

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การทดสอบความเหมาะสมของปัจจัยการงอก และรูปแบบการติดเมล็ดมะระขึ้นกับความหนาแน่นประชากรต่างๆ ประกอบด้วย 2 การทดลองใหญ่ คือ ทดลองหาปัจจัยที่เหมาะสมในการงอกของเมล็ด และทดลองปลูกมะระขึ้นเพื่อหารูปแบบการปลูกและหาความหนาแน่นประชากรที่เหมาะสมในการติดเมล็ด แต่ผลงานทดลองยังประกอบด้วยงานทดลองย่อยดังนี้

การทดลองที่ 1 ทดลองหาปัจจัยที่เหมาะสมในการงอกของเมล็ดมะระขึ้น

การทดลองหาปัจจัยที่เหมาะสมในการงอกของเมล็ด ใช้เมล็ดพันธุ์มะระขึ้นที่ได้จากการปลูกเพื่อเก็บเมล็ดพันธุ์ที่สถานีวิจัยและมีกระบวนการเกษตรแม่เหียะ แล้วนำมาทดลองหาปัจจัยที่เหมาะสมกับการงอก ที่ห้องปฏิบัติการเมล็ดพันธุ์ ภาควิชาพืชไร่ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งแบ่งงานทดลองออกเป็น 4 งานทดลองดังนี้

1 หาวิธีการแก้การพักตัวของเมล็ดที่เหมาะสมสำหรับการงอก แบ่งเป็น 2 การทดลองย่อย คือ

1.1 ระยะเวลาการแช่เมล็ดในน้ำเดือดที่เหมาะสมสำหรับการงอก

ทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดมะระขึ้น โดยเฉพาะเมล็ดระหว่างกระดาษเพาะขึ้น (Between paper method) โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design มี 6 กรรมวิธีดังนี้ จุ่มเมล็ดในน้ำเดือดเป็นเวลา 0 1 2 3 4 และ 5 วินาที หลังจากจุ่มน้ำเดือดครบเวลาที่กำหนดรีบนำเมล็ดจุ่มลงในน้ำอุณหภูมิห้องทันที แต่แต่ละกรรมวิธีทำทวนซ้ำ 4 ครั้งๆ ละ 50 เมล็ด แล้วนำไปเพาะเมล็ด นำเมล็ดที่เพาะไปเก็บไว้ใน growth chamber (Conviron S9L) ที่ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นอากาศ 100 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีแสงสว่าง

1.2 การแกะส่วนของเปลือกที่เหมาะสมสำหรับการงอก

ทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกเมล็ดมะระขึ้น โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design มี 6 กรรมวิธีดังนี้ การไม่แกะส่วนใดเลย การแกะเปลือกครึ่งหนึ่ง การแกะ

เปลือกทั้งหมด การแกะเปลือกครึ่งหนึ่งพร้อมกับแกะ chlorenchyma membrane ครึ่งหนึ่ง (รูปที่ 8 และ 9) การแกะเปลือกทั้งหมดพร้อมกับแกะ chlorenchyma membrane ทั้งหมด และการตัดก้านเมล็ดให้เจือจนถึงส่วน endosperm แต่ละกรรมวิธีทำทวนซ้ำ 4 ครั้งๆ ละ 50 เมล็ด จากนั้นนำเมล็ดที่เพาะด้วยวิธีเพาะระหว่างกระดาษขึ้น (Between paper method) ไปเก็บไว้ใน growth chamber (Convicon S9L) ที่ควบคุม อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นอากาศ 100 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีแสงสว่าง

2 หาดูอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการงอก

ทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดมะระขึ้นกที่แช่ในน้ำเดือดเป็นเวลา 4 วินาทีก่อนนำไปเพาะเพื่อเป็นการแก้การพักตัวของเมล็ด วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design มี 5 กรรมวิธีคือ อุณหภูมิขณะเพาะที่ 20 25 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส แต่ละกรรมวิธีทำทวนซ้ำ 4 ครั้งๆ ละ 50 เมล็ด โดยเพาะเมล็ดระหว่างกระดาษเพาะขึ้น (between paper method) จากนั้นนำไปไว้ใน growth chamber (Convicon S9L) ซึ่งควบคุม อุณหภูมิได้ตามกรรมวิธีต่างๆ มีความชื้นอากาศ 100 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีแสงสว่าง

3 หาระยะเวลาการให้แสงที่เหมาะสมสำหรับการงอก

ทดสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดมะระขึ้นกที่แช่ในน้ำเดือดเป็นเวลา 4 วินาทีก่อนนำไปเพาะเพื่อเป็นการแก้การพักตัวของเมล็ด วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design มี 5 กรรมวิธีคือ ให้แสงจากหลอด fluorescent ใน growth chamber (Convicon S9L) เป็นเวลา 0 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง แต่ละกรรมวิธีทำทวนซ้ำ 4 ครั้งๆ ละ 50 เมล็ด โดยเพาะเมล็ดบนกระดาษเพาะขึ้น (top paper method) ซึ่งใน growth chamber ควบคุม อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และความชื้นอากาศ 100 เปอร์เซ็นต์

4 หาความชื้นที่เหมาะสมสำหรับการงอก แบ่งเป็น 3 การทดลองย่อย คือ

4.1 ความชื้นของเมล็ดก่อนเพาะ

โดยสุ่มเมล็ดส่วนหนึ่งแล้วนำไปหาความชื้นเมล็ดก่อนนำไปเพาะด้วยวิธี hot air oven method ทำทวนซ้ำ 4 ครั้งๆ ละ 50 เมล็ด แล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดจากสมการที่ 1

4.2 ความชื้นของเมล็ดเริ่มงอก

โดยนำเมล็ดไปเพาะที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสแล้วคอยสังเกต นำเมล็ดที่มีส่วนของรากเริ่มแทงออกมาให้เห็นไปหาความชื้นของเมล็ดที่งอกด้วยวิธี hot air oven method ทำทวนซ้ำ 4 ครั้งๆ ละ 50 เมล็ด แล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นของเมล็ดจากสมการที่ 1

4.3 ทดสอบความงอกของเมล็ดที่เพิ่มความชื้นของเมล็ดในระดับต่างๆ

โดยทดสอบความงอกโดยการเพาะเมล็ดลงในจานแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8.5 เซนติเมตร (covered petri dishes method) วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design มีความชื้นของเมล็ดที่ควบคุมคือ 15 20 25 30 35 และ 40 เปอร์เซ็นต์ แต่ละกรรมวิธีทำทวนซ้ำ 4 ครั้งๆ ละ 50 เมล็ดต่อจานแก้ว นำเมล็ดแต่ละจานไปชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาปริมาตรน้ำที่จะใส่ลงไปในแต่ละซ้ำของแต่ละกรรมวิธีเพื่อให้เมล็ดมีความชื้นตามต้องการจากสมการที่ 3 แล้วเติมน้ำตามปริมาตรที่คำนวณได้ในจานเพาะในแต่ละซ้ำของแต่ละกรรมวิธี แล้วนำเมล็ดที่ชั่งไว้ในแต่ละซ้ำของแต่ละกรรมวิธีใส่ลงในจานนั้นๆ ปิดฝาแล้วใช้ parafilm พันรอบขอบจานแก้วปิดช่องว่างระหว่างจานเพาะกับฝาเพื่อให้ความชื้นในจานคงที่ แล้วเขย่าให้เมล็ดได้รับความชื้นสม่ำเสมอ แล้วนำไปไว้ใน growth chamber (Conviron S9L) ที่ควบคุม อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และไม่มีแสงสว่าง

$$\text{ปริมาตรน้ำที่ต้องเพิ่ม (cm}^3\text{)} = \frac{[(Wa) \times (100-a)] - [(Wa) \times (100 - b)]}{(100 - b)} \quad \dots\dots \text{สมการที่ 3}$$

เมื่อ	Wa	= น้ำหนักที่ a เปอร์เซ็นต์ (g)
	a	= เปอร์เซ็นต์ความชื้นก่อนเติมน้ำ (%)
	b	= เปอร์เซ็นต์ความชื้นหลังเติมน้ำหรือความชื้นที่ต้องการ (%)

การบันทึกผล

การบันทึกผลในการทดลองย่อยที่ 1 ถึง 3 นับความงอกในแต่ละหน่วยการทดลองในวันที่ 4 และ 8 หลังเพาะเมล็ด หลังจากนั้นจะนำเมล็ดที่ไม่งอกไปทดสอบความมีชีวิตด้วยวิธี tetrazolium test และเมล็ดที่งอกแล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส แล้วนำไปชั่งน้ำหนักแห้ง เพื่อหาค่า seedling growth rate (SGR) โดยคำนวณจากสมการที่ 2 การบันทึกจำนวนเมล็ดไม่งอกโดยนำเมล็ดที่ยังไม่งอกเมื่อเพาะเมล็ดครบ 8 วันไปทดสอบด้วยวิธี tetrazolium test แล้วประเมินผลการติดสี เมล็ดที่ประเมินได้ว่ามีชีวิตสามารถงอกได้จะถือว่าเป็นเมล็ดที่ยังไม่งอก การบันทึกจำนวนเมล็ดตาย ซึ่งจำนวนเมล็ดตายจะเท่ากับจำนวนเมล็ดที่เน่าเสียร่วมกับเมล็ดที่ทดสอบด้วยวิธี tetrazolium test แล้วพบว่าเป็นเมล็ดที่ไม่สามารถงอกได้ ส่วนการบันทึกผลในการทดลองย่อยที่ 4.1 และ 4.2 จะบันทึกน้ำหนักเมล็ดก่อนอบแห้ง และน้ำหนักเมล็ดหลังอบแห้ง และในการทดลองย่อยที่ 4.3 จะนับความงอกที่ 4 วันหลังเพาะ เนื่องจากหลัง 4 วันต้นอ่อนที่งอกจะต้นจางเปิดออกทำให้ไม่สามารถควบคุมความชื้นได้

การทดลองที่ 2 ทดลองปลูกมะระขึ้นกเพื่อหารูปแบบการปลูกและหาความหนาแน่นประชากรที่เหมาะสมในการติดเมล็ด

ปลูกทดสอบที่แปลงทดลองสถานีวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะในช่วงเดือนกันยายน-ธันวาคม พ.ศ. 2542 สภาพภูมิอากาศอยู่ในช่วงฤดูฝน-หนาว วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Randomized Complete Block Design มี 4 block ประกอบด้วย 2 ปัจจัย ปัจจัยแรกคือ รูปแบบการปลูก 2 แบบได้แก่ ปลูกแบบใช้ค้ำ (รูปที่ 10) และปลูกแบบไม่ใช้ค้ำ (รูปที่ 11) และปัจจัยที่สองคือ ความหนาแน่นประชากร 3 ระดับได้แก่ ความหนาแน่น 1600 3200 และ 6400 ต้นต่อไร่ โดยยกแปลงขึ้นขนาด 2×10 เมตร ปลูก 2 แถวห่างกัน 1 เมตรบนแปลง ระยะห่างระหว่างหลุม 1.0 0.5 และ 0.25 เมตรซึ่งจะได้ประชากรต้นมะระขึ้นก 1600 3200 และ 6400 ต้นต่อไร่ตามลำดับ ร่องกันระหว่างแปลงห่างกัน 0.5 เมตร การเตรียมต้นกล้ามะระขึ้นกโดยเพาะเมล็ดในถาดเพาะจนกระทั่งต้นกล้ามีใบจริง 2 ใบ จึงย้ายปลูกหลุมละ 1 ต้น หลังจากปลูกเสร็จทำค้ำรูปจั่วสูง 170 เซนติเมตร แนวปักค้ำฐานห่างกัน 1 เมตร เฉพาะกรรมวิธีที่ปลูกแบบใช้ค้ำ (รูปที่ 10)

สุ่มพื้นที่ 4 ตารางเมตรในแต่ละแปลงแล้วนำเชือกซึ่งล้อมกรอบพื้นที่นั้นไว้ เมื่อเริ่มมีผลสุกให้เห็นสม่ำเสมอทั่วกันทั้งแปลงจะเริ่มเก็บผลผลิตในพื้นที่ที่สุ่มไว้ โดยการเก็บจะเก็บเฉพาะผลมะระขึ้นกที่สุกมากกว่า 3 ใน 4 ส่วนของผล (รูปที่ 4f-i) แยกเก็บเป็น 6 ครั้ง แต่ละครั้งเก็บห่างกัน 5 วัน นำผลสุกที่ได้ไปร่อนเอาเมล็ดออก แล้วทำความสะอาดให้ส่วนของ extracarpellary tissue

(ส่วนที่เป็นเยื่อหุ้มเมล็ดที่เป็นวันสีแดง, รูปที่ 5a) หลุดออกให้หมด นำเมล็ดที่ได้ไปฝังให้แห้ง หลังจากเมล็ดแห้งแล้วนำไปทำความสะอาดแยก สิ่งเจือปน (inert material) และเมล็ดลีบ ออกด้วยเครื่องเป่าเมล็ด แล้วนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส

การบันทึกผล

การบันทึกผลการทดลองเป็นการเก็บข้อมูลจากเมล็ดที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส ซึ่งแบ่งการบันทึกผลการทดลองออกเป็นหัวข้อใหญ่ได้ดังนี้คือ การบันทึกผลผลิตเมล็ด ทำโดยชั่งน้ำหนักเมล็ดมะระชั้นกแยกเป็นของแต่ละซ้ำในแต่ละครั้งการเก็บ การบันทึกองค์ประกอบผลผลิตซึ่งประกอบด้วย จำนวนต้นต่อพื้นที่ จำนวนผลต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อผล และน้ำหนัก 100 เมล็ด โดยแยกเป็นของแต่ละซ้ำในแต่ละครั้งการเก็บ และการบันทึกคุณภาพเมล็ดพันธุ์ มะระชั้นกของแต่ละซ้ำในแต่ละครั้งการเก็บโดยมีลักษณะที่ใช้ประเมินคุณภาพดังนี้คือ

1. ขนาดเมล็ดมะระชั้นกซึ่งประกอบด้วย ความกว้าง ความยาว และ ความหนา วัดด้วย digital vernier โดยแยกแต่ละซ้ำในแต่ละครั้งการเก็บ
2. เปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดมะระชั้นก โดยนำเมล็ด 50 เมล็ดในแต่ละซ้ำ ในแต่ละครั้งการเก็บ มาทดสอบความงอกด้วยวิธี between paper method เพาะใน growth chamber (Convion S9L) ที่ควบคุม อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นอากาศ 100 เปอร์เซ็นต์ และไม่มีแสงสว่าง นับความงอกที่ 4 และ 8 วันหลังเพาะ โดยแยกเป็นของแต่ละซ้ำในแต่ละครั้งการเก็บ
3. ค่า seedling growth rate (SGR) หาได้ด้วยการนำต้นอ่อนที่งอกแล้วจากการทดสอบ เปอร์เซ็นต์ความงอกไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสแล้วนำไปชั่งน้ำหนักแห้ง แล้วนำไปคำนวณค่า SGR จากสมการที่ 2 โดยแยกเป็นของแต่ละซ้ำในแต่ละครั้งการเก็บ

การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลทั้งในการทดลองที่ 1 และ 2 นำมาวิเคราะห์ analysis of variance และเปรียบเทียบความแตกต่างของสิ่งทดลองโดยวิธี least significant difference (LSD)



รูปที่ 10 การปลูกแบบใช้ค้ำที่ปลูก 2 แถวห่างกัน 1 เมตรบนแปลงขนาด 2×10 เมตร



รูปที่ 11 การปลูกแบบไม่ใช้ค้ำที่ปลูก 2 แถวห่างกัน 1 เมตรบนแปลงขนาด 2×10 เมตร