

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการ

#### 3.1 วัสดุและอุปกรณ์

##### 3.1.1 วัสดุพันธุ์พืช

กอว่านจูงนางจากศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อำเภอ ดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ ที่มีหัวติดต่อกัน 4-5 หัว (ภาพที่ 1) ที่กำลังเข้าสู่ระยะพักตัว ในช่วงเดือนกันยายนและตุลาคม



ภาพที่ 1 ตัวอย่างลักษณะกอว่านจูงนางที่ใช้ในการทดลอง

##### 3.1.2 วัสดุสารเคมี

###### 3.1.2.1 สารควบคุมการเจริญเติบโต

- กรดจิบเบอเรลลิก ( $GA_3$ ) (บริษัท Fluka Analytical)
- ไซโทไคนิน (บริษัท Sigma Aldrich)

### 3.1.2.2 สารเคมี

- เอทานอล 95 % ( $C_2H_5OH$ )
- กรดน้ำส้ม (Acetic acid)
- น้ำกลั่น

### 3.1.3 วัสดุและอุปกรณ์อื่นๆ

3.1.3.1 อุปกรณ์วัดความยาว ได้แก่ ไม้บรรทัด ตลับเมตร เวอร์เนียคาร์ลิปเปอร์

3.1.3.2 อุปกรณ์ทำเครื่องหมายในการทดลองและบันทึกผล ได้แก่ สมุดบันทึก ป้ายชื่อ ดินสอ ปากกาเคมี และกล่องถ่ายรูป

3.1.3.3 อุปกรณ์ในการปลูกว่านจูงนาง ได้แก่ ตะกร้าขนาด 10 x 12 นิ้ว วัสดุปลูก ได้แก่ ทราย : แกลบดิบ : ถ่านแกลบ : เปลือกถั่ว อัตราส่วน 2 : 1 : 1 : 1

3.1.3.4 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (contherm phytotron climate simulator) รุ่น 620RHS: P6 บริษัท Contherm Scientific Ltd. (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 ตู้ควบคุมอุณหภูมิ (Contherm phytotron climate simulator) ที่ใช้ในการทดลอง

3.1.3.5 เครื่องแก้วและอุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ ได้แก่ บีกเกอร์ กระจกบดวง กรวยกรอง ขวดปรับปริมาตร ปิเปตแก้ว หลอดหยดสาร แท่งแก้วคนสาร ช้อนตักสาร ปากกีสบ มีดผ่าตัด ฯลฯ

3.1.3.6 อุปกรณ์บันทึกอุณหภูมิ Ebro รุ่น EBI 20 – T และ EBI 20 - TE (บริษัท Ebro Electronic GmbH & Co.KG)

### 3.2 วิธีการทดลอง แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

#### 3.2.1 การศึกษาผลของอุณหภูมิและความชื้นต่อการฟื้นระยะพักตัวของว่านจุงนาง

วางแผนการทดลองแบบ  $(2 \times 2 \times 2) + 3$  ปัจจัยร่วมกลุ่มสมบูรณ์ (Factorial in CRD) มี 3 ปัจจัยหลัก คือ

ปัจจัยที่ 1 อุณหภูมิ ได้แก่ อุณหภูมิกลางคืน 10 หรือ 15 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง สลับอุณหภูมิกลางวัน 25 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง และอุณหภูมิปกติช่วงเดือนตุลาคมถึงธันวาคม (อุณหภูมิสูงสุด 35.5 องศาเซลเซียส ต่ำสุด 13.2 องศาเซลเซียส)

ปัจจัยที่ 2 ความชื้น ได้แก่ การให้น้ำ หรือ การงดน้ำ

ปัจจัยที่ 3 ระยะเวลาที่ได้รับอุณหภูมิและความชื้นติดต่อกัน 2 หรือ 3 เดือน

ดังนั้นการทดลองมี 8 กรรมวิธี และกรรมวิธีควบคุม 3 แบบ รวมทั้งหมด 11 กรรมวิธี แต่ละกรรมวิธีมี 8 ซ้ำ ซ้ำละ 1 กอ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 สภาพอุณหภูมิกลางคืน 10 องศาเซลเซียส ให้น้ำ ระยะเวลา 3 เดือน

กรรมวิธีที่ 2 สภาพอุณหภูมิกลางคืน 10 องศาเซลเซียส งดน้ำ ระยะเวลา 3 เดือน

กรรมวิธีที่ 3 สภาพอุณหภูมิกลางคืน 15 องศาเซลเซียส ให้น้ำ ระยะเวลา 3 เดือน

กรรมวิธีที่ 4 สภาพอุณหภูมิกลางคืน 15 องศาเซลเซียส งดน้ำ ระยะเวลา 3 เดือน

กรรมวิธีที่ 5 สภาพอุณหภูมิกลางคืน 10 องศาเซลเซียส ให้น้ำ ระยะเวลา 2 เดือน

กรรมวิธีที่ 6 สภาพอุณหภูมิกลางคืน 10 องศาเซลเซียส งดน้ำ ระยะเวลา 2 เดือน

กรรมวิธีที่ 7 สภาพอุณหภูมิกลางคืน 15 องศาเซลเซียส ให้น้ำ ระยะเวลา 2 เดือน

กรรมวิธีที่ 8 สภาพอุณหภูมิกลางคืน 15 องศาเซลเซียส งดน้ำ ระยะเวลา 2 เดือน

กรรมวิธีที่ 9 สภาพอุณหภูมิปกติ ให้น้ำ ระยะเวลา 3 เดือน (กรรมวิธีควบคุมที่ 1)

กรรมวิธีที่ 10 สภาพอุณหภูมิปกติ งดน้ำ ระยะเวลา 3 เดือน (กรรมวิธีควบคุมที่ 2)

กรรมวิธีที่ 11 สภาพอุณหภูมิปกติ ให้น้ำตามธรรมชาติ (กรรมวิธีควบคุมที่ 3)

ปลูกกอว่านจุงนางในวันที่ 4 ตุลาคม พ.ศ. 2552 สำหรับกรรมวิธีที่ให้ปัจจัยระยะเวลา 3 เดือน และ วันที่ 7 พฤศจิกายน พ.ศ. 2552 สำหรับกรรมวิธีที่ให้ปัจจัยระยะเวลา 2 เดือน ในทราย และเก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิร่วมกับการให้น้ำหรืองดน้ำ ตามกรรมวิธีที่กำหนดไว้ (ภาพที่ 3)

เมื่อครบกำหนดเวลานำว่านจุนางในทุกกรรมวิธี (ยกเว้นกรรมวิธีควบคุมที่ 3) เข้าบ่มกระด้ง การเจริญเติบโต โดยปรับอุณหภูมิของผู้ควบคุมอุณหภูมิให้ใกล้เคียงกับช่วงปลายเดือนมีนาคม ซึ่งเป็นฤดูร้อน (อุณหภูมิกลางวัน/กลางคืน 35/30 องศาเซลเซียส) ร่วมกับการให้น้ำสม่ำเสมอ บันทึกการฟื้นระยะพักตัวทุกวัน โดยนับว่าว่านจุนางฟื้นระยะพักตัวเมื่อมีการแทงหน่อพื้นวัสดุปลูกจนกระทั่งว่านจุนางแทงหน่อจนครบ 5 กอ จากทั้งหมด 8 กอของแต่ละกรรมวิธีทดลอง แล้วย้ายออกปลูกในโรงเรือนโดยปลูกในตะกร้าขนาด 6 x 10 นิ้ว ใช้วัสดุปลูกที่ประกอบด้วยทราย : แกลบดิบ : ถ่านแกลบ : เปลือกถั่ว อัตราส่วน 2 : 1 : 1 : 1 รดน้ำทุกวันและให้ปุ๋ยสูตร 15 - 15 - 15 อัตรา 2 กรัมต่อต้น ทุก 1 เดือน

บันทึกผลการทดลอง ดังนี้

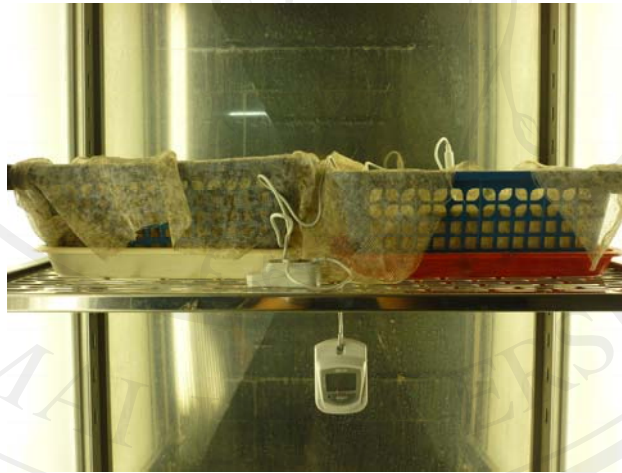
1. จำนวนวันที่ใช้ในการแทงหน่อ (เริ่มนับจากวันที่บ่มกระด้งการเจริญเติบโต เมื่อวันที่ 6 มกราคม 2553) บันทึกผลทุกวันในช่วง 3 สัปดาห์แรก
2. ตำแหน่งปล้องที่เกิดหน่อ (นับจากปล้องล่างสุดขึ้นมาปล้องบนสุด)
3. การเจริญเติบโตของว่านจุนาง ได้แก่ ความสูงของต้น (วัดจากโคนต้นถึงปลายยอดบริเวณโคนใบกลุ่มบนสุด) เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้นระดับผิวดิน ความกว้างทรงพุ่มหรือทรงต้น จำนวนใบต่อต้น ความกว้างของใบวัดจากส่วนที่กว้างที่สุดของใบที่ใหญ่ที่สุด ความยาวของใบวัดจากโคนใบถึงจุดสูงสุดเมื่อรวบใบทั้งหมดขึ้น บันทึกผลทุก 3 วัน เมื่ออยู่ในผู้ควบคุมอุณหภูมิ และทุก 6 วัน เมื่อย้ายออกปลูกในธรรมชาติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ด้วยโปรแกรม SPSS

4. คำนวณความร้อนสะสม หรือ Heat cumulation ที่ว่านจุนางใช้เพื่อฟื้นระยะพักตัว โดยนำข้อมูลจากการบันทึกวันที่ว่านจุนางแทงหน่อพื้นวัสดุปลูก จากวันที่บ่มกระด้ง หัว่านจุนางแต่ละกรรมวิธี (ภาพที่ 3) ซึ่งใช้ข้อมูลอุณหภูมิจากอุปกรณ์บันทึกอุณหภูมิ (data logger) ภายในผู้ควบคุมอุณหภูมิ (ภาพที่ 4) โดยนำเฉพาะข้อมูลของกรรมวิธีที่มีการควบคุมอุณหภูมิ ได้แก่ กรรมวิธีที่ได้รับปัจจัยต่างๆ เป็นเวลา 3 เดือน (กรรมวิธีที่ 1 ถึง 4 ในหน้า 15) ตั้งแต่หัว่านจุนางเริ่มเข้าสู่ระยะพักตัว (4 ตุลาคม พ.ศ. 2552) จนถึงวันที่ว่านจุนางแทงหน่อพื้นวัสดุปลูกมาใช้ การสะสมความร้อนประกอบด้วย 2 ช่วง คือ ช่วงแรกที่ว่านจุนางได้รับอุณหภูมิกลางวันต่างกันตามกรรมวิธีทดลอง เป็นเวลา 3 เดือน (94 วัน) และช่วงหลังที่บ่มกระด้งการเจริญเติบโตที่อุณหภูมิกลางวัน 35 องศาเซลเซียส สลับอุณหภูมิกลางวัน 30 องศาเซลเซียส อย่างละ 12 ชั่วโมง (ภาพที่ 5) มากำหนดเป็นค่า unit ที่ช่วงอุณหภูมิต่างๆ เพื่อใช้ในการคำนวณความร้อนสะสมที่ว่านจุนางใช้เพื่อฟื้นระยะพักตัว

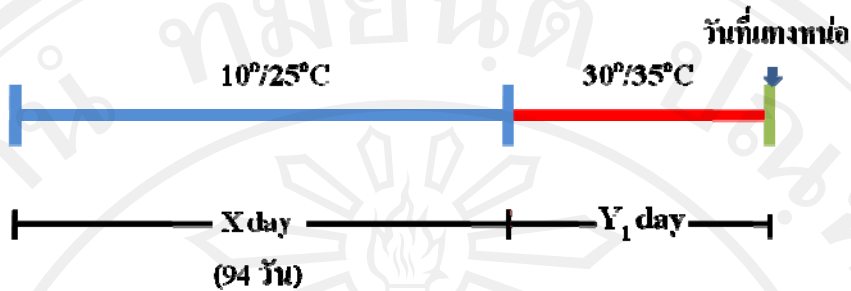


ภาพที่ 3 วานงูนางที่บ่มกระตุ้นการเจริญเติบโตภายในตู้ Contherm phytotron climate simulator

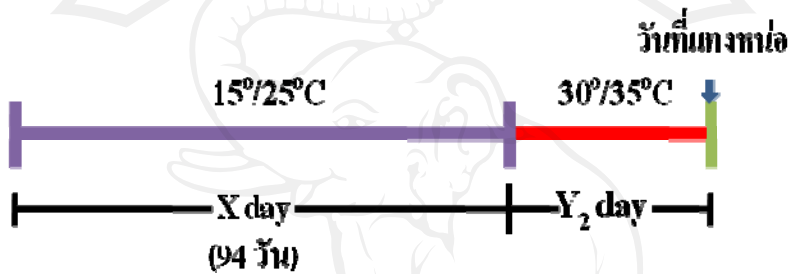


ภาพที่ 4 อุปกรณ์บันทึกอุณหภูมิ (data logger) ภายในตู้ที่บ่มกระตุ้นการเจริญเติบโต

(ก) กรรมวิธีที่ได้รับอุณหภูมิกลางคืน  $10^{\circ}\text{C}$  สลับอุณหภูมิกลางวัน  $25^{\circ}\text{C}$  อย่างละ 12 ชั่วโมง



(ข) กรรมวิธีที่ได้รับอุณหภูมิกลางคืน  $15^{\circ}\text{C}$  สลับอุณหภูมิกลางวัน  $25^{\circ}\text{C}$  อย่างละ 12 ชั่วโมง



**ภาพที่ 5** แผนผังอุณหภูมิและจำนวนวันที่ห้วานจูงนางได้รับตั้งแต่เริ่มการทดลอง เมื่อวันที่ 4 ตุลาคม พ.ศ. 2552 จนแทงท่อพันวัสดุปลูก (แถบสีเขียวอ่อน) ประกอบด้วยอุณหภูมิกลางคืน  $10$  (แถบสีฟ้า) หรือ  $15$  (แถบสีม่วง) องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง สลับกับอุณหภูมิกลางวัน  $25$  องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง และอุณหภูมิช่วงบ่มกระตุ้นการเจริญเติบโตด้วยอุณหภูมิกลางคืน  $30$  องศาเซลเซียส สลับอุณหภูมิกลางวัน  $35$  องศาเซลเซียส อย่างละ 12 ชั่วโมง (แถบสีแดง)

นำข้อมูลจำนวนวันที่ใช้ในการแทงท่อนับจากวันเริ่มบ่มกระตุ้นการเจริญเติบโตของกรรมวิธีที่ได้รับปัจจัยอุณหภูมิกลางคืน  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $15^{\circ}\text{C}$  ทั้งที่ให้น้ำและงดน้ำ จากการทดลองที่ 1 มาใช้ในการคำนวณความร้อนสะสม ซึ่งโดยปกติความร้อนสะสมคำนวณได้จากผลรวมของค่าความร้อนสะสมที่แต่ละช่วงอุณหภูมิ (ขึ้นอยู่กับข้อกำหนด) คูณด้วยระยะเวลาที่ได้รับช่วงอุณหภูมินั้นๆ หรือมีสมการเป็น

$$HU = \sum (U_{Temp} \times \text{day})$$

- เมื่อ HU = Heat unit หรือความร้อนสะสม  
 $U_{Temp}$  = unit หรือหน่วยความร้อนที่สะสม ณ ช่วงอุณหภูมิต่างๆ  
 Day = จำนวนวันที่พืชได้รับช่วงอุณหภูมินั้นๆ

ความร้อนสะสมของกรรมวิธีที่เคยได้รับอุณหภูมิกกลางคืน  $10^{\circ}\text{C}$  จะเท่ากับความร้อนสะสมที่หัวว่านจูงนางได้รับเมื่ออยู่ที่อุณหภูมิกกลางคืน/กลางวัน  $10/25^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา X วัน บวกกับความร้อนสะสมที่หัวว่านจูงนางได้รับเมื่อบ่มกระตุนการเจริญเติบโตที่อุณหภูมิกกลางคืน/กลางวัน  $30/35^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา  $Y_1$  วัน (ภาพที่ 5 (ก)) ดังสมการที่ 1 และความร้อนสะสมของกรรมวิธีที่เคยได้รับอุณหภูมิกกลางคืน  $15^{\circ}\text{C}$  เท่ากับความร้อนสะสมที่หัวว่านจูงนางได้รับเมื่ออยู่ที่อุณหภูมิกกลางคืน/กลางวัน  $15/25^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา X วัน บวกกับความร้อนสะสมที่หัวว่านจูงนางได้รับเมื่อบ่มกระตุนการเจริญเติบโตที่อุณหภูมิกกลางคืน/กลางวัน  $30/35^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา  $Y_2$  วัน (ภาพที่ 5 (ข)) ดังสมการที่ 2

$$HU (\text{ก}) = (U_{10/25^{\circ}\text{C}} \times X) + (U_{30/35^{\circ}\text{C}} \times Y_1) \dots\dots\dots(\text{สมการที่ 1})$$

$$HU (\text{ข}) = (U_{15/25^{\circ}\text{C}} \times X) + (U_{30/35^{\circ}\text{C}} \times Y_2) \dots\dots\dots(\text{สมการที่ 2})$$

เนื่องจากความร้อนสะสมที่หัวว่านจูงนางต้องใช้ในการฟื้นระยะพักตัวในทั้งสองกรณีนี้ควรมีค่าเท่ากันหรือใกล้เคียงกัน จึงสามารถเรียบเรียงสมการได้ใหม่เป็น

$$HU (\text{ก}) = HU (\text{ข})$$

$$U_{10/25^{\circ}\text{C}}(X) + U_{30/35^{\circ}\text{C}}(Y_1) = U_{15/25^{\circ}\text{C}}(X) + U_{30/35^{\circ}\text{C}}(Y_2)$$

$$U_{30/35^{\circ}\text{C}}(Y_1) - U_{30/35^{\circ}\text{C}}(Y_2) = U_{15/25^{\circ}\text{C}}(X) - U_{10/25^{\circ}\text{C}}(X)$$

$$HU_{30/35^{\circ}\text{C}}(Y_1 - Y_2) = (HU_{15/25^{\circ}\text{C}} - HU_{10/25^{\circ}\text{C}})(X)$$

จะเห็นได้ว่าส่วนต่างของ U ระหว่างกรรมวิธีที่ได้รับอุณหภูมิกกลางคืน  $10^{\circ}\text{C}$  และ  $15^{\circ}\text{C}$  องศาเซลเซียส เท่ากับส่วนต่างของ U ในช่วงที่กระตุนการเจริญเติบโตจนทำให้หัวว่านจูงนางแทงหน่อพันธุ์วัสดุปลูก เมื่อแทนค่าด้วยจำนวนวันจากข้อมูล X,  $Y_1$  และ  $Y_2$  ที่มีอยู่จะทำให้กำหนด Heat Unit ที่อุณหภูมิก  $30^{\circ}\text{C}$  และ  $35^{\circ}\text{C}$  ตามสัดส่วนเมื่อเทียบกับ Heat Unit ที่อุณหภูมิก  $10^{\circ}\text{C}$ ,  $15^{\circ}\text{C}$ , และ  $25^{\circ}\text{C}$  จากนั้นกำหนดค่า Unit หรือหน่วยความร้อน ที่สะสมต่อวันในแต่ละช่วงอุณหภูมิกเพื่อใช้คำนวณความร้อนสะสม

### 3.2.3 ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโตบางชนิดต่อการฟื้นระยะพักตัวของว่านงูนาง

วางแผนการทดลองแบบ Factorial  $3 \times 2$  in RCBD มี 2 ปัจจัยหลัก คือ

ปัจจัยที่ 1 ชนิดของสารควบคุมการเจริญเติบโต ได้แก่ BA 100 ส่วนต่อล้าน  $GA_3$  50 ส่วนต่อล้าน หรือ น้ำกลั่น (กรรมวิธีควบคุม)

ปัจจัยที่ 2 อายุของหัว 2 กลุ่ม ได้แก่ หัวใหม่ (หัวที่มีอายุ 1 ปี ติดกับหัวที่มีอายุ 2 ปี) หรือ หัวเก่า (หัวที่มีอายุ 3 ปี ติดกับหัวที่มีอายุ 4 ปี)

ดังนั้นการทดลองนี้มี 6 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 5 ซ้ำ ซ้ำ ละ 1 กอ ได้แก่

กรรมวิธีที่ 1 แซ่หัวใหม่ ด้วยน้ำกลั่น

กรรมวิธีที่ 2 แซ่หัวใหม่ ด้วย BA 100 ส่วนต่อล้าน

กรรมวิธีที่ 3 แซ่หัวใหม่ ด้วย  $GA_3$  50 ส่วนต่อล้าน

กรรมวิธีที่ 4 แซ่หัวเก่า ด้วยน้ำกลั่น

กรรมวิธีที่ 5 แซ่หัวเก่า ด้วย BA 100 ส่วนต่อล้าน

กรรมวิธีที่ 6 แซ่หัวเก่า ด้วย  $GA_3$  50 ส่วนต่อล้าน

นำว่านงูนางที่มีหัวต่อกัน 4 หัว มาแบ่งเป็นหัวใหม่และหัวเก่า จากนั้นแซ่หัวว่านงูนางในสารควบคุมการเจริญเติบโตตามกรรมวิธีทดลองต่างๆ เป็นเวลา 1 นาที แล้วแซ่หัวในถาดที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตต่างๆ ระดับราก (ภาพที่ 6) อีกเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำหัวว่านงูนางมาบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่มีอุณหภูมิกลางวัน 35 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง และอุณหภูมิกกลางคืน 30 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมงต่อวัน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ โดยใช้วัสดุคือ ถ่านแกลบขึ้น

บันทึกผลการทดลอง ดังนี้

1. จำนวนวันที่ใช้ในการแทงหน่อ (เริ่มนับจากวันที่บ่มกระตุ้นการเจริญเติบโต เมื่อวันที่ 2 มีนาคม 2553)

2. จำนวนตาที่แตกทั้งหมด เมื่อ 4 สัปดาห์ หลังเริ่มการทดลอง

3. จำนวนหน่อที่เจริญพ้นวัสดุปลูก เมื่อ 4 สัปดาห์ หลังเริ่มการทดลอง

4. ความสูงของหน่อ เมื่อ 2 และ 4 สัปดาห์หลังเริ่มการทดลอง

5. เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น เมื่อ 2 และ 4 สัปดาห์หลังเริ่มการทดลอง

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ด้วยโปรแกรม SPSS





ภาพที่ 6 หัวว่านจูงนางที่แช่ในสารควบคุมการเจริญเติบโตตามกรรมวิธีทดลอง

#### สถานที่ที่ใช้ในการดำเนินการวิจัย

1. พื้นที่รวบรวมพันธุ์กล้วยไม้ป่าฝ่ายเกษตรกรรมแบบประณีต ศูนย์ศึกษาการพัฒนาห้วยฮ่องไคร้อันเนื่องมาจากพระราชดำริ อำเภอคอยสะแกด จังหวัดเชียงใหม่
2. ห้องปฏิบัติการสาขาพืชสวน ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
4. ศูนย์วิจัยสาธิตและฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

#### ระยะเวลาดำเนินการ

ตั้งแต่เดือนตุลาคม 2552 ถึงเดือนมิถุนายน 2553