

## บทที่ 2

### วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

เริ่มทดลองตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน 2541 และสิ้นสุดการทดลองเดือนสิงหาคม 2543 ที่ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์พืชและแปลงทดลอง ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา

#### 1. วัสดุ

- 1.1 เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดพันธุ์นครสวรรค์ 1 (พันธุ์ผสมเปิด) และนครสวรรค์ 72 (พันธุ์ลูกผสม) ได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยพืชไร่ นครสวรรค์ จังหวัดนครสวรรค์
- 1.2 ตะกร้าพลาสติก 2 ขนาด 26x30x8 ซม. ใช้เพาะในสภาวะจำกัดน้ำ และขนาด 20x26x6 ซม. ใช้เพาะในสภาวะน้ำท่วมขัง
- 1.3 ถาดรองน้ำ
- 1.4 ดิน
- 1.5 ถ้วยสแตนเลส
- 1.6 ดินสอกอปปี้
- 1.7 กระดาษเพาะ
- 1.8 ถุงพลาสติก
- 1.9 ถุงกระดาษ
- 1.10 ตะแกรงใส่เมล็ดพันธุ์เพื่อเร่งอายุ
- 1.11 ไม้บรรทัด
- 1.12 วัสดุในห้องปฏิบัติการและวัสดุการเกษตรอื่นๆ

#### 2. อุปกรณ์

- 2.1 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
- 2.2 ตู้เพาะเมล็ดพันธุ์ (seed germinator)
- 2.3 ตู้อบ (hot air oven)
- 2.4 เครื่องชั่งละเอียด (analytical balance)

### 3. วิธีการ การทดลองประกอบด้วย

- (1) การทดสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์
- (2) การทำให้เมล็ดพันธุ์มีคุณภาพ 3 ระดับ ด้วยวิธีการเร่งอายุและการเก็บรักษา
- (3) การทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์ในสภาวะเครียดน้ำ โดยแบ่งเป็น
  - สภาวะจำกัดน้ำ โดยเพาะเมล็ดพันธุ์ทุกคุณภาพในดินในตะกร้าที่ให้น้ำ 70% ของความจุความชื้นดินที่ความถี่ต่างๆ กัน
  - สภาวะน้ำท่วมขัง โดยเพาะเมล็ดพันธุ์ในสภาพอุณหภูมิจากห้องเช่นเดียวกับสภาวะจำกัดน้ำ แต่ให้น้ำท่วมขังนานต่างกัน แล้วนำมาเพาะต่อในสภาพอุณหภูมิจากห้อง
- (4) การทดสอบในแปลงปลูก แบ่งเป็น 2 สภาวะ
  - สภาวะแล้ง โดยเพาะเมล็ดพันธุ์ทุกคุณภาพในช่วงฤดูแล้งโดยให้น้ำทุกวันและครั้งเดียวในวันเพาะในเดือนสิงหาคม
  - ในฤดูฝน โดยเพาะเมล็ดพันธุ์ทุกคุณภาพในช่วงฤดูฝนของภาคใต้ในเดือนธันวาคม
- (5) การวิเคราะห์ผลทางสถิติของการงอกของเมล็ดพันธุ์คุณภาพต่างๆ ที่เพาะในสภาวะเครียดน้ำในห้องปฏิบัติการกับความงอกในแปลงปลูกในแต่ละสภาพ

#### 3.1 การทดสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์

3.1.1 ความงอกมาตรฐาน ทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์ตามกฎของสมาคมนักทดสอบเมล็ดพันธุ์ (AOSA, 1981) โดยเพาะเมล็ดพันธุ์ในม้วนกระดาษเพาะ 3 แผ่น ด้านล่าง 2 แผ่นและปิดด้านบนเมล็ด 1 แผ่น จำนวน 50 เมล็ด x 4 ซ้ำ ในตู้เพาะอุณหภูมิสถับ 20-30°C. นาน 16 และ 8 ชม. สถับกันไปตลอดการเพาะ ประเมินความงอกครั้งแรก (first count) เมื่อเพาะได้ 4 วัน และครั้งสุดท้าย (final count) เมื่อเพาะได้ 7 วัน แล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์ความงอกเฉลี่ยจาก 4 ซ้ำ

3.1.2 ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ ทดสอบความแข็งแรง 4 วิธี คือ

(1) ความเร็วในการงอก (speed of germination) ตรวจนับต้นกล้าปกติของการเพาะเมล็ดพันธุ์โดยวิธีมาตรฐาน (AOSA, 1981) จากข้อ 3.1.1 โดยประเมินความงอกทุกวันจากวันประเมินครั้งแรกจนถึงครั้งสุดท้าย นำผลการตรวจนับต้นกล้าปกติของแต่ละวันคำนวณเป็นดัชนีความเร็วในการงอกแต่ละซ้ำ โดยใช้สูตร

$$\text{ดัชนีความเร็วในการงอก} = \text{ผลรวมของ} \left\{ \frac{\text{จำนวนต้นกล้าปกติในแต่ละวันที่ตรวจนับ}}{\text{จำนวนวันหลังเพาะที่ตรวจนับ}} \right\}$$

(2) ความยาวยอดของต้นกล้า เพาะเมล็ดพันธุ์ในม้วนกระดาษเพาะตามคู่มือการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ (AOSA, 1983) โดยแบ่งเป็น 2 แถวห่างขอบบนของกระดาษ 6 และ 13 ซม. ตามลำดับ ใช้กระดาษเพาะ 2 แผ่น วางเมล็ดพันธุ์ให้ปลายรากลงสู่ด้านล่างของการเพาะและให้ส่วนต้นอ่อนหงายขึ้น ปิดด้วยกระดาษเพาะอีก 1 แผ่น เพาะจำนวน 25 เมล็ด x 4 ซ้ำ ม้วนแล้วไปวางเพาะให้เอียง 45° ในตู้เพาะอุณหภูมิ 25°C. เมื่อครบ 7 วัน นำต้นกล้าปกติมาวัดความยาวยอด โดยวัดจากส่วนที่เป็นรอยต่อระหว่างรากกับยอดถึงปลายยอด แล้วคำนวณความยาวยอดของต้นกล้าต่อต้น จากสูตร

$$\text{ความยาวยอดของต้นกล้าต่อต้น} = \frac{\text{ผลรวมของความยาวยอดของต้นกล้าปกติ}}{\text{จำนวนต้นกล้าปกติ}}$$

(3) น้ำหนักแห้งของต้นกล้า นำต้นกล้าปกติจากข้อ (2) แต่ละซ้ำ แยกเอาอาหารสะสมออกให้เหลือเฉพาะส่วนลำต้น ใส่ถ้วยสแตนเลสไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 80°C. เป็นเวลา 24 ชม. (AOSA, 1983) ชั่งหาน้ำหนักแห้งของต้นกล้า แล้วคำนวณน้ำหนักแห้งของต้นกล้าต่อต้น จากสูตร

$$\text{น้ำหนักแห้งของต้นกล้าต่อต้น} = \frac{\text{ผลรวมของน้ำหนักแห้งของต้นกล้าปกติ}}{\text{จำนวนต้นกล้าปกติ}}$$

(4) การเร่งอายุเพื่อหาความแข็งแรง นำเมล็ดพันธุ์มาเร่งอายุตามคู่มือการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ (AOSA, 1983) จำนวน 50 เมล็ด x 4 ซ้ำ โดยใส่ในตะแกรงวางในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ 100% ที่อุณหภูมิ 42°C. เป็นเวลา 96 ชม. คลุมด้วยกระดาษเพื่อป้องกันน้ำหยดลงบนเมล็ดพันธุ์ เมื่อครบกำหนด นำเมล็ดพันธุ์มาเพาะความงอกมาตรฐาน

### 3.2 การทำให้เมล็ดพันธุ์มีคุณภาพต่างกัน

3.2.1 เมล็ดพันธุ์คุณภาพสูง ใช้เมล็ดพันธุ์ที่บรรจุถุงพลาสติก เก็บในกล่องโฟมในห้องเย็นที่อุณหภูมิ 10°C.

3.2.2 เมล็ดพันธุ์คุณภาพปานกลางและต่ำ โดย

(1) การเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ให้มีคุณภาพปานกลางและต่ำในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ความชื้นสัมพัทธ์ 100% โดยพันธุ์นครสวรรค์ 1 เร่งอายุที่อุณหภูมิ 43°C. นาน 72 ชม. และที่อุณหภูมิ 44°C. นาน 96 ชม. และพันธุ์นครสวรรค์ 72 เร่งอายุที่อุณหภูมิ 42°C. นาน 72 และ 96 ชม.

(2) การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ให้มีคุณภาพปานกลางและต่ำโดยเก็บในถุงกระดาษในกล่องโฟมที่อุณหภูมิห้อง โดยพันธุ์นครสวรรค์ 1 เก็บรักษานาน 6 และ 9 เดือน ส่วนพันธุ์นครสวรรค์ 72 เก็บรักษานาน 3 และ 6 เดือน

### 3.3 การทดสอบความงอกในสภาวะจำกัดน้ำ

3.3.1 การหาความชื้นของดิน

นำดินที่ใช้ในการทดสอบ ตากให้แห้งแล้วหุบให้ละเอียด สุ่มตัวอย่างดิน 50 กรัม X 4 ซ้ำ ชั่งน้ำหนัก แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 105°C. เป็นเวลา 24 ชม. ชั่งน้ำหนัก คำนวณความชื้นของดินตามสูตร

$$\text{ความชื้นของดิน (\%)} = \left\{ \frac{\text{น้ำหนักดินก่อนอบ} - \text{น้ำหนักดินหลังอบ}}{\text{น้ำหนักดินหลังอบ}} \right\} \times 100$$

3.3.2 การหาความจุความชื้นของดิน

สุ่มดินที่ใช้ในการทดสอบ 1,000 กรัม ใส่ตะกร้าพลาสติกขนาด 26x30x8 ซม. ที่รองด้วยกระดาษ เติมน้ำจนไหลออก คลุมด้านบนด้วยกระดาษที่เปียกชื้นเพื่อป้องกันการระเหยของน้ำทิ้งไว้ 24 ชม. สุ่มตัวอย่างดิน 50 กรัม X 4 ซ้ำ อบและชั่งน้ำหนักดินหลังอบ คำนวณความชื้นตามวิธีการในข้อ 3.3.1 เป็นความชื้นที่ระดับความจุความชื้นของดิน

### 3.3.3 การเพาะเมล็ดพันธุ์ในสภาวะจำกัดน้ำ

เพาะเมล็ดพันธุ์ทุกคุณภาพจากทั้งการเร่งอายุและการเก็บรักษา ในดินปริมาณ 2,000 กรัม ในตะกร้าพลาสติกขนาด 26x30x8 ซม. ที่รองด้วยกระดาษ จำนวน 50 เมล็ด x 4 ซ้ำ คำนวณหาปริมาณน้ำที่เติมลงในดินตามวิธีการเพาะเมล็ดพันธุ์ในสภาพหนาว (ISTA, 1987) ดินมีความจุความชื้นดิน 34.77% แล้วให้น้ำ 70% ของความจุความชื้นดิน 4 ความถี่คือทุกวัน ทุก 2 วัน ทุก 3 วัน และวันเดียวในวันที่เพาะเมล็ด

ประเมินความงอกตามกฎของสมาคมนักทดสอบเมล็ดพันธุ์ (AOSA, 1981) ทุกวัน ในช่วงอายุ 4-7 วัน คำนวณความงอก และดัชนีความเร็วในการงอก วัดความสูงจากโคนต้นถึงปลายยอดของต้นกล้าปกติที่อายุ 7 วัน คำนวณความสูงของต้นกล้าต่อต้นตามสูตรในข้อ 3.1.2 (2) และตัดต้นกล้าปกติที่ระดับคอดินนำไปอบที่อุณหภูมิ 80°C. เป็นเวลา 24 ชม. (AOSA, 1983) และคำนวณน้ำหนักแห้งของต้นกล้าต่อต้นตามสูตรในข้อ 3.1.2 (3)

### 3.4 การเพาะเมล็ดพันธุ์ในสภาวะน้ำท่วมขัง

เพาะเมล็ดพันธุ์ทุกคุณภาพในดิน 1,000 กรัม ในตะกร้าพลาสติกขนาด 20x26x6 ซม. เช่นเดียวกับการทดสอบความงอกในสภาวะจำกัดน้ำ จำนวน 50 เมล็ด x 4 ซ้ำ นำไปวางในถาดรองน้ำ ให้น้ำท่วมขังสูงประมาณ 1 ซม. จากผิวดินนาน 5 15 และ 25 ซม. แล้วนำไปเพาะต่อที่อุณหภูมิห้อง เปรียบเทียบกับการเพาะโดยไม่มีน้ำท่วมขัง

ประเมินความงอกเช่นเดียวกับการเพาะในสภาวะจำกัดน้ำ

### 3.5 การงอกของเมล็ดพันธุ์ในแปลงปลูกในสภาวะแล้ง

เนื่องจากการทดสอบในสภาวะแล้งประสบปัญหาฝนตกหนักในช่วงการทดลองในเดือนมกราคมถึงเดือนมีนาคม 2543 ทำให้เมล็ดพันธุ์ที่เก็บรักษาซึ่งจะนำไปปลูกทดสอบในช่วงดังกล่าวเสื่อมคุณภาพไป จึงใช้เมล็ดพันธุ์มีคุณภาพต่างกันโดยการเร่งอายุ ตามวิธีการข้อ 3.2.2 (1) ทำการทดลองในเดือนสิงหาคม ปลูกเปรียบเทียบกับเมล็ดพันธุ์ที่เก็บรักษาในห้องเย็น ในแปลงขนาด 5 x 2.5 ม. ระยะปลูก 50 x 20 ซม. หยอด 1 เมล็ดต่อหลุม จำนวน 50 เมล็ด x 4 ซ้ำ โดยให้น้ำทุกวัน และวันเดียวในวันเพาะ

ประเมินความงอกเช่นเดียวกับการเพาะในสภาวะจำกัดน้ำในห้องปฏิบัติการ

### 3.6 การงอกของเมล็ดพันธุ์ในแปลงปลูกในฤดูฝน

นำเมล็ดพันธุ์ที่เก็บรักษาในห้องเย็น ทอยออกมาเก็บรักษาให้มีอายุตามข้อ 3.2.2 (2) เพื่อให้มีเมล็ดพันธุ์คุณภาพปานกลางและต่ำในเดือนธันวาคม ทำการปลูกพร้อมกับเมล็ดพันธุ์ที่เก็บรักษาในห้องเย็น ในแปลงขนาด 5 x 2.5 ม. ระยะปลูก 50 x 20 ซม. หยอด 1 เมล็ดต่อหลุม จำนวน 50 เมล็ด x 4 ซ้ำ

ประเมินความงอกเช่นเดียวกับการเพาะในสภาวะน้ำท่วมขังในห้องปฏิบัติการ

### 3.7 การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลเพื่อเปรียบเทียบผลการทดลอง ใช้แผนการทดลอง Completely Randomized Design และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)