

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

##### วิธีการทดลอง

ใช้เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ที่ได้จากการปลูกในสภาพแปลงขยายเมล็ดพันธุ์ของเกษตรกร อ.แม่ริม จ.เชียงใหม่ ซึ่งปลูกในเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2549 และเก็บเกี่ยวในเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2549 จำนวน 50 กิโลกรัม จากนั้นทำการตรวจสอบคุณภาพเริ่มต้นและนำมาลดความชื้นให้เหลือความชื้นของเมล็ดเริ่มต้น 7 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำการสุ่มแบ่งจำนวน 0.5 กิโลกรัมต่อซ้ำ บรรจุในถุงพลาสติกชนิด polyethylene แบบหนา โดยใช้เครื่องบรรจุเมล็ดพันธุ์ระบบสุญญากาศ จากนั้น นำเมล็ดพันธุ์มาเก็บรักษาไว้ภายใต้สภาพความชื้นสัมพัทธ์ต่างๆ โดยทำการทดลองในห้องปฏิบัติการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ มีการวางแผนการทดลองแบบ Factorial in Randomized Complete Block Design 4 ซ้ำ โดยมี 2 ปัจจัย

ปัจจัยที่ 1 ความชื้นสัมพัทธ์ภายในโรงเก็บ 4 ระดับ คือ 50-55, 60-65, 70-75 เปอร์เซ็นต์ และความชื้นสัมพัทธ์ของห้อง (ไม่มีการควบคุมความชื้นสัมพัทธ์)

ปัจจัยที่ 2 ระยะเวลาในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์มี 8 ระดับ คือ 0, 30, 45, 60, 75, 90, 105 และ 120 วัน

โดยนำไปใส่ในถังพลาสติกที่รองรับด้วยตะกร้าพลาสติก ซึ่งมีสารละลายอิมิตัวบรรจุอยู่ในถังพลาสติกนั้น โดยมีการเตรียมสารละลายอิมิตัวที่ให้ความชื้นสัมพัทธ์ 3 ระดับ คือ

- สารละลายอิมิตัวแมกนีเซียมไนเตรท ( $MgNO_3$ ) ความเข้มข้น 0.23 โมล ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ที่มีความชื้นสัมพัทธ์ที่ระดับ 50-55 เปอร์เซ็นต์

- สารละลายอิมิตัวโซเดียมไนไตรต์ ( $NaNO_2$ ) ความเข้มข้น 0.90 โมล ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ที่มีความชื้นสัมพัทธ์ที่ระดับ 60-65 เปอร์เซ็นต์

- สารละลายอิมิตัวโซเดียมคลอไรด์ ( $NaCl$ ) ความเข้มข้น 0.54 โมล ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ที่มีความชื้นสัมพัทธ์ที่ระดับ 70-75 เปอร์เซ็นต์

ปิดฝาถังให้สนิทแล้วพันรอบปากถังด้วยเทปขาวให้แน่น ส่วนกรรมวิธีที่ไม่มีการควบคุมความชื้นสัมพัทธ์นั้น ดำเนินการเช่นเดียวกันกับทั้ง 3 ระดับความชื้นสัมพัทธ์ข้างต้น แต่ไม่มีการบรรจุสารละลายอิมิตัว จากนั้นนำไปเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 120 วัน แล้วทำการสุ่มตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ที่ทำการเก็บรักษาภายใต้สภาพดังกล่าวครั้งแรกเมื่อครบ 30 วัน หลังจากนั้นทำการสุ่มตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ทุกๆ 15 วัน ดังนี้

### 1. ตรวจสอบความงอกมาตรฐาน (standard germination test)

ตามวิธีการของ ISTA (1999) ทำการสุ่มเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองกรรมวิธีละ 4 ซ้ำ จำนวน 50 เมล็ดต่อซ้ำ มาเพาะในกระดาษแบบ between paper โดยการนำกระดาษเพาะ (towel paper) ขนาด 25 x 40 เซนติเมตร ซ้อนกัน 2 ชั้น วางบนถาดอะลูมิเนียม จากนั้นทำให้เปียกด้วยน้ำกลั่นแล้วเทน้ำส่วนเกินออก นำเมล็ดในแต่ละซ้ำมาวางด้านบน โดยใช้ถาดนับเมล็ด ปิดทับด้วยกระดาษเพาะเมล็ดอีกชั้น พับขอบด้านข้างและด้านข้าง ประมาณ 1 นิ้ว จากนั้น ม้วนกระดาษเพาะที่มีเมล็ดอยู่ภายในนำไปไว้ในตู้เพาะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ตรวจสอบความงอกหลังเพาะ 5 และ 8 วัน หลังการเพาะ ประเมินผลต้นอ่อนปกติและบันทึกเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด

### 2. ตรวจสอบความแข็งแรงโดยการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ (seed vigor test by accelerated aging test)

ทำการสุ่มเมล็ดที่ใช้ทดสอบกรรมวิธีละ 4 ซ้ำ จำนวน 50 เมล็ดต่อซ้ำ ใส่ลงในตะแกรงลวดสแตนเลสรูปทรงกลม แล้ววางลงในขวดเร่งอายุที่เติมน้ำกลั่นไว้ 100 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิท (เพื่อให้มีความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์) เก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 41 องศาเซลเซียส ไว้ล่วงหน้าก่อนแล้ว นาน 64 ชั่วโมง (จวงจันทร, 2529b) แล้วนำมาทดสอบความงอกตามวิธีทดสอบความงอกมาตรฐาน

### 3. ตรวจสอบความมีชีวิตโดยวิธีเตตราโซเลียม (seed viability test by tetrazolium test)

ทำการสุ่มเมล็ดที่ใช้ทดสอบกรรมวิธีละ 4 ซ้ำ จำนวน 50 เมล็ดต่อซ้ำ แยกเมล็ดแต่ละซ้ำด้วยน้ำกลั่นทิ้งไว้ประมาณ 12 ชั่วโมง จากนั้นนำมาแกะเปลือกหุ้มเมล็ดออกใส่ไว้ในแก้วน้ำพลาสติก ที่มีสารละลายเตตราโซเลียม (2,3,5-triphenyltetrazolium chloride) ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ นำไปไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง (จวงจันทร, 2529b) ครบกำหนดล้างเมล็ดและแช่น้ำไว้ ทำการตรวจนับความแข็งแรงและชีวิตของเมล็ดพันธุ์ โดยประเมินผลจากการติดสีของ Formazan ในส่วนต่างๆ ของเมล็ด

#### 4. ตรวจสอบความแข็งแรงโดยการวัดค่าการนำไฟฟ้า (electrical conductivity test)

ทำการสุ่มเมล็ดที่ใช้ทดสอบกรรมวิธีละ 4 ซ้ำ จำนวน 25 เมล็ดต่อซ้ำ ซึ่งน้ำหนักหน่วยเป็นกรัม ด้วยเครื่องชั่งชนิดทศนิยม 2 ตำแหน่ง นำเมล็ดพันธุ์แต่ละซ้ำใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 200 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น (distilled water) 75 มิลลิลิตร ซึ่งทำการวัดและบันทึกค่าการนำไฟฟ้าของน้ำกลั่นที่ใช้ด้วย จากนั้น นำเข้าตู้ควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง (จวงจันทร, 2529b) นำน้ำที่ได้จากการแช่เมล็ดมาทำการวัดค่าการนำไฟฟ้าทันทีโดยก่อนและหลังการอ่านค่าการนำไฟฟ้าของแต่ละซ้ำทุกครั้งต้องล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่นบริสุทธิ์ ซึ่งค่าการนำไฟฟ้ามีหน่วยเป็น  $\mu\text{mhos}$  นำมาหารด้วยน้ำหนักของเมล็ด 25 เมล็ด จะได้ค่าการนำไฟฟ้าเฉลี่ยของเมล็ดพันธุ์หนัก 1 กรัม หน่วยเป็น  $\mu\text{mhos/g}$

#### 5. การวัดอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า (seedling growth rate test)

ทำการสุ่มเมล็ดที่ใช้ทดสอบกรรมวิธีละ 4 ซ้ำ จำนวน 25 เมล็ดต่อซ้ำ มาวางบนกระดาษเพาะแบบ between paper นำไปไว้ในตู้เพาะที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ตรวจสอบความงอกหลังเพาะ 7 วัน นำส่วนของต้นอ่อนที่ปกติไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง (จวงจันทร, 2529b) จากนั้น นำมาชั่งน้ำหนักแห้งและคำนวณหาอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า

$$\text{อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า (มิลลิกรัม / ต้น / 7 วัน)} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของต้นกล้า}}{(\text{จำนวนต้นอ่อนปกติ} / 7 \text{ วัน})}$$

#### 6. การตรวจสอบความชื้นของเมล็ดพันธุ์โดยวิธีอบด้วยลมร้อน (hot air oven method)

นำตัวอย่างเมล็ดมาบดละเอียด ให้ได้ขี้ละเอียดประมาณ 5 กรัม จำนวน 4 ซ้ำต่อกรรมวิธี อบในตู้อบที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียส นาน 17 ชั่วโมง หลังจากนั้น ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น (desiccator) นาน 30-45 นาที (ISTA, 2006) โดยบันทึกน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบและน้ำหนักแห้งหลังอบ คำนวณหาความชื้นของเมล็ดพันธุ์จากสูตร

ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ (เปอร์เซ็นต์มาตรฐานเปียก)

$$= \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

### การวิเคราะห์ข้อมูล

นำผลการทดสอบที่บันทึกได้มาวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Difference (LSD) (Steel and Torrie, 1985) และนำค่าดังกล่าวมาวิเคราะห์สหสัมพันธ์และการถดถอย (multiple regression) เพื่อหาสมการสำหรับการคาดคะเนระยะเวลาที่ใช้ในการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved