

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยเรื่อง "การเปรียบเทียบ การใช้สารอนินทรีย์ทางการเกษตร กับการใช้สารเคมี วิเคราะห์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช" ครั้งนี้ เป็นการวิจัยมี 2 ขั้นตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 ศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืช เมื่อเลี้ยงในสารอนินทรีย์ทางการเกษตรกับที่เลี้ยงในสารเคมีวิเคราะห์ เมื่ออยู่ในสภาพปลอดเชื้อ โดยทำการทดลองนำพืช ต้นมอสส์บัสเตอร์ มาเลี้ยงในอาหารที่เป็นสารอนินทรีย์ทางการเกษตรกับการเคมีวิเคราะห์ในสภาพปลอดเชื้อ มีกระบวนการและวิธีการดังนี้

อุปกรณ์ อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองได้แก่

1. **สารเคมี** สารเคมีได้แก่ อาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชสูตรเอ็มเอส (Murashige and Skoog, 1962) ที่เป็นสารเคมีวิเคราะห์ และสารอนินทรีย์ที่ใช้ทางการเกษตร ประกอบด้วย KNO_3 , KH_2PO_4 , CaCl_2 , MgSO_4 , $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, K_2SO_4 , MnSO_4 , H_3BO_3 , ZnSO_4 , CuSO_4 , CuCl_2 บีเอ (6-benzyladenine) แอลกอฮอล์ ผงซักฟอก
2. **เครื่องแก้ว** ได้แก่ ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปากกว้างขนาด 2 ลิตร พร้อมฝาพลาสติก หนักร้อน ปีกเกอร์ขนาดต่างๆ กระบอกตวง ปิเปตต์ ขวดใส่สารเคมีสีชา กรวยแก้ว จานเลี้ยงเชื้อ แuantงแก้วคน
3. **อุปกรณ์ผ่าตัด** มีดผ่าตัด ปากคีบ
4. **ครุภัณฑ์** ได้แก่ หม้อน้ำอัตโนมัติ เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง เครื่องกลั่นน้ำแบบแก้ว ตู้อบ เต้าหลอมอาหาร เครื่องชั่งอย่างหยาบทศนิยม 2 ตำแหน่ง เครื่องชั่งอย่างละเอียด ทศนิยม 4 ตำแหน่ง ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ กล้องถ่ายภาพ
5. **ชิ้นส่วนพืช** ได้แก่ ต้นมอสส์บัสเตอร์ที่เลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อ
6. **ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช** อุณหภูมิ 25 ± 2 เซลเซียส ความเข้มของแสง 1,500-2,000 ลักซ์ ให้แสงนาน 12 ชั่วโมง/วัน

วิธีการทดลอง

1. การวางแผนการทดลอง

1.1 ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) โดยแบ่งออกเป็น 5 ตำรับการทดลอง (treatment) ตำรับการทดลองละ 4 ซ้ำ ใช้ซ้ำละ 10 วัตต์ ได้แก่ ตำรับการทดลองที่ 1, 2, 3 และ 4 ใช้สารอนินทรีย์ทางการเกษตร เป็นธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง มีปริมาณของสารแตกต่างกันดังนี้

ตำรับที่ 1

KNO_3	950	มิลลิกรัม/ลิตร
KH_2PO_4	85	มิลลิกรัม/ลิตร
CaCl_2	220	มิลลิกรัม/ลิตร
MgSO_4	185	มิลลิกรัม/ลิตร
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	85	มิลลิกรัม/ลิตร
K_2SO_4	85	มิลลิกรัม/ลิตร
MnSO_4	11.15	มิลลิกรัม/ลิตร
H_3BO_3	3.6	มิลลิกรัม/ลิตร
ZnSO_4	4.3	มิลลิกรัม/ลิตร
CuSO_4	0.012	มิลลิกรัม/ลิตร
CuCl_2	0.012	มิลลิกรัม/ลิตร

ตำรับที่ 2

KNO_3	1900	มิลลิกรัม/ลิตร
KH_2PO_4	170	มิลลิกรัม/ลิตร
CaCl_2	440	มิลลิกรัม/ลิตร
MgSO_4	370	มิลลิกรัม/ลิตร
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	170	มิลลิกรัม/ลิตร
K_2SO_4	170	มิลลิกรัม/ลิตร
MnSO_4	22.3	มิลลิกรัม/ลิตร
H_3BO_3	6.2	มิลลิกรัม/ลิตร
ZnSO_4	8.6	มิลลิกรัม/ลิตร
CuSO_4	0.024	มิลลิกรัม/ลิตร
CuCl_2	0.024	มิลลิกรัม/ลิตร

ตำรับที่ 3

KNO_3	2850	มิลลิกรัม/ลิตร
KH_2PO_4	255	มิลลิกรัม/ลิตร
CaCl_2	660	มิลลิกรัม/ลิตร
MgSO_4	555	มิลลิกรัม/ลิตร
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	255	มิลลิกรัม/ลิตร
K_2SO_4	255	มิลลิกรัม/ลิตร
MnSO_4	33.45	มิลลิกรัม/ลิตร
H_3BO_3	10.8	มิลลิกรัม/ลิตร
ZnSO_4	12.9	มิลลิกรัม/ลิตร
CuSO_4	0.036	มิลลิกรัม/ลิตร
CuCl_2	0.036	มิลลิกรัม/ลิตร

ตำรับที่ 4

KNO_3	3800	มิลลิกรัม/ลิตร
KH_2PO_4	340	มิลลิกรัม/ลิตร
CaCl_2	880	มิลลิกรัม/ลิตร
MgSO_4	740	มิลลิกรัม/ลิตร
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	340	มิลลิกรัม/ลิตร
K_2SO_4	340	มิลลิกรัม/ลิตร
MnSO_4	44.6	มิลลิกรัม/ลิตร
H_3BO_3	14.4	มิลลิกรัม/ลิตร
ZnSO_4	17.2	มิลลิกรัม/ลิตร
CuSO_4	0.048	มิลลิกรัม/ลิตร
CuCl_2	0.048	มิลลิกรัม/ลิตร

ตำรับที่ 5 ใช้สูตรอาหารเอ็มเอส 1962 โดยใช้ธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง ที่เป็นสารเคมีวิเคราะห์ จัดเป็นกลุ่มควบคุม

ทุกตำรับการทดลองจะมี $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ จำนวน 27.8 มิลลิกรัม/ลิตร สารอินทรีย์ของ สูตรอาหารเอ็มเอส (1962) ได้แก่ ไทอะมีนไฮโดรคลอไรด์ 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ไพริดอกซินไฮโดรคลอไรด์ 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร กรดนาโคตินิค 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร มายโอ-อินซิทอล 100 มิลลิกรัม/ลิตร น้ำตาลทราย 30 กรัม/ลิตร บีเอ 1 มิลลิกรัม/ลิตร วุ้น 7 กรัม/ลิตร

2. การดำเนินการทดลอง

2.1 สํารวจชนิดของสารอนินทรีย์ที่ใช้ทางการเกษตร

2.2 คัดเลือกชนิดของสารอนินทรีย์ที่ใช้ทางการเกษตร ที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับ
สูตรอาหารเอ็มเอส (1962) นำมาใช้ในการทดลองและสารเคมีวิเคราะห์สูตรอาหารเอ็มเอส (1962)

2.3 เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทั้ง 5 ดำรับการทดลอง

2.4 เตรียมเนื้อเยื่อตายอดและตาข้างของมอสส์บัสเตอร์ โดยเพิ่มจำนวนเนื้อเยื่อใน
อาหารสูตรเอ็มเอส และบีเอ 1 มิลลิกรัม/ลิตร

2.5 นำเนื้อเยื่อตายอดและตาข้างที่ได้มาเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทั้ง 5 ดำรับ
การทดลอง โดยใช้ ชิ้นส่วนพืช 1 ชิ้น/ขวด แล้วนำมาเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นเวลา
3 เดือน เปลี่ยนอาหารทุกๆ 4 สัปดาห์ โดยตัดแต่งเนื้อเยื่อ และเลี้ยงในอาหารสูตรเดิม

3. การเก็บข้อมูล

การเก็บข้อมูลแบ่งออกดังนี้

3.1 สังเกตการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชเมื่อเลี้ยงได้ 3 เดือน

3.2 นับจำนวนต้น วัดความสูงของต้น

3.3 บันทึกผลการทดลอง ถ่ายภาพ

3.4 นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ หาค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ความแปรปรวนของ
ค่าเฉลี่ย (Analysis of variance, ANOV) ตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้ LSD
(Least significant difference)

4. เวลาและสถานที่

สถานที่ที่ทำการวิจัยได้แก่ อาคารปฏิบัติการเทคโนโลยีการเกษตรสถาบันราชภัฏสงขลา
อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา ระหว่างวันที่ 1 ตุลาคม 2545 ถึงวันที่ 30 กันยายน 2546

ตอนที่ 2 เปรียบเทียบต้นทุนการผลิตพืชที่ใช้สารเคมีวิเคราะห์กับที่ใช้สารอนินทรีย์ทางการ
เกษตร

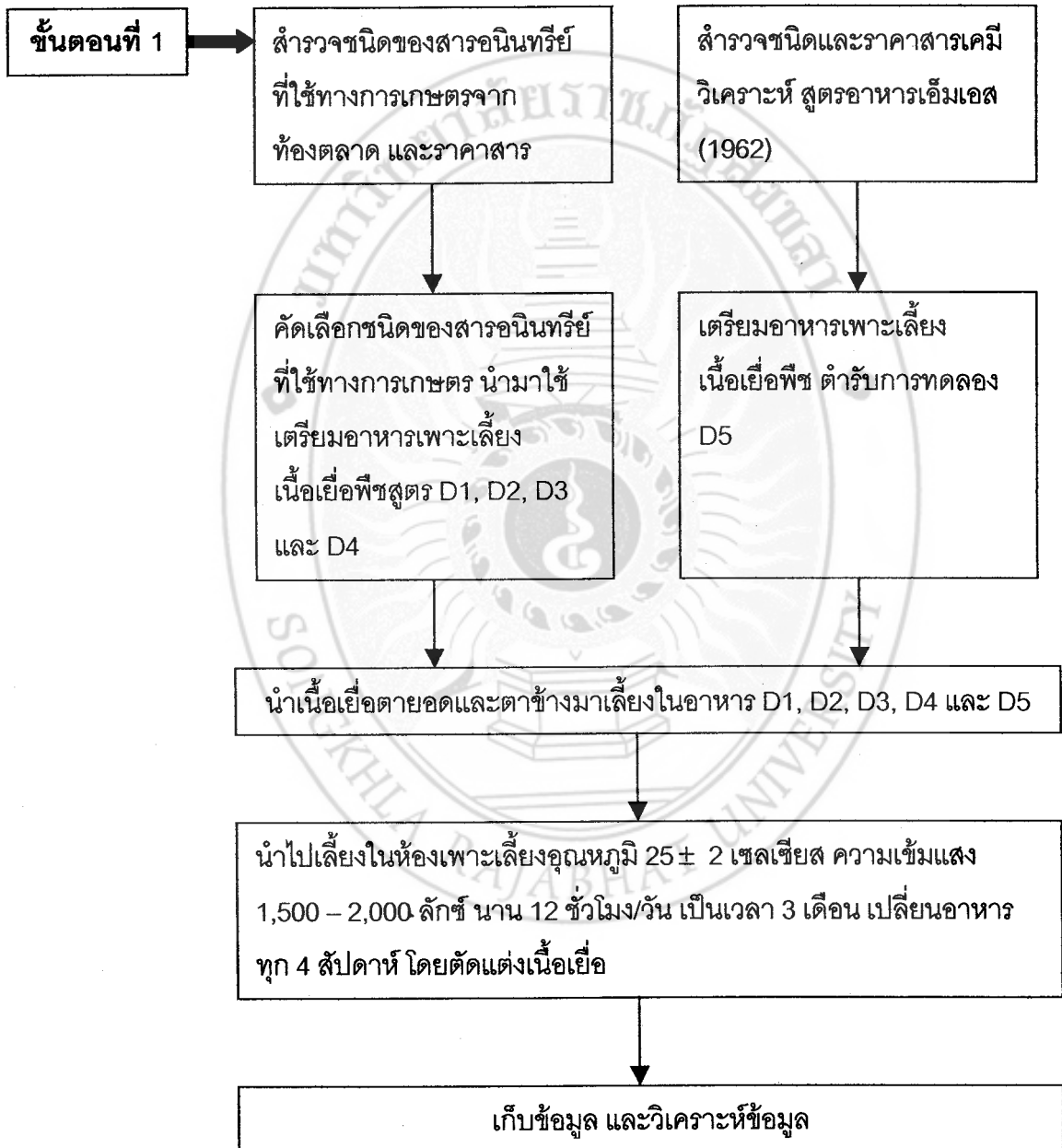
วิธีการทดลอง

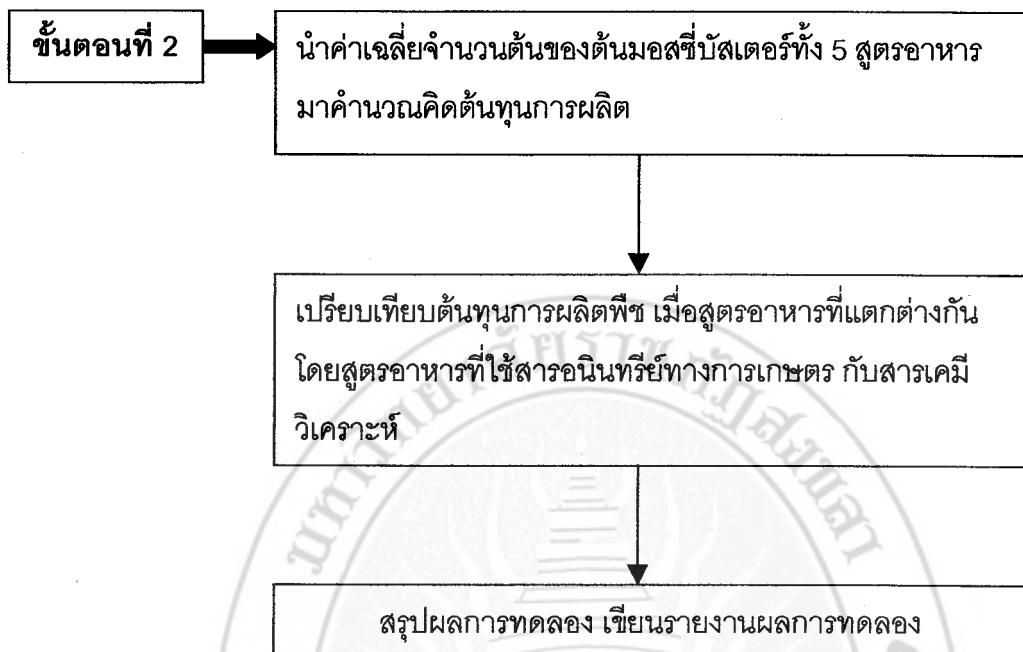
1. สํารวจราคาสารอนินทรีย์ทางการเกษตรและสารเคมีวิเคราะห์ที่มีขายตามท้องตลาด

2. คำนวณปริมาณและราคาสารที่ใช้ในการทดลอง ทุกดำรับการทดลองแล้วนำมา
เปรียบเทียบกับจำนวนต้นมอสส์บัสเตอร์ที่ได้จากตอนที่ 1

3. วิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลที่ได้ และสรุปผลการทดลอง เปรียบเทียบต้นทุนการผลิต

จากขั้นตอนที่ 2 ขั้นตอน สามารถสรุปได้ดังแผนภูมิต่อไปนี้





ภาพที่ 3-1 ขั้นตอนการทดลอง