

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

1. วัสดุ

1.1 วัสดุพืช

1.1.1 ต้นลองกอง อายุ 14 ปี จำนวน 20 ต้น

1.2 สารเคมี

1.2.1 กรดซัลฟิวริก

1.2.2 กรดเปอร์คลอริก

1.2.3 กรดซาลิไซลิก

1.2.4 กรดบอริก

1.2.5 โซเดียมไฮดรอกไซด์

1.2.6 โซเดียมไทโอซัลเฟต

1.2.7 บรอมโมกาลีเซอรอลกรีน

1.2.8 เอทานอล

1.2.9 ฟีนอล์ฟทาลีน

1.2.10 กลูโคส

1.2.11 แอนโทรน

1.2.12 เมธิลเรด

1.2.13 พาโคลบิวทราโซล

1.2.14 ไทโอยูเรีย

1.2.15 โพแทสเซียมไนเตรด

1.2.16 สารป้องกันกำจัดเชื้อรา (อาลีเอท®)

1.2.17 ปุ๋ยเคมีสูตร 15 – 15 – 15 สูตร 8 – 24 – 24 และสูตร 13 – 13 – 21

1.3 พลาสติกใส

1.4 ปากกาเขียนแผ่นใส

1.5 กระสอบป่าน

- 1.6 ถูบอบ และเก็บตัวอย่างพืช
- 1.7 ป้ายเครื่องหมาย และไหม
- 1.8 กระดาษกรองเบอร์ 1
- 1.9 ปู่ยอินทรีย์

2. อุปกรณ์

- 2.1 กระจกบอกลีด
- 2.2 กระจกบอกลง ปิเปต และบิวเรต
- 2.3 บีกเกอร์ ขวดรูปชมพู่ ขวดปรับปริมาตร แท่งแก้ว
- 2.4 หลอดทดลอง และคีมเวท
- 2.5 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง
- 2.6 หลอดย่อยตัวอย่าง (Kjeldahl tube) ขนาด 100 มิลลิลิตร
- 2.7 เตาย่อยตัวอย่าง (Digestion block)
- 2.8 เครื่องกลั่นไนโตรเจน (Nitrogen distillation apparatus)
- 2.9 ดิสเพนเซอร์ (Dispenser) ขนาด 5 มิลลิลิตร
- 2.10 ตู้อบตัวอย่าง
- 2.11 โกร่งบด และเครื่องบดตัวอย่าง
- 2.12 เตาไฟฟ้า
- 2.13 เครื่องมือวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Hand Refractometer)
- 2.14 เครื่องชั่ง
- 2.15 กรรไกรตัดกิ่ง และมีดคัตเตอร์
- 2.16 ไม้เมตร สายวัด และเวอร์เนีย
- 2.17 ตะกร้า
- 2.18 บันได

3. วิธีการ

3.1 ศึกษาผลการใช้สารพอลิเมอร์ชีวภาพ ร่วมกับการควั่นกิ่งต่อการออกดอกของ ลองกอง

3.1.1 การเตรียมต้น เลือกต้นลองกองที่มีอายุ 14 ปี ที่มีขนาด และความสมบูรณ์ใกล้เคียงกัน จำนวน 6 ต้น ในแปลงทดลองภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ทำการตัดแต่งกิ่ง ใส่ปุ๋ยอินทรีย์อัตรา 2 กิโลกรัมต่อต้น จากนั้นทำการราดสารพอลิเมอร์ชีวภาพ 4 กรัมต่อต้น จำนวน 3 ต้น ในเดือนธันวาคม และไม่ราดสารพอลิเมอร์ชีวภาพ จำนวน 3 ต้น และใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 8 – 24 – 24 อัตรา 1 กิโลกรัมต่อต้น (เดือนกุมภาพันธ์) และใส่ปุ๋ยสูตร 13 – 13 – 21 อัตรา 2 กิโลกรัมต่อต้น (ช่วงที่มีการพัฒนาของผล)

3.1.2 การควั่นกิ่ง เลือกกิ่งลองกองที่มีขนาดใกล้เคียงกัน ควั่นกิ่งให้แผลมีความกว้างประมาณ 2 – 3 มิลลิเมตร โดยห่างจากโคนกิ่งประมาณ 10 เซนติเมตร วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) แบ่งเป็น 4 ทรีตเมนต์ (กิ่ง) 3 ซ้ำ (ต้น) ดังนี้

ทรีตเมนต์ที่ 1 ไม่ราดสารพอลิเมอร์ชีวภาพ+ไม่ควั่นกิ่ง(ชุดควบคุม)

ทรีตเมนต์ที่ 2 ราดสารพอลิเมอร์ชีวภาพ+ไม่ควั่นกิ่ง

ทรีตเมนต์ที่ 3 ราดสารพอลิเมอร์ชีวภาพ+ควั่นกิ่ง 2 เดือน ก่อนการออกดอก (เดือนมกราคม)

ทรีตเมนต์ที่ 4 ราดสารพอลิเมอร์ชีวภาพ+ควั่นกิ่ง 1 เดือน ก่อนการออกดอก (เดือนกุมภาพันธ์)

3.1.3 การเก็บข้อมูล

1. ข้อมูลสภาพอากาศ ได้แก่ อุณหภูมิสูงสุด - ต่ำสุด ปริมาณน้ำฝน และค่าการระเหยของน้ำ จากสถานีอากาศเกษตรคองหงส์ ศูนย์วิจัยยางสงขลา อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา โดยเก็บข้อมูลตลอดการทดลอง

2. การเจริญเติบโตของรากในแนวระนาบ โดยทำการเปิดหน้าดินขนาด 30 x 30 ตารางเซนติเมตร บริเวณกึ่งกลางทรงพุ่ม ลึกประมาณ 5 เซนติเมตร วางกระสอบป่านปิดทับไว้ ทำการวัดการเจริญเติบโตของราก ในช่วงทำการทดลอง (เดือนมกราคมถึงเดือน

กรกฎาคม) ทุก 2 เดือน โดยวาดรากที่เกิดขึ้นด้วยปากกาเขียนแผ่นใสชนิดถาวร นำมาเปรียบเทียบกับตารางมาตรฐาน เพื่อบันทึกจุดตัดของราก และนำค่าที่ได้มาคำนวณหาความยาวรากโดยใช้วิธีของ Tennant (1975) ดังนี้

$$L = 11 / 14 NX$$

โดยกำหนดให้

$$L = \text{ความยาวราก}$$

$$N = \text{จำนวนจุดตัดที่นับได้จากตารางมาตรฐาน}$$

$$X = \text{ขนาดตารางมาตรฐาน (1 ตารางเซนติเมตร)}$$

3. เปอร์เซ็นต์การแตกตาดอก โดยนับจำนวนตาดอกที่เกิดขึ้นใหม่ในพื้นที่ 1 เมตรของความยาวกิ่ง ซึ่งห่างจากโคนกิ่ง 10 เซนติเมตร ก่อนการให้ทริตเมนต์ 2 ครั้ง และหลังการให้ทริตเมนต์ 4 ครั้ง เป็นระยะเวลา 2 เดือน (ทุก 2 สัปดาห์) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การแตกตาดอก โดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์การแตกตาดอก (\%)} = \frac{\text{จำนวนตาดอกที่แตกใหม่}}{\text{จำนวนตาดอกทั้งหมด}} \times 100$$

4. ปริมาณคาร์โบไฮเดรตสะสมในใบ โดยเก็บตัวอย่างใบลองกอง จำนวน 10 ใบต่อกิ่ง 3 ครั้ง เดือนละ 1 ครั้ง (เดือนมกราคมถึงเดือนมีนาคม) นำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดให้ละเอียด และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยวิธี Clegg Anthrone method (Osborne and Voogt, 1978) นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดยใช้สูตร

$$\text{ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (mg. Glucose / gm. dry wt.)} = (25 \times b) / (a \times w)$$

$$a = \text{ค่าดูดกลืนแสงของกลูโคสเจือจาง}$$

$$b = \text{ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่างพืช}$$

$$w = \text{น้ำหนักตัวอย่างพืช}$$

5. ปริมาณคาร์โบไฮเดรตสะสมในเปลือกกิ่ง โดยเก็บตัวอย่างเปลือกกิ่งลองกองขนาด 1 – 1.5 ตารางเซนติเมตร 3 ครั้ง เดือนละ 1 ครั้ง (เดือนมกราคมถึงเดือนมีนาคม) จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปทำเช่นเดียวกับวิธีการ 3.1.3 ข้อ 4.

6. นำตัวอย่างใบ และเปลือกกิ่งล่องกองจากข้อ 4. และ 5. มาทำการวิเคราะห์ธาตุอาหารสะสม โดยการย่อยด้วยกรดซัลฟิวริก นำสารละลายไปวิเคราะห์ไนโตรเจน โดยวิธีการกลั่น (จำเป็น, 2547) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาไนโตรเจน และสัดส่วนคาร์โบไฮเดรต และไนโตรเจน (C : N ratio)

7. วิเคราะห์คุณภาพผลผลิต โดยทำการหาน้ำหนักช่อผล จำนวนผลต่อช่อ ขนาดผล ความตึงผิวผล ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ โดย

- ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Total Soluble Solids : TSS) โดยนำน้ำคั้นจากผลล่องกองมาทำการวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ด้วยเครื่องมือที่เรียกว่า “Hand Refractometer”

- ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (Titratable Acidity : TA) โดยนำน้ำคั้นจากผลล่องกองมาทำการไทเทรตด้วยสารละลายด่างมาตรฐาน โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล (N) โดยมีสารละลายฟีนอล์ฟทาลิน ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นอินดิเคเตอร์ นำค่าที่ได้มาคำนวณปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ โดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดที่ไทเทรตได้ (\%)} = \frac{\text{N base} \times \text{ml. base} \times \text{meq. wt. ของกรดซิติริก}}{\text{ml. ของน้ำคั้นที่ใช้}} \times 100$$

N base = ความเข้มข้นของสารละลายด่างมาตรฐาน

ml. base = จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายด่างมาตรฐาน

meq. wt. ของกรดซิติริก = 0.06404

8. วิเคราะห์ผลการทดลอง โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT)

3.2 ศึกษาผลการใช้สารพาคโลบิวทราโซล ร่วมกับการใช้โพแทสเซียมในเตรต และ/หรือไทโอยูเรีย ต่อการออกดอกของลองกอง

3.2.1 การเตรียมต้น เลือกต้นลองกองที่มีอายุ 14 ปี ที่มีขนาด และความสมบูรณ์ใกล้เคียงกัน จำนวน 3 ต้น ในแปลงทดลองภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ทำการตัดแต่งกิ่ง ใส่ปุ๋ยอินทรีย์อัตรา 2 กิโลกรัมต่อต้น จากนั้นทำการราดสารพาคโลบิวทราโซล 4 กรัมต่อต้น จำนวน 3 ต้น ในเดือนธันวาคม และใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 8 - 24 - 24 อัตรา 1 กิโลกรัมต่อต้น (เดือนกุมภาพันธ์) และใส่ปุ๋ยสูตร 13 - 13 - 21 อัตรา 2 กิโลกรัมต่อต้น (ช่วงที่มีการพัฒนาของผล)

3.2.2 การฉีดพ่นสาร ฉีดพ่นสารบริเวณกลุ่มตาดอกในพื้นที่ 1 เมตรของความยาวกิ่ง ซึ่งห่างจากโคนกิ่ง 10 เซนติเมตร หลังการราดสารพาคโลบิวทราโซล 60 วัน โดยฉีดพ่นสาร 2 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 20 วัน วางแผนการทดลองแบบ RCBD แบ่งเป็น 4 ทรีตเมนต์ (กิ่ง) 3 ซ้ำ (ต้น) ดังนี้

ทรีตเมนต์ที่ 1 ไม่ราดสารพาคโลบิวทราโซล+ไม่ฉีดพ่นสาร (ชุดควบคุม)

ทรีตเมนต์ที่ 2 ราดสารพาคโลบิวทราโซล+ไม่ฉีดพ่นสาร

ทรีตเมนต์ที่ 3 ราดสารพาคโลบิวทราโซล+โพแทสเซียมในเตรต 15 กรัม

ต่อลิตร

ทรีตเมนต์ที่ 4 ราดสารพาคโลบิวทราโซล+ไทโอยูเรีย 3 กรัมต่อลิตร

3.2.3 การเก็บข้อมูล

1. เพอร์เซ็นต์การแตกตาดอก โดยนับจำนวนตาดอกที่เกิดขึ้นใหม่ในพื้นที่ 1 เมตรของความยาวกิ่ง ซึ่งห่างจากโคนกิ่ง 10 เซนติเมตร ก่อนการให้ทรีตเมนต์ 2 ครั้ง และหลังการให้ทรีตเมนต์ 4 ครั้ง เป็นระยะเวลา 2 เดือน (ทุก 2 สัปดาห์) จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การแตกตาดอกเช่นเดียวกับข้อ 3. ใน 3.1.3

2. ปริมาณคาร์โบไฮเดรตสะสมในใบ โดยเก็บตัวอย่างใบลองกอง จำนวน 10 ใบต่อกิ่ง 3 ครั้ง เดือนละ 1 ครั้ง (เดือนมกราคมถึงเดือนมีนาคม) จากนั้นทำเช่นเดียวกับข้อ 4. ใน 3.1.3

3. ปริมาณคาร์โบไฮเดรตสะสมในเปลือกกิ่ง โดยเก็บตัวอย่างเปลือกกิ่ง
ลองกองขนาด 1– 1.5 ตารางเซนติเมตร 3 ครั้ง เดือนละ 1 ครั้ง (เดือนมกราคมถึงเดือนมีนาคม) จากนั้นนำ
ตัวอย่างที่ได้ไปทำเช่นเดียวกับ ข้อ 5. ใน 3.1.3
4. นำตัวอย่างใบ และเปลือกกิ่งลองกองจากข้อ 2. และ 3. มาทำการ
วิเคราะห์ธาตุอาหารสะสม เช่นเดียวกับข้อ 6. ใน 3.1.3
5. วิเคราะห์คุณภาพผลผลิต ทำเช่นเดียวกับข้อ 7. ใน 3.1.3
6. วิเคราะห์ผลการทดลอง โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ และเปรียบเทียบ
ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT

3.3 ศึกษาผลการใช้สารพาคโลบิวทราโซล ร่วมกับการควั่นกิ่ง การใช้โพแทสเซียมไนเตรต และ/หรือไทโอยูเรียต่อการออกดอกของลองกอง

3.3.1 การเตรียมต้น เลือกต้นลองกองที่มีอายุ 14 ปี ที่มีขนาดและความสมบูรณ์ใกล้เคียงกัน จำนวน 11 ต้น ในแปลงทดลองภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ทำการตัดแต่งกิ่ง ใส่ปุ๋ยอินทรีย์อัตรา 2 กิโลกรัมต่อต้น และใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 8 – 24 – 24 อัตรา 1 กิโลกรัมต่อต้น (เดือนกุมภาพันธ์) และใส่ปุ๋ยสูตร 13 – 13 – 21 อัตรา 2 กิโลกรัมต่อต้น (ช่วงที่มีการพัฒนาของผล)

3.3.2 การควั่นกิ่ง และการฉีดพ่นสาร โดยทำการควั่นกิ่งเช่นเดียวกับวิธีการข้อ 3.1.2 และทำการฉีดพ่นสารเช่นเดียวกับวิธีการข้อ 3.2.2 วางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล (Factorial) 2 ปัจจัย จัดทรีตเมนต์แบบ RCBD แต่ละทรีตเมนต์ทำ 3 ซ้ำ ประกอบด้วย

ปัจจัยที่ 1 การใช้สารพาคโลบิวทราโซล มี 2 ระดับ คือ

- 1 การไม่ราดสารพาคโลบิวทราโซล
- 2 การราดสารพาคโลบิวทราโซล

ปัจจัยที่ 2 การควั่นกิ่ง ร่วมกับการใช้โพแทสเซียมไนเตรต และ/หรือไทโอยูเรีย มี 6 ระดับ คือ

- 1 ไม่ควั่นกิ่ง+ไม่ฉีดพ่นสาร (ชุดควบคุม)
- 2 ควั่นกิ่ง 2 เดือน ก่อนการออกดอก+ไม่ฉีดพ่นสาร
- 3 ไม่ควั่นกิ่ง+ฉีดพ่นโพแทสเซียมไนเตรต 15 กรัมต่อลิตร
- 4 ควั่นกิ่ง 2 เดือน ก่อนการออกดอก+ฉีดพ่นโพแทสเซียมไนเตรต 15 กรัมต่อลิตร
- 5 ไม่ควั่นกิ่ง+ฉีดพ่นไทโอยูเรีย 3 กรัมต่อลิตร
- 6 ควั่นกิ่ง 2 เดือน ก่อนการออกดอก+ฉีดพ่นไทโอยูเรีย 3 กรัมต่อลิตร

3.3.3 การเก็บข้อมูล ทำการเก็บข้อมูล และวิเคราะห์ผลการทดลองเช่นเดียวกับในข้อ 3.2.3