

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 การวางแผนการทดลอง

3.1.1 การหาความสามารถในการให้ออกซิเจนของสารเคมีในกลุ่ม peroxide แต่ละชนิด

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ทำการทดสอบ 5 ซ้ำ ในแต่ละเดือน ปัจจัยที่ใช้ในการทดลอง คือ สารปลดปล่อยออกซิเจน 3 ชนิด ดังนี้

1. แคลเซียมเปอร์ออกไซด์ (CaO_2), 75%
2. แมกนีเซียมเปอร์ออกไซด์ (MgO_2), 24-28%
3. ซิงค์เปอร์ออกไซด์ (ZnO_2), 50-60%

3.1.2 การทดสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ และการหาความสามารถในการงอกของเมล็ดพอกในสภาพบรรยากาศที่ขาดแคลนออกซิเจน

วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ ทุกๆ 2 เดือน นาน 6 เดือน ปัจจัยที่ใช้ในการทดลอง คือ ชนิดและอัตราของสารปลดปล่อยออกซิเจนที่ผสมในวัสดุพอกเมล็ด ทั้งหมด 14 กรรมวิธี ดังนี้

- | | | |
|---------------|---|-----|
| กรรมวิธีที่ 1 | เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานที่ไม่ได้พอก | |
| กรรมวิธีที่ 2 | เมล็ดพอกที่ไม่ผสมสารปลดปล่อยออกซิเจน (อัตรา 0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักวัสดุพอก) | |
| กรรมวิธีที่ 3 | เมล็ดพอกที่ผสมแคลเซียมเปอร์ออกไซด์ในวัสดุพอกอัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักวัสดุพอก | 0.5 |
| กรรมวิธีที่ 4 | เมล็ดพอกที่ผสมแคลเซียมเปอร์ออกไซด์ในวัสดุพอกอัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักวัสดุพอก | 1.0 |
| กรรมวิธีที่ 5 | เมล็ดพอกที่ผสมแคลเซียมเปอร์ออกไซด์ในวัสดุพอกอัตรา 1.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักวัสดุพอก | 1.5 |
| กรรมวิธีที่ 6 | เมล็ดพอกที่ผสมแคลเซียมเปอร์ออกไซด์ในวัสดุพอกอัตรา 2.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักวัสดุพอก | 2.0 |

กรรมวิธีที่ 7	เมล็ดพอกที่ผสมแมกนีเซียมเปอร์ออกไซด์ในวัสดุพอกอัตรา เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักวัสดุพอก	0.5
กรรมวิธีที่ 8	เมล็ดพอกที่ผสมแมกนีเซียมเปอร์ออกไซด์ในวัสดุพอกอัตรา เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักวัสดุพอก	1.0
กรรมวิธีที่ 9	เมล็ดพอกที่ผสมแมกนีเซียมเปอร์ออกไซด์ในวัสดุพอกอัตรา เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักวัสดุพอก	1.5
กรรมวิธีที่ 10	เมล็ดพอกที่ผสมแมกนีเซียมเปอร์ออกไซด์ในวัสดุพอกอัตรา เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักวัสดุพอก	2.0
กรรมวิธีที่ 11	เมล็ดพอกที่ผสมซิงค์เปอร์ออกไซด์ในวัสดุพอกอัตรา 0.5 เปอร์เซ็นต์โดย น้ำหนักวัสดุพอก	0.5
กรรมวิธีที่ 12	เมล็ดพอกที่ผสมซิงค์เปอร์ออกไซด์ในวัสดุพอกอัตรา 1.0 เปอร์เซ็นต์โดย น้ำหนักวัสดุพอก	1.0
กรรมวิธีที่ 13	เมล็ดพอกที่ผสมซิงค์เปอร์ออกไซด์ในวัสดุพอกอัตรา 1.5 เปอร์เซ็นต์โดย น้ำหนักวัสดุพอก	1.5
กรรมวิธีที่ 14	เมล็ดพอกที่ผสมซิงค์เปอร์ออกไซด์ในวัสดุพอกอัตรา 2.0 เปอร์เซ็นต์โดย น้ำหนักวัสดุพอก	2.0

3.2 สถานที่ทำการทดลอง

1. ห้องปฏิบัติการเมล็ดพันธุ์ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. ห้องปฏิบัติการพอกเมล็ดพันธุ์ สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3.3 การเตรียมวัสดุคืบ

เมล็ดพันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง คือ เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานลูกผสมพันธุ์ชูการ์ 73 ของ บริษัท ซินเจนทา ซีดส์ จำกัด เก็บเกี่ยวในเดือนเมษายน ปี พ.ศ. 2550 โดยทำการตรวจสอบค่าเปอร์เซ็นต์ความงอกเบื้องต้นของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานก่อนทำการพอกเมล็ด

วัสดุพอกที่ใช้ คือ เวอร์มิคูไลท์ (vermiculite) และวัสดุประสาน คือ non-ionic polyacrylamide (PAM) ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย แต่ละกรรมวิธีในการพอกเมล็ดพันธุ์ จะใช้อัตราส่วนเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน : เวอร์มิคูไลท์ : วัสดุประสาน เท่ากับ

1 กิโลกรัม : 1.2 กิโลกรัม : 0.5 ลิตร โดยผสมสารปลดปล่อยออกซิเจนแต่ละชนิดในอัตรา 0, 0.5, 1, 1.5 และ 2 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักวัสดุพอก ลงไปในเวอร์มิคูไลท์ เขย่าให้เข้ากันก่อนนำไปพอกเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน

ทำการพอกเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานด้วยเครื่อง Centricoater รุ่น CC10 Lab (บริษัท CIMBRIA, ประเทศออสเตรีย) ด้วยความเร็วรอบของถังหมุน 450 รอบต่อนาที นำเมล็ดพันธุ์ที่พอกเสร็จแล้วไปอบลดความชื้นในตู้อบไอร้อนไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้น นำเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานที่พอกแล้วมาเก็บรักษาไว้ในภาชนะปิดสนิทที่อุณหภูมิห้อง ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มาตรวจสอบคุณภาพทุกๆ 2 เดือน เป็นเวลานาน 6 เดือน

3.4 การวิเคราะห์หาความสามารถในการให้ออกซิเจนของสารเคมีในกลุ่ม peroxide แต่ละชนิด (Hatton and Baker, 1987)

3.4.1 สารเคมี

1. แคลเซียมเปอร์ออกไซด์ (CaO_2), 75%
2. แมกนีเซียมเปอร์ออกไซด์ (MgO_2), 24-28%
3. ซิงค์เปอร์ออกไซด์ (ZnO_2), 50-60%
4. Phosphoric acid (1:9)
5. Sulphuric acid (1:9)
6. Potassium permanganate 0.1 N

3.4.2 วิธีการทดลอง

1. ละลายสารตัวอย่าง 0.2 กรัม ลงในสารละลายกรดฟอสฟอริก (phosphoric acid solution) (1:9) ปริมาณ 50 มิลลิลิตร โดยใช้บีกเกอร์ 600 มิลลิลิตร
2. หลังจากนั้น เติมสารละลายกรดซัลฟูริก (sulphuric acid solution) (1:9) ปริมาณ 100 มิลลิลิตร
3. ทำการไตเตรทด้วย 0.1 N potassium permanganate จนกระทั่งเกิดสีชมพูที่ถาวร
4. คำนวณหาความสามารถในการให้ออกซิเจนของสารตัวอย่าง ดังสมการ

$$\text{Available oxygen, \% W/W} = A \times N \times 0.8/S$$

โดย A = ปริมาณของสารละลาย 0.1 N potassium permanganate ที่ใช้ไป
 N = normality ของสารละลาย 0.1 N potassium permanganate
 S = น้ำหนักของสารตัวอย่างที่ใช้ไป

3.5 การทดสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์

3.5.1 การทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์ (Germination test)

ดำเนินการทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์ตามวิธีการมาตรฐานของสมาคมผู้ตรวจสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA, 2006) โดยทำการสุ่มเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานในแต่ละกรรมวิธีมาจำนวน 4 ซ้ำๆ ละ 50 เมล็ด เพาะเมล็ดพันธุ์ระหว่างชั้นของกระดาษ 2 แผ่น (between paper method) แล้วนำเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานมาวางบนกระดาษเพาะขนาด 25×40 เซนติเมตร ที่ถูกทำให้เปียกด้วยน้ำกลั่น และม้วนเก็บไว้ในตู้เพาะเมล็ดพันธุ์ที่ควบคุมอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เมื่อครบกำหนด 4 วันหลังจากวันเพาะ ให้ทำการประเมินผลครั้งแรกโดยตราบนับเฉพาะต้นกล้าที่ปกติ (normal seedling) เท่านั้น หลังจากนั้น เมื่อครบ 7 วัน ให้ทำการประเมินผลการทดสอบความงอกครั้งสุดท้าย โดยมีกรตรวจสอบและวิเคราะห์เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน เพื่อบันทึกผล ลักษณะต่างๆ ของเมล็ดพันธุ์ ได้แก่ ต้นกล้าปกติ ต้นกล้าผิดปกติ (abnormal seedling) และเมล็ดตาย (dead seed)

3.5.2 การทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์

3.5.2.1 การหาค่าดัชนีการงอก (Germination Index, GI)

การวัดดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์ เป็นการประเมินความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ที่อาศัยความเร็วในการงอก (speed of germination) ของต้นกล้าเป็นเกณฑ์ โดยสามารถทำควบคู่ไปกับการทดสอบความงอกมาตรฐานได้ การประเมินผลการวัดดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน ต้องทำการตราบนับต้นกล้าปกติทุกวัน สำหรับข้าวโพดหวาน เกณฑ์ในการตราบนับต้นกล้าปกติ คือ มีส่วนยอดและลำต้นยาวอย่างน้อย 2 เซนติเมตร และมีระบบรากอยู่ครบ ทำการตราบนับต้นกล้าทุกวันจนครบเวลา 7 วัน และนำผลการตราบนับมาคำนวณหาค่าดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์ดังนี้

$$\text{ดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์} = \text{ผลบวกของ} \left(\frac{\text{จำนวนต้นกล้าที่งอก}}{\text{จำนวนวันหลังเพาะ}} \right)$$

3.5.2.2 การตรวจวัดอัตราการเจริญเติบโตของยอดอ่อนและรากอ่อน (Shoot and root growth rate)

เป็นวิธีการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ที่มีหลักการว่า เมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงสูง ย่อมมีอัตราการเจริญเติบโตของส่วนที่เป็นยอดและราก สูงกว่าเมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงต่ำ ทำการตรวจวัดโดยใช้เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานตัวอย่างละ 20 เมล็ด โดยวางเมล็ดพันธุ์ให้เป็นแถวตามความยาวของกระดาษเพาะ และม้วนเช่นเดียวกับการทดสอบความงอก นำม้วนกระดาษเพาะไปวางไว้ในตู้เพาะให้เอียงทำมุม 45 องศา หลังจากนั้น 5 วัน นำเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานที่เพาะออกมาประเมินผล โดยวัดความยาวของส่วนที่งอกเป็นรากและลำต้นของทุกเมล็ด (เห็นติเมตร/ต้น/5 วัน) แล้วคำนวณหาค่าเฉลี่ย ดังนี้

$$\text{อัตราการเจริญเติบโตของราก} = \frac{\text{ผลรวมความยาวของราก}}{\text{จำนวนเมล็ดพันธุ์ที่เพาะ}}$$

$$\text{อัตราการเจริญเติบโตของยอด} = \frac{\text{ผลรวมความยาวของยอด}}{\text{จำนวนเมล็ดพันธุ์ที่เพาะ}}$$

3.5.2.3 การตรวจวัดอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า (Seedling growth rate, SGR)

การตรวจวัดอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้านี้ กระดาษเพาะที่ใช้จะมีขนาดประมาณ 24 × 14 นิ้ว เมื่อนำไปชุบน้ำแล้วจะต้องมีการรดน้ำส่วนเกินออกก่อน วางเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานแถวละ 25 เมล็ด 2 แถว ให้แถวหนึ่งห่างจากขอบกระดาษ 6 เซนติเมตร และอีกแถวหนึ่งห่าง 13 เซนติเมตร เสร็จแล้วม้วนกระดาษเพาะเช่นเดียวกับการทดสอบความงอก นำไปวางไว้ในตู้เพาะที่ควบคุมแสงและอุณหภูมิ เมื่อครบกำหนด 7 วัน ให้นำออกมาตรวจนับความงอก และนำต้นกล้าปกติที่ได้มาตัดเอาส่วนของยอดอ่อนและรากอ่อนใส่ในถุงกระดาษ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งน้ำหนักแห้ง (กรัม/ต้น/7 วัน) และคำนวณด้วยสูตร ดังนี้

$$\text{อัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของยอดอ่อนรากอ่อน}}{\text{จำนวนต้นกล้าปกติ}}$$

3.5.2.4 การจำแนกความแข็งแรงของต้นกล้า (Seedling vigor classification)

ทำการทดสอบเช่นเดียวกับการทดสอบความงอกมาตรฐาน และทำการแบ่งกลุ่มหรือจำแนกต้นกล้าปกติของต้นอ่อนข้าวโพดหวานเมื่อครบกำหนด 7 วัน ออกเป็นต้นกล้าที่มีความแข็งแรงสูง ต้นกล้าแข็งแรงปานกลาง และต้นกล้าที่อ่อนแอ โดยใช้เกณฑ์ในการวัดผลคือ ความยาวยอดอ่อนของต้นกล้า สามารถแบ่งกลุ่มต้นกล้าได้ดังนี้

1. ต้นกล้าที่มีความแข็งแรงสูง คือ มีความยาวของยอดอ่อนมากกว่า 14 เซนติเมตร
2. ต้นกล้าที่มีความแข็งแรงปานกลาง คือ มีความยาวยอดอ่อนอยู่ระหว่าง 12-14 เซนติเมตร
3. ต้นกล้าที่อ่อนแอ คือ มีความยาวยอดอ่อนน้อยกว่า 12 เซนติเมตร

หลังจากนั้นนำมาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ของต้นกล้าแต่ละกลุ่ม โดยเทียบกับจำนวนต้นกล้าปกติทั้งหมด

3.6 การหาความสามารถในการงอกของเมล็ดพอกในสภาพบรรยากาศที่ขาดแคลนออกซิเจน

การเตรียมการทดลอง

การเตรียมขวดสำหรับใช้ในการทดลอง จะใช้ขวดพลาสติกที่หนา แข็งแรง ทนต่อการบีบอัดได้ดี และสีใส รูปทรงกระบอกขนาด $8 \times 8 \times 25$ เซนติเมตร มีฝาเกลียวที่ปิดได้สนิท ทำการเจาะรูด้านข้างขวดด้านใดด้านหนึ่ง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.3 เซนติเมตร แล้วปิดรูที่เจาะไว้ด้วยแผ่นฟิล์ม septa (บริษัท อีลินอยด์ ประเทศไทย จำกัด) ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง $3/4$ นิ้ว สำหรับใช้ในการวัดก๊าซภายในขวด (ภาพ 3.1)

ทำการเพาะเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานเช่นเดียวกับการทดสอบความงอกมาตรฐาน นำม้วนกระดาษที่ได้ใส่ในกระป๋องพลาสติกที่เตรียมไว้ โดยแต่ละกรรมวิธีจะทำซ้ำ 3 ขวด และแต่ละขวดจะใส่ม้วนกระดาษเพาะเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานไป 3 ม้วน ปิดฝาขวดให้สนิท แล้วปิดทับด้วยแผ่นพาราฟิล์ม เพื่อให้กระป๋องปิดสนิทมากยิ่งขึ้น ดังนั้น อากาศในขวดก็จะมีก๊าซออกซิเจนอยู่อย่างจำกัด



(ก)

(ข)



ภาพที่ 3.1 (ก) ขวดพลาสติกที่ใช้ในการทดลอง (ข) ม้วนกระดาษเพาะเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวาน ในกระป๋องก่อนนำไปวัดความเปลี่ยนแปลงของก๊าซออกซิเจน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ภายในขวด

การวัดผลการทดลอง

ทำการวัดความเปลี่ยนแปลงของก๊าซออกซิเจน และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ภายในขวดที่ใส่ม้วนกระดาษเพาะเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานแต่ละกรรมวิธี โดยใช้เครื่อง Headspace Oxygen/Carbon Dioxide Analyzer (บริษัท อีลินอยด์ ประเทศไทย จำกัด) (ภาพ 3.2) การวัดก๊าซเริ่มครั้งแรกหลังจากปิดขวดเสร็จ และวัดครั้งต่อไปทุกๆ 12 ชั่วโมง จนครบระยะเวลาการทดสอบความงอกมาตรฐาน สำหรับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานคือ 7 วัน การวัดก๊าซแต่ละครั้งจะวัด 5 รอบ แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ยและบันทึกผล หลังจากครบ 7 วัน ให้เปิดขวดออก แล้วนำมาประเมินค่าเปอร์เซ็นต์ความงอก สำหรับการเพาะเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานในสภาพที่ขาดแคลนก๊าซออกซิเจนนี้ จะนับเมล็ดพันธุ์ออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่สามารถมียอดหรือรากโผล่พ้นออกมาจากเมล็ดพันธุ์ได้ และกลุ่มที่ไม่งอกเลยหรือเมล็ดตาย



(ก)

(ข)

ภาพที่ 3.2 (ก) เครื่อง Headspace Oxygen/Carbon Dioxide Analyzer ที่ใช้ในการวัดก๊าซออกซิเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (ข) การวัดก๊าซออกซิเจนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SX8 (Analytical Software, USA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Least Significant Difference (LSD) (Gomez and Gomez, 1984)