

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดลองที่ 1 ผลของ จิบเบอเรลลิน ร่วมกับ ไซโตไคนิน ต่อการเจริญเติบโตของแคลลัส

1.1 วัสดุและอุปกรณ์การทดลอง

1.1.1 วัสดุพันธุ์พืช

หัวพันธุ์แคลลัสพันธุ์แบล็กเมจิก (BM) น้ำหนัก 30-40 กรัม จำนวน 70 หัว



ภาพที่ 1 ลักษณะหัวพันธุ์แคลลัส

1.1.2 วัสดุปลูก

วัสดุปลูกประกอบด้วย ถ่านแกลบ และขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1

1.1.3 วัสดุสารเคมี

1.1.3.1 สารเคมีสำหรับเตรียมสารควบคุมการเจริญเติบโต

จิบเบอเรลลิน (GA₃)

ไซโตไคนิน (BA)

1.1.3.2 สารเคมีสำหรับเตรียมสารละลายธาตุอาหาร มีดังนี้

ธาตุอาหารหลัก ได้แก่

แอมโมเนียมไนเตรท ($\text{NH}_4 \text{NO}_3$)

แคลเซียมไนเตรท [$(\text{CaNO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$]

แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($\text{NH}_4 \text{H}_2 \text{PO}_4$)

โพแทสเซียมไนเตรท (KNO_3)

โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)

แมกนีเซียมซัลเฟต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)

แคลเซียมคลอไรด์ ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

ธาตุอาหารรอง ได้แก่

กรดบอริก (H_3BO_3)

แมงกานีสซัลเฟต ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)

ซิงค์ซัลเฟต ($\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)

คอปเปอร์ซัลเฟต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

แอมโมเนียมโมลิบเดต ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$)

เหล็กคีเลต (FeEDTA)

1.1.3.3 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และ

โพแทสเซียมมีดังนี้

โซเดียมอีดีทีเอ ($\text{EDTA} \cdot 2\text{Na}$)

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

เอทานอล ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)

เมซิล เรด ($\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$)

โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)

กรดเบนโซอิก ($\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH}$)

โซเดียมไนโตรพรัสไซด์ $\text{Na}_2[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

ฟีนอล ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH}$)

ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4)

ไตรโซเดียมฟอสเฟต (NaClO)

แอมโมเนียมซัลเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)

แอมโมเนียมโมลิบเดต ($(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$)

กรดไฮโดรคลอริก (HCl)

สแตนนัสคลอไรด์ (SnCl_2)

1.1.4 อุปกรณ์

- 1.1.4.1 กระจกขนาด 10 นิ้ว
- 1.1.4.2 กระบะปลูกขนาด 1×1 เมตร จำนวน 7 กระบะ
- 1.1.4.3 เครื่องวัดค่าความนำไฟฟ้า (EC meter)
- 1.1.4.4 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
- 1.1.4.5 เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 1.1.4.6 ไม้บรรทัด
- 1.1.4.7 กล้องถ่ายรูปดิจิทัล
- 1.1.4.8 ถุงเก็บตัวอย่างพืช
- 1.1.4.9 ตู้อบ
- 1.1.4.10 เครื่องบดตัวอย่างพืชของบริษัท BECTHAI รุ่น MF-10
- 1.1.4.11 เตาย่อยตัวอย่างพืชของบริษัท TECHNE รุ่น DB-4
- 1.1.4.12 เครื่องแก้วที่ใช้ในการทดลองทางเคมี เช่น บีกเกอร์ หลอดทดลอง ปิเปต
ขวดปรับปริมาตร แท่งแก้วคน กรวย กระบอกตวง เป็นต้น
- 1.1.4.13 Atomic absorption spectrophotometer ของบริษัท PERKIN ELMER รุ่น
3100
- 1.1.4.14 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ของบริษัท HITACHI
รุ่น U-2001

1.2 วิธีการทดลอง

คัดเลือกหัวพันธุ์แคลาลิลลีน้ำหนัก 30-40 กรัม จำนวน 10 หัวต่อกรรมวิธีแช่ หัวพันธุ์ก่อนปลูกด้วยสารควบคุมการเจริญเติบโต จำนวน $(2 \times 3) + 1$ กรรมวิธี คือ 1) จิบเบอเรลลินระดับความเข้มข้น 2 ระดับ ได้แก่ 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ 2) โซโคโคโคนิน ระดับความเข้มข้น 3 ระดับ ได้แก่ 0, 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และให้กรรมวิธีที่ไม่ได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโตเป็นกรรมวิธีควบคุม โดยแช่สารควบคุมการเจริญเติบโตก่อนปลูกนาน 30 นาที จากนั้นนำมาปลูกในกระถางขนาด 10 นิ้ว โดยใช้วัสดุปลูกประกอบด้วย ถ่านแกลบ และ ขุยมะพร้าวอัตราส่วน 1:1 เมื่อวันที่ 1 ตุลาคม 2550 ณ. โรงเรือนทดลองไม้ดอกเมืองหนาว มุลินธิโครงการหลวง หน่วยวิจัยขุนห้วยแห่ง สถานีวิจัยโครงการหลวงอินทนนท์ อ.จอมทอง จ.เชียงใหม่ ตามกรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 แสงสารละลาย GA 100 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร
 กรรมวิธีที่ 2 แสงสารละลาย GA 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 100 มิลลิกรัมต่อลิตร
 กรรมวิธีที่ 3 แสงสารละลาย GA 100 มิลลิกรัมต่อลิตรร่วมกับ BA 200 มิลลิกรัมต่อลิตร
 กรรมวิธีที่ 4 แสงสารละลาย GA 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 0 มิลลิกรัมต่อลิตร
 กรรมวิธีที่ 5 แสงสารละลาย GA 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 100 มิลลิกรัมต่อลิตร
 กรรมวิธีที่ 6 แสงสารละลาย GA 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ BA 200 มิลลิกรัมต่อลิตร
 กรรมวิธีที่ 7 ไม่แสงสารควบคุมการเจริญเติบโต (แสงในน้ำกลั่น)

วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมแบบสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in CRD) จำนวน 2 ปัจจัย
 จำนวน $(2 \times 3) + 1$ กรรมวิธี กรรมวิธีละ 10 ชำ โดยให้พืชได้รับสารละลายธาตุอาหารต้นละ 50
 มิลลิลิตร จำนวน 3 ครั้งต่อสัปดาห์ สลับกับการให้น้ำ



ภาพที่ 2 ลักษณะของแคลดอเลียพันธุ์แบล็กเมจิก

1.3 บันทึกผลการทดลอง

1.3.1 วัดการเจริญเติบโต บันทึกผลดังนี้

- 1.3.1.1 ความสูงของต้น (เซนติเมตร) วัดจากโคนต้นถึงปลายใบที่สูงที่สุดโดยรวบใบขึ้นทุก 4 สัปดาห์
- 1.3.1.2 จำนวนใบต่อต้น ทุก 4 สัปดาห์ (ใบ)
- 1.3.1.3 จำนวนวันที่ใช้ในการงอก (วัน)
- 1.3.1.4 จำนวนต้นตอกอ (ต้น)
- 1.3.1.5 จำนวนวันตั้งแต่ปลูกลงถึงดอกแรกบาน (วัน)
- 1.3.1.6 ความยาวก้านดอก (เซนติเมตร)
- 1.3.1.7 ความยาวช่อดอก (เซนติเมตร)
- 1.3.1.8 ความกว้างช่อดอก (เซนติเมตร)
- 1.3.1.9 จำนวนดอกตอกอ (ดอก)
- 1.3.1.10 น้ำหนักหัวสด (กรัม)
- 1.3.1.11 เส้นรอบวงหัวพันธุ์ (เซนติเมตร)

1.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม

การเตรียมตัวอย่างพืชสำหรับวิเคราะห์ธาตุอาหาร

สุ่มพืชในระยะออกดอก จำนวน 3 ซ้ำต่อกรรมวิธี นำตัวอย่างที่สุ่มได้มาแยกเป็นส่วนของ ใบ ดอก และหัว ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำประปา 2 ครั้ง ตามด้วยการล้างน้ำกลั่นออก 3 ครั้ง ซับให้แห้งจากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักสด บันทึกข้อมูลไว้ แล้วนำตัวอย่างไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จนกระทั่งน้ำหนักแห้งไม่เปลี่ยนแปลงจึงบันทึกน้ำหนักแห้ง จากนั้นนำพืชไปบดเป็นผงละเอียด เพื่อนำไปย่อยและวิเคราะห์ธาตุอาหารต่อไป

การย่อยตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ไนโตรเจน และฟอสฟอรัส ตัดแปลงโดย (Ohyama *et al.*, 1985; 1986)

ชั่งตัวอย่างพืชอบแห้งบดละเอียด 0.05 กรัม ใส่ลงในหลอดทดลอง เดิมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร เติลงในหลอดที่ใส่ตัวอย่างไว้ ปิดหลอดด้วยพาราฟิล์มทิ้งไว้ 1 คืน วันต่อมานำมาย่อยที่เตาย่อยตัวอย่างพืช ปรับอุณหภูมิที่ 180 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น

แล้วเติม H_2O_2 หลอดละ 0.3 มิลลิลิตร ปั่นให้เข้ากัน นำมาย่อยต่อโดยปรับอุณหภูมิเป็น 230 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที หากสารละลายยังไม่ใสให้เติม H_2O_2 หลอดละ 0.2 มิลลิลิตรทุก ๆ 30 นาที ทำซ้ำเติมจนกระทั่งสารละลายใส หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นแล้วเติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 1 คืน วันต่อมานำมาปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร แล้วเก็บสารละลายที่ได้ไว้ในขวดพลาสติก เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง สำหรับวิเคราะห์ต่อไป

1.3.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน (Indolphenol Method) (Ohyama *et al.*, 1985; 1986)

การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์

1. เตรียมสารละลายที่ใช้ตรวจสอบปริมาณไนโตรเจน จำนวน 4 ชนิด ดังนี้

A reagent: ชั่ง EDTA.2Na 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับ pH ให้เป็น 10 จากนั้นเติมสารละลายเมธิล เรด 20 มิลลิลิตร คนให้เข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร

B reagent: ชั่ง KH_2PO_4 136.09 กรัม และกรดเบนโซอิก 2.75 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร

C reagent: ชั่งโซเดียมไนโตรพลัสไซด์ 100 มิลลิกรัม ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นเติมฟีนอล 10.25 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร เก็บไว้ในตู้เย็น สารละลายนี้มีอายุการใช้งาน 2 สัปดาห์

D reagent: ชั่ง NaOH 10 กรัม $Na_2HPO_4 \cdot 7H_2O$ 7.06 กรัม และ $Na_3PO_4 \cdot 12H_2O$ 31.8 กรัม ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นเติมโซเดียมไฮโปคลอไรด์ 10 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1,000 มิลลิลิตร

2. เตรียม NaOH เข้มข้น 1 N เพื่อปรับความเป็นด่าง

3. เตรียม สารละลายมาตรฐานจาก $(NH_4)_2SO_4$ ที่ระดับความเข้มข้น 0,0.1,0.2,0.3,0.4 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

4. ดูดตัวอย่างที่ย่อยได้ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติม A reagent 0.5 มิลลิลิตร และ เติม B reagent 0.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ นำมาไตรเตรท โดยหยด 1 N NaOH ลงไปเขย่าเล็กน้อยให้เปลี่ยนสี จากนั้นเติม C reagent 2.5 มิลลิลิตร และ D reagent 2.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ 625 นาโนเมตร บันทึกผลแล้วนำค่าที่อ่านได้มาเปรียบเทียบกับ

กราฟมาตรฐานตามกฎของ Beer's-Lambert's Law จากนั้นนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาปริมาณไนโตรเจน (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) โดยใช้สูตรคำนวณ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างพืช (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{A \times B \times C}{1000 \times D \times W}$$

A (มิลลิกรัมต่อลิตร) = ค่าความเข้มข้นของไนโตรเจนในสารละลายตัวอย่างพืชจากกราฟมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อลิตร)

B = อัตราส่วนการเจือจางสารตัวอย่างในปฏิกิริยา Indolphenol
= ปริมาตรสุดท้ายในการวิเคราะห์ (25 มิลลิลิตร)

ปริมาณสารตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์

C = ปริมาตรสุดท้ายของการย่อยตัวอย่างพืช

DW = น้ำหนักแห้งตัวอย่างที่ใช้ย่อย (กรัม)

1.3.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุฟอสฟอรัสโดยการวัดการดูดกลืนแสงของสารที่มีสี (colorimetry) (Ohyama *et al.*, 1991) ซึ่งได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างฟอสเฟต และอนุมูลโมลิบดีต ดังนี้

เตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์

1. เตรียมสารละลายที่ใช้ตรวจสอบปริมาณฟอสฟอรัส จำนวน 3 ชนิด ดังนี้

A reagent: ชั่ง $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$ 25 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร

จากนั้นนำมากรองโดยใช้ระบบสุญญากาศช่วย

B reagent: เตรียมกรดซัลฟิวริก 250 ml ผสมกับน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตรทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 500 มิลลิลิตร

C reagent: นำ A reagent มาผสมกับ B reagent: โดยเท B reagent: ลงในบีกเกอร์ขนาด 1 มิลลิลิตรค่อย ๆ เท A reagent: ทีละน้อยช้า ๆ ทิ้งไว้ 1 คืน วันต่อมามานำมาปรับปริมาตรให้เป็น 1 มิลลิลิตร เก็บไว้ในขวดสีชาตั้งไว้ในที่มืด

2. เตรียมสารละลายสแตนดาร์ดไนโตรเจน โดยชั่ง $(\text{SnCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O})$ 0.25 กรัม เติลงในขวดสีชา (ควรเตรียมในตู้เย็น) โดยเติม HCl 5 มิลลิลิตร ละลายให้หมด จากนั้นเติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานของฟอสฟอรัสจาก KH_2PO_4 ปรับให้มีความเข้มข้นตามลำดับคือ 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิลิตรต่อกรัม เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน

4. คูณสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการย่อยปริมาตร 0.5 มิลลิลิตรลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตรเติมน้ำกลั่นลงไปเล็กน้อย เติม C regent ขวดละ 1 มิลลิลิตร และเติมสแตนด์สคัลโลไรด์ 0.2 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 25 มิลลิลิตรตั้งทิ้งไว้ 15 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ 660 นาโนเมตรนำค่าที่อ่านได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของฟอสฟอรัส จากนั้นนำค่าที่คำนวณหาปริมาณฟอสฟอรัส (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) โดยใช้สูตรคำนวณเช่นเดียวกับการหาปริมาณไนโตรเจน

การย่อยตัวอย่างสำหรับวิเคราะห์โพแทสเซียม (Mizukoshi *et al.*, 1994)

ซึ่งตัวอย่างพืชอบแห้งบดละเอียด 0.05 กรัม เติม HClO_4 0.4 มิลลิลิตร และ HNO_3 0.5 มิลลิลิตร ตามลำดับ บั่นให้เข้ากัน ปิดหลอดด้วยพาราฟิล์ม ทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นนำมาย่อยที่ 100 องศาเซลเซียส เพื่อไล่ควันสีเหลืองของ NO_2 ออกจนหมด จึงปรับเพิ่มอุณหภูมิเป็น 210 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้จนตัวอย่างแห้งระงับอย่าให้ไหม้ นำออกมาทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเติมสารละลายเจือจางของไฮโดรคลอริก ($\text{HCl} 1 : \text{H}_2\text{O} 4$ มิลลิลิตร) หลอดละ 1 มิลลิลิตร บั่นให้เข้ากัน จากนั้นนำมาตั้งบนเตาที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที เพื่อไล่ Cl^- ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำมาปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร เทใส่ขวดพลาสติกเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง สำหรับวิเคราะห์ต่อไป

1.3.2.3 การวิเคราะห์ปริมาณธาตุโพแทสเซียม

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานของโพแทสเซียม ปรับให้มีความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 และ 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เพื่อใช้ทำกราฟมาตรฐาน
2. เจือจางสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการย่อย โดยใช้สารตัวอย่างปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางด้วยน้ำกลั่นเป็น 25 มิลลิลิตร

3. นำสารละลายดังกล่าวไปวัดปริมาณโพแทสเซียม ด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 766.5 นาโนเมตร บันทึกผลและนำค่าที่คำนวณได้มาคำนวณหาปริมาณโพแทสเซียม (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักแห้ง) โดยใช้สูตรคำนวณเช่นเดียวกับการหาปริมาณไนโตรเจน



ภาพที่ 3 การวิเคราะห์ธาตุอาหารในเนื้อเยื่อพืช

การทดลองที่ 2 ผลของระดับไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ต่อการเจริญเติบโตของ แคลลาลิลลี่

2.1 วัสดุและอุปกรณ์การทดลอง

2.1.1 วัสดุพันธุ์พืช

หัวพันธุ์แคลลาลิลลี่พันธุ์แบล็กเมจิก (BM) น้ำหนัก 30-40 กรัม จำนวน 195 หัว

2.1.2 วัสดุปลูก

วัสดุปลูกประกอบด้วย ถ่านแกลบ และขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1

2.1.3 วัสดุเคมี

สารเคมีสำหรับการเตรียมสารละลายธาตุอาหารเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

2.1.4 อุปกรณ์

1.1.4.1 กระจกขนาด 10 นิ้ว

1.1.4.2 กระบะปลูกขนาด 1×1 เมตร จำนวน 7 กระบะ

1.1.4.3 เครื่องวัดค่าความนำไฟฟ้า (EC meter)

1.1.4.4 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

1.1.4.5 เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง

1.1.4.6 ไม้บรรทัด

1.1.4.7 กล้องถ่ายภาพดิจิทัล

1.1.4.8 ถุงเก็บตัวอย่างพืช

2.2 วิธีการทดลอง

คัดเลือกหัวพันธุ์แคลลาลีลี้น้ำหนัก 30-40 กรัม ก่อนปลูกนำหัวพันธุ์ไปแช่จิบเบอเรลลินที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 30 นาที แล้วนำไปปลูก ในวัสดุปลูกประกอบด้วย ถ่านแกลบ และ ขุยมะพร้าว อัตรา 1:1 จนกระทั่งต้นเริ่มงอกจึงเริ่มให้สารละลายธาตุอาหารที่ประกอบด้วยธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง โดยปรับความเข้มข้นของระดับไนโตรเจน 3 ระดับ คือ 100, 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับ ฟอสฟอรัส 2 ระดับ คือ 50 และ 70 มิลลิกรัมต่อลิตร และร่วมกับ โพแทสเซียม 2 ระดับ คือ 100 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยให้กรรมวิธีที่ไม่ได้รับธาตุอาหาร (รดน้ำอย่างเดียว) เป็นกรรมวิธีควบคุม ตามตารางที่ 3 ส่วนธาตุอาหารอื่นพืชได้รับในระดับความเข้มข้นเท่ากันทุกกรรมวิธี ให้สารละลายธาตุอาหารตามกรรมวิธีกำหนด ทำการทดลองเมื่อวันที่ 1 ตุลาคม 2550 ณ. โรงเรือนทดลองไม้ดอกเมืองหนาว มุลินธิโครงการหลวง หน่วยวิจัยขุนห้วยแห่ง สถานีวิจัยโครงการหลวงอินทนนท์ อ.จอมทอง จ.เชียงใหม่

ตารางที่ 2 ระดับสารละลายธาตุอาหารในแต่ละกรรมวิธี

กรรมวิธีที่	ธาตุอาหารหลัก (มิลลิกรัมต่อลิตร)		
	ไนโตรเจน	ฟอสฟอรัส	โพแทสเซียม
1	100	50	100
2	200	50	100
3	300	50	100
4	100	70	100
5	200	70	100
6	300	70	100
7	100	50	200
8	200	50	200
9	300	50	200
10	100	70	200
11	200	70	200
12	300	70	200

วางแผนการทดลองแบบปัจจัยร่วมแบบสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in CRD) จำนวน 3 ปัจจัย จำนวน $(3 \times 2 \times 2) + 1$ กรรมวิธี กรรมวิธีละ 3 ซ้ำ โดยให้พืชได้รับสารละลายธาตุอาหารต้นละ 50 มิลลิตร จำนวน 3 ครั้งต่อสัปดาห์ สลับกับการให้น้ำ

2.3 บันทึกผลการทดลอง

2.3.1 วัดการเจริญเติบโต บันทึกผลดังนี้

2.3.1.1 ความสูงของต้น (เซนติเมตร) วัดจากโคนต้นถึงปลายใบที่สูงที่สุดโดยรวบใบขึ้นทุก 4 สัปดาห์

2.3.1.2 จำนวนใบต่อต้น ทุก 4 สัปดาห์ (ใบ)

2.3.1.3 จำนวนวันที่ใช้ในการงอก (วัน)

2.3.1.4 จำนวนต้นตอกอ (ต้น)

2.3.1.5 จำนวนวันตั้งแต่ปลูกถึงดอกแรกบาน (วัน)

2.3.1.6 ความยาวก้านดอก (เซนติเมตร)

2.3.1.7 ความยาวช่อดอก (เซนติเมตร)

2.3.1.8 ความกว้างช่อดอก (เซนติเมตร)

2.3.1.9 จำนวนช่อดอกต่อกอ (ดอก)

2.3.1.10 น้ำหนักหัวพันธุ์ (กรัม)

2.3.1.11 เส้นรอบวงหัวพันธุ์ (เซนติเมตร)

การทดลองที่ 3 ผลของระดับแคลเซียมต่อการเจริญเติบโตของเคลล่าลิสส์

3.1 การเตรียมวัสดุและอุปกรณ์การทดลอง

3.1.1 วัสดุพันธุ์พืช

หัวพันธุ์เคลล่าลิสส์พันธุ์เบลีคเมจิก (BM) น้ำหนัก 30-40 กรัม จำนวน 60 หัว

3.1.2 วัสดุปลูก

วัสดุปลูกประกอบด้วย ถ่านกลบ และขุยมะพร้าว อัตราส่วน 1:1

3.1.3 วัสดุสารเคมี

สารเคมีสำหรับการเตรียมสารละลายธาตุอาหารเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

3.1.4 อุปกรณ์

- 1.1.4.1 กระจกขนาด 10 นิ้ว
- 1.1.4.2 กระบะปลูกขนาด 1×1 เมตร จำนวน 7 กระบะ
- 1.1.4.3 เครื่องวัดค่าความนำไฟฟ้า (EC meter)
- 1.1.4.4 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
- 1.1.4.5 เครื่องชั่งละเอียดแบบทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 1.1.4.6 ไม้บรรทัด
- 1.1.4.7 กล้องถ่ายรูปดิจิทัล
- 1.1.4.8 ถุงเก็บตัวอย่างพืช

3.2 วิธีการทดลอง

คัดเลือกหัวพันธุ์เคลด่าลิสีน้ำหนัก 30-40 กรัม ก่อนปลูกนำหัวพันธุ์ไปแช่จิบเบอเรลลินที่ระดับความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับไซโตไคนินที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร นาน 30 นาที แล้วนำไปปลูก ในวัสดุปลูกประกอบด้วย ถ่านแกลบ และ ขุยมะพร้าว อัตรา 1:1 จนกระทั่งต้นเริ่มงอกจึงเริ่มให้สารละลายธาตุอาหารที่ประกอบด้วยธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง ปรับความเข้มข้นของระดับแคลเซียม 3 ระดับ คือ 100, 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร และให้กรรมวิธีที่ไม่ได้รับธาตุอาหาร (รดน้ำอย่างเดียว) เป็นกรรมวิธีควบคุม โดยให้ธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมที่ระดับความเข้มข้น 100, 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ทุกกรรมวิธี ทำการทดลองเมื่อวันที่ 4 ธันวาคม 2551 ณ. โรงเรือนทดลองไม้ดอกเมืองหนาว มูลนิธิโครงการหลวง หน่วยวิจัยขุนห้วยแห้ง สถานีวิจัยโครงการหลวงอินทนนท์ อ.จอมทอง จ.เชียงใหม่ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) จำนวน 4 กรรมวิธีๆ ละ 15 ซ้ำ โดยให้พืชได้รับสารละลายธาตุอาหารต้นละ 50 มิลลิกรัม จำนวน 3 ครั้งต่อสัปดาห์ สลับกับการให้น้ำ

3.3 บันทึกผลการทดลอง

ทำการบันทึกผลการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 ข้อ 1.3.1