

## บทที่ 3

### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

#### 3.1 สถานที่และระยะเวลาการทำการทดลอง

- 1) ห้องปฏิบัติการเมล็ดพันธุ์ ภาควิชาพืชศาสตร์และปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- 2) สถาบันวิจัยเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว/ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
- 3) สถานีทดลองยาสูบแม่โจ้ โรงงานยาสูบ กระทรวงการคลัง
- 4) ระยะเวลาทำการทดลองตั้งแต่เดือน มกราคม ถึงเดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2558

#### 3.2 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- 1) เมล็ดพันธุ์ยาสูบเวอร์ยีนีเยบ่มไอร้อน (flue-cured) พันธุ์ K326 จากสถานีทดลองยาสูบแม่โจ้ โรงงานยาสูบ กระทรวงการคลัง
- 2) ทัลคัม (talcum) จาก หจก.นอร์ทเทอร์นเคมิคัล แอนด์ กลาสแวร์
- 3) คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose, CMC) เดกซ์ทริน (dextrin) จาก หจก.นอร์ทเทอร์นเคมิคัล แอนด์ กลาสแวร์
- 4) เพอริเดียม (Peridiam ECO RED<sup>®</sup>) จากบริษัท ไบเออร์ไทย จำกัด
- 5) non-ionic polyacrylamide, PAM จากบริษัท ยูเนียน ซาชน จำกัด
- 6) ตู้อบลมร้อนไฟฟ้า (hot-air oven) (Contherm Scientific Company, New Zealand)
- 7) ตู้เพาะเมล็ดพันธุ์ (growth chamber) (Termaks, Norway)
- 8) เครื่อง Shaking IKA<sup>®</sup> รุ่น KS 260 basic (IKA<sup>®</sup>-Werke GmbH & CO. KG, Germany)
- 9) เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (texture analyser) รุ่น TA. Xtplus (Texture Technologies Corp and by Stable Micro System, Ltd., United States of America)

- 10) กล้องสเตอริโอไมโครสโคป (microscope stereo digital) Meji รุ่น EMZ-8TRD (Meiji Technoco., LTD., Japan)
- 11) กล้องสเตอริโอไมโครสโคป (stereoscopic microscope) Nikon รุ่น SMZ 645 (Nikon Corporation, Japan)

### 3.3 การเตรียมวัตถุดิบและการพอกเมล็ดพันธุ์

#### 3.3.1 การเตรียมวัตถุดิบ

##### เมล็ดพันธุ์

เมล็ดพันธุ์ยาสูบที่ใช้ในการทดลอง จะต้องผ่านการทำความสะอาด และทำการคัดขนาดเมล็ดพันธุ์ด้วยตะแกรงร่อนขนาด 425 ไมโครเมตร ( $\mu\text{m}$ ) จากนั้นเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้ในถุงปิดสนิท ในตู้เก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ( $^{\circ}\text{C}$ ) จนกระทั่งทำการทดลอง

##### วัสดุพอก

วัสดุพอกที่ใช้ในการทดลอง คือ ทัลคัม

##### วัสดุประสาน

วัสดุประสานที่ใช้ในการทดลองประกอบด้วย

- 1) non-ionic polyacrylamide (PAM)
- 2) คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose, CMC)
- 3) เดกซ์ทริน (dextrin)
- 4) เพอริเดียม (Peridiam ECO RED<sup>®</sup>) ซือการคำ

วัสดุประสานที่ใช้จะถูกเตรียมให้อยู่ในรูปของเหลวในอัตราที่แตกต่างกัน เพื่อใช้เป็นการกาวในการยึดวัสดุพอกให้ติดกับผิวของเมล็ดพันธุ์

#### 3.3.2 การพอกเมล็ดพันธุ์

การพอกเมล็ดพันธุ์ยาสูบ ใช้สัดส่วนเมล็ดพันธุ์ 1 กรัม:วัสดุพอก 103 กรัม:วัสดุประสาน 9 มิลลิลิตร แล้วทำการเขย่าเมล็ดพันธุ์แล้วเติมวัสดุพอกและวัสดุประสานสลับกันเป็นชั้น ๆ จนกระทั่งเมล็ดพันธุ์ยาสูบมีขนาดใหญ่แล้วทำการคัดขนาดด้วยตะแกรงร่อน โดยคัดเอาเมล็ดพันธุ์ที่มีขนาดในช่วง 2.00-2.36 มิลลิเมตร (เป็นขนาดที่สะดวกต่อการหยิบจับและไม่กระทบต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์) จากนั้นนำเมล็ดพันธุ์ไปลดความชื้นในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40  $^{\circ}\text{C}$  นาน 18 ชั่วโมง แล้วทำการเก็บรักษาไว้ในภาชนะปิดสนิทที่อุณหภูมิห้อง เพื่อทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์มาทดสอบต่อไป

### 3.4 การวางแผนการทดลอง

#### การทดลองที่ 3.4.1 หาคความเข้มข้นของวัสดุประสานที่เหมาะสมในการพอกเมล็ดพันธุ์ยาสูบ

วางแผนการทดลองแบบ CRD (complete randomized design) จำนวน 4 ซ้ำ เพื่อหาคความเข้มข้นที่เหมาะสมในการพอกเมล็ดพันธุ์ โดยเตรียมสารละลายของวัสดุประสาน 3 ชนิด ได้แก่ คาร์บอซิมิลเซลลูโลส เดกซ์ทริน และเพอริเดียมที่ความเข้มข้นแตกต่างกัน 8 ระดับ ทั้งหมด 24 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยคาร์บอซิมิลเซลลูโลส 0.03% (w/v)

กรรมวิธีที่ 2 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยคาร์บอซิมิลเซลลูโลส 0.05% (w/v)

กรรมวิธีที่ 3 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยคาร์บอซิมิลเซลลูโลส 0.07% (w/v)

กรรมวิธีที่ 4 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยคาร์บอซิมิลเซลลูโลส 0.09% (w/v)

กรรมวิธีที่ 5 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยคาร์บอซิมิลเซลลูโลส 0.10% (w/v)

กรรมวิธีที่ 6 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยคาร์บอซิมิลเซลลูโลส 0.15% (w/v)

กรรมวิธีที่ 7 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยคาร์บอซิมิลเซลลูโลส 0.20% (w/v)

กรรมวิธีที่ 8 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยคาร์บอซิมิลเซลลูโลส 0.25% (w/v)

กรรมวิธีที่ 9 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเดกซ์ทริน 0.03% (w/v)

กรรมวิธีที่ 10 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเดกซ์ทริน 0.05% (w/v)

กรรมวิธีที่ 11 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเดกซ์ทริน 0.07% (w/v)

กรรมวิธีที่ 12 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเดกซ์ทริน 0.09% (w/v)

กรรมวิธีที่ 13 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเดกซ์ทริน 0.10% (w/v)

กรรมวิธีที่ 14 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเดกซ์ทริน 0.15% (w/v)

กรรมวิธีที่ 15 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเดกซ์ทริน 0.20% (w/v)

กรรมวิธีที่ 16 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเดกซ์ทริน 0.25% (w/v)

กรรมวิธีที่ 17 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเพอริเดียม 0.03% (v/v)

กรรมวิธีที่ 18 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเพอริเดียม 0.05% (v/v)

กรรมวิธีที่ 19 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเพอริเดียม 0.07% (v/v)

กรรมวิธีที่ 20 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเพอริเดียม 0.09% (v/v)

กรรมวิธีที่ 21 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเพอริเดียม 0.10% (v/v)

กรรมวิธีที่ 22 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเพอริเดียม 0.15% (v/v)

กรรมวิธีที่ 23 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเพอริเดียม 0.20% (v/v)

กรรมวิธีที่ 24 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเพอริเดียม 0.25% (v/v)

ทำการทดสอบความงอก และดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์ เพื่อตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ ก่อนที่จะนำไปเพาะปลูก เมล็ดพันธุ์ที่มีค่าดัชนีการงอกสูง หมายถึงเมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงกว่า เมล็ดพันธุ์ที่มีดัชนีการงอกต่ำ (จวงจันทร, 2529) จากนั้นคัดเลือกความเข้มข้นของวัสดุประสานชนิด ละ 4 ระดับ เพื่อนำไปใช้ในการทดลองที่ 3.4.2 และ 3.4.3

### การทดลองที่ 3.4.2 การทดสอบลักษณะทางกายภาพของเมล็ดพันธุ์ยาสูบพอก

วางแผนการทดลองแบบ CRD จำนวน 3 ซ้ำ เพื่อทดสอบลักษณะทางกายภาพของเมล็ดพันธุ์ พอก ทั้งหมด 14 กรรมวิธี ดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 เมล็ดพันธุ์ยาสูบที่ไม่ได้พอก
- กรรมวิธีที่ 2 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วย PAM 0.15% (w/v)
- กรรมวิธีที่ 3 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส 0.03% (w/v)
- กรรมวิธีที่ 4 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส 0.05% (w/v)
- กรรมวิธีที่ 5 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส 0.07% (w/v)
- กรรมวิธีที่ 6 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส 0.09% (w/v)
- กรรมวิธีที่ 7 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเดกซ์ทริน 0.10% (w/v)
- กรรมวิธีที่ 8 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเดกซ์ทริน 0.15% (w/v)
- กรรมวิธีที่ 9 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเดกซ์ทริน 0.20% (w/v)
- กรรมวิธีที่ 10 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเดกซ์ทริน 0.25% (w/v)
- กรรมวิธีที่ 11 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเพอริเดียม 0.03% (v/v)
- กรรมวิธีที่ 12 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเพอริเดียม 0.05% (v/v)
- กรรมวิธีที่ 13 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเพอริเดียม 0.07% (v/v)
- กรรมวิธีที่ 14 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเพอริเดียม 0.09% (v/v)

ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ในแต่ละกรรมวิธีมาทดสอบลักษณะทางกายภาพของเมล็ดพันธุ์ เบื้องต้นดังวิธีการต่อไปนี้

1) การประเมินความสมบูรณ์ของเมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกด้วยกล้อง Microscope stereo digital (นุชจรา, 2558)

2) การวัดน้ำหนักของเมล็ดพอก

ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พอกในแต่ละกรรมวิธีมาจำนวน 100 เมล็ด จำนวน 3 ซ้ำ ทำการชั่งน้ำหนักเพื่อหาค่าเฉลี่ยของน้ำหนัก 100 เมล็ดเปรียบเทียบกับน้ำหนักกับเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้พอก แล้วคำนวณค่าที่เพิ่มขึ้นจากการพอกเมล็ดพันธุ์ (คัดแปลงจาก ลำยอง, 2552)

3) การหาจำนวนเมล็ดภายในเมล็ดพันธุ์พอก

ทำการสุ่มเมล็ดพันธุ์พอกในแต่ละกรรมวิธี กรรมวิธีละ 100 เมล็ด จำนวน 3 ซ้ำ โดยการแกะวัสดุที่เคลือบอยู่บนผิวเมล็ดออก จากนั้นทำการตรวจนับเมล็ดพันธุ์ที่มีอยู่ในแต่ละเมล็ด

4) การวัดดัชนีความทนทานของเมล็ดพันธุ์พอก (Pelleting durability index, PDI)

ทำการสุ่มตัวอย่างของเมล็ดพอกในแต่ละกรรมวิธีมาประมาณ 5 กรัม จำนวน 3 ซ้ำ แล้วนำไปเขย่า โดยใช้เครื่อง Shaking IKA® KS 260 basic ที่ความเร็ว 800 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 5 นาที จากนั้นร่อนด้วยตระแกรงเพื่อแยกวัสดุพอกที่หลุดร่อนออก ชั่งน้ำหนักของเมล็ดที่เหลือ แล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาดัชนีความทนทานของเมล็ดพอกมีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ (ดัดแปลงจาก ถ้ายอง, 2552) จากสมการดังนี้

$$\text{PDI (\%)} = \left[ \frac{\text{น้ำหนักของเมล็ดพอกที่เหลือ}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างทั้งหมด}} \right] \times 100$$

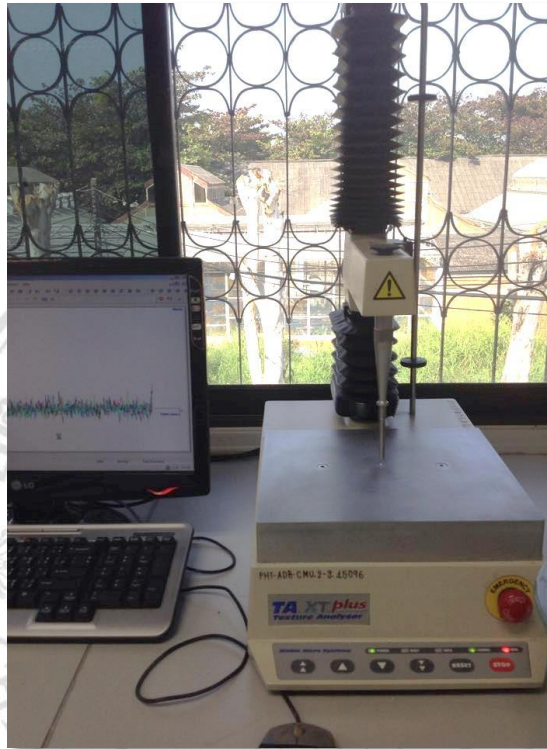


ภาพที่ 3.1 เครื่องเขย่า IKA® KS 260 basic

5) การวัดความแข็งแรงแรงของเมล็ดพอก (Hardness)

การสุ่มตัวอย่างของเมล็ดพอกในแต่ละกรรมวิธีมาจำนวน 10 เมล็ด จำนวน 3 ซ้ำ และวัดความทนทานต่อแรงบีบอัดของวัสดุพอกด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture Analyzer รุ่น TA. Xtplus; Texture Technologies Corp and by Stable Micro System, Ltd., United States of America) โดยใช้หัววัดขนาด 6 มิลลิเมตร ใช้ระยะห่างระหว่างหัววัดกับแท่นวางตัวอย่างเท่ากับ 10 มิลลิเมตร และใช้

ความเร็วในการบีบอัดเท่ากับ 3 มิลลิเมตรต่อวินาที ทำการวัดความทนทานต่อแรงบีบอัด ของตัวอย่าง โดยบันทึกค่าของแรงที่ใช้ในการบีบอัดเมล็ดพอกจนวัสดุพอกมีความเสียหาย 50 เปอร์เซ็นต์ มีหน่วยเป็นนิวตันต่อตารางเมตร (N/m<sup>2</sup>) (ตัดแปลงจาก ถ้ำของ, 2552)



ภาพที่ 3.2 เครื่องวัดเนื้อสัมผัส Texture Analyzer รุ่น TA. Xtplus

#### การทดลองที่ 3.4.3 การทดสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ยาสูบ

การทดสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ วางแผนการทดลองแบบ แบบ 14x4 Factorial experiments in CRD จำนวน 4 ซ้ำ ปัจจัยที่ใช้ในการทดลอง ปัจจัยแรก คือ ระดับความเข้มข้นและชนิดของวัสดุประสาน และปัจจัยที่สอง คือ ระยะเวลาการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์นาน 0, 1, 2 และ 3 เดือน ทั้งหมด 14 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 เมล็ดพันธุ์ยาสูบที่ไม่ได้พอก

กรรมวิธีที่ 2 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วย PAM 0.15% (w/v)

กรรมวิธีที่ 3 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส 0.03% (w/v)

กรรมวิธีที่ 4 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส 0.05% (w/v)

กรรมวิธีที่ 5 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส 0.07% (w/v)

กรรมวิธีที่ 6 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส 0.09% (w/v)

กรรมวิธีที่ 7 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเดกซ์ทริน 1.0% (w/v)

กรรมวิธีที่ 8 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเดกซ์ทริน 1.5% (w/v)

กรรมวิธีที่ 9 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเดกซ์ทริน 2.0% (w/v)

กรรมวิธีที่ 10 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเดกซ์ทริน 2.5% (w/v)

กรรมวิธีที่ 11 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเพอริเดียม 0.03% (v/v)

กรรมวิธีที่ 12 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเพอริเดียม 0.05% (v/v)

กรรมวิธีที่ 13 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเพอริเดียม 0.07% (v/v)

กรรมวิธีที่ 14 เมล็ดพันธุ์ยาสูบพอกที่ประสานด้วยเพอริเดียม 0.09% (v/v)

ทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์ในแต่ละกรรมวิธีมาทดสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์เบื้องต้นด้วยวิธีการต่อไปนี้

### 1) ภายใต้อสภาพห้องปฏิบัติการ

#### 1.1) การทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์

ทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์ตามวิธีการมาตรฐานของสมาคมผู้ตรวจสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA, 2006) โดยวิธี Top of Paper (TP) นำเมล็ดพันธุ์ยาสูบมาทำการเพาะบนกระดาษชื้นในกระดาษสำหรับเพาะเมล็ด จากนั้นนำไปไว้ในตู้เพาะที่อุณหภูมิ 28°C ให้แสง กลางวัน/กลางคืน เท่ากับ 8/16 ชั่วโมง และทำการเพาะเมล็ดลงในถาดเพาะเมล็ด และนำไปเพาะที่โรงเพาะเมล็ดพันธุ์ ตรวจสอบความงอกในวันที่ 7 และวันสุดท้ายในวันที่ 16 หลังเพาะ คำนวณเปอร์เซ็นต์ความงอกโดยประเมินผลต้นที่ปกติ (normal seedling) ต้นที่ผิดปกติ (abnormal seedling) และเมล็ดตาย ที่ปรากฏ แล้วนำผลที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์ความงอก

#### 1.2) การทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ ด้วยวิธีการต่อไปนี้

##### 1.2.1) การวัดดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์ (Germination Index) (AOSA, 2009)

การวัดดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์ เป็นการประเมินความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ที่อาศัยความเร็วในการงอก (speed of germination) ของต้นกล้าเป็นเกณฑ์ โดยสามารถทำควบคู่ไปกับการทดสอบความงอกมาตรฐานได้ โดยการตรวจนับต้นกล้าที่งอกปกติทุกวันจนครบกำหนด 16 วัน จึงนำผลการตรวจนับความงอกมาคำนวณหาค่าดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์จากสมการ

$$\text{ดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์} = \text{ผลรวมของ} \left[ \frac{\text{จำนวนต้นกล้าที่งอกปกติในแต่ละวันที่ตรวจนับ}}{\text{จำนวนวันหลังเพาะที่ตรวจนับ}} \right]$$

### 1.2.2) วิธีการเร่งอายุ (Accelerated Aging test, AA Test)

วิธีการเร่งอายุ เป็นการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ โดยทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พอกในแต่ละกรรมวิธีละ 4 กรัม และเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้พอก จำนวน 0.2 กรัม นำมาเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 43°C นาน 72 ชั่วโมง (ISTA, 1995) ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการทดสอบความงอกเมล็ดพันธุ์ตามข้อ 1.1

## 2) ภายใต้อุณหภูมิโรงเรือนทดลอง

### 2.1) การทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์

ทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์ภายใต้อุณหภูมิโรงเรือนทดลองแบบหลังคาโค้ง ด้านข้างคลุมด้วยตาข่ายกันแมลง ด้านบนคลุมด้วยพลาสติก เพื่อป้องกันความเสียหายของกล้าที่เพาะในถาดฝน (ภาพที่ 3.3) โดยใช้ระบบเพาะกล้าแบบกึ่งลอยน้ำ (semi-float) ซึ่งเป็นระบบเพาะกล้ามาตรฐานของโรงงานยาสูบในปัจจุบัน (ภาพที่ 3.4) เริ่มจากนำเมล็ดพันธุ์ยาสูบมาเพาะลงในถาดสำหรับเพาะเมล็ด โดยใช้ KLASMANN® สูตร TS 2 เป็นวัสดุเพาะกล้าสำเร็จรูปที่เกษตรกรผู้ปลูกยาสูบนิยมใช้ จากนั้นนำไปไว้อ่างภายในโรงเพาะเมล็ดพันธุ์ ตรวจสอบความงอกในวันที่ 7 และวันสุดท้ายในวันที่ 16 หลังเพาะ คำนวณเปอร์เซ็นต์ความงอกโดยประเมินผลต้นที่ปกติ (normal seedling) ต้นที่ผิดปกติ (abnormal seedling) และเมล็ดตาย ที่ปรากฏ แล้วนำผลที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์ความงอก

### 2.2) การทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ ด้วยวิธีการต่อไปนี้

#### 2.2.1) การวัดดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์ (Germination Index) (AOSA, 2009)

การวัดดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์ เป็นการประเมินความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ที่อาศัยความเร็วในการงอก (speed of germination) ของต้นกล้าเป็นเกณฑ์ โดยสามารถทำควบคู่ไปกับการทดสอบความงอกมาตรฐานได้ โดยการตรวจนับต้นกล้าที่งอกปกติทุกวันจนครบกำหนด 16 วัน จึงนำผลการตรวจนับความงอกมาคำนวณหาค่าดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์จากสมการ

$$\text{ดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์} = \text{ผลรวมของ} \left[ \frac{\text{จำนวนต้นกล้าที่งอกปกติในแต่ละวันที่ตรวจนับ}}{\text{จำนวนวันหลังเพาะที่ตรวจนับ}} \right]$$

#### 2.2.2) วิธีการเร่งอายุ (Accelerated Aging test, AA Test)

วิธีการเร่งอายุ เป็นการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ โดยทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดพันธุ์พอกในแต่ละกรรมวิธีละ 4 กรัม และเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้พอก จำนวน 0.2 กรัม นำมาเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 43°C นาน 72 ชั่วโมง (ISTA, 1995) ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการทดสอบความงอกเมล็ดพันธุ์ตามข้อ 2.1





ภาพที่ 3.3 โรงเรือนเพาะกล้ายาสูบ



ภาพที่ 3.4 การเพาะกล้ายาสูบแบบกึ่งลอยน้ำ (semi-float)

### 3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ Statistix 8 (analytical software, USA) ด้วยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วย Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ส่วนการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของตัวแปรต่าง ๆ โดยการหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient)