

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

##### การทดลองที่ 1 เปรียบเทียบผลผลิตและปริมาณแอนโทไซยานินในข้าวเหนียวดำ 22 พันธุ์ในสภาพปลูกแบบแอโรบิกและขังน้ำ

เปรียบเทียบผลผลิตและปริมาณแอนโทไซยานินในข้าวเหนียวดำ 22 พันธุ์ ในสภาพปลูกแบบแอโรบิกและขังน้ำ ของข้าวเหนียวดำพื้นเมืองในสภาพแปลงทดลอง วางแผนการทดลองแบบ Split-plot design ในแผนการทดลองแบบ Complete Randomized design จำนวน 3 ซ้ำ โดยให้สภาพปลูกแบบแอโรบิก และขังน้ำเป็น ปัจจัยหลัก และพันธุ์ข้าวดำ 22 พันธุ์เป็นปัจจัยรอง เมื่อต้นกล้าอายุได้ 30 วัน นำกล้าไปปักดำปลูก 10 ต้นต่อพันธุ์ ๆ ละ 1 แถว ระยะปลูกระหว่างแถว 25 เซนติเมตร และระหว่างต้น 25 เซนติเมตร ให้ปุ๋ย 2 ครั้งคือใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ในอัตรา 166.67 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ เป็นปุ๋ยรองพื้น จะได้ N 25 กิโลกรัมในโตรเจนต่อเฮกตาร์,  $P_2O_5$  25 กิโลกรัม P ต่อเฮกตาร์ และ  $K_2O$  25 กิโลกรัม K ต่อเฮกตาร์ ในระยะแตกกอ และใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 ในอัตรา 54.35 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ จะได้ N 25 กิโลกรัมในโตรเจนต่อเฮกตาร์ ในระยะกำเนิดช่อดอก ในระหว่างการทดลองมีการดูแลระบบการให้น้ำอย่างเพียงพอ และมีการป้องกันศัตรูพืชและกำจัดวัชพืชอย่างเหมาะสม ที่ระยะแตกกอและออกดอก เก็บข้อมูล จำนวนหน่อต่อกอ และปริมาณคลอโรฟิลล์ (SPAD 502) เมื่อถึงระยะสุกแก่ของเมล็ด วัดผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต ได้แก่ ความสูง จำนวนหน่อต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ จำนวนช่อดอกย่อยต่อรวง เปอร์เซ็นต์เมล็ดดีต่อรวง ดัชนีเก็บเกี่ยว น้ำหนักแห้งฟาง ผลผลิต จากนั้นนำเมล็ดส่วนหนึ่งมาประเมินความเข้มสีเยื่อหุ้มเมล็ดด้วยส่ายตา สุ่มจาก 200 เมล็ด จำแนกความเข้มสี (สีม่วง-ดำ) เยื่อหุ้มเมล็ดที่ 4 ระดับ คือ 25% 50% 75% และ 100% (ภาพที่ 3.1) แล้วนำค่าที่ได้แต่ละระดับไปคำนวณเป็นค่าการจำแนกสีเยื่อหุ้มเมล็ด (Y) และอีกส่วนหนึ่งนำไปวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินด้วยวิธี pH differential method (Giusti และ Wrolstad, 2001)

ตารางที่ 3.1 รายชื่อพันธุ์ข้าวเหนียวเก่าที่ใช้ในการศึกษา

พันธุ์ที่	ชื่อพันธุ์	ชนิดพันธุ์ข้าว	แหล่งที่มา
1.	กำเวียงสา	ข้าวนา	จังหวัดน่าน
2.	กำเวียดนาม	ข้าวนา	สาธารณรัฐเวียดนาม
3.	กำพะเยา	ข้าวนา	จังหวัดพะเยา
4.	กำฝาง	ข้าวนา	จังหวัดเชียงใหม่
5.	กำ 5153	ข้าวนา	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
6.	กำ 7677	ข้าวนา	จังหวัดเชียงใหม่
7.	กำ 19959	ข้าวนา	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
8.	กำ 87090	ข้าวนา	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
9.	กำ 89038	ข้าวนา	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
10.	กำดอยสะเก็ด	ข้าวนา	แปลงรวบรวมพันธุ์สาขาวิชาพืชไร่ มช.
11.	เหนียวดำก้านา	ข้าวนา	จังหวัดน่าน
12.	กำสุพรรณ	ข้าวนา	แปลงรวบรวมพันธุ์สาขาวิชาพืชไร่ มช.
13.	กำ 19104	ข้าวนา	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
14.	กำ 88083	ข้าวนา	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
15.	กำ 88061	ข้าวนา	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
16.	กำ 89057	ข้าวนา	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
17.	กำดอยมูเซอ	ข้าวไร่	จังหวัดเชียงใหม่
18.	กำน่าน	ข้าวไร่	จังหวัดน่าน
19.	ป้อชู	ข้าวไร่	แปลงรวบรวมพันธุ์สาขาวิชาพืชไร่ มช.
20.	ป้อชู-1	ข้าวไร่	แปลงรวบรวมพันธุ์สาขาวิชาพืชไร่ มช.
21.	ข้าวกำ	ข้าวไร่	แปลงรวบรวมพันธุ์สาขาวิชาพืชไร่ มช.
22.	ข้าวกำ-1	ข้าวไร่	แปลงรวบรวมพันธุ์สาขาวิชาพืชไร่ มช.

### การทดลองที่ 2 ผลของระดับไนโตรเจนต่อผลผลิตและปริมาณแอนโทไซยานินในข้าวท่าคอยสะเก็ด

ปลูกทดสอบข้าวท่าคอยสะเก็ดต่อระดับไนโตรเจน 5 ระดับ คือ 50, 100, 150, 200 และ 250 มิลลิกรัมไนโตรเจนต่อหนึ่งกิโลกรัมดิน ( 5.3, 10.7, 16, 21.3 และ 26.7 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่) โดยใช้ปุ๋ยสูตร 46-0-0 ในกระถางทดลองบรรจุดิน 12 กิโลกรัม วางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized design จำนวน 3 ซ้ำ เก็บเกี่ยวที่ 2 ระยะ (ระยะแทงช่อดอก และระยะสุกแก่ของเมล็ด) ปลูกข้าว 5 ต้นต่อกระถาง แบ่งใส่ไนโตรเจนที่ 4 ระยะ คือ 0, 30, 60 และ 90 วันหลังปลูก ใส่ปุ๋ยรองพื้น ได้แก่ ฟอสฟอรัส (50 มิลลิกรัม P ต่อหนึ่งกิโลกรัมดิน สูตร  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) โพแทสเซียม (100 มิลลิกรัม K ต่อหนึ่งกิโลกรัมดิน สูตร  $\text{K}_2\text{SO}_4$ ) และสังกะสี (10 มิลลิกรัมต่อหนึ่งกิโลกรัมดิน สูตร  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) ที่ระยะแตกกอ เก็บข้อมูล ความสูง จำนวนหน่อต่อกอ ปริมาณคลอโรฟิลล์ (SPAD 502) ระยะออกดอกเก็บข้อมูล ความสูง จำนวนหน่อต่อกอ ปริมาณคลอโรฟิลล์ (SPAD 502) เมื่อถึงระยะสุกแก่ของเมล็ด สุ่มวัดผลผลิตเก็บข้อมูลจำนวนหน่อต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ น้ำหนักเมล็ด น้ำหนักแห้งต้น คัดนี้เก็บเกี่ยว และวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่างต้นและเมล็ดโดยวิธี Kjeldahl method จากนั้นนำเมล็ดไปสีแล้วนำข้าวกล้องไปประเมิน 2 วิธีคือ 1) วิเคราะห์หาปริมาณสารแอนโทไซยานินด้วยวิธี pH differential method (Giusti and Wrolstad, 2001) และ ประเมินความเข้มข้นเยื่อหุ้มเมล็ดด้วยสายตา สุ่มจาก 200 เมล็ด จำแนกความเข้มข้น (สีม่วง-ดำ) เยื่อหุ้มเมล็ดที่ 4 ระดับ คือ 25% 50% 75% และ 100% (ภาพที่ 3.1) แล้วนำค่าที่ได้แต่ละระดับไปคำนวณเป็นค่าการจำแนกสีเยื่อหุ้มเมล็ด (Y)

### การทดลองที่ 3 ปฏิสัมพันธ์ระหว่างระดับไนโตรเจนและสภาพปลูกต่อผลผลิตและปริมาณแอนโทไซยานินในข้าวท่าคอยสะเก็ดและ CMU122

ใช้ข้าวท่าพันธุ์ปรับปรุงของสาขาวิชาพืชไร่ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่คัดเลือกมาจากพันธุ์พื้นเมืองจำนวน 2 พันธุ์ คือ ท่าคอยสะเก็ด(KDK) และ CMU122 ปลูกข้าวโดยการเพาะเมล็ดใน Petri dishes ที่มีความชื้นเพียงพอต่อการงอกของเมล็ด เมื่อดันกล้ามีอายุได้ 7 วันแล้วจึงย้ายปลูกลงในกระถางบรรจุดิน 15 กิโลกรัม จำนวน 5 ต้นต่อกระถาง โดยดินที่เตรียมในกระถางจะใส่ปุ๋ยรองพื้นฟอสฟอรัส (สูตร  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  50 มิลลิกรัม P ต่อหนึ่งกิโลกรัมดิน) โพแทสเซียม (สูตร  $\text{K}_2\text{SO}_4$  100 มิลลิกรัม K ต่อหนึ่งกิโลกรัมดิน) และสังกะสี (สูตร  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  10 มิลลิกรัมต่อหนึ่งกิโลกรัมดิน) วางแผนการทดลองแบบ Factorial แบบ Complete Randomized design จำนวน 4 ซ้ำประกอบด้วยปุ๋ยไนโตรเจน 2 ระดับ คือ 70 (N70) และ 210 (N210) มิลลิกรัม N ต่อดินหนึ่งกิโลกรัมดิน ( 7.5 และ 22.4 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่) โดยใช้ปุ๋ยยูเรีย (46% N) และสภาพการปลูก 2 แบบ คือดินน้ำขัง (submerged) และดินแอโร

บิก (aerobic) (ให้น้ำถึงความจุสนาม) การให้ปุ๋ยในโตรเจนทั้งสองระดับแบ่งใส่ที่ 4 ระยะ คือ 0, 30, 60 และ 90 วัน หลังปลูก ระยะแตกกอเก็บข้อมูล ความสูง จำนวนหน่อตอกอ ปริมาณคลอโรฟิลล์ (SPAD 502) ระยะออกดอกเก็บข้อมูล ความสูง จำนวนหน่อตอกอ ปริมาณคลอโรฟิลล์ (SPAD 502) น้ำหนักแห้งต้น เมื่อถึงระยะสุกแก่เก็บข้อมูล น้ำหนักแห้งต้นและน้ำหนักเมล็ดทั้ง 5 ต้น เพื่อประเมินผลผลิต จากนั้นนำเมล็ดไปสีแล้วนำข้าวกล้องไปประเมิน 2 วิธีคือ 1) วิเคราะห์หาปริมาณสารแอนโทไซยานินด้วยวิธี pH differential method (Giusti and Wrolstad, 2001) และ ประเมินความเข้มสีเยื่อหุ้มเมล็ดด้วยสายตา สุ่มจาก 200 เมล็ด จำแนกความเข้มสี (สีม่วง-ดำ) เยื่อหุ้มเมล็ดที่ 4 ระดับ คือ 25% 50% 75% และ 100% (ภาพที่ 3.1) แล้วนำค่าที่ได้แต่ละระดับไปคำนวณเป็นค่าการจำแนกสีเยื่อหุ้มเมล็ด (Y)

### การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูล โดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยสิ่งทดลองโดยใช้ LSD (Least Significant Difference) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %



ภาพที่ 3.1 แสดงลักษณะ (ก) ความเข้มสีเยื่อหุ้มเมล็ดที่ระดับ 25% (ข) ความเข้มสีเยื่อหุ้มเมล็ดที่ระดับ 50% (ค) ความเข้มสีเยื่อหุ้มเมล็ดที่ระดับ 75% และ (ง) ความเข้มสีเยื่อหุ้มเมล็ดที่ระดับ 100%

### สูตรการคำนวณค่าการจำแนกสีเยื่อหุ้มเมล็ด (Y)

$$Y = \sum_{n=1}^{i=1} \left[ \frac{(\% \text{ intensity}(a) * a)}{100} + \frac{(\% \text{ intensity}(b) * b)}{100} + \frac{(\% \text{ intensity}(c) * c)}{100} + \frac{(\% \text{ intensity}(d) * d)}{100} \right]$$

a = 1; ความเข้มสีเยื่อหุ้มเมล็ดที่ 25%

b = 2; ความเข้มสีเยื่อหุ้มเมล็ดที่ 50%

c = 3; ความเข้มสีเยื่อหุ้มเมล็ดที่ 75%

d = 4; ความเข้มสีเยื่อหุ้มเมล็ดที่ 100%