyrate)

4 เป็นแฉก (parted)

5 อื่นๆ

1.4 สีของใบแก่

- 1 ขาวอมเขียว
- 2 เขียว
- 3 ม่วงเขียว
- 4 ม่วง
- 5 อื่นๆ

1.5 ความเข้มของสีใบแก่

- 3 จาง
- 5 ปานกลาง
- 7 เข้ม

1.6 สีก้านใบ

- 1 ขาว
- 2 เขียวขาว
- 3 เขียวอ่อน
- 4 เขียว
- 5 ม่วงเขียว
- 6 ม่วง
- 7 แดง
- 8 อื่นๆ

1.7 ขนที่ใบ

- 0 เกือบไม่มี
- 3 มีขนห่างๆ
- 5 ปานกลาง
- 7 มีขนมาก

1.8 ความยาวของใบไม่รวมก้านใบ (ซม.)

1.9 ความกว้างของใบ (ซม.)

1.10 ความกว้างของก้านใบ (ซม.)

1.11 ความหนาของก้านใบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
 Copyright © by Chiang Mai University
 All rights reserved

3 บาง

5 ปานกลาง

7 หนา

1.12 รูปร่างของก้านใบหน้าตัด

3 กลม

5 ครึ่งกลม

7 แบน

1.13 ปุ่มปมของใบ

0 ไม่มี

3 เล็กน้อย

5 ปานกลาง

7 มาก

1.14 ปลายใบเป็นคลื่น

0 ไม่มี

3 ต่ำ

5 ปานกลาง

7 มาก

1.15 ความสูงของต้น

1 < 20 ซม.

2 20-30 ซม.

3 30-40 ซม.

4 40-50 ซม.

5 50-60 ซม.

6 60-70 ซม.

7 > 70 ซม.

2. ปลี

2.1 การห่อปลี

0 ไม่ห่อปลี

5 ห่อปานกลาง

7 ห่อปลี

2.2 รูปร่างปลี

- 1 กลม
- 2 เรียว
- 3 ไข่
- 4 ปลายกลม
- 5 กระจบอก
- 6 ขาวรี

2.3 การห่อปลีที่ปลาย

- 1 ปลายใบโค้งออก
- 2 ปลายใบตรง
- 3 ปลายใบโค้งเข้าแต่ไม่ปิด
- 4 ปลายใบโค้งเข้าเกือบชิดกัน
- 5 ปลายใบทับซึ่งกันและกันเล็กน้อย
- 6 ปานกลาง
- 7 ปลายใบทับซึ่งกันและกันทั้งหมด

3. ดอกและฝัก

3.1 สีกลิบดอก

- 1 เหลืองอ่อน
- 2 เหลือง
- 3 เหลืองเข้ม
- 4 อื่นๆ

3.2 รูปร่างกลีบ

- 1 กลม
- 2 เรียว
- 3 เรียวมาก
- 4 อื่นๆ

2.6 วิธีการตรวจความมีชีวิตของละอองเกสรตัวผู้ (fertility) ของผักกาดเขียวปลีในห้องเลี้ยงต้นไม้

เตรียมดอกผักกาดเขียวปลีที่บานเต็มที่ประมาณ 5 ดอกต่อหนึ่งต้น จากนั้นนำสารอะซิโตน คามีนหยดลงบนสไลด์ประมาณ 1-2 หยด ใช้คีมคีบดอกผักกาดเขียวปลีขี้กับสไลด์ที่หยอดสารอะซิโตนคามีนให้ด้านที่เป็นเกสรเพศผู้สัมผัสกับสาร จากนั้นรอให้แห้งแล้วจึงนำไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ (stereo microscope) ที่กำลังขยาย 300 เท่า



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved