

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการ

##### อุปกรณ์การทดลอง

1. แดงกวาลูกผสม F1 จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ นาตาลิเบอร์ 4 นาตาลิเบอร์ 5 บิ๊กซี และมาลัย 759
2. วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะปลูก เช่น ดินเพาะ ถาดเพาะ พลาสติกคลุมแปลง ฯลฯ
3. เชื้อราไตรโคเดอร์มาชนิดสด จากศูนย์บริหารศัตรูพืช จังหวัดเชียงใหม่
4. มุ้งตาข่าย ขนาด 2.5x15x3 เมตร สำหรับสร้างหน่วยทดลองแบบควบคุม (control) และหน่วยทดลองใช้ผึ้งในการผสมเกสร (pollination by honey bee)
5. ผึ้งพันธุ์ (European Honey Bee: *Apis mellifera* L.) สำหรับผสมเกสร จำนวน 4 รัง (1 รัง = 5 คน) จากหน่วยวิจัยผึ้งและผลิตภัณฑ์ผึ้ง สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
6. อุปกรณ์สำหรับศึกษาพฤติกรรมผึ้ง ได้แก่ ตัวนับจำนวน (counter) นาฬิกาจับเวลา
7. Micro capillary และ Hand refractometer ขนาด 0-32° brix สำหรับวัดปริมาณและความเข้มข้นของน้ำหวานในดอกแตงกวา
8. ชุดอุปกรณ์สำหรับเตรียมตัวอย่างในการวิเคราะห์ปริมาณเกสร (pollen analysis)
9. อาหาร (media) สำหรับทดสอบการงอกของเกสร (pollen germination) ได้แก่ ซูโครส ผงวุ้น น้ำกลั่น
10. อุปกรณ์ทดลองในห้องปฏิบัติการทั่วไป เช่น compound microscope Stereo microscope หลอดทดลอง ปากคีบ จานแก้ว สไลด์ กระดาษกรอง เป็นต้น

##### วิธีการทดลอง

#### 1. การจัดการแปลงปลูกแตงกวา

##### 1.1 การเตรียมแปลงปลูก

ไถพรวนดินที่ความลึก 30 เซนติเมตร ยกแปลงให้สูง 30 เซนติเมตร ขนาดแปลง 0.8x4.0 เมตร ระยะห่างระหว่างแปลง 30 เซนติเมตร จำนวน 48 แปลง รดหน้าดินด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา อัตราเชื้อสด 1 กิโลกรัมต่อน้ำ 100 ลิตรเพื่อป้องกันเชื้อราสาเหตุโรคน้ำคอดิน ให้น้ำเข้าแปลงเพื่อให้

ความชุ่มชื้นก่อนการปลูก 3 วัน จากนั้น คลุมแปลงด้วยพลาสติกป้องกันวัชพืช ขุดหลุม ปลูกเว้นระยะจากหัวและท้ายแปลง 30 เซนติเมตร ระยะระหว่างหลุม 80 เซนติเมตร

## 1.2 การเพาะกล้าและการย้ายปลูก

เพาะเมล็ดพันธุ์แดงกวางลูกผสม F1 จำนวน 4 สายพันธุ์ ในถาดเพาะ ที่เตรียมดินสำหรับเพาะ ต้นกล้า เมื่อต้นกล้ามีอายุ 5 วัน เลือกต้นกล้าที่สมบูรณ์แข็งแรง แดกใบอ่อน 2-3 ใบ ย้ายปลูกในแปลง ทดลอง จำนวน 48 แปลง แปลงละ 5 ต้น รองก้นหลุมด้วย ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 20 กิโลกรัมต่อไร่ (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 การเพาะต้นกล้าและการย้ายปลูก

## 1.3 การดูแลแปลงปลูกและการกำจัดแมลงศัตรูพืช

การให้น้ำโดยการให้น้ำเข้าแปลงไปตามร่อง สัปดาห์ละ 2 ครั้ง การกำจัดวัชพืชโดยใช้แรงงานในการดายหญ้าตามร่องแปลงและโคนต้น โรยโคนต้นด้วยเชื้อราไตรโคเดอร์มา หลังการย้ายปลูก 1 สัปดาห์ และให้ปุ๋ยทุกสัปดาห์สลับระหว่างปุ๋ย 2 สูตร คือ สูตร 46-0-0 และสูตร 15-15-15 อัตรา 20 กิโลกรัมต่อไร่ ในช่วงที่ต้นกล้าเริ่มโตและถอดยอดฉีดพ่นด้วยแคลเซียมโบรอน และสาหร่าย เมื่อต้นกล้าเริ่มแตกกิ่งแขนงปักค้ำด้วยไม้ไผ่ผูกยึดด้วยเชือกฟาง การกำจัดแมลงศัตรูพืชด้วยวิธีธรรมชาติ เช่นการทำลายด้วยมือ ถอนต้นที่เป็นโรคทิ้งและปลูกซ่อม เป็นต้น

#### 1.4 การนำผึ้งเข้าผสมเกสร

ประมาณวันที่ 20 หลังย้ายต้นกล้าลงปลูกในแปลงดอกแดงเริ่มบานดอก จึงนำผึ้งเข้าผสมเกสรในหน่วยทดลองที่กำหนด (pollination by honey bee) ทำการผสมเกสรจนดอกแดงร่วงทั้งหมด จึงย้ายผึ้งออกจากกรงทดลอง รวมระยะเวลาที่ใช้ในการผสมเกสรครั้งนี้ 30 วัน (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 หน่วยทดลองแบบควบคุม (control) และหน่วยควบคุมแบบใช้ผึ้งผสมเกสร (pollination by honey bee)

#### 1.5 การเก็บเกี่ยวผลสดและการบันทึกข้อมูลผลผลิต

การเก็บเกี่ยวผลสดสำหรับรับประทาน ในเบื้องต้นเลือกเก็บแตงกวาที่ไม่แก่หรืออ่อนเกินไป ขนาดและความยาวผลตรงตามลักษณะสายพันธุ์

นาตาลีเบอร์ 4 สีผลขาวปนเขียว ความยาว 16-18 เซนติเมตร

นาตาลีเบอร์ 5 สีผลเขียวปานกลาง ความยาว เซนติเมตร 17-20 เซนติเมตร

บิกซี สีผลเขียวปานกลาง ความยาว 17-20 เซนติเมตร

มาลัย 759 สีผลเขียวปนขาว ความยาว 11-13 เซนติเมตร

เก็บผลผลิตแตงกวาประมาณ 10 วัน คัดชั้นคุณภาพของแตงกวาตาม United States Standards for Grades of Cucumber (ภาคผนวก 1) คัดแยกผลผลิตที่เสียหาย เช่น ผลคอด บิดเบี้ยว ผลงอ และผลที่รูปทรงไม่ตรงตามมาตรฐานออกไว้ก่อน ชั่งน้ำหนักผลผลิตรวมที่ได้มาตรฐานของแต่ละหน่วยทดลอง และสุ่มตัวอย่างผลแตงตามที่ได้มาตรฐาน Fancy Grade คือมีสีตรงตามสายพันธุ์ รูปทรงผลตามมาตรฐาน ผลไม่โตเกินไป ไม่มีจุดเหลืองจากแสงแดด ไม่มีความเสียหายจากโรคและแมลง ผล

สดไม่เน่าเสีย จำนวน 10 ผล หาค่าเฉลี่ยน้ำหนัก ผล และเลือกแต่งกวามีลักษณะได้มาตรฐาน จากหน่วยทดลอง 12 หน่วย (3 กรรมวิธี 4 สายพันธุ์) หน่วยทดลองละ 10 ผล ทิ้งไว้จนแก่จัด เพื่อเก็บเมล็ด

## 2. ศึกษาสัณฐานและการบานของดอกแตงกวา

### 2.1 สัณฐานวิทยาโดยทั่วไปของแตงกวา

ศึกษาจำนวนกลีบดอก ความกว้างของดอก ความยาวของดอก ความยาวของก้านชูเกสรตัวเมีย (style) รวมกับยอดเกสรตัวเมีย (stigma) จำนวนแฉกของยอดเกสรตัวเมีย ความยาวของก้านชูเกสรตัวผู้ (filament) จำนวนของก้านชูเกสรตัวผู้ต่อดอก แล้วนำมาเปรียบเทียบกันในแต่ละสายพันธุ์ ผ่าตามขวางดอกแตงกวาตัวเมียเพื่อดูโครงสร้างภายใน ได้แก่ ค่อมน้ำหวาน ก้านชูและยอดเกสรตัวเมีย (style และ stigma) รังไข่ (ovary และ ovule) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (ภาพที่ 5)



ภาพที่ 5 อุปกรณ์สำหรับศึกษาสัณฐานวิทยาโดยทั่วไปของดอกแตงกวา

### 2.2 การบานของดอกแตงกวา

ศึกษาช่วงระยะเวลาการบานของดอกซึ่งสังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของดอกในช่วงระยะเวลาต่างๆ ตั้งแต่ดอกตูม ดอกแรกแย้ม ดอกบานเต็มที่ ดอกหุบที่บานเต็มที่แล้ว และบันทึกจำนวนดอกแตงกวาที่บานในช่วงเวลาต่างๆ

### 2.3 ความเข้มข้นของน้ำหวานของดอกแตงกวา

โดยใช้ capillary tube ดูคือน้ำหวาน (nectar) ที่โคนดอกแตงกวาตัวผู้ในช่วงเวลา 08.00 12.00 และ 16.00 น. แล้วนำมาวัดด้วย Hand refractometer ขนาด 0-32° brix เพื่อคำนวณความเข้มข้นของน้ำหวาน (ภาพที่ 6)



ภาพที่ 6 Hand refractometer ขนาด 0-32° brix สำหรับวัดความเข้มข้นของน้ำหวาน

### 2.4 ระยะเวลาการแตกออกของอับละอองเรณูและจำนวนละอองเรณูที่มีอยู่ในอับละอองเรณู

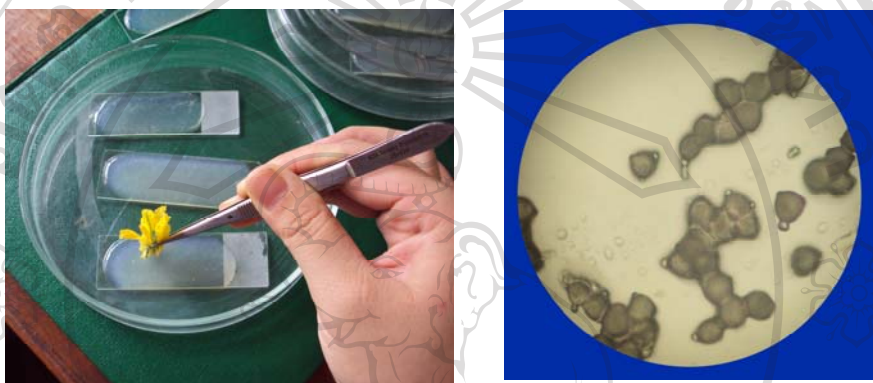
ศึกษาตัวอย่างจากดอกแตงกวาตัวผู้สายพันธุ์นาตาลีเบอร์ 4 เก็บดอกแตงกวาที่เวลา 08.00 11.00 13.00 15.00 และ 17.00 น. ช่วงเวลาละ 3 ดอก เพื่อนำมากรองเกสรด้วยชุดอุปกรณ์ดังภาพที่ 7 แล้วนำไปตรวจนับจำนวนเกสรภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (ภาพที่ 7)



ภาพที่ 7 ชุดอุปกรณ์เพื่อกรองเกสรสำหรับทำ pollen analysis

## 2.5 การงอกของเกสร (pollen germination)

ศึกษาตัวอย่างจากดอกแตงกวาตัวผู้สายพันธุ์นาตาลีเบอร์ 4 เก็บดอกแตงกวาที่เวลา 08.00 11.00 13.00 15.00 และ 17.00 น. ช่วงเวลาละ 3 ดอก นำมาเคาะเอาละอองเกสรลงบนอาหาร (media) ที่ประกอบด้วย ซูโครส 15% w/v ผงวุ้น 10% น้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร นับร้อยละของเกสรที่งอก pollen tube ในชั่วโมงที่ 2, 4 และ 6 หลังจากเพาะลงบนอาหาร (ภาพที่ 8)



ภาพที่ 8 การเพาะเกสรลงบนอาหาร และการนับจำนวนเกสรที่งอก pollen tube ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 10X

## 3. ศึกษาความหลากหลายและพฤติกรรมของแมลงผสมเกสรแตงกวา

### 3.1 ศึกษาความหลากหลายและพฤติกรรมของแมลงผสมเกสร

โดยการสำรวจประชากรแมลงและพฤติกรรมของแมลงที่พบบนดอกแตงกวาที่พบในแปลงทดลองแบบเปิดตั้งแต่เวลา 06.00-18.00 น. โดยทุกๆ ชั่วโมง จะเดินสำรวจไปข้างหน้า บันทึกชนิด จำนวน และพฤติกรรมของแมลง

### 3.2 ศึกษาจำนวนและพฤติกรรมผึ้งพันธุ์

โดยการสำรวจจำนวนและพฤติกรรมของผึ้งที่พบบนดอกแตงกวาในหน่วยทดลองที่ผสมเกสรโดยใช้ผึ้งพันธุ์ ตั้งแต่เวลา 06.00-18.00 น. โดยทุกๆ ชั่วโมง จะการเดินสำรวจไปข้างหน้า บันทึกจำนวน และพฤติกรรมของผึ้งพันธุ์

### 3.3 ศึกษาจำนวนผึ้งพันธุ์ที่บินเข้า และออกจากรัง

โดยนับจำนวนผึ้งพันธุ์ที่บินเข้าและออกรัง ทุกชั่วโมงตั้งแต่เวลา 06.00-18.00 น. ใช้เวลาในการนับ 5 นาทีต่อรัง (ภาพที่ 9)



ภาพที่ 9 การศึกษาจำนวนและพฤติกรรมผึ้งในหน่วยทดลองผสมเกสร โดยผึ้งพันธุ์ (pollination by honey bee)

### 4. ศึกษาการเพิ่มปริมาณผลผลิตแตงกวาโดยใช้ผึ้งพันธุ์ผสมเกสร

วางแผนการทดลองแบบ split-plot design โดยมี main plot ประกอบด้วย แตงกวาลูกผสม F1 จำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ นาตาลิเบอร์ 4 นาตาลิเบอร์ 5 บิ๊กซี และมาลัย 759 จัดหน่วยทดลองทั้ง 4 ในแบบ randomized completed block design (RCBD) ส่วน sub-plot ประกอบด้วย 3 กรรมวิธี ได้แก่ 1) ไม่มีแมลงผสมเกสร (control) 2) แมลงธรรมชาติผสมเกสร (open pollination) 3) ผึ้งพันธุ์ผสมเกสร (pollination by honey bee) ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ดังนั้นการทดลองนี้จึงประกอบด้วยหน่วยทดลองทั้งหมด จำนวน 48 หน่วยทดลอง (experimental units) นำข้อมูลปริมาณผลผลิต จำนวนผลและน้ำหนักผล มาวิเคราะห์ทางสถิติ (Anova) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Least significant difference (LSD)

**สถานที่ทดลอง**

แปลงทดลองสถานีวิจัยเพื่อผลผลิตทางการเกษตร (Multiple Cropping Center)

คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และห้องปฏิบัติการแมลงผสมเกสร ภาควิชากีฏวิทยา

คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

**ระยะเวลาทำการทดลอง**

การศึกษากการเพิ่มผลผลิตแตงกวาโดยใช้ผึ้งพันธุ์ผสมเกสร สิงหาคม 2550 ถึง ธันวาคม 2550



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved