

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

วิธีดำเนินการ

การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญ และการออกดอกของกล้วยไม้พันธุ์เหลืองจันทร์บูร

การวางแผนการทดลอง

นำต้นกล้วยไม้เหลืองจันทร์บูรเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS เติมน้ำตาล ซูโครส 3 เปอร์เซ็นต์ เพาะเลี้ยงบนอาหารในขวดขนาด 8 ออนซ์ ซึ่งบรรจุอาหารปริมาตร 25 มิลลิลิตร เพาะเลี้ยงขวดละ 1 ชิ้น ทำ 3 ซ้ำๆ ละ 20 ขวด ที่อุณหภูมิ 26 ± 2 องศาเซลเซียส ความเข้มแสง 1,600 ลักซ์ ให้แสง 14 ชั่วโมงต่อวัน หลังเพาะเลี้ยงนาน 3 เดือน บันทึกอัตราการเพิ่มจำนวน ยอดรวม ความสูงของต้น จำนวนใบ ความยาวใบจำนวนราก ความยาวราก และเปอร์เซ็นต์การออกดอก ในแต่ละสิ่งทดลองเปรียบเทียบกันโดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD (Completely randomized design) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (Duncan's multiple range test)

1. ผลของสูตรอาหารเพาะเลี้ยง

นำต้นกล้วยไม้เหลืองจันทร์บูรที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 3 เดือน ไปเลี้ยงเปรียบเทียบในอาหารสูตร MS และ VW หลังเพาะเลี้ยงนาน 3 เดือน บันทึกผลการทดลอง ในแต่ละสิ่งทดลองเปรียบเทียบกันโดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

2. ผลของสารอินทรีย์ในอาหารเพาะเลี้ยง

นำต้นกล้วยไม้เหลืองจันทบูรที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 3 เดือน ไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่แปรผันความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่ 2.0 2.5 3.0 3.5 หรือ 4.0 เท่า ของสูตรปกติ หลังเพาะเลี้ยงนาน 3 เดือน บันทึกผลการทดลอง ในแต่ละสิ่งทดลองเปรียบเทียบกันโดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

3. ผลของชนิดสารควบคุมการเจริญเติบโต และการตัดแปลงสูตรอาหารสังเคราะห์

นำต้นกล้วยไม้เหลืองจันทบูรที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 3 เดือน ไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติม GA_3 ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ SPD 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือ อาหารสังเคราะห์สูตร MS ที่ลด NH_4NO_3 ลงครึ่งหนึ่ง ปราศจากสารควบคุมการเจริญเติบโต หลังเพาะเลี้ยงนาน 3 เดือน บันทึกผลการทดลองในแต่ละสิ่งทดลองเปรียบเทียบกันโดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

4. ผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต

นำต้นกล้วยไม้เหลืองจันทบูรที่ได้จากการเพาะเลี้ยงบนอาหารสูตร MS เป็นเวลา 3 เดือน ไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติม BA เพียงอย่างเดียว ความเข้มข้น 2 4 6 8 หรือ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ หรือเติม BA ความเข้มข้น 2 4 6 8 หรือ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ร่วมกับ NAA ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงนาน 3 เดือน บันทึกผลการทดลองในแต่ละสิ่งทดลองเปรียบเทียบกันโดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

5. ผลของสารชะลอการเจริญเติบโต PBZ

นำต้นกล้วยไม้เหลืองจันทบูร ไปเลี้ยงในอาหารสูตร MS เติม PBZ ความเข้มข้น 0.025 0.050 0.075 และ 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังเพาะเลี้ยงนาน 3 เดือน บันทึกผลการทดลองใน แต่ละสิ่งทดลองเปรียบเทียบกันโดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

วัสดุและอุปกรณ์

1. วัสดุ

1.1 วัสดุพืช

ในการศึกษานี้ใช้ต้นกล้วยไม้เหลืองจันทร์ ที่เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์สูตร MS (รายละเอียดขององค์ประกอบแสดงใน ตารางภาคผนวกที่ 1) เป็นระยะเวลา 3 เดือน

1.2 สารเคมี

- สารเคมีที่ใช้เตรียมธาตุอาหารหลัก และธาตุอาหารรองของอาหารสูตร MS
- สารเคมีที่ใช้เตรียมธาตุอาหารหลัก และธาตุอาหารรองของอาหารสูตร VW (รายละเอียดขององค์ประกอบแสดงใน ตารางภาคผนวกที่ 2)
- น้ำตาลซูโครส, ู้น Phytigel
- สารควบคุมการเจริญเติบโต GA₃, BA, NAA, SPD และ PBZ
- สารละลายปรับ pH คือ HCl หรือ KOH

2. อุปกรณ์การทดลอง

2.1 เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

- เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH)
- เครื่องคนสารละลายพร้อมแท่งแม่เหล็ก
- เครื่องชั่งทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง
- หม้อนึ่งความดันไอ
- ตู้อบแห้ง
- ตู้อบไมโครเวฟ
- เครื่องแก้วที่ใช้ในการทดลอง เช่น ไปเปิด กระบอกตวง ขวดปรับปริมาตร บีกเกอร์ พลาสติก

- ไมโครไปเปิด พร้อมทึบนิ่งฆ่าเชื้อ
- ตู้เย็น และตู้แช่แข็ง

2.2 เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ในตู้เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

- ตู้ย้ายเลี้ยงเนื้อเยื่อพีช
- พาราฟิล์ม
- ปากคีบ
- ค้ามมิด และใบมิดผ่าตัด
- กระดาษชำระ
- แอลกอฮอล์ 70 และ 90 เปอร์เซ็นต์
- จานเพาะเลี้ยงขนาด 10 เซนติเมตร