บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการทดลอง ณ แปลงทดลองของสถานีวิจัยเกษตรเขตชลประทาน ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ทำการศึกษาในช่วงเดือนมีนาคม - กรกฎาคม 2552 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินระดับคลอโรฟิลล์ในใบข้าวโพดด้วยวิธีการต่างๆ ได้แก่ การใช้เครื่องมือ Chlorophyll meter (Minolta SPAD-502) การประเมินดัชนีความเข้มของสีใบข้าวโพดจากภาพถ่ายด้วยกล้องดิจิตอล การ วัดค่าความเข้มของสีใบข้าวโพดโดยการใช้ Leaf Color Chart และการวัดค่าการดูดกลืนช่วงแสง ของคลอโรฟิลล์ที่ วัดได้จาก UV-VIS spectrophotometer รวมถึงการสร้างความสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตและผลผลิต ของข้าวโพด โดยมีรายละเอียดในการทดลองดังนี้

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design จำนวน 3 ซ้ำ โดยทำการปลูกทดลองข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 5 ในแปลงย่อยขนาด 4.5 x 3.5 เมตร ระยะปลูก 50 x 25 เซนติเมตร เริ่มหยอดเมล็ดวันที่ 26 มีนาคม 2552 หยอดเมล็ด 3 เมล็ด/หลุม และทำการถอนแยกให้เหลือ 1 เมล็ด/หลุม เมื่อข้าวโพดอายุได้ 14 วัน ทำการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 2 ครั้ง ในอัตราที่ต่างกัน เมื่อข้าวโพดอายุ 14 และ 30 วัน ดังแสดงในตารางที่ 1 โดยแปลงที่ใส่ปุ๋ยครั้งเดียว คือ แปลงที่ใส่ปุ๋ยอัตรา 11.5, 23 และ 34.5 กิโลกรัมไนโตรเจน/ไร่ เมื่อข้าวโพดอายุ 14 วัน

การดูแลรักษา

นอกจากการจัดการปุ๋ยไนโตรเจนที่กล่าวมาแล้ว การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการใช้ ปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต (46%P_2O_5) และปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (60%K_2O) เมื่อข้าวโพดอายุได้ 30 วัน โดยทุกแปลงทดลองได้รับปุ๋ยทริปเปิลซูเปอร์ฟอสเฟต อัตรา 6.9 กก. P_2O_5/ไร่ และปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ อัตรา 9 กก. K_2O/ไร่ และในระหว่างการดำเนินการทดลองมีการควบคุมดูแลป้องกันศัตรูพืชและกำจัดวัชพืชตามความเหมาะสม สำหรับการให้น้ำ จะให้น้ำทุกๆ 5 วัน เริ่มตั้งแต่ทำการหยอดเมล็ดไปจนถึงระยะ R3 ซึ่งเป็นระยะที่ของเหลวภายในเมล็ดมีสีขาวขุ่นของแป้งคล้ายน้ำนม โดยสังเกตได้จากไหมข้าวโพดเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล แล้วจึงหยุดทำการให้น้ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 1 อัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ใช้ในการทดลอง

Treatment	อัตราปุ๋ย (ก.ก.N/ไร่)		ผลรวมไนโตรเจน	อัตราปุ๋ย
	อายุ 14 วันหลังปลูก	อายุ 30 วันหลังปลูก	(ก.ก.N/ไร่)	ยูเรีย (ก.ก./ไร่)*
1	Control	Control	0	0
2	11.5	-	11.5	25
3	11.5	6.9	18.4	40
4	11.5	13.8	25.3	55
5	11.5	20.7	32.2	70
6	23	-	23	50
7	23	6.9	29.9	65
8	23	13.8	36.8	80
9	23	20.7	43.7	95
10	34.5	-	34.5	75
11	34.5	6.9	41.4	90
12	34.5	13.8	48.3	105
13	34.5	20.7	55.2	120

***หมายเหตุ** งานทดลองนี้ใส่ปุ๋ยยูเรียอัตรา 25, 50 และ 75 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งเทียบเท่ากับปุ๋ยอัตรา 11.5, 23 และ 34.5 กิโลกรัมไนโตรเจน/ไร่ เมื่อข้าวโพดอายุ 14 วัน และปุ๋ยยูเรียอัตรา 15, 30 และ 45 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งเทียบเท่ากับปุ๋ยอัตรา 6.9, 13.8 และ 20.7 กิโลกรัมไนโตรเจน /ไร่ เมื่อข้าวโพดอายุ 30 วัน สำหรับวิธีการใส่ปุ๋ย จะใช้วิธีการเจาะร่องข้างแถวปลูกและโรยปุ๋ยลงในร่อง จากนั้นทำการกลบปุ๋ย เพื่อลดการสูญเสียไนโตรเจนให้มากที่สุด

การบันทึกข้อมูลพัฒนาการและการเจริญเติบโต

1. บันทึกข้อมูลน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพตามระยะการเจริญเติบโตที่กำหนดไว้ได้แก่ ระยะ V3, V5, V7, V9, V11, V13, V15, และ V17 โดยแต่ละ Treatment ทำการสุ่มตัวอย่างข้าวโพดจำนวน 2 ต้นในแต่ระยะดังกล่าวข้างต้น แล้วนำตัวอย่างมาแยกส่วนประกอบคือ ลำต้น และใบ แล้ว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 2 ชั่วโมง นำไปชั่งเพื่อหาน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพตามระยะการเจริญเติบโต

2. การวิเคราะห์ข้อมูลการเจริญเติบโต

การวิเคราะห์ข้อมูลการเจริญเติบโต ทำโดยการนำเอาค่าน้ำหนักแห้ง และจำนวนวันของพัฒนาการข้าวโพดที่ระยะต่างๆ นำมาสร้างเป็นสมการการเจริญเติบโตของส่วนต่างๆข้าวโพด ได้แก่ ลำต้น และใบ ซึ่งใช้สมการ 3^{rd} order polynomial ;

$$y = a+bx+cx^2+dx^3$$

เมื่อ y = ค่าน้ำหนักแห้ง

a, b, c, d = ค่าสัมประสิทธิ์

x = ค่าจำนวนวันหลังปลูก โดยกำหนดให้วันที่เริ่มปลูกมีค่า = 0

จากการแทนค่าจำนวนวันหลังปลูกในสมการและสังเกตค่าที่ประเมิน จะได้ค่าวันที่ปรากฏการสะสมน้ำหนักแห้งสูงสุดและน้ำหนักแห้งสูงสุด แล้วนำค่าที่ได้มาหาอัตราการสะสมน้ำหนักแห้งเฉลี่ย โดยใช้สมการ

$$\text{อัตราการสะสมน้ำหนักแห้งเฉลี่ย} = \frac{\text{ค่าของน้ำหนักแห้งสูงสุด}}{\text{จำนวนวันที่ใช้สะสมน้ำหนักแห้งสูงสุด}}$$

การวัดค่าความเข้มสีในใบข้าวโพดที่สัมพันธ์กับปริมาณคลอโรฟิลล์

1. ใช้เครื่องมือ SPAD-502 ทำการวัดค่า SPAD chlorophyll meter reading (SCMR) ในใบอ่อนที่คลี่เต็มที่แล้ว (Y-leave) (ภาพที่ 10) ตามระยะการเจริญเติบโตที่กำหนดไว้ได้แก่ ระยะ V3, V5, V7, V9, V11, V13, V15 และ V17 โดยในแต่ละ Treatment จะวัดค่า SCMR จากตัวอย่างข้าวโพดจำนวน 2 ต้น วัดส่วนซ้ายและขวาของใบส่วนละ 5 ตำแหน่ง รวมทั้งหมด 10 ตำแหน่ง แล้วนำค่าทั้งหมดมาหาค่าเฉลี่ย จากข้อมูลที่ได้ทำการประเมินค่า SCMR สูงสุด และจำนวนวันที่มีค่า SCMR สูงสุด โดยคำนวณจากสมการ 2^{nd} order polynomial

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 10 การวัดค่า SCMR โดยการใช้ SPAD-502

2. การประเมินดัชนีความเข้มของสีใบข้าวโพดจากภาพถ่ายด้วยกล้องดิจิตอล โดยทำการถ่ายภาพตัวอย่างใบข้าวโพดตามระยะการเจริญเติบโตที่กำหนดไว้ได้แก่ ระยะ V3, V5, V7, V9, V11, V13, V15 และ V17 วิธีการคือใช้กล้องดิจิตอล SLR SONY รุ่น α 200 เลนส์ Sigma Macro 100 mm และใช้กระดาษทำเป็นกรอบสี่เหลี่ยมขนาด 1 ตารางเซนติเมตร วางทับบนใบข้าวโพด โดยระยะห่างระหว่างกล้องและใบข้าวโพดสูง 75 เซนติเมตร ตั้งค่ากล้องโดยการปรับ shutter speed 1/60 iso 200 และจัดช่วงรับแสงที่ F 5.6 ใช้พื้นหลังเป็นกล่องกระดาษที่มีหลอดไฟตะเกียบฟลูออเรสเซนต์ ขนาด 8 วัตต์ ชนิด day light ติดอยู่ด้านใน (ภาพที่ 11) ทำการถ่ายภาพส่วนด้านซ้ายและขวาของใบ อย่างละ 3 จุด นำรูปที่ได้ไปหาค่าองค์ประกอบสี R (Red) G (Green) และ B (Blue) โดยใช้โปรแกรม Adobe Photoshop CS4 จากนั้นนำไปคำนวณดัชนีความเข้มของสี R (Red) G (Green) และ B (Blue) โดยใช้สูตรการคำนวณคือ $[1/(0.7582|R - B| - 0.1168|R - G| + 0.6414|G - B|)] \times 1000$ (ดัดแปลงจากวิธีการของ Pagola *et al.*, 2008) จากข้อมูลที่ได้ทำการประเมินค่าดัชนีความเข้มสีใบสูงสุด และจำนวนวันที่มีค่าดัชนีความเข้มสีใบสูงสุด โดยคำนวณจากสมการ 2^{nd} order polynomial

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 11 วิธีการถ่ายภาพตัวอย่างใบข้าวโพดด้วยกล้องดิจิตอล

3. ทำการประเมินค่าความเข้มของสีใบข้าวโพดโดยการใช้แผ่นเทียบสีใบ (Leaf Color Chart) ซึ่งพัฒนาโดย California Cooperative Extension (UCCE) (Yang, 2003) ทำการเปรียบเทียบสีของใบตามระยะการเจริญเติบโตที่กำหนดไว้ได้แก่ ระยะ V3, V5, V7, V9, V11, V13, V15 และ V17 ซึ่งแผ่นเทียบสีใบจะมีช่วงของความเข้มสีใบตั้งแต่ระดับที่มีไนโตรเจนน้อยไปจนถึงระดับที่มีไนโตรเจนมาก รวมทั้งหมด 8 ระดับ (ภาพที่ 12) สังเกตความเข้มสีของใบ ทำการบันทึกผลและประเมินค่าความเข้มสีใบสูงสุด จำนวนวันที่มีค่าความเข้มสีใบสูงสุด โดยคำนวณจากสมการ 2^{nd} order polynomial

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 12 การวัดค่าความเข้มของสีใบโดยการใช้ Leaf color chart

4. การวัดค่าการดูดกลืนช่วงแสงที่สัมพันธ์กับปริมาณ chlorophyll *a* โดยการสกัดคลอโรฟิลล์จากตัวอย่างใบข้าวโพดตามระยะการเจริญเติบโตที่กำหนดไว้ได้แก่ ระยะ V3, V5, V7, V9, V11, V13, V15 และ V17 โดยใช้สารละลาย Methanol เป็นตัวทำละลาย (ดัดแปลงจากวิธีการของ Hiscox and Israelatem, 1979) มีขั้นตอนดังนี้ นำตัวอย่างใบข้าวโพดมาบดด้วยโกร่งให้ละเอียดและนำไปชั่ง ตัวอย่างละ 0.5 กรัม ใส่ลงในขวดแก้ว จากนั้นเติม Methanol จำนวน 10 ml แล้วปิดฝาให้สนิท จับเวลา 30 นาที ใช้ Micropipette ดูดตัวอย่าง 1 ml ใส่ลงในขวดปรับปริมาตร (Volumetric Flask) ปรับปริมาตรให้เป็น 10 ml จากนั้นทำการกรองสารละลายที่ได้ และนำไปวัดค่าด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer (ภาพที่ 13) โดยใช้หลักการดูดกลืนช่วงแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ สำหรับวิธีการนี้จะใช้ความยาวคลื่นแสง 663 นาโนเมตร ซึ่งเป็นช่วงที่สัมพันธ์กับปริมาณ chlorophyll *a* (Kobayashi *et al.*, 2000) จากข้อมูลที่ได้ทำการประเมินค่าการดูดกลืนช่วงแสง (Absorbance) สูงสุด และจำนวนวันที่มีค่าการดูดกลืนช่วงแสง (Absorbance) สูงสุด โดยคำนวณจากสมการ 2nd order polynomial สำหรับวิธีการนี้ ได้ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 13 การวัดค่าการดูดกลืนช่วงแสงด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer

ข้อมูลผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต

1. เก็บข้อมูลผลผลิต โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างผลผลิตข้าวโพดในพื้นที่ 1 ตารางเมตร (ใช้ระยะปลูก 50 x 25 เซนติเมตร จะได้จำนวนต้นต่อพื้นที่เท่ากับ 8 ต้น) ทำความสะอาดฝักและทำการกะเทาะเมล็ด หลังจากนั้นนำเมล็ดไปอบที่อุณหภูมิ 70-75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง แล้วนำไปชั่งหาน้ำหนัก เพื่อคำนวณผลผลิตกิโลกรัมต่อไร่

2. คำนวณค่าดัชนีเก็บเกี่ยว (Harvest index : HI) จากสมการ

HI = น้ำหนักเมล็ด/น้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินทั้งหมด

3. เก็บข้อมูลองค์ประกอบผลผลิตโดยทำการสุ่มเก็บจากตัวอย่างข้าวโพดจำนวน 2 ต้น ในแต่ละ Treatment แล้วทำการ

- นับจำนวนฝักต่อต้น
- นับจำนวนเมล็ดต่อฝัก
- นับจำนวนแถวของข้าวโพดต่อฝัก
- ความยาวของฝัก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- น้ำหนัก 100 เมล็ด

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยวิธี Analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธี โดยวิธีหาค่า LSD (Least Significant Difference) นำข้อมูลที่ได้มาสร้างความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตกับค่าความเข้มสี ใบที่วัดได้โดยวิธีการวิเคราะห์จากสมการ Regression และวิเคราะห์ความสัมพันธ์ Correlation analysis

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved