

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยเรื่อง “การเปรียบเทียบ การใช้สารอนินทรีย์ทางการเกษตร กับการใช้สารเคมี วิเคราะห์ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช” ครั้งนี้ เป็นการวิจัยมี 2 ขั้นตอน ดังนี้

ตอนที่ 1 ศึกษาเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืช เมื่อเลี้ยงในสารอนินทรีย์ทางการเกษตรกับที่เลี้ยงในสารเคมีวิเคราะห์ เมื่อยุ่งในสภาพปลดล็อกเชือ โดยทำการทดลองนำพืชต้นมอสซีบสเตอร์ มาเลี้ยงในอาหารที่เป็นสารอนินทรีย์ทางการเกษตรกับการเคมีวิเคราะห์ในสภาพปลดล็อกเชือ มีกระบวนการและการแล้ววิธีการดังนี้

อุปกรณ์ อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองได้แก่

- 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) และกอฮอร์ล ผงซักฟอก
- เครื่องแก้ว ได้แก่ ขวดเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อปากกว้างขนาด 2 ออนซ์ พร้อมฝาพลาสติก ทนร้อน บีกเกอร์ขนาดต่างๆ กระบอกตวง ปิเป็ตต์ ขวดใส่สารเคมีสีชา กรวยแก้ว จานเลี้ยงเชือ แห่งแก้วคน
- อุปกรณ์ผ่าตัด มีดผ่าตัด ปากคีบ
- ครุภัณฑ์ ได้แก่ หม้อนึ่งอัดไออก เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง เครื่องกลั่นน้ำแบบแก้วตู้อบ เตาลดมอาหาร เครื่องซั่งอย่างหยาบทศนิยม 2 ตำแหน่ง เครื่องซั่งอย่างละอีด ศศนิยม 4 ตำแหน่ง ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ กล้องถ่ายรูป
- ชิ้นส่วนพืช ได้แก่ ต้นมอสซีบสเตอร์ที่เลี้ยงในสภาพปลดล็อกเชือ
- ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช อุณหภูมิ 25 ± 2 เซลเซียส ความชื้นของแสง 1,500-2,000 ลักซ์ ให้แสงนาน 12 ชั่วโมง/วัน

วิธีการทดลอง

1. การวางแผนการทดลอง

1.1 ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design)

โดยแบ่งออกเป็น 5 ตัวรับการทดลอง (treatment) ตัวรับการทดลองละ 4 ชั้้า ใช้ชั้้าละ 10 ขวด
ได้แก่ ตัวรับการทดลองที่ 1, 2, 3 และ 4 ใช้สารอนินทรีย์ทางการเกษตร เป็นมาตรฐานหลักและ
มาตรฐานรอง มีปริมาณของสารแตกต่างกันดังนี้

ตัวรับที่ 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

ตัวรับที่ 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 ให้สูตรอาหารเข็มแส 1962 โดยให้ธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง ที่เป็นสารเคมีไวเคราะห์ จัดเป็นกลุ่มควบคุม

ทุกตำรับการทดลองจะมี $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ จำนวน 27.8 มิลลิกรัม/ลิตร สารอนินทรีย์ของสูตรอาหารเข็มแส (1962) ได้แก่ ไ淘汰มีนไಡครอลอไรด์ 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร ไพริดอกซินไไซโคโรคลอไอเด 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร กรดนำโคเต็นด 0.5 มิลลิกรัม/ลิตร แมยโซ-อิโนเซิตอล 100 มิลลิกรัม/ลิตร น้ำตาลทราย 30 กรัม/ลิตร บีโอด 1 มิลลิกรัม/ลิตร วุ้น 7 กรัม/ลิตร

2. การดำเนินการทดลอง

2.1 สำรวจชนิดของสารอนินทรีย์ที่ใช้ทางการเกษตร

2.2 คัดเลือกชนิดของสารอนินทรีย์ที่ใช้ทางการเกษตร ที่มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับสูตรอาหารเข้มข้น (1962) นำมาใช้ในการทดลองและสารเคมีวิเคราะห์สูตรอาหารเข้มข้น (1962)

2.3 เตรียมอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชทั้ง 5 ตัวรับการทดลอง

2.4 เตรียมเนื้อเยื่อatyod และต้าข้างของมอสซีบัสเตอร์ โดยเพิ่มจำนวนเนื้อเยื่อในอาหารสูตรเข้มข้น และบีโอด 1 มิลลิกรัม/ลิตร

2.5 นำเนื้อเยื่อatyod และต้าข้างที่ได้มาเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อทั้ง 5 ตัวรับการทดลอง โดยใช้ รีน สวนพืช 1 รีน/ขวด แล้วนำมาเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืชเป็นเวลา 3 เดือน เปลี่ยนอาหารทุกๆ 4 สัปดาห์ โดยตัดแต่งเนื้อเยื่อ และเลี้ยงในอาหารสูตรเดิม

3. การเก็บข้อมูล

การเก็บข้อมูลแบ่งออกดังนี้

3.1 สังเกตการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อพืชเมื่อเลี้ยงได้ 3 เดือน

3.2 นับจำนวนตัน วัดความสูงของต้น

3.3 บันทึกผลการทดลอง ถ่ายภาพ

3.4 นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ หาค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย (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 เปรียบเทียบตันทุนการผลิตพืชที่ใช้สารเคมีวิเคราะห์กับที่ใช้สารอนินทรีย์ทางการเกษตร

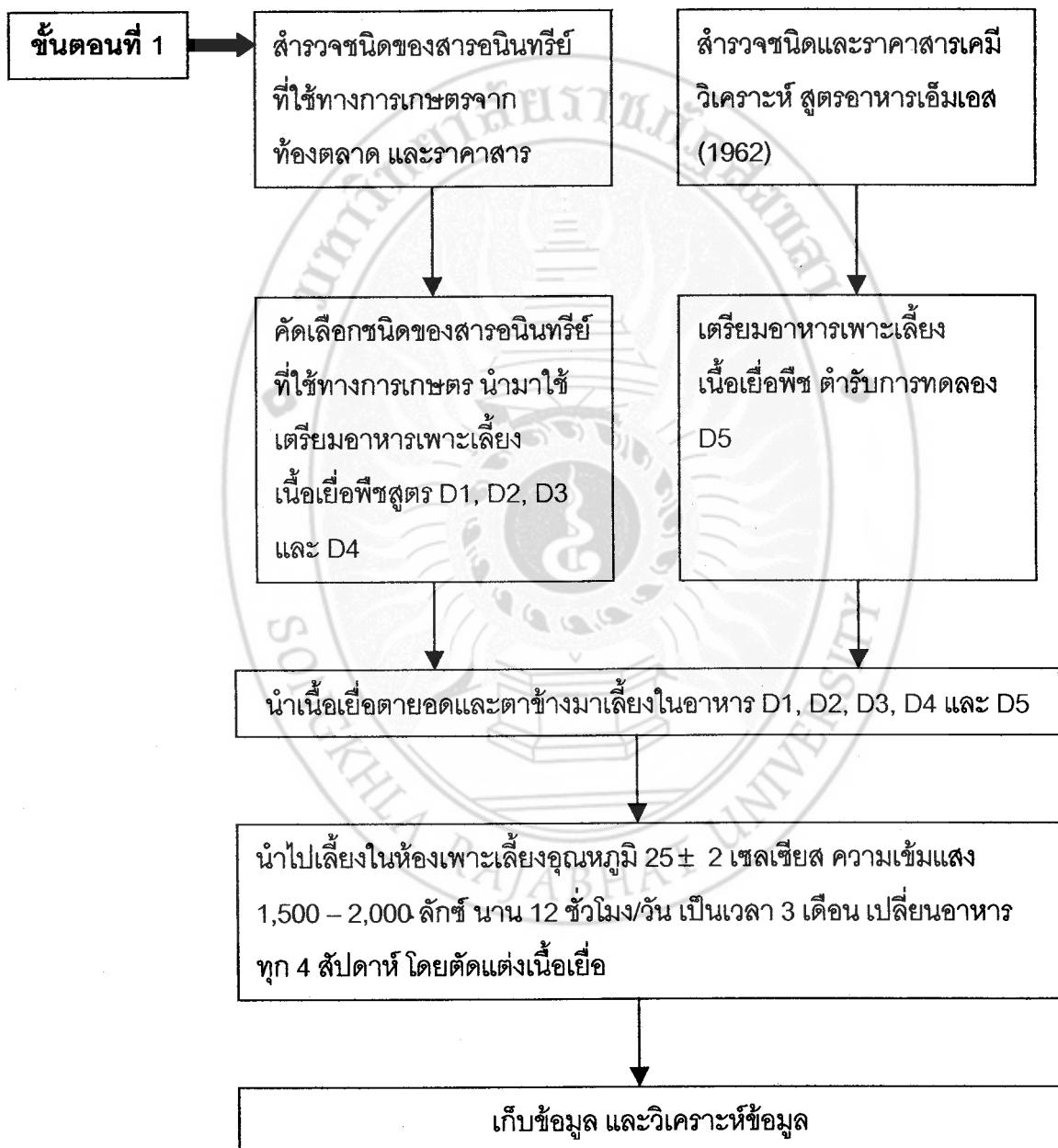
วิธีการทดลอง

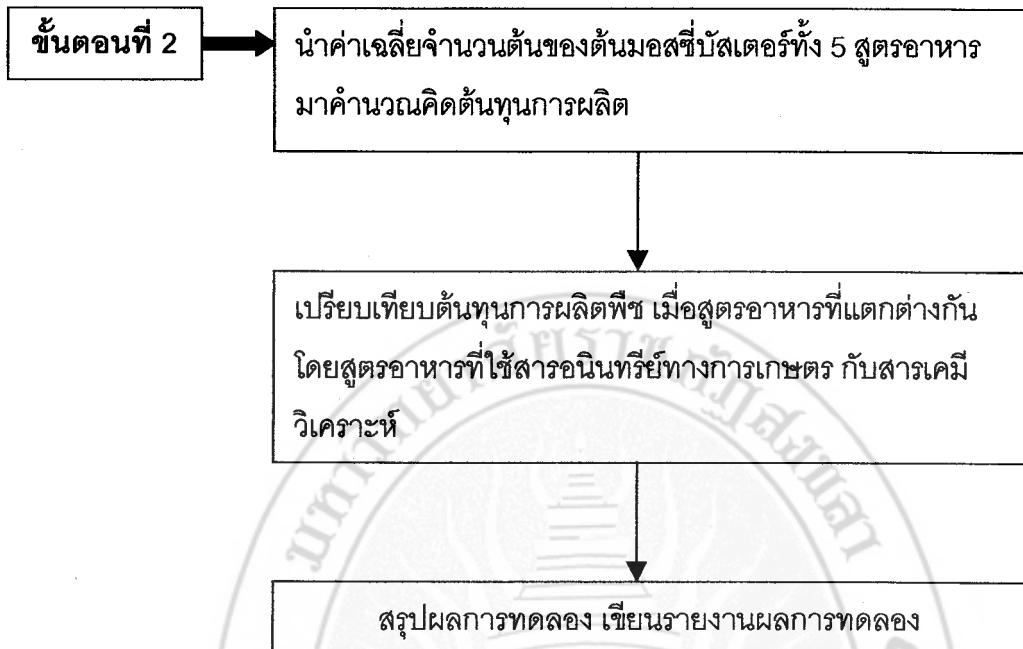
1. สำรวจราคาสารอนินทรีย์ทางการเกษตรและสารเคมีวิเคราะห์ที่มีขายตามห้องตลาด

2. คำนวณบริมาณและราคาสารที่ใช้ในการทดลอง ทุกตัวรับการทดลองแล้วนำมาเปรียบเทียบกับจำนวนตันของมอสซีบัสเตอร์ที่ได้จากตอนที่ 1

3. วิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูลที่ได้ และสรุปผลการทดลอง เปรียบเทียบต้นทุนการผลิต

จากขั้นตอนที่ 2 ขั้นตอน สามารถสรุปได้ดังแผนภูมิต่อไปนี้





ภาพที่ 3-1 ขั้นตอนการทดลอง