

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

สถานที่ทดลอง

ได้ดำเนินการวิจัยที่แปลงปฏิบัติการภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่ ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม 2541 ถึงเดือนกันยายน 2543

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. การทดลองในปีที่ 1

ศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ องค์ประกอบผลผลิต ผลผลิต และลักษณะที่สำคัญทางพืชไร่ประชากรข้าว พันธุ์ตัวอย่าง จำนวนทั้งหมด 29 พันธุ์ (ตารางที่ 3.1) โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design ประกอบด้วยข้าวกล้าและข้าวเหนียวจำนวน 26 พันธุ์ และข้าวพันธุ์มาตรฐานจำนวน 3 พันธุ์ คือ ขาวดอกมะลิ 105 เหนียวสันป่าตอง และ กข.6 ปลูกข้าวทั้ง 29 พันธุ์ ในขนาดทดลองขนาด 1 x 5 เมตร ใช้ระยะปักดำ 25 x 25 เซนติเมตร เมตร ปลูกกอละ 1 ต้น ทวนซ้ำ 2 ครั้ง โดยก่อนปักดำหว่านปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 4 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่ หลังปักดำแล้ว 7 วันหว่านสารเคมีมาเซตเต้ อัตรา 4 กิโลกรัมต่อไร่ เพื่อกำจัดวัชพืชรบกวน และหว่านสารเคมีฟูราดาน 3 เปอร์เซ็นต์ จี อัตรา 4 กิโลกรัมต่อไร่ เพื่อป้องกันแมลงศัตรูข้าว หลังจากนั้นเมื่อข้าวอายุ ประมาณ 50 วันหลังปักดำ (ในระยะแตกกอ) หว่านปุ๋ยไนโตรเจนในอัตรา 6 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่อีกครั้ง ในระยะนี้หากมีการระบาดของโรคและแมลงศัตรูข้าวจัดการตามความเหมาะสมจนถึงระยะเก็บเกี่ยว

บันทึกข้อมูล

1. ลักษณะประจำพันธุ์ (สีกาบใบ สีแผ่นใบ สีปล้อง สีเปลือกหุ้มเมล็ด)
2. จำนวนรวงต่อกอ
3. จำนวนเมล็ดต่อรวง
4. น้ำหนัก 1,000 เมล็ด
5. ผลผลิต
6. ความสูง
7. อายุออกดอก
8. อายุเก็บเกี่ยว

ตารางที่ 3.1 ลำดับพันธุ์และแหล่งที่มา

ลำดับ	ชื่อพันธุ์	แหล่งที่มา
1.	ก้าดอยสะเก็ด	จ.เชียงใหม่
2.	ก้า87061	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
3.	ก้ามูเซอ	จ.เชียงใหม่
4.	ก้าน่าน	จ.น่าน
5.	ก้าลาว	สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว
6.	เวียคนาม4	สาธารณรัฐเวียคนาม
7.	เหนียวคำ991151	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
8.	ก้า7677	จ.น่าน
9.	ก้า106971	จ.น่าน
10.	ก้า5577	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
11.	ก้า87009	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
12.	ก้า87090	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
13.	ก้า88013	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
14.	เหนียวคำ88028	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
15.	เหนียวคำ88060	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
16.	ก้า88063	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
17.	ก้า88069	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
18.	ก้า88073	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
19.	ก้า88083	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
20.	ก้า88084	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
21.	ก้า88138	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
22.	ก้า88163	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
23.	ก้า88168	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
24.	ก้า89038	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
25.	ก้า89057	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
26.	ก้า91195	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ
27.	ขาวดอกมะลิ105	พันธุ์ตรวจสอบ
28.	เหนียวสันป่าตอง	พันธุ์ตรวจสอบ
29.	กข. 6	พันธุ์ตรวจสอบ

2. การทดลองในปีที่ 2

ศึกษาปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวเปลือกและข้าวกล้องของประชากรข้าวจำนวน 29 พันธุ์ และในข้าวลูกผสมชั่วที่ 1 ระหว่างพันธุ์ ข้าวดอกมะลิ105 x กำคายสะเกิด โดยลูกผสมชั่วที่ 1 ใช้พันธุ์พ่อแม่คือ พันธุ์กำคายสะเกิด และพันธุ์ข้าวดอกมะลิเป็นพันธุ์พ่อและแม่ ในการผสมพันธุ์ เพื่อสร้างลูกผสมชั่วที่ 1 โดยปลูกพ่อแม่พันธุ์ในกระถาง พันธุ์ละ 20 กระถาง เมื่อช่อดอกเริ่มออกก็ทำการผสมข้ามโดยใช้อับละอองเกสรจากพันธุ์กำคายสะเกิด มาถ่ายละอองเกสรลงในดอกตัวเมีย (กำจัดอับละอองเรณูแล้ว) ของพันธุ์ข้าวดอกมะลิ105 ทำสัญลักษณ์ รอกับเกี่ยวต่อไป บันทึกข้อมูล

1. วิเคราะห์ปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวเปลือกของตัวอย่างและลูกผสมชั่วที่ 1
2. วิเคราะห์ปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวกล้องของตัวอย่างและลูกผสมชั่วที่ 1

3. วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

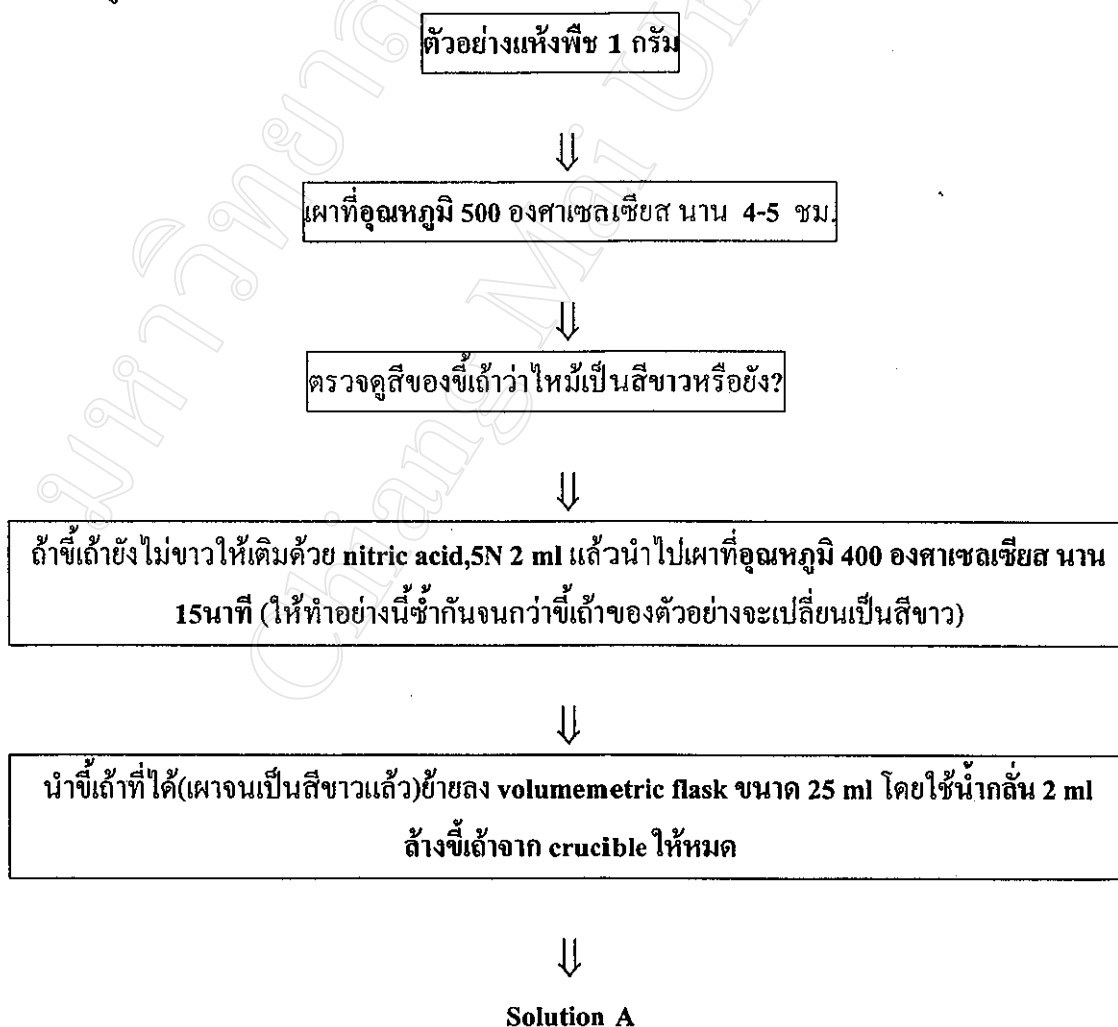
- 3.1 ตัวอย่างเมล็ดข้าวจำนวน 29 พันธุ์
- 3.2 Nitric acid (HNO_3)
- 3.3 Hydrochloric acid (HCl)
- 3.4 Hydroxylamine hydrochloride ($\text{NH}_2\text{OH}\cdot\text{HCl}$)
- 3.5 Sodium acetate ($\text{NaC}_2\text{H}_3\text{O}_2\cdot 3\text{H}_2\text{O}$)
- 3.6 O-phenanthroline
- 3.7 Ferrous sulfate hexahydrate [$\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$]
- 3.8 Beaker ขนาด 50 ml, 100 ml และ 500 ml
- 3.9 Pipet ขนาด 1 ml, 5 ml และ 10 ml
- 3.10 Micro pipet
- 3.11 Volumetric flask ขนาด 25 ml และ 250 ml
- 3.12 Crucibles ความจุ 30 ml
- 3.13 Carbolite (เตาเผาอุณหภูมิสูง)
- 3.14 Spectrophotometer
- 3.15 หลอดแก้ว ขนาด 30 ml
- 3.16 แท่งแก้ว
- 3.17 ตาชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 3.18 ตัวอย่างเมล็ดข้าวลูกผสมชั่วที่ 1

วิธีการเตรียมและวิเคราะห์ตัวอย่าง

4.1 การทำ Dry Ashing

นำตัวอย่างพืชที่จะวิเคราะห์ที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส นาน 48 ชม. ซึ่งตัวอย่างพืชน้ำหนัก 1 กรัม ลงใน crucible แล้วนำไปเผาด้วยเตาเผาที่อุณหภูมิสูง 500 องศาเซลเซียส นาน 4-5 ชม. ทิ้งไว้ 1 คืน แล้วตรวจดูว่าขี้เถ้าของตัวอย่างเป็นสีขาวหรือยัง ถ้ายังไม่ขาวให้เติมด้วย nitric acid ,5N จำนวน 2 ml แล้วนำไปเผาที่อุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ปล่อยให้เย็น แล้วตรวจดูว่าขี้เถ้าของตัวอย่างขาวหรือยัง ถ้ายังไม่ขาวก็ให้เติม nitric acid แล้วนำไปเผาที่อุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส ทำซ้ำอย่างเดิมจนกระทั่งขี้เถ้าของตัวอย่างที่เผาเปลี่ยนเป็นสีขาว หลังจากนั้นให้ย้ายขี้เถ้าลงใน volumetric flask 25 ml ใช้น้ำกลั่น 2ml ล้างขี้เถ้าจาก crucible ให้หมด สุดท้ายจะได้ Solution A ที่พร้อมจะทำการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหาร

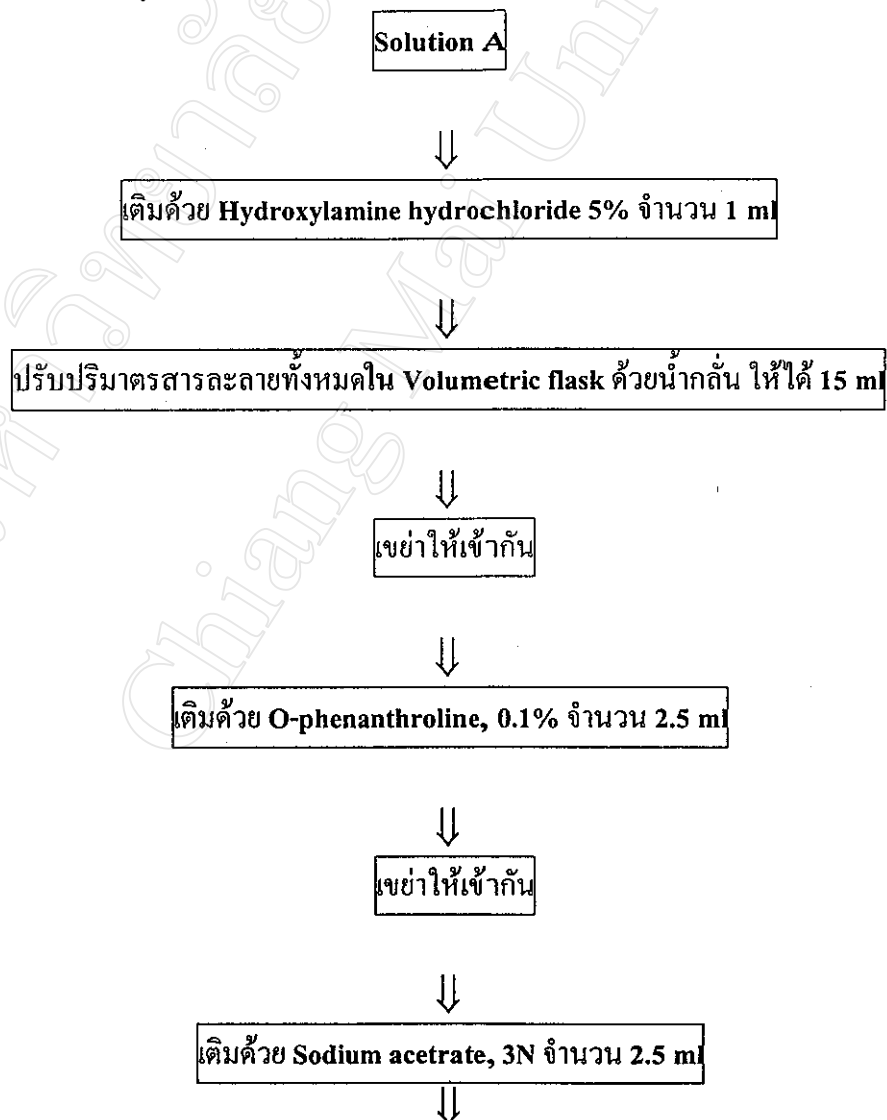
คิงแผนภูมิ

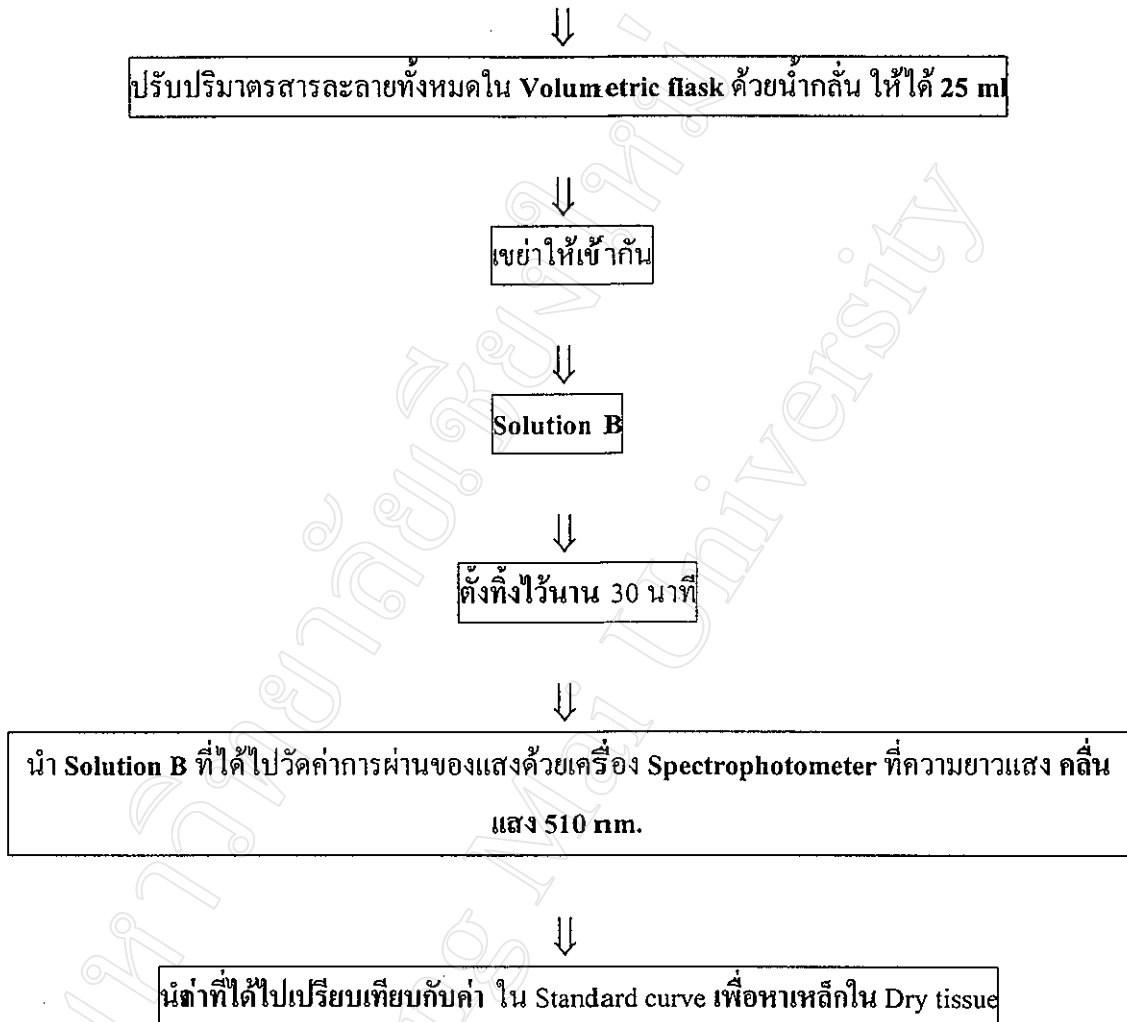


4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณธาตุเหล็กโดยวิธี **Iron with O-phenanthroline**

นำ Solution A ที่ได้มาเติมด้วยสารละลาย Hydroxylamine hydrochloride 5% จำนวน 1 ml จากนั้นปรับปริมาตรสารละลายใน Volumetric flask ด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตร 15 ml เขย่าให้เข้ากัน เติมด้วยสารละลาย O-phenanthroline 0.1% จำนวน 2 ml เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเติมสารละลาย Sodium acetate, 3N จำนวน 2.5 ml เขย่าให้เข้ากัน หลังจากนั้นปรับปริมาตรสารละลายใน Volumetric flask ทั้งหมดให้ได้ 25 ml ด้วยน้ำกลั่น สุดท้ายจะได้สารละลายปริมาตรทั้งหมด 25 ml (Solution B) ตั้งทิ้งไว้นาน 30 นาที เมื่อครบกำหนดเวลาแล้วนำ Solution B ไปวัดค่าการผ่านของแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวแสง 510 nm. แล้วนำค่าที่อ่านได้ไปเทียบกับค่าใน Standard curve เพื่อคำนวณหาปริมาณธาตุเหล็กใน dry tissue ต่อไป

ผังแผนภูมิ





วิเคราะห์ผลการทดลอง

วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนจากการบันทึกข้อมูล โดยวิธี Analysis of Variance และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Difference (LSD) ตามวิธีการของ Steel and Torrie (1960) โดยใช้โปรแกรม sx 4.1 ในการวิเคราะห์