บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การศึกษาพัฒนาการของดอกและหัวของกล้วยไม้ดินว่านจูงนาง 2 ชนิด (ภาพที่ 1) ได้แก่ *Geodorum recurvum* (Roxb.) Alston (ภาพที่ 2) และ *G. siamense* Rolfe ex Downie (ภาพที่ 3) แบ่งออกเป็น 4 การทดลอง คือ **การทดลองที่ 1 การศึกษาพัฒนาการของดอก การทดลองที่ 2 การศึกษาพัฒนาการของหัว การทดลองที่ 3 การศึกษาความมีชีวิตของหัวเก่า** และ **การทดลองที่ 4 การผสมเกสร**

ภาพที่ 1 ต้นว่านจูงนาง 2 ชนิด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 2 ต้นว่านฉูงนางชนิด *Geodorum recurvum* (Roxb.) Alston

ภาพที่ 3 ต้นว่านฉูงนางชนิด *Geodorum siamense* Rolfe ex Downie

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อุปกรณ์และวิธีการทดลองมีดังต่อไปนี้

การทดลองที่ 1 การศึกษาพัฒนาการของดอก

การศึกษาพัฒนาการของช่อดอกและดอกย่อยของพืชทดลอง เป็นการศึกษาเพื่อให้ทราบระยะที่เริ่มมีการเจริญทางดอกของพืชทดลองทั้ง 2 ชนิด โดยการปลูกต้นพืชแล้วสังเกตการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยา และกายวิภาควิทยาของส่วนประกอบของต้นพืชในบริเวณที่จะเกิดพัฒนาการของช่อดอก จากนั้นติดตามการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น จนกระทั่งช่อดอกมีการเจริญเติบโตและดอกย่อยมีพัฒนาการถึงระยะสมบูรณ์เต็มที่ของเกสรเพศผู้และเกสรเพศเมีย

1.1 วัสดุและอุปกรณ์

1.1.1 วัสดุพืช คือหัวของพืชทดลองที่พ้นระยะพักตัวแล้ว ชนิดละ 150 หัว

1.1.2 วัสดุปลูก คือ ดินและขี้เถ้าแกลบ

1.1.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

1.1.3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับการศึกษาทางสัณฐานวิทยาได้แก่ ไม้บรรทัด เวอร์เนียคาลิปเปอร์ เครื่องเขียน และสมุดบันทึก

1.1.3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับการศึกษาทางกายวิภาควิทยาได้แก่

1.1.3.2.1 มีดสำหรับตัดชิ้นส่วนพืช

1.1.3.2.2 ขวดแก้วขนาดต่าง ๆ พร้อมฝาปิดสำหรับบรรจุน้ำยา

1.1.3.2.3 เครื่องดูดอากาศ

1.1.3.2.4 ตู้อบที่ปรับอุณหภูมิเป็น 56 องศาเซลเซียส

1.1.3.2.5 แผ่นให้ความร้อน (hot plate)

1.1.3.2.6 เครื่องตัดชิ้นส่วนพืชแบบล้อหมุน (rotary microtome)

1.1.3.2.7 กระดาษสำหรับทำเบ้าและแท่งไม้รูปสี่เหลี่ยมขนาด 1.5×1.5×1.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ที่ต้มให้อิ่มตัวในพาราฟิน

1.1.3.2.8 ขวดย้อมสี (staining jar)

1.1.3.2.9 ปากคีบ กระจกสไลด์ (slide) และแผ่นกระจกปิดสไลด์ (cover slip)

1.1.3.2.10 กล้องจุลทรรศน์แบบ dissecting microscope และแบบ compound microscope พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ

1.1.4 สารเคมี

1.1.4.1 70% ethyl alcohol

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.1.4.2 95% ethyl alcohol

1.1.4.3 absolute ethyl alcohol

1.1.4.4 tertiary butyl alcohol

1.1.4.5 glacial acetic acid

1.1.4.6 formalin

1.1.4.7 น้ำกลั่น

1.1.4.8 paraplast

1.1.4.9 น้ำยายึดเนื้อเยื่อพืชให้ติดแผ่นสไลด์ เป็นส่วนผสมของไข่ขาวและน้ำกลั่น

1.1.4.10 สารตัวกลางสำหรับปิดแผ่นกระจกสไลด์ คือ Canada balsam

1.1.4.11 xylene

1.1.4.12 safranin และ fast green

1.1.4.13 0.5% picric acid

1.1.4.14 ammonium hydroxide

1.1.4.15 clove oil

1.2 วิธีการทดลอง

1.2.1 การเตรียมพืชทดลอง ปลูกหัวของพืชทดลองที่พ้นระยะพักตัวแล้ว ชนิดละ 150 หัวในวัสดุปลูกที่มีส่วนผสมของดิน และขี้เถ้าแกลบในอัตราส่วน 1:1 ปลูกเลี้ยงต้นพืชไว้ในโรงเรือนที่พรางแสงได้ประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ของแสงธรรมชาติ

1.2.2 ศึกษาสัณฐานวิทยาของตาดอกและช่อดอก โดยการสังเกตและบันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาของตาดอกเป็นช่วง ๆ จากการสังเกตด้วยตาเปล่าและ/หรือใต้กล้องจุลทรรศน์ ตั้งแต่ระยะที่ต้นพืชเริ่มมีการเจริญเติบโตหลังจากที่หัวพ้นระยะพักตัวแล้ว จนกระทั่งออกดอกและช่อดอกมีการเจริญและพัฒนาเต็มที่

1.2.3 ศึกษากายวิภาควิทยาของดอกและช่อดอก โดยการศึกษาเนื้อเยื่อของตาดอกขนาดต่าง ๆ ซึ่งมีอายุแตกต่างกัน จากตาดอกขนาดเล็กจนถึงขนาดที่พัฒนาไปเป็นช่อดอกอ่อน การศึกษาครั้งนี้ครอบคลุมเนื้อเยื่อของดอกอ่อนในระยะการพัฒนาต่าง ๆ ไปจนถึงระยะที่ดอกมีพัฒนาการของเกสรทั้งสองเพศเรียบร้อยแล้ว ด้วยการทำสไลด์ถาวรของเนื้อเยื่อตามแบบของการฝังเนื้อเยื่อในพาราฟิน ดัดแปลงจากวิธีของ Johansen (1940) จากนั้นนำสไลด์ถาวรที่ได้มาศึกษาขั้นตอนต่าง ๆ ของพัฒนาการของดอกใต้กล้องจุลทรรศน์ ดังที่ De Hertogh and Le Nard (1993) ได้เสนอวิธีการไว้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การเตรียมสไลด์ถาวรของเนื้อเยื่อพืชมีขั้นตอนและวิธีการดังนี้

1.2.3.1 เก็บตัวอย่างของพืชทดลอง โดยตัดชิ้นส่วนของตาดอก ช่อดอกอ่อน และดอก นำมาแช่ในน้ำยารักษาสภาพเซลล์ (formalin-acetic acid-alcohol : FAA) ที่บรรจุอยู่ในขวดแก้ว นำขวดเนื้อเยื่อไปเข้าเครื่องดูดอากาศ เพื่อให้น้ำยาแทรกซึมเข้าไปในทุกส่วนของเนื้อเยื่อจนสมบูรณ์ หลังจากนั้นนำมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องนานอย่างน้อย 24 ชั่วโมงก่อนดำเนินการขั้นต่อไป

เตรียมน้ำยา FAA จากส่วนผสมของสารเคมีดังแสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนผสมของสารเคมีในน้ำยา FAA

สารเคมี	ปริมาตร (มิลลิลิตร)
95% ethyl alcohol	50
glacial acetic acid	5
formalin	10
น้ำกลั่น	35

1.2.3.2 ดึงน้ำออกจากเซลล์ของเนื้อเยื่อที่ผ่านการรักษาสภาพเซลล์แล้ว โดยใช้น้ำยาที่มีความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ในระดับต่าง ๆ ดังแสดงไว้ในตารางที่ 2 มาแช่เนื้อเยื่อเป็นลำดับเพื่อให้แอลกอฮอล์เข้าไปแทนที่โมเลกุลของน้ำในเนื้อเยื่อ แต่ละขั้นตอนใช้เวลา 6-24 ชั่วโมง

ตารางที่ 2 ส่วนผสมของสารเคมีในน้ำยาที่ใช้ดึงน้ำออกจากเซลล์ รวม 5 ขั้นตอน

ขั้นตอน	ความเข้มข้นรวมของแอลกอฮอล์ (%)	ปริมาตรของแอลกอฮอล์ (มิลลิลิตร)			น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)
		95 % ethyl alcohol	absolute ethyl alcohol	tertiary butyl alcohol	
1	50	40	-	10	50
2	70	50	-	20	30
3	85	50	-	35	15
4	95	45	-	55	-
5	100	-	25	75	-

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

น้ำยาในขั้นตอนสุดท้ายมีสี erythrosin ละลายอยู่ด้วย เพื่อให้เนื้อเยื่อที่แช่อยู่ในน้ำยาเป็นสีแดง ช่วยให้การฝังเนื้อเยื่อและการจัดตำแหน่งเนื้อเยื่อในพาราฟินทำได้ง่ายขึ้น เมื่อผ่านขั้นตอนนี้แล้วจึงนำเนื้อเยื่อแช่ใน tertiary butyl alcohol (TBA) ที่มีพาราฟินเหลวผสมอยู่ด้วยในอัตราส่วน 1:1 ก่อนที่จะนำเนื้อเยื่อไปผ่านการแทรกพาราฟิน (infiltration) ทั้งนี้สีแดงที่ติดเนื้อเยื่อจะละลายไปหมดในขั้นตอนแรกของการย้อมสีเนื้อเยื่อ เนื่องจากสี erythrosin ละลายได้ใน xylene

1.2.3.3 นำเนื้อเยื่อที่ดึงน้ำออกแล้ว และอยู่ใน TBA + พาราฟินเหลว ไปใส่ในขวดแก้วที่บรรจุพาราฟินที่หลอมไว้ เก็บขวดไว้ในตู้อบที่อุณหภูมิ 56 องศาเซลเซียส นานประมาณ 1 สัปดาห์ หรือมากกว่าเพื่อให้พาราฟินแทรกเข้าไปในเนื้อเยื่อจนเต็มที่

1.2.3.4 ฝังเนื้อเยื่อในพาราฟินซึ่งเป็นสารตัวกลางที่ใช้ฝังตัวอย่าง โดยการถ่ายเนื้อเยื่อลงไปในกระทงซึ่งใช้เป็นเบ้าที่บรรจุพาราฟินที่หลอมไว้แล้ว จัดเนื้อเยื่อให้อยู่ในตำแหน่งและระนาบที่ต้องการ

1.2.3.5 เมื่อพาราฟินแข็งตัวแล้วและพร้อมที่จะนำไปตัดเนื้อเยื่อ จึงนำแท่งพาราฟินที่มีเนื้อเยื่อฝังอยู่ข้างในมาตัดแต่งให้เป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า ที่มีชิ้นส่วนพืชอยู่ตรงกลาง นำมาติดกับแท่งไม้ที่อิ่มตัวด้วยพาราฟิน จากนั้นตัดด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อแบบล้อหมุน ตัดตามยาวหรือตามขวางให้มีความหนา 13-15 ไมครอน พาราฟินบรรจุเนื้อเยื่อที่ตัดออกมาจะมีลักษณะเป็นแถบเหมือนริบบิ้น (paraffin ribbon)

1.2.3.6 นำแถบชิ้นส่วนพืชไปติดบนแผ่นกระจกสไลด์ ยืดเนื้อเยื่อพืชให้ติดกับสไลด์ด้วยน้ำยายืดเนื้อเยื่อพืช วางแผ่นสไลด์ที่ติดเนื้อเยื่อแล้วไว้บนเครื่องอุ่นสไลด์จนแถบชิ้นส่วนพืชแห้งและติดสนิทกับแผ่นสไลด์

ตารางที่ 3 ส่วนผสมของน้ำยายืดเนื้อเยื่อพืช

วัสดุ	ปริมาตร (มิลลิตร)
ไข่ขาว	1
น้ำกลั่น	49

เตรียมน้ำยายืดเนื้อเยื่อแบบเข้มข้นจากส่วนผสมที่แสดงในตารางที่ 3 เมื่อต้องการใช้จึงนำมาเจือจางโดยใช้น้ำยาเข้มข้น 1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไปแล้วปรับปริมาตรรวมให้ เป็น 50 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.2.3.7 นำแผ่นกระจกสไลด์ที่ติดเนื้อเยื่อไว้ไปผ่านขั้นตอนของการย้อมสี หลังจากที่ละลายพาราฟินออกจากชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อบนสไลด์แล้วด้วย xylene

1.2.3.8 ย้อมสีเนื้อเยื่อโดยใช้เทคนิคการย้อมสีคู่ (double stain) สีที่ใช้คือ safranin และ fast green ส่วนผสมของสีแสดงไว้ในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ส่วนผสมของสารเคมีที่ใช้เตรียมสี safranin และfast green

ชนิดสี	สารเคมี	ปริมาณ
safranin	safranin O ($C_{20}H_{19}N_4Cl$)	4 กรัม
	methyl cellosolve	200 มิลลิลิตร
	95% ethyl alcohol	100 มิลลิลิตร
	sodium acetate	4 กรัม
	formalin	8 มิลลิลิตร
	น้ำกลั่น	100 มิลลิลิตร
fast green	fast green FCF ($C_{37}H_{34}N_2O_{10}S_3Na_2$)	0.15 กรัม
	methyl cellosolve	100 มิลลิลิตร
	absolute ethyl alcohol	100 มิลลิลิตร
	clove oil	100 มิลลิลิตร

1.2.3.9 ตรึงสไลด์ด้วยการปิดแผ่นกระจกสไลด์ ยึดไว้ด้วย Canada balsam แล้วทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องจนแผ่นกระจกสไลด์แห้งสนิทจึงนำไปศึกษาเนื้อเยื่อใต้กล้องจุลทรรศน์และบันทึกภาพ

1.2.4 วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาในข้อ 1.2.1-1.2.3 แล้วเรียบเรียงเสนอเป็นรูปแบบของพัฒนาการของดอกของพืชทดลองแต่ละชนิด

การทดลองที่ 2 การศึกษาพัฒนาการของหัว

ศึกษาพัฒนาการของหัวของต้นพืชทดลองทั้ง 2 ชนิด โดยการสังเกตและติดตามการเริ่มสร้างตลอดจนขั้นตอนของพัฒนาการของหัวในวงจรการเจริญเติบโตในรอบ 1 ปี

2.1 วัสดุและอุปกรณ์

วัสดุปลูก เครื่องมือและอุปกรณ์การศึกษาทางสัณฐานวิทยาและกายวิภาควิทยาเหมือนกับที่ระบุไว้ในการทดลองที่ 1

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2 วิธีการทดลอง

2.2.1 เตรียมพืชทดลองด้วยวิธีเดียวกันกับที่ระบุไว้ในการทดลองที่ 1

2.2.2 ศึกษาสัณฐานวิทยาของอวัยวะที่มีการแปรรูปไปเป็นหัว และศึกษาลักษณะและการเปลี่ยนแปลงของรูปร่างของตา ซึ่งปรากฏอยู่บนหัวใหม่ ตั้งแต่ในระยะที่ตาเริ่มขยายขนาดให้เห็นด้วยตาเปล่าจนกระทั่งหัวใหม่หยุดการขยายขนาด บันทึกภาพถ่าย/วาดภาพลายเส้นตามความจำเป็น

2.2.3 ศึกษากายวิภาควิทยาของเนื้อเยื่อของตาของหัวใหม่ในช่วงต่าง ๆ ของพัฒนาการ ด้วยการทำสไลด์ถาวรของเนื้อเยื่อที่เกี่ยวข้องตามวิธีการของ Johanson (1940) ดังระบุไว้ในการทดลองที่ 1 ศึกษาเนื้อเยื่อบนสไลด์ถาวรใต้กล้องจุลทรรศน์แล้วบันทึกภาพ

วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากข้อ 2.2.1-2.2.2 แล้วเรียบเรียงเสนอเป็นรูปแบบของพัฒนาการของหัว วิเคราะห์ข้อมูลจากข้อ 2.2.3 แล้วเรียบเรียงเสนอเป็นพัฒนาการของตาใบและตาดอกของหัวใหม่

การทดลองที่ 3 การศึกษาความมีชีวิตของหัวเก่า

ศึกษาความมีชีวิตของหัวเก่า โดยการทดสอบการงอกของหัวเก่าที่นำมาแยกออกเป็นหัวเดี่ยว

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 วัสดุพืช คือ หัวของว่านจูงนางทั้ง 2 ชนิด ที่มีหัวเก่าเรียงติดกันเป็นแถวไม่ต่ำกว่า 5 หัวต่อแถว

3.1.2 วัสดุปลูก คือ ดินและขี้เถ้าแกลบ อัตราส่วน 1: 1 บรรจุไว้ในถุงดำขนาด 3×7 นิ้ว

3.1.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับการศึกษาสัณฐานวิทยาและกายวิภาควิทยาเหมือนกับที่ระบุไว้ในการทดลองที่ 1

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 เตรียมพืชทดลองโดยการนำหัวเก่ามาแยกเป็นหัวเดี่ยวด้วยการใช้มีดคมผ่าแยกหัวออกจากกันที่บริเวณเนื้อเยื่อที่มีการต่อเชื่อมระหว่างหัว ทิ้งให้แผลจากการตัดแยกแห้งเสียก่อนแล้วจึงนำหัวเดี่ยวไปชำไว้ในถุงดำ ที่บรรจุวัสดุชำไว้แล้ว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2.2 ศึกษาสัณฐานวิทยาโดยการสังเกต ติดตามและบันทึกการงอกของตา ตำแหน่งของหน่อที่เจริญ และพัฒนาการของตา ติดตามการเจริญและพัฒนาการของหน่อทุกหน่อ วาดภาพลายเส้นเพื่อประกอบผลการศึกษา

3.3.3 ศึกษากายวิภาควิทยาโดยการศึกษาเนื้อเยื่อของตาของหัวเก่า ในช่วงเวลาที่แตกต่างกันในรอบปี เตรียมสไลด์ถาวรตามขั้นตอนและวิธีการเช่นเดียวกันกับที่ระบุไว้ในการทดลองที่ 1 ศึกษาเนื้อเยื่อใต้กล้องจุลทรรศน์และบันทึกภาพ

การทดลองที่ 4 การผสมเกสร

ศึกษาการผสมเกสรของว่านจูงนางทั้ง 2 ชนิด โดยวิธีการถ่ายเรณูด้วยมือ ทั้งแบบผสมตัวเองและผสมข้ามชนิด บันทึกการติดฝัก การเจริญเติบโตของฝักรวมทั้งศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเอ็มบริโอของเมล็ดของต้นพืชทดลองที่ติดฝัก

4.1 วัสดุและอุปกรณ์

4.1.1 วัสดุพืช วัสดุปลูก และเครื่องมือและอุปกรณ์ เหมือนกับที่ระบุไว้ในการทดลองที่ 1

4.1.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ในการผสมเกสร ได้แก่ ไม้ปลายแหลม ป้ายชื่อ ด้ายสำหรับผูกป้ายชื่อ และ ตาข่ายกันแมลง

4.1.3 เครื่องมือและอุปกรณ์ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเอ็มบริโอ คือ กล้องจุลทรรศน์แบบ compound microscope พร้อมอุปกรณ์ถ่ายภาพ

4.2 วิธีการทดลอง

4.2.1 เตรียมพืชทดลองโดยการปลูกต้นพ่อพันธุ์และแม่พันธุ์ของพืชทดลองตามวิธีการที่ระบุไว้ในการทดลองที่ 1 เมื่อต้นพืชเริ่มออกดอก จึงคัดเลือกต้นพืชที่มีก้านช่อดอกแข็งแรงไว้เป็นต้นพันธุ์สำหรับศึกษาการผสมเกสร

4.2.2 การถ่ายเรณู

4.2.2.1 คัดเลือกต้นพืชที่มีดอกบานเต็มที่ไว้เป็นต้นพันธุ์

4.2.2.2 การผสมตัวเองดำเนินการถ่ายเรณูโดยการเขี่ยกลุ่มเรณูให้ตกลงบนแอ่งเกสรเพศเมียของดอกเดียวกัน

4.2.2.3 สำหรับการผสมข้ามนั้นเตรียมดอกโดยการตอนดอกของต้นที่เป็นแม่พันธุ์เสียก่อน โดยใช้ไม้ปลายแหลมเขี่ยกลุ่มเรณูออก

4.2.2.4 การผสมข้ามเป็นการผสมข้ามชนิดโดยการเขี่ยกลุ่มเรณูจากดอกของต้นพ่อพันธุ์ นำมาวางบนแอ่งเกสรเพศเมียของดอกที่ตอนไว้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.2.2.5 เมื่อถ่ายเรณูเสร็จแล้ว เขียนชื่อคู่ผสม วันที่ผสมและเวลาที่ผสมลงบนป้าย ผูกป้ายแบบหลวม ๆ ไว้กับก้านดอก คลุมช่อดอกด้วยตาข่ายกันแมลง

4.2.2.6 ติดตามการเจริญและพัฒนาการของรังไข่ของดอก เมื่อรังไข่เริ่มขยายขนาดจนเห็นชัดเจนด้วยตาเปล่าจึงบันทึกการติดฝัก

4.2.2.7 ผสมเกสรทุกแบบในช่วงเวลา 9.00 น. 11.00 น. และ 17.00 น. กรรมวิธีละ 10 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ต้น

4.2.3 การสังเกตการเจริญเติบโตของฝัก

4.2.3.1 สังเกตและบันทึกการเปลี่ยนแปลงขนาดของฝักในกรรมวิธีต่าง ๆ

4.2.3.2 สังเกตการเปลี่ยนแปลงของเอ็มบริโอของเมล็ดจากกรรมวิธีต่าง ๆ ใต้กล้องจุลทรรศน์พร้อมบันทึกภาพ

สถานที่ทำการทดลอง

1. ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่

2. ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาพืชสวน ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved