# บทที่ 3
# วิธีดำเนินการวิจัย

## 3.1 วิธีวิจัย

**1. <u>การวิจัยและพัฒนาการปลูกไผ่บนพื้นที่สูง</u>**

1) การสำรวจความหลากหลายชนิดพันธุ์และการใช้ประโยชน์ของไผ่ในพื้นที่โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวง

1.1) สำรวจชนิดพันธุ์ไผ่ภาคสนาม ทั้งไผ่ในป่าธรรมชาติและไผ่ที่นำมาปลูก ในพื้นที่โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวง

1.2) ทำการบันทึกภาพ บันทึกลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่สำคัญ ลักษณะทางนิเวศที่ไผ่ชนิดนั้นๆปรากฏ รายละเอียดต่างๆที่จะเป็นประโยชน์ต่อการศึกษาจำแนกชนิด และเก็บพิกัด GPS ที่ได้สำรวจพบชนิดพันธุ์ไผ่นั้นๆ

1.3) บันทึกข้อมูลการใช้ประโยชน์ในชุมชนของไผ่ที่พบในพื้นที่

1.4) โดยนำข้อมูลที่ได้จากการสำรวจชนิดพันธุ์ไผ่มาสรุปตามการแบ่งกลุ่มพื้นที่โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวง 3 กลุ่ม ตามระดับความสูง ได้แก่ (1) กลุ่มพื้นที่ที่มีระดับความสูงค่อนข้างต่ำ (ต่ำกว่า 500 เมตรจากระดับน้ำทะเล) (2) กลุ่มพื้นที่ที่มีระดับความสูงปานกลาง (500-1,000 เมตรจากระดับน้ำทะเล) (3) กลุ่มพื้นที่ที่มีระดับความสูงค่อนข้างมาก (มากกว่า 1,000 เมตรจากระดับน้ำทะเล)

2) การปลูกรวบรวมชนิดพันธุ์ไผ่ที่เกิดจากการเพาะเมล็ด

2.1) แปลงปลูกไผ่รวกป่า ไผ่เลี้ยง ไผ่หก ไผ่มันหมู และไผ่ซางป่า ใช้ระยะปลูก 1x1 เมตร ส่วนแปลงปลูกไผ่หวานอ่างขาง ใช้ระยะปลูก 3x4 เมตร โดยเป็นไผ่ที่เกิดจากการเพาะเมล็ดในปี พ.ศ. 2557 และได้นำมาปลูกในปี พ.ศ. 2558

2.2) เก็บข้อมูลต่อเนื่องจากปี พ.ศ. 2559 โดยบันทึกข้อมูล ดังนี้

- อัตราการเจริญเติบโตของหน่อใหม่ที่แตกออกมา โดยบันทึกวันที่เริ่มแตกหน่อ จำนวนหน่อที่แตกใหม่
- ความกว้างของเส้นผ่าศูนย์กลางหรือเส้นรอบวงของลำไผ่ต่อเดือน โดยวัดที่ความสูง 10 เซนติเมตรจากพื้นดิน
- ความสูงของลำไผ่ตรงตำแหน่งตายอด (Terminal Bud) โดยเลือกเก็บจากลำที่เจริญเต็มที่
- จำนวนลำต่อชั้นอายุ

โดยเริ่มเก็บข้อมูลเดือนตุลาคม พ.ศ. 2559 – กันยายน พ.ศ. 2560

2.3) เก็บเมล็ดพันธุ์ไผ่ที่ออกดอกในป่าธรรมชาติ ทำการฝัดด้วยกระด้งเพื่อคัดเมล็ดลีบและไม่สมบูรณ์ออก นำเมล็ดที่สมบูรณ์มาขัดนวดและฝัดเอาเปลือกออกแล้วนำไปตากแดดประมาณ 1 วัน

นำเมล็ดไปเพาะได้ ในกรณีที่ต้องเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้เพาะ ควรคลุกด้วยสารเคมีเซฟวิน (เอส-85) เพื่อป้องกันแมลงและไม่ควรเก็บเมล็ดไว้เกิน 1 เดือน เพราะจะทำให้เปอร์เซ็นต์ความงอกลดลง

2.4) ปลูกรวบรวมไผ่ที่เกิดจากการเพาะเมล็ดเพิ่มเติม ในแปลงปลูกไผ่ที่อุทยานหลวงราชพฤกษ์ อย่างน้อย 5 ต้น/ชนิด

3) การศึกษาวิธีการจัดการแปลงปลูกไผ่ที่เหมาะสมบนพื้นที่สูง

3.1) ศึกษาขั้นตอนการปลูก การให้ปุ๋ย การให้น้ำ การตัดสาง การตัดแต่งกิ่งและไว้ลำ ในไผ่บงหวานและไผ่ซางหม่น ในแปลงปลูกทดสอบเดิมของเกษตรพื้นที่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง หมอกจ๋าม

3.2) เก็บข้อมูลต่อเนื่องจากปี พ.ศ. 2559 โดยบันทึกข้อมูล ดังนี้ ข้อมูลอัตราการเจริญเติบโตของหน่อใหม่ที่แตกออกมา ได้แก่ จำนวนหน่อที่แตกใหม่ ความกว้างของเส้นผ่าศูนย์กลางหรือเส้นรอบวงของลำไผ่ต่อเดือน โดยวัดที่ความสูงระดับอก จำนวนลำต่อชั้นอายุ

**2. <u>การวิจัยและพัฒนาการปลูกหวายบนพื้นที่สูง</u>**

1) การศึกษาวิธีการเก็บเกี่ยวหวายสำหรับการบริโภค

1.1) คัดเลือกหวายหนามขาวอายุ 2 ปี ที่มีขนาดและจำนวนต้นต่อกอใกล้เคียงกัน จำนวน 12 กอ จากแปลงปลูกของเกษตรกรบ้านปางกลาง ตำบลแม่พริก อำเภอแม่สรวย จังหวัดเชียงราย

1.2) ทดสอบการตัดหน่อหวายและดูการแตกหน่อใหม่ เพื่อศึกษาวิธีการเก็บเกี่ยวหวายสำหรับการบริโภค โดยคัดเลือกหน่อที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 นิ้ว และมีความยาวของหน่อประมาณ 80 เซนติเมตร ตัดให้สูงจากพื้นดิน 5 เซนติเมตร ดังนี้

- กรรมวิธีที่ 1 ทยอยตัดหน่อที่มีขนาดโตพอที่จะเก็บเกี่ยวได้ (ขึ้นกับจำนวนหน่อที่ตัดได้ในแต่ละกอ)
- กรรมวิธีที่ 2 ไม่มีการตัดหน่อ

กรรมวิธีละ 6 ซ้ำ (กอ)

1.3) เก็บข้อมูลการเจริญเติบโต ทุกๆ 1 เดือน ตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2559 ถึงเดือนกันยายน พ.ศ. 2560 ประกอบด้วย จำนวนหน่อเดิม จำนวนหน่อที่สามารถตัดได้ จำนวนหน่อที่แตกใหม่ ความสูงจากโคนต้นถึงรอยแยกก้านใบสุดท้าย (เซนติเมตร) และขนาดลำต้น (เซนติเมตร) ของหน่อใหม่

2) การศึกษาวิธีการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวลำหวายที่เหมาะสม

2.1) ทดสอบวิธีการเก็บรักษาลำหวายหลังการเก็บเกี่ยว เพื่อป้องกันเชื้อราและมอดเข้าทำลาย (เก็บข้อมูลต่อเนื่องจากปี พ.ศ. 2559)

กรรมวิธีที่ 1 การเก็บลำหวายโดยยังไม่ได้ปอกผิวนอกออก

กรรมวิธีที่ 2 การเก็บลำหวายโดยยังไม่ได้ปอกผิวนอกออก นำหวายมาผึ่งแดดให้แห้งสนิท

กรรมวิธีที่ 3 การเก็บลำหวายหลังจากการปอกผิวนอกออกแล้ว

กรรมวิธีที่ 4 การเก็บลำหวายโดยนำมาล้าง และผึ่งแดงให้แห้ง และนำมาขัดด้วยทรายขาวและเปลือกมะพร้าว

โดยเริ่มทดสอบเดือนมกราคมและเดือนเมษายน พ.ศ. 2559 และบันทึกข้อมูลความชื้นและการเข้าทำลายของเชื้อราและมอดทุกๆ 1 เดือนหลังจากการเก็บรักษา โดยใช้เครื่องวัดความชื้นไม้และจากการสังเกตลักษณะการเข้าทำลายภายนอกของลำหวาย ต่อเนื่องจนถึงเดือนเมษายน พ.ศ. 2560

2.2) การจำแนกชนิดเชื้อราที่ติดมากับลำหวาย

1) ในขั้นตอนการเก็บเกี่ยว โดยตัดหวายจากแปลงเกษตรกรมาทดสอบ

- ตัดหวายทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ หวายฝาด หวายหนามขาว และหวายไส้ไก่ ให้มีความยาวท่อนละ 10 เซนติเมตร จำนวน 30 ท่อนต่อชนิด

- ตรวจสอบเชื้อราที่ติดมากับลำหวายแต่ละชนิด โดยการไม่ฆ่าเชื้อที่ผิว และทำการฆ่าเชื้อที่ผิวภายนอกท่อนหวายด้วย sodium hypochlorite (Clorox ความเข้มข้น 10 %) เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง

- นำท่อนหวายบ่มในกล่องสภาพชื้น (moist chamber) จำนวน 10 ท่อนต่อกล่อง และ 3 กล่องชื้นต่อชนิดหวาย และเก็บกล่องชื้นไว้ที่อุณหภูมิห้อง

- สังเกตการเจริญของเชื้อราที่ติดมากับท่อนหวาย เมื่อพบการเจริญของเชื้อราบนท่อนหวาย ทำการเขี่ยเส้นใยเชื้อราลงบน slide ที่มี lactophenol หยดอยู่ แล้วปิดทับด้วย cover slip จากนั้นตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์และจำแนกชนิดสกุลของเชื้อรา เปรียบเทียบกับ Carmichael et al. (1980) หรือ Hanlin (1998)

- เขี่ยเส้นใยเชื้อราลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) และบันทึกอัตราการเจริญเติบโต ลักษณะและสีของโคโลนีเชื้อรา พร้อมทั้งตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์และเก็บรักษาเชื้อ (Stock culture) เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

2) ในขั้นตอนการเก็บรักษาลำหวายภายหลังการเก็บเกี่ยว โดยนำตัวอย่างลำหวายที่ได้เก็บรักษาครบ 1 ปี ในข้อ 2.1) กรรมวิธีที่ 2 มาทดสอบ

- ตัดหวายทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ หวายฝาด หวายหนามขาว และหวายไส้ไก่ ให้มีความยาวท่อนละ 10 เซนติเมตร จำนวน 30 ท่อนต่อชนิด

- เขี่ยเชื้อราที่เจริญบนลำหวายแต่ละชนิดลงบน slide ที่มี lactophenol หยดอยู่ แล้วปิดทับด้วย cover slip จากนั้นตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์และจำแนกชนิดสกุลของเชื้อรา เปรียบเทียบกับ Carmichael et al. (1980) หรือ Hanlin (1998)

- จากนั้น นำลำหวายแต่ละชนิดข้างต้น มาทำการฆ่าเชื้อที่ผิวภายนอกด้วย sodium hypochlorite (Clorox ความเข้มข้น 10 %) เป็นเวลา 10 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง

- บ่มลำหวายแต่ละชนิดในกล่องสภาพชื้น (moist chamber) จำนวน 10 ท่อนต่อกล่อง และ 3 กล่องชื้นต่อชนิดหวาย และเก็บกล่องชื้นไว้ที่อุณหภูมิห้อง

- สังเกตการเจริญของเชื้อราที่ติดมากับท่อนหวาย เมื่อพบการเจริญของเชื้อราบนท่อนหวาย ทำการเขี่ยเส้นใยเชื้อราลงบน slide ที่มี lactophenol หยดอยู่ แล้วปิดทับด้วย cover slip

จากนั้นตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์และจำแนกชนิดสกุลของเชื้อรา เปรียบเทียบกับ Carmichael et al. (1980) หรือ Hanlin (1998)

- เขี่ยเส้นใยเชื้อราลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) และบันทึกอัตราการเจริญเติบโต ลักษณะและสีของโคโลนีเชื้อรา พร้อมทั้งตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์และเก็บรักษาเชื้อ (Stock culture) เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

2.3) ทดสอบวิธีการรักษาสภาพหวายหลังการเก็บเกี่ยวด้วยน้ำส้มควันไม้

โดยใช้การทดลองแบบ Factorial in CRD จำนวน 3 ซ้ำ

ปัจจัย V คือ ชนิดหวาย ได้แก่ หวายฝาด หวายหนามขาว และหวายไส้ไก่

ปัจจัย T คือ วิธีการรักษาสภาพ ได้แก่ การไม่แช่น้ำส้มควันไม้และการแช่น้ำส้มควันไม้ที่ความเข้มข้น 25%, 50%, 100% โดยปริมาตร

ประกอบด้วย 12 กรรมวิธี ดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 หวายฝาด ไม่แช่น้ำส้มควันไม้

กรรมวิธีที่ 2 หวายฝาด แช่น้ำส้มควันไม้ ความเข้มข้น 250% โดยปริมาตร

กรรมวิธีที่ 3 หวายฝาด แช่น้ำส้มควันไม้ ความเข้มข้น 50% โดยปริมาตร

กรรมวิธีที่ 4 หวายฝาด แช่น้ำส้มควันไม้ ความเข้มข้น 100% โดยปริมาตร

กรรมวิธีที่ 5 หวายหนามขาว ไม่แช่น้ำส้มควันไม้

กรรมวิธีที่ 6 หวายหนามขาว แช่น้ำส้มควันไม้ ความเข้มข้น 25% โดยปริมาตร

กรรมวิธีที่ 7 หวายหนามขาว แช่น้ำส้มควันไม้ ความเข้มข้น 50% โดยปริมาตร

กรรมวิธีที่ 8 หวายหนามขาว แช่น้ำส้มควันไม้ ความเข้มข้น 100% โดยปริมาตร

กรรมวิธีที่ 9 หวายไส้ไก่ ไม่แช่น้ำส้มควันไม้

กรรมวิธีที่ 10 หวายไส้ไก่ แช่น้ำส้มควันไม้ ความเข้มข้น 25% โดยปริมาตร

กรรมวิธีที่ 11 หวายไส้ไก่ แช่น้ำส้มควันไม้ ความเข้มข้น 50% โดยปริมาตร

กรรมวิธีที่ 12 หวายไส้ไก่ แช่น้ำส้มควันไม้ ความเข้มข้น 100% โดยปริมาตร

1) การเตรียมตัวอย่างหวาย (หวายใช้เส้น)

- หวายที่ใช้ในการทดสอบ ประกอบด้วย หวายฝาด หวายหนามขาว และหวายไส้ไก่ ที่มีอายุลำ 7 ปี ขึ้นไป โดยตัดฟันหวายแต่ละชนิดให้ได้ความยาว 2 เมตรต่อลำ ลอกเปลือกนอกออก เช็ดทำความสะอาด

- บันทึกความชื้นของตัวอย่างลำหวาย โดยใช้เครื่องวัดความชื้นไม้

- นำลำหวายข้างต้นมาผ่า(จัก)เป็นเส้น เอาไส้หวายออก และเหลาหวายที่จักเป็นเส้นแล้วให้เรียบเสมอกัน

- นำเส้นหวายไปทดสอบตามกรรมวิธีข้างต้น 12 กรรมวิธี

โดย กรรมวิธีที่ไม่มีการแช่น้ำส้มควันไม้ นำเส้นหวายที่ผ่านการเหลาแล้วตากแดดให้แห้ง ประมาณ 3 วัน หลังจากนั้นนำไปเก็บรักษาไว้ในที่ร่มและแห้ง

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)

กรรมวิธีการแช่น้ำส้มควันไม้ โดยใช้น้ำส้มควันไม้ความเข้มข้น ตามกรรมวิธีที่วางแผนไว้ และแช่เส้นหวายทิ้งไว้นาน 24 ชั่วโมง แล้วนำไปตากแดดให้แห้ง ประมาณ 3 วัน หลังจากนั้นนำไปเก็บรักษาไว้ในที่ร่มและแห้ง

2) การประเมินการเข้าทำลายของเชื้อรา

- การประเมินการเข้าทำลายของเชื้อราในเส้นหวาย 3 ชนิด หลังการเก็บเกี่ยว โดยทำการตรวจสอบเส้นหวายผ่านกระบวนการแช่ในน้ำส้มควันไม้และทำให้แห้งแล้วทันที และกระบวนการที่ไม่แช่น้ำส้มควันไม้ภายหลังเก็บรักษาแล้ว 1 วัน 7 วัน และทุก ๆ เดือน เป็นเวลา 4 เดือน รวมทั้งสิ้น 6 ครั้ง

- โดยตัดเส้นหวายจาก 12 กรรมวิธีให้มีความยาว 5 เซนติเมตร จำนวน 10 ชิ้นต่อซ้ำ จำนวน 3 ซ้ำ

- ตรวจสอบเชื้อราที่ติดมากับเส้นหวายแต่ละกรรมวิธี โดยการไม่ฆ่าเชื้อที่ผิว และฆ่าเชื้อที่ผิวภายนอกหวายเส้น ด้วย sodium hypochlorite (Clorox ความเข้มข้น 10 %) เป็นเวลา 3-5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง

- นำเส้นหวายแต่ละกรรมวิธีบ่มในกล่องสภาพชื้น (moist chamber) จำนวน 10 ท่อนต่อกล่อง และ 3 กล่องชื้นต่อกรรมวิธี และเก็บกล่องชื้นไว้ที่อุณหภูมิห้อง

- สังเกตการเจริญของเชื้อราที่ติดมากับเส้นหวาย เมื่อพบการเจริญของเชื้อราบนเส้นหวาย ทำการเขี่ยเส้นใยเชื้อราแต่ละโคโลนีลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) และบันทึกอัตราการเจริญเติบโต ลักษณะและสีของโคโลนีเชื้อรา

- ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา อาทิ ลักษณะเส้นใย รูปร่างและสีของสปอร์ ด้วยวิธี slide culture technique โดยตัดชิ้นวุ้น PDA เป็นรูปสี่เหลี่ยมจัตุรัสวางลงบนสไลด์ เขี่ยเชื้อราวางลงด้านข้างของชิ้นวุ้นและปิดทับด้วย cover slip จากนั้นวางสไลด์ลงในจานเพาะเชื้อที่มีกระดาษกรองและน้ำกลั่นฆ่าเชื้ออยู่ เพื่อให้เกิดความชื้น บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง และเมื่อเส้นใยของเชื้อราเจริญเกือบเต็ม cover slip จึงดึงออก แล้ววางบนสไลด์ใหม่ที่มี lactophenol หยดอยู่ จากนั้นตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราภายใต้กล้องจุลทรรศน์และจำแนกชนิดสกุลของเชื้อรา เปรียบเทียบกับ Carmichael et al. (1980) หรือ Hanlin (1998)

3) โดยเริ่มตัดหวายมาทดสอบในเดือนมกราคม พ.ศ. 2560 ในสภาพอากาศที่แห้ง

**3.2 ระยะเวลาดำเนินการ**

ตั้งแต่เดือน ตุลาคม 2559 ถึง กันยายน 256

### 3.3 สถานที่ดำเนินการ

1) พื้นที่ศูนย์พัฒนาโครงการหลวง 1 พื้นที่ ได้แก่ หมอกจ๋าม

2) พื้นที่โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวง 19 พื้นที่ ได้แก่ ผาแตก ป่าแป๋ ดอยปุย ปางมะโอ ป่ากล้วย คลองลาน ห้วยเขย่ง ปางแดงใน สบเมย แม่สามแลบ แม่สอง สบโขง แม่สลอง และวาวี (แม่พริก) ถ้ำเวียงแก วังไผ่ น้ำแป่ง ปางยาง โป่งคำ

3) อุทยานหลวงราชพฤกษ์

### 3.4 แผนการดำเนินงาน

| กิจกรรม | ระยะเวลาดำเนินการ (เดือน) | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | ต.ค. | พ.ย. | ธ.ค. | ม.ค. | ก.พ. | มี.ค. | เม.ย. | พ.ค. | มิ.ย. | ก.ค. | ส.ค. | ก.ย. |
| **1. การวิจัยและพัฒนาการปลูกไผ่บนพื้นที่สูง** | | | | | | | | | | | | |
| 1.1 การสำรวจความหลากหลายชนิดพันธุ์และการใช้ประโยชน์ของไผ่ในพื้นที่โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวง | | ← | — | — | — | — | → | | | | | |
| 1.2 การปลูกรวบรวมชนิดพันธุ์ไผ่ที่เกิดจากการเพาะเมล็ด | ← | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | → |
| 1.3 การศึกษาวิธีการจัดการแปลงปลูกไผ่ที่เหมาะสมบนพื้นที่สูง | ← | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | → |
| **2. การวิจัยและพัฒนาการปลูกหวายบนพื้นที่สูง** | | | | | | | | | | | | |
| 2.1 การศึกษาวิธีการเก็บเกี่ยวหวายสำหรับการบริโภค | ← | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | → |
| 2.2 การศึกษาวิธีการจัดการหลังการเก็บเกี่ยวลำหวายที่เหมาะสม | ← | — | — | — | — | — | — | — | — | — | — | → |
| 3. สรุปผลการดำเนินงาน | | | | | | | | | | | | ↔ |

สถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง (องค์การมหาชน) Highland Research and Development Institute (Public Organization)