

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินการวิจัย

การดำเนินการวิจัยแบ่งออกเป็น 3 ตอน คือ

**ตอนที่ 1** การสำรวจกลัวไม่รองเท้านารี ที่จำหน่ายในเขตจังหวัด สงขลา ศตุล ตรัง และแหล่งกำเนิดที่อยู่อาศัย มีขั้นตอนดังนี้

1. ทำการสำรวจแหล่งที่อยู่ของรองเท้านารีม่วงสงขลา โดยใช้วิธีสัมภาษณ์จากผู้รู้
2. กำหนดพื้นที่เพื่อเก็บตัวอย่างจากข้อมูลที่ได้จากข้อที่ 1 โดยศึกษาบริเวณจังหวัดสงขลา ศตุล และตรัง
3. ประสานงานกับชุมชนในพื้นที่ เป็นผู้นำทางในการลงพื้นที่ ที่เป็นแหล่งอาศัยของกลัวไม่รองเท้านารี
4. ถ่ายภาพ เก็บบันทึกข้อมูล
5. คัดเลือกกลัวไม่รองเท้านารีม่วงสงขลาที่มีจำหน่ายในห้องตลาด นำมาขยายพันธุ์โดย การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และนำมาเพาะเลี้ยงขยายพันธุ์ ทำประวัติของต้นพันธุ์

**ตอนที่ 2** การขยายพันธุ์กลัวไม่รองเท้านารีโดยวิธีเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช

1. ทำการผสานพันธุ์กลัวไม่รองเท้านารี เพื่อให้เกิดฝัก มีวิธีการดังนี้  
คัดเลือกดอกที่เจริญเต็มที่  
เด็ดกระเบ้าต้นแม่พันธุ์  
เขี่ยก้อน根茎 ผู้ออกจากต้น วางบนแผ่นพลาสติก  
ค่อยๆ เขี่ยละของ根茎 ออกจากต้น根茎  
เคลื่อนย้ายลงบนพื้นดิน เกสรเมีย  
ติดป้ายต้นที่ทำการผสานพันธุ์ สังเกตการเจริญเติบโต

โดยมีอุปกรณ์ดังนี้

อุปกรณ์ที่ใช้ในการผสานพันธุ์ ต้นพันธุ์ที่ออกดอกเจริญเต็มที่ ไม้จิมฟัน ถุงพลาสติก ใบมีดโกน น้ำสะอาด แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์

## 2. นำฝักที่ได้มาเพาะเลี้ยงในอาหารสั่งเคราะห์ สูตร เอ็มเอส (MS 1962) ที่มีน้ำมะพร้าว 250 มิลลิลิตร มีวิธีการปฏิบัติดังนี้

การเตรียมอาหาร ใช้อาหารสูตรเอ็มเอส มีน้ำมะพร้าว 250 มิลลิลิตร/ลิตร ใส่ในขวดขนาด 4 ออนซ์ ประมาณ 20 มิลลิลิตร นำไปปั่นจนเข้าในหม้อนึ่งอัดไอ ที่มีความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสนาน 15 นาที นำออกจากการหม้อนึ่งอัดไอ ทิ้งไว้ประมาณ 2 วัน

การเตรียมฝัก เลือกฝักกลับยไม่ทิ้งไว้เป็นโคล ไม่มีรอยกัดของเมล็ด เมล็ดไม่แตก แต่ถ้าแตกสามารถปฏิบัติได้โดยการฟอกผ่าเชือกหั้งเมล็ด แล้วนำมากรอง เมล็ดที่เหมาะสมในการนำมาเพาะเลี้ยงควรเป็นเมล็ดที่สมบูรณ์ และเจริญเติบโตเต็มที่ แต่อาจใช้เมล็ดอ่อนได้ เช่นเดียวกัน

การฟอกผ่าเชือก เตรียมอุปกรณ์ต่อไปนี้ คือ ตะเกียงและก้อนซอล์ สำลี และก้อนซอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ งานเลี้ยงเชือก ปากคีบ มีดผ่าตัด นำมาผ่าเชือกโดยการหดที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง มีวิธีการดังนี้

- นำฝักกลับยไม่ล้างด้วยน้ำสะอาด ใส่ลงชักฟอก แล้วล้างด้วยน้ำประปาให้ผงชักฟอกออกให้หมด นำฝักจุ่มในและก้อนซอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ แล้วนำไปเผาไฟ ทำอย่างนี้ 3 ครั้ง

- นำฝักกลับยไม่วางบนงานเลี้ยงเชือก ใช้มีดกดฝักให้แยกออก ใช้ปากคีบเขี่ยและดึงเมล็ดกลับยไม่ลงเลี้ยงในอาหารที่เตรียมไว้

การเพาะเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยง นำขวดเพาะเลี้ยงวางเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงที่มีอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 12 ชั่วโมง/วัน เป็นเวลานาน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของเมล็ดกลับยไม่

3. จดบันทึกการเปลี่ยนแปลง สังเกตการเจริญเติบโต

4. การขยายพันธุ์โดยการแยกหน่อ กระทำโดยการนำกอกกลับยไม้ออกจากกระถางอย่างระมัดระวัง เขย่าให้ดินและทราบที่ติดมากับรากออกจากต้น ล้างต้นให้สะอาด ทำการแยกต้นออกทีละต้น โดยใช้มีปลายแหลมที่สะอาด ซอยแผลที่เกิดจากกาตัด ควรใช้ปุ๋นป่านร้อยแผลนั้น

## ตอนที่ 3 การเผยแพร่ความรู้แก่ชุมชน และสร้างจิตสำนึกรักในการอนุรักษ์พันธุ์กลับยไม้

1. จัดเตรียมวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการฝึกอบรมการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกลับยไม้
2. เตรียมเอกสาร เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกลับยไม้รองเท้านารี และเทคนิคการผสมพันธุ์กลับยไม้รองเท้านารี
3. คัดเลือกชุมชนที่สนใจ
4. ดำเนินการอบรม
5. สรุปผลการอบรม