# บทที่ 3
# วิธีดำเนินการทดลอง

## อุปกรณ์

1. ต้นกฤษณาที่ปราศจากโรคในขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

2. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

2.1 อุปกรณ์ประเภทเครื่องมือได้แก่ เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง หม้อนึ่งอัดไอ เครื่องชั่งน้ำหนักอย่างหยาบ เครื่องชั่งอย่างละเอียด ตู้อบฆ่าเชื้อ ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ

2.2 อุปกรณ์ประเภทเครื่องแก้ว ได้แก่ กระบอกตวง จานเลี้ยงเชื้อ บีกเกอร์ ขวดสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ แท่งแก้วคนสาร ปิเปต ขวดสีชา

2.3 อุปกรณ์ประเภทสารเคมี ได้แก่ สารควบคุมการเจริญเติบโต TDZ BA สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตร MS (1962) แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ และ 95 เปอร์เซ็นต์ แอลกอฮอล์ที่ใส่ตะเกียง

2.4 อุปกรณ์อื่น ๆ ได้แก่ ตะเกียงแอลกอฮอล์ มีดผ่าตัด ปากคีบ ถุงพลาสติกทนร้อน กระดาษเลเบล

3. ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีอุณหภูมิ 25 – 26 องศาเซลเซียส พร้อมชั้นวางขวดที่มีหลอดฟลูออเรสเซนต์ที่มีความเข้มแสง 1,500 – 2,000 ลักซ์

## การวางแผนการทดลอง

1. การวางแผนการทดลอง ใช้แผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) มี 7 สิ่งทดลอง 4 ซ้ำ ซ้ำละ 4 ขวด รวม 112 ขวด โดยกำหนดสิ่งทดลองดังนี้

สิ่งทดลองที่ 1 ไม่ใส่สารควบคุมการเจริญเติบโต (Control)

สิ่งทดลองที่ 2 ใช้ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สิ่งทดลองที่ 3 ใช้ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สิ่งทดลองที่ 4 ใช้ BA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

สิ่งทดลองที่ 5 ใช้ TDZ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

สิ่งทดลองที่ 6 ใช้ TDZ ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

สิ่งทดลองที่ 7 ใช้ TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. วิธีการดำเนินการทดลอง

2.1 เตรียมอาหารสูตร MS โดยใช้สารควบคุมการเจริญเติบโตมีความเข้มข้นที่กำหนดใส่ในขวด ขวดละ 20 มิลลิลิตร พร้อมนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

2.2 ตัดแต่งตายอดตาข้างของกฤษณาที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่ปราศจากโรคให้มีขนาด 0.5 เซนติเมตร วางเลี้ยงในสูตรอาหารต่าง ๆขวดละ 1 ชิ้น นำเข้าห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่มีอุณหภูมิ 25-26 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,500 – 2,000 ลักซ์ นาน 12 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 115 วัน

3. บันทึกผลการทดลองเมื่อครบ 30 ,60 และ 115 วัน โดยบันทึกข้อมูลดังนี้

3.1 ความสูงของต้น โดยการวัดจากโคนต้นถึงปลายยอดทุกต้น

3.2 จำนวนใบ โดยการนับทุกใบทุกต้น ในแต่ละหน่วยการทดลองแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

3.3 จำนวนยอด โดยการนับทุกยอดทุกต้นในแต่ละหน่วยการทดลองแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

นำผลที่ได้จากการศึกษามาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance)และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละสิ่งทดลองโดยใช้วิธี Duncan's new Multiple Range Test (DMRT)

**สถานที่และระยะเวลาในการทดลอง**

**สถานที่ทำการทดลอง**

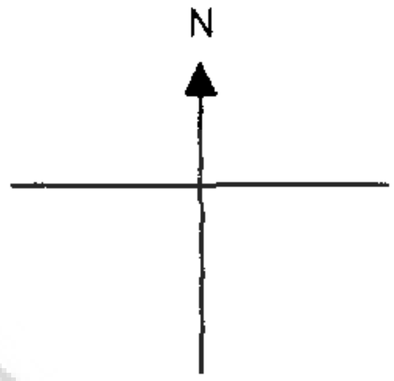
อาคารปฏิบัติการเทคโนโลยีการเกษตร โปรแกรมวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันราชภัฏสงขลา

**ระยะเวลาทำการทดลอง**

เริ่มทำการทดลอง มีนาคม 2545

สิ้นสุดการทดลอง พฤศจิกายน 2546

## ผังการทดลอง




| | | | |
|---|---|---|---|
| T3R1 | T5R1 | T4R4 | T1R1 |
| T2R1 | T3R2 | T7R2 | T7R4 |
| T7R3 | T1R1 | T4R3 | T5R2 |
| T3R3 | T7R1 | T2R2 | T6R4 |
| T6R1 | T1R3 | T4R2 | T5R3 |
| T3R4 | T4R1 | T2R3 | T6R3 |
| T5R4 | T1R4 | T6R2 | T2R4 |

T1 = ไม่ใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต(Control)

T2 = ใช้ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

T3 = ใช้ BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

T4 = ใช้ BA ความเข้มข้น 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

T5 = ใช้ TDZ ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

T6 = ใช้ TDZ ความเข้มข้น 0.3 มิลลิกรัมต่อลิตร

T7 = ใช้ TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

R = ซ้ำ