บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการทดลอง ณ แปลงนาปฏิบัติการภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยทำการปลูกข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ในฤดูนาปี ระหว่างเดือนสิงหาคม ถึงเดือนพฤศจิกายน 2545 วางแผนการทดลองแบบ Split Plot in RCB มี 3 ซ้ำ กำหนดให้รูปแบบการจัดการน้ำในแปลงนา 2 วิธี เป็น main plot ได้แก่

1. การจัดการน้ำแบบสภาพนาชลประทาน โดยให้น้ำขังในแปลงนาและควบคุมระดับน้ำเหนือผิวดินเฉลี่ย 5-10 เซนติเมตร ตั้งแต่ระยะปักดำจนถึงระยะเมล็ดแป้งอ่อน
2. การจัดการน้ำแบบสภาพนาอาศัยน้ำฝน โดยงดให้น้ำและอาศัยน้ำจากน้ำฝน ตั้งแต่ระยะแตกกอจนถึงระยะเก็บเกี่ยว

sub plot เป็นการบังแสงทรงพุ่มของต้นข้าว 3 ระดับ ได้แก่ ไม่บังแสง บังแสง 50% และบังแสง 75% ของปริมาณแสงที่ได้รับตามธรรมชาติ โดยใช้ตาข่ายพลาสติกสีดำบังแสง ตั้งแต่ระยะออกรวงจนถึงระยะเก็บเกี่ยว (ภาพภาคผนวก 5)

ในการปลูกใช้วิธีปักดำ ระยะปักดำ 0.25 x 0.25 เมตร ต้นกล้าอายุ 30 วัน ปักดำ 3 ต้นต่อหลุม หลังจากปักดำใส่ปุ๋ยไนโตรเจน (N) อัตรา 9.6 กิโลกรัมต่อไร่ และปุ๋ยฟอสฟอรัส (P_2O_5) อัตรา 18 กิโลกรัมต่อไร่ พร้อมใส่สารเคมีกำจัดวัชพืช 2 4-D+butachlor อัตรา 5 กิโลกรัมต่อไร่ และฟูราดาน (carbofuran) อัตรา 5 กิโลกรัมต่อไร่ เพื่อป้องกันแมลงศัตรูข้าว เมื่อข้าวเข้าสู่ระยะกำเนิดช่อดอกใส่ ปุ๋ยไนโตรเจน (N) อัตรา 4.6 กิโลกรัมต่อไร่ หลังจากนั้นดูแลและจัดการป้องกันกำจัดศัตรูพืชตามความเหมาะสม

การเก็บตัวอย่างและบันทึกข้อมูล

1. ตัวอย่างดิน

ทำการเก็บตัวอย่างดินในแปลงปลูกหลังจากเตรียมดิน โดยการสุ่มแบบ composit sample วิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจน ปริมาณฟอสฟอรัส ปริมาณโพแทสเซียม ความเป็นกรดด่าง (pH) และความอุดมสมบูรณ์ของดิน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. ข้อมูลสภาพภูมิอากาศ

ทำการรวบรวมข้อมูลอุตุนิยมวิทยารายวัน ได้แก่ ปริมาณน้ำฝน รังสีจากดวงอาทิตย์ อุณหภูมิสูงสุดและอุณหภูมิต่ำสุด จากสถานีวิจัยการเกษตรเขตชลประทาน ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3. ตัวอย่างพืช

3.1 ปริมาณสารโพรลีน ทำการเก็บตัวอย่างใบข้าวที่คลี่ขยายเต็มที่ (youngest fully expanded leaf) ที่ระยะแตกกอ (tillering stage) ระยะกำเนิดช่อดอก (panicle initiation stage) และระยะตั้งท้อง (booting stage) ส่วนที่ระยะแทงช่อดอก (heading stage)ระยะเมล็ดน้ำนม (milky stage) ระยะเมล็ดแป้งอ่อน (soft dough stage) และระยะสุกแก่ทางสรีระ (physiological maturity stage) สุ่มตัวอย่างใบที่มีสีเขียวทั้งกอรวมทั้งใบธง (flag leaf) นอกจากนั้นสุ่มเก็บตัวอย่างเมล็ดข้าวที่ระยะแทงช่อดอก ระยะเมล็ดน้ำนม ระยะเมล็ดแป้งอ่อน ระยะสุกแก่ทางสรีระ และระยะเก็บเกี่ยว (ตาราง 3.1) ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารโพรลีนใช้วิธีของ Bates *et. al.* (1973) โดยชั่งตัวอย่างพืชที่บดปั่นละเอียดจำนวน 2 กรัมของน้ำหนักสดใส่หลอดทดลอง แล้วเติม 3% sulfosalicylic acid ปริมาตร 20 ml จากนั้นนำไปกรอง แล้วนำส่วนที่กรองได้มา 4 ml เติม glacial acetic acid ปริมาตร 4 ml และ acid ninhydrin ปริมาตร 4 ml นำไปแช่ใน water bath ที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นหยุดปฏิกิริยาที่ 0°C แล้วนำส่วนผสมนี้ไปสกัดโดยใช้ toluene ปริมาตร 8 ml นำส่วนของ toluene ซึ่งมีสีแดงไปอ่านค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ที่ 520 nm ทั้งนี้ปริมาณสารโพรลีนที่สกัดได้นี้สามารถคำนวณได้จากกราฟมาตรฐาน (standard curve) ของสารโพรลีนบริสุทธิ์

3.2 ปริมาณสัมพัทธ์ของสารหอม 2AP ทำการสุ่มตัวอย่างในใบข้าวที่คลี่ขยายเต็มที่ ที่ระยะกำเนิดช่อดอก และระยะตั้งท้อง ส่วนที่ระยะเมล็ดน้ำนม ระยะเมล็ดแป้งอ่อน และระยะสุกแก่ทางสรีระ สุ่มตัวอย่างใบทั้งกอ รวมทั้งใบธง สำหรับในเมล็ดข้าวสุ่มตัวอย่างที่ระยะเมล็ดน้ำนม ระยะเมล็ดแป้งอ่อน ระยะสุกแก่ทางสรีระ และระยะเก็บเกี่ยว (ตาราง 3.1) วิเคราะห์หาปริมาณสารหอม 2AP โดยใช้วิธีของ Mahatheeranont *et al.*(2001) โดยนำตัวอย่างพืชมาบดให้ละเอียดจำนวน 5 กรัมของน้ำหนักสด จากนั้นเติมสาร 2,4,6-trimethylpyridine (TMP) 0.25 ppm ใน 0.1 m HCl ปริมาตร 50 ml เขย่าด้วย shaker เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นกรองด้วยกรวยพลาสติก นำส่วนที่กรองได้มาทำให้เป็นเบสด้วยสารละลาย sodium hydroxide ความเข้มข้น 5.0 m และสกัดต่อทันทีด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ dichloromethane ปริมาตร 50 ml ทำสองครั้ง แยกเก็บชั้นของตัวทำละลายมารวมกัน จากนั้นเติม sodium sulfate anhydrous เพื่อกำจัดน้ำ แล้วนำไประเหยด้วยเครื่องหมุนระเหยความดัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ต่ำ (rotary evaporator) จากนั้นนำสารละลายใส 1.00 ml มาทำการตรวจวัดด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (gas chromatography : GC) รุ่น TRACE GC 2000 ผลิตโดยบริษัท Thermo Finnigan หลังจากนั้นวิเคราะห์หาปริมาณสัมพัทธ์ของ 2AP อาศัยหลักการและเทคนิคการวิเคราะห์ปริมาณสัมพัทธ์เทียบกับสารละลายมาตรฐานภายใน โดยหาอัตราพื้นที่ใต้พีคของสารหอม 2AP ในตัวอย่างสารสกัดต่อสารละลายมาตรฐานภายใน TMP ที่เติมลงไปในขั้นตอนการสกัด ก็จะสามารถหาปริมาณสัมพัทธ์ของ 2AP เปรียบเทียบในแต่ละตัวอย่างได้

ตาราง 3.1 การเก็บตัวอย่างของข้าวมาวิเคราะห์หาปริมาณสารโพรลีน สารหอม 2AP น้ำตาลและคลอโรฟิลล์ ในแต่ละระยะการเจริญเติบโต

การเก็บตัวอย่าง	ระยะแตกกอ	ระยะกำเนิดช่อดอก	ระยะตั้งท้อง	ระยะออกรวง	ระยะเมล็ดน้ำนม	ระยะเมล็ดอ่อน	ระยะสุกแก่ทางสรีระ	ระยะเก็บเกี่ยว
ปริมาณสารโพรลีน	ใบ	ใบ	ใบ	ใบ	ใบและเมล็ด	ใบและเมล็ด	ใบและเมล็ด	เมล็ด
ปริมาณสัมพัทธ์ของสารหอม 2AP	-	ใบ	ใบ	-	ใบ	ใบ	ใบและเมล็ด	เมล็ด
ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ละลายน้ำ	ใบ	ใบ	ใบ	ใบ	ใบและเมล็ด	ใบและเมล็ด	ใบและเมล็ด	เมล็ด
ปริมาณคลอโรฟิลล์	ใบ	ใบ	ใบ	ใบ	ใบ	ใบ	ใบ	-

3.3 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่ละลายน้ำ (total soluble sugar) ทำการสุ่มตัวอย่างของใบข้าวที่คลี่ขยายเต็มที่ที่ระยะแตกกอ ระยะกำเนิดช่อดอกและระยะตั้งท้อง ส่วนที่ระยะแทงช่อดอก ระยะเมล็ดน้ำนม ระยะเมล็ดแป้งอ่อน และระยะสุกแก่ทางสรีระ สุ่มตัวอย่างใบทั้งหมดที่มีสีเขียว รวมทั้งใบธง และในเมล็ดสุ่มตัวอย่างเมล็ดที่ระยะแทงช่อดอก ระยะเมล็ดน้ำนม ระยะเมล็ดแป้งอ่อน ระยะสุกแก่ทางสรีระ และระยะเก็บเกี่ยว (ตาราง 3.1) วิเคราะห์หาปริมาณ total soluble sugar โดยใช้วิธีดัดแปลงจากของ Conocono (1998) นำตัวอย่างพืช 0.1 กรัมของน้ำหนักแห้ง เติม 80% ethanol ปริมาตร 20 ml แล้ววางบน water bath 80-85 °C นาน 1 ชั่วโมง เพื่อสกัดน้ำตาลออกมา จากนั้นกรองเอาส่วนใสลงใส่ใน beaker นำส่วนใสไประเหยบน water bath 80-85 °C จนเหลือส่วนใสประมาณ 3 ml ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นใน volume metric flask ขนาด 25 ml จากนั้นดูดมา 5 ml ใส่ใน volume metric flask ขนาด 100 ml แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 ml แล้วดูดมา 5 ml ใส่ในหลอดทดลอง แล้วเติมสารละลาย anthrone 10 ml นำไปตั้งบน water bath 100 °C

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นาน 7.5 นาที ทิ้งไว้จนหลอดเย็น แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 630 nm จากนั้นนำค่าที่ได้คำนวณหาปริมาณน้ำตาลจากกราฟมาตรฐานของปริมาณกลูโคสที่ทราบปริมาณแน่นอน

3.4 ปริมาณคลอโรฟิลล์ สุ่มใบที่คลี่ขยายเต็มที่ด้านบนสุด ที่ระยะแตกกอ ระยะกำเนิดช่อดอก ระยะตั้งท้อง ระยะแทงช่อดอก ระยะสะสมแป้ง และระยะสุกแก่ทางสรีระ (ตาราง 3.1) สุ่มจำนวน 5 กอ กอละ 5 ใบ วัดหาค่าคลอโรฟิลล์ 3 ตำแหน่ง คือ ส่วนปลายใบ ส่วนกลางใบ และส่วนโคนใบ โดยใช้เครื่องวัดคลอโรฟิลล์ในใบพืช (chlorophyll meter) รุ่น SPAD-502 ยี่ห้อ Minolta นำค่าที่วัดได้เทียบกับกราฟมาตรฐานที่ได้จากวิธีวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์โดยใช้สารเคมีเทียบกับค่าที่วัดได้จากเครื่องคลอโรฟิลล์ในใบพืช (สาวิตร, 2546)

3.5 ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต เมื่อข้าวถึงระยะเก็บเกี่ยว ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างข้าวในพื้นที่เก็บตัวอย่าง 1 ตารางเมตร เพื่อหาน้ำหนักผลผลิตเมล็ด (grain yield) และสุ่มเก็บตัวอย่างข้าวจำนวน 10 กอ เพื่อหาองค์ประกอบผลผลิต (yield components) ได้แก่ จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดต่อรวง และน้ำหนักเมล็ดดี 1,000 เมล็ด รวมทั้งเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบ น้ำหนักแห้งมวลรวม และดัชนีเก็บเกี่ยว

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้วิธี Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของสิ่งทดลองด้วย Least Significant Difference (LSD) แล้วนำข้อมูลที่ได้จากการทดลองวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ โดยวิธีการวิเคราะห์สัมพันธ์ทางสถิติ (correlation analysis)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved