# บทที่ 3
# วิธีดำเนินการวิจัย

**อุปกรณ์**

1.เมล็ดคาร์เนชั่นพันธุ์ Pot Hybrid Mix พันธุ์ Dwarf Fragrance และตายอดตาข้างคาร์เนชั่นพันธุ์ Yellow Sim

2.อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

2.1อุปกรณ์ประเภทสารเคมี ได้แก่ สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารสูตรMS สารควบคุมการเจริญเติบโต BA แอลกอฮอล์ 70 % แอลกอฮอล์ 95 % คลอร็อกซ์ ทวีน20

2.2 อุปกรณ์ประเภทเครื่องมือ ได้แก่ หม้อนึ่งอัดไอ เครื่องชั่งน้ำหนักอย่างหยาบ เครื่องชั่งน้ำหนักอย่างละเอียด ตู้อบฆ่าเชื้อ ตู้ถ่ายเนื้อเยื่อ เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง

2.3 อุปกรณ์ประเภทเครื่องแก้ว ได้แก่ บีกเกอร์ กระบอกตวง กรวยแก้ว ปิเปตต์ ขวดสีชา จานเลี้ยงเชื้อ ขวดสำหรับเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อขนาด 4 ออนซ์ เป็นต้น

2.4 อุปกรณ์อื่น ๆ ได้แก่ ตะเกียงแอลกอฮอล์ สำลี ถุงพลาสติก ปากคีบ มีดผ่าตัด ผ้าสาลู ยางวง ปากกาเขียนแก้ว กระดาษเลเบล ตะกร้า น้ำยาล้างจาน เตาแก๊ส

3.ห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่ควบคุมอุณหภูมิ 26-28 องศาเซลเซียส พร้อมชั้นวางขวดติดหลอดไฟ ความเข้มแสง 1,500-2,000 ลักซ์ เป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน

**วิธีการวิจัย**

1.การวางแผนการวิจัย ใช้แผนการทดลองแบบ CRD ( Completely Randomized Design) มี 4 ซ้ำ จำนวน 3 สิ่งทดลอง รวมทั้งสิ้น 120 ขวด โดยใช้ ตายอดและตาข้างของคาร์เนชั่นเลี้ยงในอาหารสูตร MS มี BA 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีทั้งหมด 3 สิ่งทดลองดังนี้

สิ่งทดลองที่ 1 คาร์เนชั่นพันธุ์ Pot Hybrid Mix

สิ่งทดลองที่ 2 คาร์เนชั่นพันธุ์ Dwarf Fragrance

สิ่งทดลองที่ 3 คาร์เนชั่นพันธุ์ Yellow Sim

2. เตรียมอาหารสูตรMS ที่เติม BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 60 ขวด ขวดละ20 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที

3. เตรียมเนื้อเยื่อ โดยนำเมล็ดพันธุ์คาร์เนชั่น ตายอดตาข้าง ล้างด้วยผงซักฟอก และน้ำสะอาด ซับด้วยกระดาษทิชชู นำเข้าตู้ปลอดเชื้อ แช่แอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 15 นาที ฟอกด้วยคลอรอกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับทวิน 20 จำนวน 1- 2 หยด เขย่านาน 15 นาที และล้างด้วยน้ำสะอาดอีก 3 ครั้ง ๆละ 1 นาที

4. นำเมล็ดที่ฟอกแล้ว วางเรียงในขวดอาหารที่เตรียมไว้ขวดละ1 เมล็ด

5. นำเข้าห้องเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อที่อุณหภูมิ 26-28 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,500-2,000 ลักซ์ เป็นเวลา 12 ชั่วโมงต่อวัน เป็นเวลา 30 วัน

6. เตรียมอาหารสูตรMS ที่เติม BA ระดับความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวน 120 ขวด ใส่อาหารขวดละ 20 มิลลิลิตร พร้อมนึ่งฆ่าเชื้อ

7. นำขวดคาร์เนชั่นที่เลี้ยงเมล็ดไว้เข้าตู้ปลอดเชื้อ แล้วดึงต้นคาร์เนชั่นออกมาวางในจานเลี้ยงเชื้อ ตัดแต่งตายอดตาข้างให้มีขนาดประมาณ 0.5 เซนติเมตร วางเลี้ยงในขวดอาหารขวดละ 1 ชิ้น

8. นำขวดที่มีชิ้นส่วนพืชวางเลี้ยงในห้องเพาะเลี้ยง เป็นเวลา 60 วัน โดยเปลี่ยนอาหารทุก 15 วัน

9. นำตายอดตาข้างคาร์เนชั่นที่ได้ มาชักนำรากในอาหารสูตร MS ที่มี IAA 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย นำวางเลี้ยงในหลอดทดลองหลอดละ 1 ต้น ตัดให้ต้นมีขนาด 1.0 เซนติเมตร เป็นเวลา 15 วัน

10. นำต้นที่งอกราก ปลูกในดินทรายผสมแกลบ อัตราส่วน 1 : 1 เป็นเวลา 30 วัน

**การบันทึกข้อมูล**

1. จำนวนต้นของคาร์เนชั่น บันทึกจำนวนต้นเมื่ออายุ 30 และ 60 วัน โดยนับจำนวนต้นทุกต้นทุกขวดในแต่ละหน่วยการทดลองแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

2. จำนวนใบของต้นคาร์เนชั่น บันทึกเมื่ออายุ 30 และ 60 วัน โดยนับจำนวนใบทุกใบทุกต้นทุกขวดในแต่ละหน่วยการทดลอง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

3. ความกว้างของใบต้นคาร์เนชั่นบันทึกเมื่ออายุ 30 และ 60 วัน โดยวัดส่วนใบที่กว้างที่สุดในแต่ละหน่วยการทดลอง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

4. ความสูงของต้นคาร์เนชั่นบันทึกเมื่ออายุ 30 และ 60 วัน โดยวัดต้นที่สูงที่สุดในหน่วยการทดลอง และทุกสิ่งทดลอง

5. นับจำนวนราก เมื่ออายุ 15 วัน โดยนับรากที่งอกออกมาจากโคนต้นทุกราก

6. วัดความยาวราก เมื่ออายุ 15 วัน โดย วัดรากที่ยาวที่สุด

7. นับจำนวนต้นที่รอดชีวิตเมื่อปลูกเลี้ยงในสภาพแวดล้อมภายนอกเป็นเวลา30 วัน

**การวิเคราะห์ข้อมูล**

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ หาค่าเฉลี่ย วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ย (Analysis of variance ,ANOV) ตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยใช้ LSD ( Least significant difference)

**สถานที่ทำการวิจัย**

อาคารปฏิบัติการเทคโนโลยีการเกษตร โปรแกรมวิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันราชภัฏสงขลา

**ระยะเวลาในการวิจัย**

เริ่มทำการทดลอง 10 พฤศจิกายน 2545

สิ้นสุดการทดลอง 10 กรกฎาคม 2546