

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้ แบ่งออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่

การศึกษาส่วนที่ 1: งานศึกษาทดลองในแปลงปลูก

อิทธิพลของธาตุไนโตรเจนและธาตุเหล็ก ต่อลักษณะทางสัณฐาน ลักษณะทางสรีระ ผลผลิต คุณภาพการสี และคุณค่าทางโภชนาการของข้าว

การศึกษาในแปลงทดลอง เป็นการศึกษาถึงผลของธาตุไนโตรเจนและธาตุเหล็ก ที่มีผลต่อลักษณะทางสัณฐานและสรีระ รวมทั้งผลผลิต คุณภาพการสี และคุณค่าทางโภชนาการของข้าว โดยทำการศึกษาในแปลงทดลอง ของสถานีวิจัยการเกษตรเขตชลประทาน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในฤดูนาปี ระหว่างเดือนกรกฎาคม - ธันวาคม 2543 โดยวางแผนการทดลองแบบ Split-split plot design จำนวน 3 ซ้ำ ประกอบด้วย 3 ปัจจัย ได้แก่พันธุ์ข้าว ระดับปุ๋ยไนโตรเจน และระดับความเข้มข้นของธาตุเหล็กที่ใช้ในการฉีดพ่นทางใบ ซึ่งรายละเอียดของแต่ละปัจจัยในงานทดลอง ประกอบด้วย

Main-plot เป็นพันธุ์ข้าว 2 พันธุ์ ได้แก่

1. พันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105
2. พันธุ์ท่าดอยสะเก็ด

ใช้ต้นกล้าอายุ 30 วัน ปักดำ 3 ต้น/จับ โดยปลูกระยะ 25 ซม.X 25 ซม. ในแปลงทดลองย่อยขนาด 36 ตารางเมตร (6 X 6 เมตร)

Sub-plot เป็นอัตราปุ๋ยไนโตรเจน 3 ระดับ ได้แก่

1. อัตรา 0 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อเฮกตาร์(ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน)
2. อัตรา 70 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อเฮกตาร์(11.20 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่)
3. อัตรา 140 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อเฮกตาร์(22.40 กิโลกรัมไนโตรเจนต่อไร่)

ทำการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน โดยแบ่งใส่เป็น 2 ครั้ง ครั้งแรกใส่ปุ๋ยยูเรีย ในระยะปักดำจำนวน ครั้งหนึ่งของแต่ละอัตราปุ๋ยที่กำหนด ตามกรรมวิธีการทดลอง ครั้งที่สองใส่ปุ๋ยยูเรีย ในระยะกำเนิด ช่อดอก (panicle initiation stage) อีกครั้งหนึ่งของอัตราปุ๋ยที่กำหนดในแต่ละกรรมวิธี

Sub Sub-plot เป็นระดับความเข้มข้นของธาตุเหล็ก ( $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) ที่ใช้ในการฉีดพ่นทาง ใบ จำนวน 3 ระดับ ได้แก่

1. ระดับความเข้มข้น 0 กรัมเปอร์เซ็นต์ (ไม่ฉีดพ่นธาตุเหล็ก)
2. ระดับความเข้มข้น 0.1 กรัมเปอร์เซ็นต์ (49.78 กรัมของ  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ต่อน้ำ 10 ลิตร)
3. ระดับความเข้มข้น 0.3 กรัมเปอร์เซ็นต์ (149.34 กรัมของ  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ต่อน้ำ 10 ลิตร)

กรรมวิธีที่ 2 และ 3 ทำการฉีดพ่นทางใบทุก ๆ 7 วันตั้งแต่ระยะกำเนิดช่อดอก จนถึงระยะ แหวงช่อดอก (panicle initiation-heading stage) (รวมจำนวน 4 ครั้ง)

#### การดูแลรักษา

ทำการปักดำต้นกล้าที่อายุ 30 วัน ในระยะปักดำใส่ปุ๋ยไนโตรเจนครั้งแรก ร่วมกับการใส่ ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต อัตรา 9.6 กิโลกรัมฟอสฟอรัสต่อไร่ และปุ๋ยโพแทสเซียมซัลเฟต อัตรา 4.8 กิโลกรัมโพแทสเซียมต่อไร่ เมื่อข้าวเข้าสู่ระยะกำเนิดช่อดอก ทำการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนครั้งที่สอง ร่วมกับการฉีดพ่นธาตุเหล็กทางใบ ตามกรรมวิธีการทดลอง ระหว่างการทดลอง ทำการดูแล การให้น้ำในแปลง การป้องกันโรค และกำจัดศัตรูพืชตามความเหมาะสม

#### การบันทึกข้อมูล

##### 1. ข้อมูลดิน

ทำการสุ่มเก็บข้อมูลดินก่อนปักดำเพื่อวิเคราะห์ธาตุอาหารในดิน ได้แก่ ไนโตรเจน (total-N) โดยวิธี kjeldahl method วิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์โดยวิธี bray II วิเคราะห์ปริมาณโพแทสเซียมที่สามารถแลกเปลี่ยนได้โดยวิธี soil-test K (STK) โดยใช้ Ammonium acetate method วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และวิเคราะห์ปริมาณธาตุ

เหล็ก โดยวิธี DTPA extractant ที่ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ (แสดงผลการวิเคราะห์ดินในตารางภาคผนวกที่ 9)

## 2. ข้อมูลพืช

1. ข้อมูลลักษณะทางสัณฐาน : ศึกษาลักษณะทางพืชไร่ของข้าว โดยการวัดดัชนีพื้นที่ใบ (leaf area index : LAI) ความสูงของต้นข้าว โดยวัดจากโคนดินที่ติดพื้นดินถึงคอรวง และความยาวรวงที่ระยะเก็บเกี่ยว (harvesting stage) และทำการศึกษารายละเอียดทางโครงสร้างภายในระดับเนื้อเยื่อ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ของราก และ ใบข้าวในระยะแทงช่อดอก (heading stage) โดยตัดตามขวางด้วยวิธี Paraffin section คัดแปลงมาจาก Johansen (1940) และ Gray (1964) โดยพิจารณาจากความแตกต่างของขนาด จำนวน ตำแหน่งขององค์ประกอบต่าง ๆ เช่น Epidermis, Endodermis, Xylem, Phloem, Cortex, Pith และ Cuticle เป็นต้น
2. ข้อมูลการเจริญเติบโต : ทำการวิเคราะห์การเจริญเติบโต (growth analysis) ในส่วนของอัตราการสะสมน้ำหนักแห้ง ต้น ใบและรวง โดยสุ่มเก็บตัวอย่างจำนวน 2 กอต่อหนึ่งหน่วยงานทดลอง ในระยะปักดำ แดกกอ กำเนิดช่อดอก ตั้งท้อง แทงช่อดอก และระยะเก็บเกี่ยว นำไปล้างทำความสะอาด ตัดราก แยกต้น นับจำนวนต้นและหน่อ แยกใบ แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักแห้ง แล้วนำไปวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโตต่อไป (แสดงรายละเอียดการวิเคราะห์ในหน้าที่ 21)
3. ข้อมูลทางสรีระ : ทำการศึกษาการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ในใบ โดยวัดจากปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ ทำการศึกษาประสิทธิภาพการทำงานของคลอโรฟิลล์ในใบ โดยการวัดค่าคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ และศึกษาถึงปริมาณสารสังเคราะห์ที่ได้จากกระบวนการสังเคราะห์แสง โดยวัดจากปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่ส่วนโครงสร้างของเซลล์ (Total non-structural carbohydrate : TNC) หรือคาร์โบไฮเดรตที่เป็นแป้งและน้ำตาล ซึ่งเป็นผลผลิตแรกจากการสังเคราะห์แสงที่ถูกเคลื่อนย้ายไปยังส่วนเจริญของพืช และวัดปริมาณไนโตรเจนรวมทั้งหมดในใบ ในทุกระยะการเจริญเติบโตตั้งแต่ระยะแตกกอ จนกระทั่งแทงช่อดอก รวมจำนวน 4 ครั้ง ทั้งนี้ทำการสุ่มวัดประสิทธิภาพการทำงานของคลอโรฟิลล์ในใบ อ่อนที่คลี่เต็มที่แล้ว (Y-leave) ในระยะแตกกอ

ระยะกำเนิดช่อดอก และระยะแทงช่อดอก จากนั้นสุ่มเก็บตัวอย่าง จำนวน 2 กอ แล้วแยกเฉพาะใบอ่อนที่คลี่เต็มที่แล้วในระยะแตกกอ กำเนิดช่อดอก ตั้งท้อง และระยะแทงช่อดอก แบ่งเป็นสามส่วน ส่วนแรกเพื่อวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ ส่วนที่สองนำไปวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน และส่วนที่สามนำไปวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่เป็นแป้งและน้ำตาล (รายละเอียด ดูภาคผนวก จ)

- 3.1 วัดประสิทธิภาพการทำงานของคลอโรฟิลล์ในใบ โดยเครื่องวัดค่าคลอโรฟิลล์ในพืช (Plant Efficiency Analyzer; PEA) ของบริษัท Hansatech ของสหรัฐอเมริกา
  - 3.2 วัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบ โดยทำการสกัดคลอโรฟิลล์ ตามวิธีของ Moran and Porath (1980)
  - 3.3 วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนรวมทั้งหมดในใบ โดยวิธี kjeldahl method (Pearson, 1973)
  - 3.4 วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่เป็นแป้งและน้ำตาลในใบ โดยวิธีของ Nelson's reducing procedure ตามวิธีของ Hodge and Hofreiter (1962) ที่ดัดแปลงโดยศุจริต (2531)
4. ข้อมูลการวิเคราะห์ผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิต : ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างในระยะเก็บเกี่ยว ในพื้นที่ 1 ตารางเมตร/แปลงย่อย นวด ทำความสะอาด ผึ่งให้แห้ง ชั่งน้ำหนัก และวิเคราะห์องค์ประกอบผลผลิต ได้แก่
- 4.1 ผลผลิต ชั่งน้ำหนักเมล็ดทั้งหมด และทำการเทียบค่าที่ความชื้นในเมล็ดที่ 14% จากสูตรของ Gomez (1972)

$$\text{Adjust grain weight} = A \times W$$

$$\text{เมื่อ } A = (100 - M)/86$$

M = เปอร์เซนต์ความชื้นของเมล็ดขณะเก็บเกี่ยว

W = น้ำหนักเมล็ดขณะเก็บเกี่ยว (กิโลกรัม)

4.2 องค์ประกอบของผลผลิต ประกอบด้วย

4.2.1 จำนวนหน่อ/พื้นที่

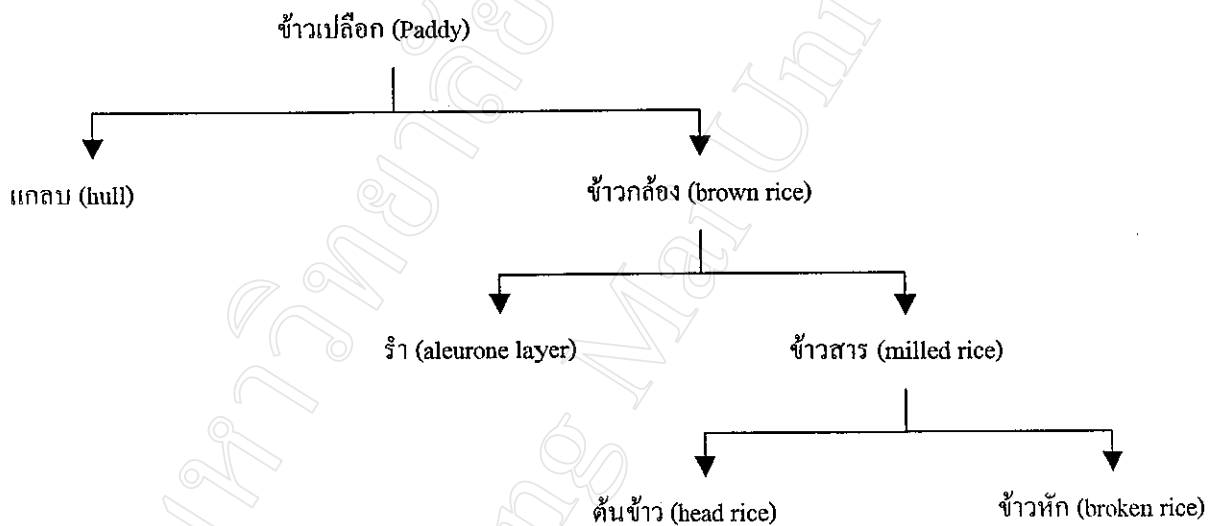
4.2.2 จำนวนรวง/หน่อ

- 4.2.3 จำนวนเมล็ดดี/รวง  
4.2.4 น้ำหนัก 1,000 เมล็ด

5. ข้อมูลคุณภาพการสีและคุณค่าทางโภชนาการ :

5.1 คุณภาพการสี

นำข้าวเปลือก 250 กรัม กะเทาะเมล็ดด้วย เครื่องกะเทาะเมล็ดแบบ Satake จะได้ส่วนที่เป็นข้าวกล้องและแกลบ แยกแกลบออกจากข้าวกล้อง นำข้าวกล้องเข้าเครื่องขัดขาวแบบ McGill No.2 จะได้ส่วนที่เป็นข้าวขาวหรือข้าวสารและรำออกมา ซึ่งข้าวสารประกอบด้วยต้นข้าว และข้าวหัก ซึ่งน้ำหนักข้าวกล้อง ข้าวสาร และต้นข้าว พร้อมทั้งค่าความแข็งของเมล็ดข้าวกล้อง เพื่อวิเคราะห์คุณภาพการสีต่อไป ดังแผนภาพต่อไปนี้



5.2 คุณค่าทางโภชนาการ (รายละเอียดวิธีการวิเคราะห์ ดูภาคผนวก จ)

- 5.2.1 วิเคราะห์ปริมาณธาตุเหล็กในเมล็ดข้าวกล้อง ที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์แห่งประเทศไทย  
5.2.2 วิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในเมล็ดข้าวกล้อง ด้วยวิธี kjeldahl method (Pearson, 1973)

## การวิเคราะห์ข้อมูล

### 1. การวิเคราะห์ข้อมูลการเจริญเติบโต

การวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโต ทำได้โดยนำข้อมูลน้ำหนักแห้งของต้น ใบ และรวง จากการเก็บตัวอย่างในแต่ละระยะการเจริญ มาสร้างสมการ 3<sup>rd</sup> order polynomial

โดย	$y = a + bx + cx^2 + dx^3$
เมื่อ $y$	= ค่าน้ำหนักแห้ง
$a, b, c, d$	= ค่าสัมประสิทธิ์
$x$	= จำนวนวันหลังปลูก

จากสมการที่ได้ นำมาวิเคราะห์เพื่อหาวันที่มีการสะสมน้ำหนักแห้งสูงสุด ของต้น ใบ และรวง โดยแทนค่าตัวแปร  $X$  ในสมการด้วยจำนวนวันหลังปลูกค่า (1, 2, 3, .....n เมื่อ  $n =$  วันเก็บเกี่ยว) จะได้ค่า  $Y$  หรือน้ำหนักแห้งสะสมในแต่ละวัน ตามจำนวนวันหลังการปลูก ค่า  $Y$  สูงสุด คือน้ำหนักแห้งสะสมสูงสุด และค่า  $X$  ที่ทำให้ค่า  $Y$  สูงสุด คือ วันที่มีการสะสมน้ำหนักแห้งสูงสุด และในทำนองเดียวกัน ค่า  $Y$  ต่ำสุด คือน้ำหนักแห้งต่ำสุด นำค่าดังกล่าวมาหาอัตราการสะสมน้ำหนักแห้งเฉลี่ย โดยใช้สมการ

$$\text{อัตราการสะสมน้ำหนักแห้งสัมพัทธ์} = \frac{\text{ค่าของน้ำหนักแห้งสูงสุด} - \text{ค่าของน้ำหนักแห้งต่ำสุด}}{\text{จำนวนวันสะสมน้ำหนักแห้งสูงสุด}}$$

### 2. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล แบบ Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของตัวแปรงานทดลองโดยวิธี LSD (Least Significant Different) และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางสถิติ (correlation analysis) เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางทางพันธุกรรม และลักษณะทางสรีระของข้าว ที่มีต่อผลผลิต คุณภาพการสี และคุณค่าทางโภชนาการ เพื่อนำผลของความสัมพันธ์ดังกล่าวมาอธิบายและพัฒนาแบบจำลองเชิงคุณภาพ ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางพันธุกรรมและสรีระ รวมทั้งผลผลิต คุณภาพการสี และคุณค่าทางโภชนาการของข้าว ภายใต้อิทธิพลของธาตุไนโตรเจนและเหล็ก

**การศึกษาส่วนที่ 2 : การพัฒนาแบบจำลองเชิงคุณภาพ (Descriptive Model) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางสัณฐาน ลักษณะทางสรีระ ผลผลิต คุณภาพการสี และคุณค่าทางโภชนาการของข้าว ภายใต้อิทธิพลของธาตุไนโตรเจนและเหล็ก**

ทำการศึกษาข้อมูลทุติยภูมิ เกี่ยวกับอิทธิพลของธาตุไนโตรเจนและเหล็ก ที่มีความสัมพันธ์กับลักษณะทางสัณฐานและสรีระ อันส่งผลต่อผลผลิต คุณภาพการสี และคุณค่าทางโภชนาการของข้าว โดยอาศัยข้อมูลพื้นฐานทางด้านสัณฐาน เช่น ลักษณะทางพีชไร่ และลักษณะโครงสร้างภายในระดับเนื้อเยื่อของข้าว ข้อมูลทางสรีระ ได้แก่กระบวนการทางสรีระของข้าว เช่น การสังเคราะห์คลอโรฟิลล์ การสังเคราะห์แสง และผลผลิตจากการสังเคราะห์แสง เป็นต้น แล้วนำข้อมูลทุติยภูมิของความสัมพันธ์ดังกล่าว ประกอบกับวิเคราะห์สถิติข้อมูลเชิงปริมาณ ที่ได้จากงานทดลองในแปลงปลูก (งานศึกษาส่วนที่ 1) นำมาพัฒนาแบบจำลองเชิงคุณภาพ ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางสัณฐาน และลักษณะทางสรีระ รวมทั้งผลผลิต คุณภาพการสี และคุณค่าทางโภชนาการของข้าว ภายใต้อิทธิพลของธาตุไนโตรเจนและเหล็ก อีกทั้งเพื่ออธิบายกลไก และ/หรือสหสัมพันธ์ของตัวแปรในแบบจำลองเชิงคุณภาพดังกล่าว