

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การทดลองในครั้งนี้ วางแผนการทดลองแบบ split plot design จำนวน 3 ซ้ำ กำหนดให้ main plot เป็นวันปักดำประกอบด้วย 3 วันปักดำ ที่มีระยะเวลาห่างกันช่วงละประมาณ 1 เดือน โดยปักดำครั้งแรก วันที่ 12 กรกฎาคม 2548 ปักดำครั้งที่ 2 วันที่ 11 สิงหาคม 2548 และ ปักดำครั้งสุดท้ายวันที่ 10 กันยายน 2548 sub-plot เป็นพันธุ์ข้าวเหนียวเก่า 10 พันธุ์ ได้แก่

รายชื่อพันธุ์ข้าวที่ใช้ในการทดลอง

พันธุ์ข้าวที่	พันธุ์ข้าว
1	19125
2	ส.1
3	16815
4	7677
5	กำดอยสะเก็ด
6	9103
7	13815
8	13842
9	16089
10	16083

ในแต่ละวันปลูกทำการเตรียมดินในแปลงทดลองโดยทำเทือกก่อนปลูก และใช้กล้าข้าวอายุ 1 เดือน เมื่อถึงวันปักดำที่กำหนดทำการปักดำข้าวลงในแปลงย่อยโดยใช้ระยะปลูก 0.25 x 0.25 เมตร จำนวน 3 ต้นต่อจับ ในการดูแลรักษาแปลงทดลองนั้น ใส่ปุ๋ยรองพื้นสูตร 16-20-0 อัตรา 20 กก./ไร่ และเมื่อต้นข้าวเข้าสู่ระยะกำเนิดช่อดอกใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 ในอัตรา 10 กก./ไร่ ส่วนโรค

แมลง และศัตรูพืชอื่น ๆ นั้นมีการป้องกัน และกำจัดเมื่อเกิดการระบาดของศัตรูพืชต่าง ๆ ตามความเหมาะสม

การทดลองครั้งนี้ได้ดำเนินการทดลอง ณ แปลงทดลองพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยเริ่มเตรียมแปลงทดลองตั้งแต่เดือน มิถุนายน 2548 และเก็บเกี่ยวเสร็จสิ้นในเดือน มกราคม 2549

วิธีการเก็บข้อมูล

การเก็บข้อมูล เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ผลของการตอบสนองของข้าวพันธุ์ต่างๆ ต่อวันปลูก การเก็บข้อมูลออกเป็นส่วนๆ ดังต่อไปนี้

1. ข้อมูลด้านพืช แบ่งออกเป็น

1.1 ข้อมูลระยะพัฒนาการของพืช : ทำการบันทึกวันที่มีการพัฒนาการของข้าวตามระยะการเจริญเติบโต ซึ่งประกอบไปด้วยข้อมูลในระยะต่างๆ ได้แก่ ระยะแตกกอ ระยะกำเนิดช่อดอก ระยะตั้งท้อง ระยะออกรวง ระยะเมล็ดน้านม ระยะเมล็ดแป้งแข็ง ระยะสุกแก่ทางสรีระ และระยะเก็บเกี่ยว โดยสังเกตจำนวนข้าวจะต้องมีการพัฒนาไปแล้ว 80% ของจำนวนข้าวที่กำหนดไว้

1.2 ข้อมูลการเจริญเติบโต: ทำการสุ่มตัวอย่างข้าวจำนวน 2 กอ เพื่อหาน้ำหนักแห้งมวลชีวภาพตามระยะการเจริญเติบโตที่กำหนดไว้ ได้แก่ ระยะแตกกอ ระยะกำเนิดช่อดอก ระยะตั้งท้อง ระยะออกรวง ระยะเมล็ดน้านม ระยะเมล็ดแป้งแข็ง ระยะสุกแก่ทางสรีระ และระยะเก็บเกี่ยว โดยนำตัวอย่างมาแยกออกเป็นส่วนๆประกอบด้วย ลำต้น ใบ และรวง แล้วนำส่วนต่างๆ ของข้าว ไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งน้ำหนักแห้งแล้วบันทึกไว้ และนำไปวิเคราะห์ข้อมูลการเจริญเติบโต และวัดความสูง โดยวัดความสูงจากโคนต้นถึงปลายรวงที่ระยะเก็บเกี่ยว

การวิเคราะห์ข้อมูลการเจริญเติบโตทำโดยการนำข้อมูลน้ำหนักแห้งในส่วนต่างๆของข้าว ได้แก่ ลำต้น ใบ และรวง ในแต่ละระยะมาสร้างสมการ 3rd order polynomial ดังสมการ

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

เมื่อ y คือ ค่าน้ำหนักแห้ง

a, b, c, d คือ ค่าสัมประสิทธิ์

x คือ จำนวนวันหลังปักดำ

จากการแทนค่าในสมการด้วยจำนวนวันหลังปลูก และสังเกตค่าที่ประเมิน จะได้ค่าของวันที่ปรากฏการสะสมน้ำหนักรากแห้งสะสมสูงสุด และค่าของน้ำหนักรากแห้งสูงสุด แล้วนำค่าที่ได้มาหาอัตราการสะสมน้ำหนักรากแห้งเฉลี่ย โดยใช้สมการ

$$\text{อัตราการสะสมน้ำหนักรากแห้งเฉลี่ย} = \frac{\text{ค่าของน้ำหนักรากแห้งสูงสุด}}{\text{วันที่ปรากฏน้ำหนักรากแห้งสะสมสูงสุด}}$$

1.3 ข้อมูลผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต

การหาผลผลิตนั้นทำโดยการสุ่มตัวอย่างตัวอย่างละ 2 กอ เมื่อข้าวถึงระยะเก็บเกี่ยวในทุกๆ วันปลูกโดยเก็บตัวอย่างชนิดดิน นำมาแยกต้น และใบ นำไปอบเพื่อหาน้ำหนักแห้ง ส่วนเมล็ดแยกออกจากรวง แล้วนำมาชั่ง และทำความสะอาด จากนั้นคัดแยกเฉพาะเมล็ดดี นำไปชั่งหาน้ำหนักเพื่อคำนวณหาผลผลิต และคำนวณหาดัชนีเก็บเกี่ยว (Harvest index : HI) เพื่อศึกษาอิทธิพลของวันปลูกที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของข้าวเหนียวดำ จากสมการ

$$HI = \frac{\text{ผลผลิต (หน่วยเป็นน้ำหนักต่อพื้นที่)}}{\text{น้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินทั้งหมด (หน่วยเป็นน้ำหนักต่อพื้นที่สูงสุด)}}$$

ส่วนการเก็บข้อมูลองค์ประกอบผลผลิตทำโดยการสุ่มข้าวตัวอย่างละ 2 กอเมื่อข้าวถึงระยะเก็บเกี่ยว ทำการนับ และบันทึกจำนวนองค์ประกอบผลผลิต ได้แก่ จำนวนหน่อต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดดีต่อรวง เพื่อหาเปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบ และสุ่มเมล็ดข้าว 1,000 เมล็ด จำนวน 3 ซ้ำต่อกอ นำไปชั่งน้ำหนัก 1,000 เมล็ด เพื่อหาน้ำหนัก 1,000 เมล็ด ดังนี้

$$(\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด} - \text{จำนวนเมล็ดลีบ}) \times 100$$

$$\text{เปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบ} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดลีบทั้งหมด}}{\text{จำนวนเมล็ดทั้งหมด}}$$

2. ข้อมูลด้านอากาศ

การวิเคราะห์ข้อมูลด้านพัฒนาการระยะการเจริญเติบโต โดยทำการคำนวณค่าอุณหภูมิสะสม ที่ระยะแตกกอ ระยะกำเนิดช่อดอก ระยะตั้งท้อง ระยะออกรวง ระยะเมล็ดน้านม ระยะเมล็ดแป้งแข็ง ระยะสุกแก่ทางสรีระ และระยะเก็บเกี่ยว โดยการคำนวณค่าอุณหภูมิสะสมรายวันใช้สมการตามวิธีการของ Neild and James (1974) และ Tollenaar (1979) ซึ่งคำนวณดังนี้

$$GDD = \frac{(T.\max + T.\min)}{2} - T.\text{base}$$

โดยกำหนดให้

T.max (daily maximum temperature) คือ อุณหภูมิสูงสุดประจำวัน หน่วยเป็น องศาเซลเซียส

T.min (daily minimum temperature) คือ อุณหภูมิต่ำสุดประจำวัน หน่วยเป็น องศาเซลเซียส

T.base (The minimum threshold temperature) คือ อุณหภูมิต่ำสุดที่พืชจะสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ (T_{base} ของข้าว = 8 องศาเซลเซียส)

ในกรณีที่ T.max เกิน 30 องศาเซลเซียส ให้ใช้ค่าอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส แต่ถ้า T.max น้อยกว่า 30 องศาเซลเซียส ให้ใช้ค่า T.max นั้นๆ โดยข้อมูลอุณหภูมิอากาศในแต่ละวันของการทดลองนี้ได้มาจากการเก็บบันทึกข้อมูลอากาศรายวัน ซึ่งประกอบด้วย อุณหภูมิสูงสุด และต่ำสุด (องศาเซลเซียส) ในแปลงทดลอง โดยเครื่องบันทึกข้อมูลอากาศ ยี่ห้อ HOBO รุ่น Pro series

3. ข้อมูลปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ

การหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตและการพัฒนาการของข้าวเหนียวดำที่สัมพันธ์กับการสะสมสารต้านอนุมูลอิสระในใบข้าว โดยได้ทำการศึกษาในข้าวที่ปลูกในวันที่ 12 กรกฎาคม 2548 และวันที่ 11 สิงหาคม 2548 เท่านั้น ซึ่งการหาการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ทำโดยการสุ่มเก็บตัวอย่างใบข้าว โดยจะทำการสุ่มเก็บใบข้าวเมื่อข้าวอยู่ในช่วง ระยะแตกกอ ระยะกำเนิดช่อดอก ระยะตั้งท้อง ระยะออกรวง ระยะเมล็ดค้ำน้ำม ระยะเมล็ดแข็ง ระยะสุกแก่ทางสรีระ และระยะเก็บเกี่ยว เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลต่างๆ ดังต่อไปนี้

3.1 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

การหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในใบข้าว ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Singleton and Rossi (1965) ซึ่งมีรายละเอียดขั้นตอนการวิเคราะห์ดังแสดงในภาคผนวก ค

3.2 การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant Activity)

การหาการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในใบข้าว ดัดแปลงจากวิธีการของ Zhang and Hamazuu (2004) ซึ่งมีรายละเอียดขั้นตอนการวิเคราะห์ดังแสดงในภาคผนวก ค