

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ

1.1 เมล็ดพันธุ์หอมหัวใหญ่ 3 พันธุ์ คือ H489, RAM735, และ ESEX5014 (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 รายละเอียดของพันธุ์หอมหัวใหญ่ที่ใช้ในการทดลอง

	พันธุ์		
	H489	RAM735	ESEX5014
Lot.	3139481-41	3135891-40	EAGLE SEEDS
อายุเมล็ดพันธุ์(ปี)	1	1	1
ความชื้น(%)	8.64	8.51	8.50
น้ำหนักตัวอย่าง(กรัม)	200	200	50
น้ำหนัก 100 เมล็ด(กรัม)	0.417	0.502	0.756
ชนิดเมล็ดพันธุ์	พันธุ์ลูกผสม	พันธุ์ลูกผสม	พันธุ์ลูกผสม
แหล่งที่มา	ISRAEL	ISRAEL	USA

1.2 สารเคมี ได้แก่

- polyethylene glycol 6000
- gibberellic acid (GA_3 , $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{O}_6$, Mr 346.38)
- potassium nitrate (KNO_3)
- potassium phosphate (K_3PO_4)
- benomyl (Benlate OD)
- alcohol 90 %

1.3 น้ำกลั่น

1.4 petri dishes

1.5 กระดาษเพาะเมล็ด

1.6 ทราย

1.7 กล่องพลาสติก

1.8 ถุงกระดาษอบตัวอย่าง

1.9 เครื่องแก้วเตรียมสาร

- 1.10 เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 3 ตำแหน่ง
- 1.11 ที่ดูดความชื้น(desicator)
- 1.12 ตู้เพาะเมล็ด(cabinet germination)
- 1.13 ตู้อบตัวอย่างต้นกล้า
- 1.14 สติกเกอร์เลเบล(label)

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในแปลงทดลอง

- 2.1 แปลงเพาะเมล็ดขนาด 1x10 ตร.ม. จำนวน 2 แปลง
- 2.2 ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 , 46-0-0 (ยูเรีย),และ 13-13-21
- 2.3 ปุ๋ยคอก
- 2.4 แกลบดำ
- 2.5 คาร์โบฟูราน(ฟูราดาน 3%G)
- 2.6 ถุงพลาสติกเก็บตัวอย่าง
- 2.7 ป้าย(tag)
- 2.8 เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 2 ตำแหน่ง
- 2.9 Methyl bromide
- 2.10 saran พรางแสง 50%

วิธีการ

แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

การทดลองที่ 1 ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ

การทดลองที่ 2 ทำการทดลองในสภาพไร่

การทดลองส่วนที่ 1 ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการเพื่อทดสอบอิทธิพลของการกระตุ้นการงอกของเมล็ดด้วยกรรมวิธีทดลองต่าง ๆ

แผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ Split-split plot in randomized complet block design, 3x3x6 treatment มี 4 ซ้ำ โดยมีรายละเอียดดังนี้

Main plot treatment(Factor A) : variety

- 1. H489
- 2. RAM735
- 3. ESEX5014

Subplot treatment(Factor B) : substrate

- 1. Top paper
- 2. Between paper

3. Sand

Sub-subplot treatment(Factor C) : seed treatment

1. control
2. Prechill
3. Wet and Dry
4. GA₃ 500 ppm.
5. 0.2%KNO₃
6. 0.2M KNO₃+0.1M K₃PO₄ (-1.6MPa)

วิธีการทดลอง

Treatment ที่ 1 Control

1. นำเมล็ดแต่ละพันธุ์คลุกด้วย benomyl อัตรา 3.3 กรัม/เมล็ด 1 กิโลกรัม แล้วนำเมล็ดไปเพาะบนวัสดุเพาะ 3 ชนิดคือ กระดาษเพาะแบบ Top paper , Between paper และทราย(sand) ตามกฎ ISTA ดังนี้

1.1 Top paper เตรียมโดยวางกระดาษเพาะซ้อนกัน 3 ชั้น ใน petri dish ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร เพื่อให้กระดาษชื้น จากนั้นนำเมล็ดมาเพาะใน petri dish จำนวน 50 เมล็ดต่อซ้ำ ทำ 4 ซ้ำ

1.2 Between paper เตรียมโดยพับกระดาษเพาะ 2 ชั้นขนาด 15x30 ตารางเซนติเมตร ให้เป็นจีบ(pleat) จากนั้นทำให้ชื้นด้วยการเติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร นำเมล็ดมาเพาะระหว่างชั้นของ pleated ชั้นละ 10 เมล็ด จำนวน 5 ชั้นต่อซ้ำ ทำ 4 ซ้ำ แล้วนำไปใส่ในกล่องพลาสติกกล่องละ 4 ซ้ำ

1.3 Sand(ทราย) เตรียมโดยใช้ทรายละเอียดที่อบแล้ว(150°C, 3 ชั่วโมง) ซึ่งทราย 50 กรัมต่อน้ำ 7.5 มิลลิลิตร/petri dish/ซ้ำ ทำ 4 ซ้ำ

2. นำเมล็ดที่เพาะแล้วตามกรรมวิธีข้อ 1 ทั้งหมดไปใส่ในตู้เพาะเมล็ด อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส โดยไม่ใช้แสง

3. ตรวจสอบการงอกของเมล็ดหลังเพาะทุกวัน โดยตรวจนับความงอกครั้งแรก (first count) เมื่อ 6 วันหลังเพาะ และนับครั้งสุดท้าย(final count) เมื่อ 12 วันหลังเพาะ (ISTA, 1985)

Treatment ที่ 2 Prechill

1. นำเมล็ดแต่ละพันธุ์คลุกด้วย benomyl อัตรา 3.3 กรัม/เมล็ด 1 กิโลกรัม แล้วนำเมล็ดไปแช่ใน petri dish ขนาด 9 เซนติเมตร โดยรอง petri dish ด้วยกระดาษกรอง 4 ชั้น เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร เพื่อให้ชื้น แล้วปิดทับด้วยกระดาษเพาะเมล็ดที่ชื้น 3 ชั้น

เก็บที่อุณหภูมิ 4 - 5 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง เอาเมล็ดออกจาก petri dish ชั้เมล็ดให้แห้งด้วยกระดาษซับ

2. หลังจากเตรียมเมล็ดเสร็จเรียบร้อยแล้ว ทำการแบ่งเมล็ดเพื่อนำไปทดสอบความงอกแบบ Top paper, Between paper, และ Sand โดยเฉพาะในตู้เพาะเมล็ดอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ตรวจสอบและบันทึกข้อมูลเช่นเดียวกับการทดลอง treatment ที่ 1

Treatment ที่ 3 Wet and Dry

1. นำเมล็ดแต่ละพันธุ์คลุกด้วย benomyl อัตรา 3.3 กรัม/เมล็ด 1 กิโลกรัม แล้วนำเมล็ดมาแช่ในน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ใน petri dish ที่รองด้วยกระดาษเพาะเมล็ด 4 ชั้น ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 7 ชั่วโมง จากนั้นชั้เมล็ดให้แห้งด้วยกระดาษซับ แล้วเป่าด้วยพัดลม 1 ชั่วโมงและนำเมล็ดไปดูดความชื้นใน desiccator 2 ชั่วโมง

2. ทำการทดสอบความงอกของเมล็ดเช่นเดียวกับการทดลองใน treatment ที่ 2

Treatment ที่ 4 GA_3 500 ppm.

1. นำเมล็ดแต่ละพันธุ์คลุกด้วย benomyl อัตรา 3.3 กรัม/เมล็ด 1 กิโลกรัม แล้วนำเมล็ดไปแช่ในสารละลาย GA_3 500 ppm. จำนวน 10 มิลลิลิตร ซึ่งเตรียมโดยสารละลาย GA_3 500 มิลลิกรัม/น้ำ 1000 มิลลิลิตร แช่เมล็ดที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง จากนั้นล้างเมล็ดด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง ชั้เมล็ดให้แห้งด้วยกระดาษซับ แล้วเป่าด้วยพัดลม 1 ชั่วโมงและนำไปดูดความชื้นใน desiccator 2 ชั่วโมง

2. ทำการทดสอบความงอกของเมล็ดเช่นเดียวกับการทดลอง treatment ที่ 2

Treatment ที่ 5 0.2% KNO_3

1. นำเมล็ดแต่ละพันธุ์คลุกด้วย benomyl อัตรา 3.3 กรัม/เมล็ด 1 กิโลกรัม แล้วนำเมล็ดมาแช่ในสารละลาย 0.2% KNO_3 จำนวน 10 มิลลิกรัม ซึ่งเตรียมโดยละลาย KNO_3 2 กรัมในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง จากนั้นล้างเมล็ดด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง แล้วชั้ให้แห้งด้วยกระดาษซับ เป่าด้วยพัดลม 1 ชั่วโมง นำเมล็ดไปดูดความชื้นใน desiccator 2 ชั่วโมง

2. ทำการทดสอบความงอกของเมล็ดเช่นเดียวกับการทดลอง treatment ที่ 2

Treatment ที่ 6 0.2M KNO_3 + 0.1M K_3PO_4 (-1.6MPa)

1. นำเมล็ดแต่ละพันธุ์คลุกด้วย benomyl อัตรา 3.3 กรัม/เมล็ด 1 กิโลกรัม แล้วนำเมล็ดมาแช่ในสารละลาย 0.2M KNO_3 + 0.1M K_3PO_4 (-1.6MPa) จำนวน 10 มิลลิลิตร ซึ่งเตรียมสารละลายโดยละลาย KNO_3 20.2 กรัม/น้ำ 1 ลิตร + K_3PO_4 21.2 กรัม/น้ำ 1 ลิตร แช่เมล็ดที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง จากนั้นล้างเมล็ดด้วย

น้ำกลั่น 3 ครั้ง แล้วซับให้แห้งด้วยกระดาษซับ เป่าด้วยพัดลม 1 ชั่วโมง นำเมล็ดไปดูดความชื้นใน desiccator 2 ชั่วโมง

2. ทำการทดสอบความงอกของเมล็ดเช่นเดียวกับการทดลอง treatment ที่ 2

การเก็บบันทึกข้อมูล

ทำการบันทึกและเก็บรวบรวมข้อมูลดังต่อไปนี้

1. เปอร์เซ็นต์ความงอก ซึ่งหาได้จากสูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความงอก} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดที่งอก}}{\text{จำนวนเมล็ดที่ปลูก}} \times 100$$

2. ความยาวราก(radicle)

3. ความยาว cotyledon

4. น้ำหนักแห้งต้นกล้า [อบที่อุณหภูมิ 80°C , ระยะเวลา 24 ชั่วโมง

(AOSA,1983)]

5. ต้นกล้าผิดปกติ(abnormal seedling)

6. เมล็ดตาย(dead seed)

การทดลองส่วนที่ 2 ทำการทดลองในสภาพไร่เพื่อทดสอบอิทธิพลของการกระตุ้นการงอกของเมล็ดด้วยกรรมวิธีต่าง ๆ

แผนการทดลอง วางแผนการทดลองแบบ Split-plot in randomized complete block design, 3x6 treatment มี 4 ซ้ำ โดยมี treatment ดังนี้

Main-plot treatment(Factor A):variety

V1 = H489

V2 = RAM735

V3 = ESEX5014

Subplot treatment(Factor B): seed treatment

Treatment 1. control

Treatment 2. Prechill

Treatment 3. Wet and Dry

Treatment 4. GA_3 500 ppm.

Treatment 5. 0.2% KNO_3

Treatment 6. 0.2M KNO_3 +0.1M K_3PO_4 (-1.6MPa)

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมแปลงเพาะกล้า

ทำการทดลองที่หมวดพืชผัก คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ตั้งอยู่บริเวณเส้นรุ้งที่ 16 องศา 26 ลิปดาเหนือ และเส้นแวงที่ 102 องศา 50 ลิปดาตะวันออก พื้นที่ทดสอบสูงจากน้ำทะเลประมาณ 190 เมตร(นิมิตร,2521) บริเวณทดลองเป็นดินชุดยโสธร (Yasothorn series) ซึ่งมีเนื้อดิน(texture)แบบร่วนปนทราย จัดว่าเป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ต่ำ มีความสามารถอุ้มน้ำได้น้อย

เตรียมแปลงโดยขุดดินและกำจัดวัชพืช จากนั้นนอบดินทั้งแปลงด้วย methyl bromide เพื่อฆ่าเชื้อสาเหตุโรคพืช ทั้งไว้ 1 สัปดาห์ จากนั้นใส่ปุ๋ยรองพื้นและวัสดุการเกษตรดังนี้

ปุ๋ยคอก อัตรา	80 กิโลกรัม/ไร่
ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา	30 กิโลกรัม/ไร่
แกลบดำ	1 กระสอบ/แปลง
คาร์โบฟูราน(ฟูราดาน 3%G)	

ผสมดินกับปุ๋ยและวัสดุการเกษตรดังกล่าว คลุกเคล้าให้เข้ากันทั้งแปลง จากนั้นย่อยดินให้ละเอียดรดน้ำให้ชุ่ม แล้วทำการกาแหวตามขวางของแปลง ให้เป็นร่องลึกประมาณ

1 เซนติเมตร แต่ละแหวห่างกันประมาณ 10 เซนติเมตร

2. การเตรียมเมล็ด

การเตรียมเมล็ดทำเช่นเดียวกันกับการทดลองในห้องปฏิบัติการ

3. การเพาะเมล็ด

นำเมล็ดไปเพาะตามแผนการทดลอง ในแปลงเพาะกล้าที่เตรียมไว้ โดยหยอดเมล็ดตามร่องแหว ระยะห่างระหว่างเมล็ดประมาณ 1 เซนติเมตร อัตราการหยอดเมล็ด 100 เมล็ดต่อแหว ทำซ้ำละ 3 แหว จำนวน 4 ซ้ำ หลังจากเพาะเมล็ดเสร็จแล้ว ใช้แกลบดำโรยตามร่องหนาประมาณ 0.5 เซนติเมตรเหนือระดับผิวดินเพื่อกลบแหว ติดป้าย(tag)บอกรายละเอียด เช่น พันธุ์, treatment, วันเพาะ เป็นต้น

4. การปฏิบัติดูแลรักษาแปลงเพาะ

4.1 หลังจากเพาะเมล็ดครบทุก treatment แล้วทำหลังคาปิดแปลงเพาะเพื่อรักษาความชุ่มชื้นให้กับดินและป้องกันแสงแดด โดยใช้โครงไม้ไผ่ดัดทำเป็นหลังคา คลุมทับด้วย saran พรางแสง 50%

4.2 การให้น้ำ จะให้น้ำ 2 ครั้งต่อวัน

4.3 การใส่ปุ๋ย ใส่ปุ๋ยยูเรียอัตรา 40 กรัม/น้ำ 20 ลิตรต่อแปลง โดยใส่เมื่อต้นกล้า อายุ 30 วัน และใส่ปุ๋ยสูตร 13-13-21 อัตรา 30 กิโลกรัม/ไร่ เมื่อต้นกล้าอายุ 45 วัน

4.4 การกำจัดวัชพืช เมื่อพบว่ามีวัชพืชในแปลงทำการถอนทิ้งทันที

5. การเก็บบันทึกข้อมูล

5.1 เปอร์เซ็นต์การงอก

5.2 การเจริญเติบโตของต้นกล้า ดังนี้

- ความสูงของต้น
- จำนวนใบ
- น้ำหนักแห้ง(อบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส,นาน 72 ชั่วโมง)

โดยเก็บบันทึกข้อมูลดังกล่าว ที่ช่วงเวลา 15 , 30 และ 45

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม MSTAT-C ตามแผนการทดลอง Split-split plot in RCBD และ Split-plot in RCBD เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยระหว่าง treatment โดยใช้วิธี Least Significant Difference Test

สถานที่ทำการวิจัย

- 1.ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
- 2.ห้องปฏิบัติการสรีรวิทยา ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
- 3.ห้องปฏิบัติการสรีรวิทยา ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
- 4.แปลงทดลองหมวดพืชผัก คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น