บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้ แบ่งออกเป็น 2 การทดลอง คือ การศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยการเก็บตัวอย่างข้าวจากพื้นที่ในเขตและนอกเขตทุ่งกุลาร้องไห้ จ.ร้อยเอ็ด และการศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์และการจัดการน้ำ ที่มีต่อปริมาณสารหอม 2-acetyl-1-pyrroline (2AP) โดยการทดลองนี้ได้แบ่งการทดลองย่อยออกเป็น 2 การทดลอง คือ การปลูกข้าวในกระถาง และการปลูกข้าวในแปลงทดลอง ณ แปลงทดลองสถานีวิจัยเกษตรเขตชลประทาน ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ วิธีการทดลองมีรายละเอียดดังนี้

การทดลองที่ 1 : ศึกษาความแปรปรวนทางพันธุกรรมของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยการวิเคราะห์ไอโซไซม์ ทำการเก็บตัวอย่างข้าวจากในเขตและนอกเขตทุ่งกุลาร้องไห้ จ.ร้อยเอ็ด จำนวน 8 แห่ง แสดงได้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สถานที่เก็บตัวอย่างข้าวแปลงเกษตรกร จากในเขตและนอกเขตทุ่งกุลาร้องไห้

	สถานที่เก็บตัวอย่าง	หมายเหตุ
1	บ้านโนนยาง ต.บ้านแจ้ง อ.อาจสามารถ	นอกเขตทุ่งกุลาร้องไห้
2	บ้านงูเหลือม อ.เมืองสรวง	นอกเขตทุ่งกุลาร้องไห้
3	บ้านตากแดด อ.สุวรรณภูมิ	ในเขตทุ่งกุลาร้องไห้
4	บ้านผือฮี ต.ดงแดง อ.จตุรพักตรพิมาน	นอกเขตทุ่งกุลาร้องไห้
5	บ้านไผ่ อ.ธวัชบุรี	นอกเขตทุ่งกุลาร้องไห้
6	บ้านบักตู้ ต.โนนสวรรค์ อ.ปทุมรัตน์	ในเขตทุ่งกุลาร้องไห้
7	บ้านหนองสังข์ ต.เหล่าหลวง อ.เกษตรวิสัย	ในเขตทุ่งกุลาร้องไห้
8	บ้านโนนครก ต.โพนทราย อ.โพนทราย	ในเขตทุ่งกุลาร้องไห้

การบันทึกข้อมูล : ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างลักษณะทางพันธุกรรมของข้าว โดยทำการวิเคราะห์ไอโซไซม์จำนวน 2 ครั้ง ครั้งที่ 1 เพื่อเป็นการแยกพันธุ์ข้าวที่เก็บมาจากแปลงเกษตรกร และครั้งที่ 2 เพื่อเป็นการยืนยันประสิทธิภาพของการเลือกเอนไซม์ที่นำมาใช้ในการแยกพันธุ์ แสดงรายชื่อพันธุ์ข้าวที่ทำการวิเคราะห์ดังตารางที่ 2 โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนทางไอโซไซม์ วิธีอิเลคโตรโฟรีซีส (Electrophoresis) แบบโพลีอะครีลาไมด์เจล (Polyacrylamide gel) ตามแบบ Laemmli (1970) และทำการติดสีเอนไซม์ตามกรรมวิธีของThom and Maretzki (1970) เลือกเอนไซม์ 3 ชนิด ได้แก่ esterase, peroxidase และ acid phosphatase และทำการจัดแยกกลุ่มโดยการวิเคราะห์ Cluster (ขั้นตอนการวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ก)

ตารางที่ 2 พันธุ์ข้าวจำนวน 10 ตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ไอโซไซม์

ตัวอย่าง	พันธุ์ข้าว	
	ครั้งที่1	ครั้งที่ 2
1	ขาวดอกมะลิ 105 บ้านไผ่	ก่ำดอยสะเก็ด
2	ขาวดอกมะลิ 105 บ้านตากแดด	ขาวดอกมะลิ 105 บ้านบักตู้
3	ขาวดอกมะลิ 105 บ้านหนองสังข์	ขาวดอกมะลิ 105 บ้านหนองสังข์
4	ขาวดอกมะลิ 105 บ้านบักตู้	ขาวดอกมะลิ 105 บ้านโพนทราย
5	ขาวดอกมะลิ 105 สถานีวิจัยข้าวสุรินทร์	ขาวดอกมะลิ 105 บ้านงูเหลือม
6	ขาวดอกมะลิ 105 บ้านงูเหลือม	ขาวดอกมะลิ 105 บ้านโนนยาง
7	ขาวดอกมะลิ 105 บ้านโพนทราย	ขาวดอกมะลิ 105 สถานีวิจัยข้าวสุรินทร์
8	ขาวดอกมะลิ 105 บ้านผือฮี	ชัยนาท 1
9	ขาวดอกมะลิ 105 บ้านโนนยาง	ข้าวไร่พันธุ์โป่งไคร้
10	พิษณุโลก 2	พิษณุโลก 2

การทดลองที่ 2 : แบ่งได้เป็น 2 การทดลองดังนี้

การทดลองที่ 2.1 : ศึกษาผลของโซเดียมคลอไรด์และการจัดการน้ำที่มีผลต่อปริมาณสารหอม 2AP ในเมล็ดข้าว แบ่งการทดลองย่อยออกเป็น 2 ส่วน ดังนี้

1) ผลของโซเดียมคลอไรด์ต่อปริมาณสารหอม 2AP วางแผนการทดลองแบบ factorial 2x2 จำนวน 3 ซ้ำ มีปัจจัย 2 ปัจจัย คือการใส่โซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 150 mM ใน

ระยะแตกกอจำนวน 2 ครั้ง ห่างกัน 2 สัปดาห์ และไม่มีการใส่โซเดียมคลอไรด์ ปัจจัยที่ 2 เป็นพันธุ์ข้าว 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์พิษณุโลก 2

2) ผลของการจัดการน้ำที่มีต่อปริมาณสารหอม 2AP วางแผนการทดลองแบบ factorial 2x2 จำนวน 3 ซ้ำ มีปัจจัย 2 ปัจจัย คือการขาดน้ำในระยะแตกกอ 1 เดือน หลังจากครบ 1 เดือน มีการให้น้ำขังปกติตลอดอายุการเจริญเติบโต และการให้น้ำขังปกติ ปัจจัยที่ 2 เป็นพันธุ์ข้าว 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์พิษณุโลก 2

การทดลองทั้งสองส่วน ปลูกข้าวในกระถางปลูกจำนวน 1 ต้น/หลุม กระถางละ 2 หลุม ตกกล้าวันที่ 13 กรกฎาคม 2544 ปักดำลงกระถางวันที่ 23 สิงหาคม 2544

การบันทึกข้อมูล : ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารหอม 2AP ในเมล็ดข้าว โดยวิธีการสกัดด้วยสารละลายกรดและตัวทำละลายอินทรีย์ ตรวจวัดด้วย Gas Chromatrography (GC) (สุกัญญา, 2544)

การทดลองที่ 2.2 :ศึกษาผลของการฉีดพ่นโซเดียมคลอไรด์ทางใบต่อความแปรปรวนของปริมาณสารหอม 2AP ของพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในแต่ละพื้นที่ที่เก็บมาจากแหล่งเพาะปลูกในเขตและนอกเขตทุ่งกุลาร้องไห้ (ตารางที่ 1) ปลูกข้าวในแปลงทดลองวางแผนการทดลองแบบ split plot design กำหนดให้

Main plot เป็น การฉีดพ่นโซเดียมคลอไรด์ทางใบ อัตราการฉีดพ่น 0.075g% สารประกอบ ทำการฉีดพ่นที่ระยะกำเนิดช่อดอก และไม่ทำการฉีดพ่นโซเดียมคลอไรด์

Sub plot เป็น พันธุ์ข้าว ได้แก่ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยที่พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มาจากพื้นที่อำเภอต่างๆในเขตและนอกเขตทุ่งกุลาร้องไห้ จำนวน 8 แห่ง (ตารางที่ 1) และสถานีวิจัยข้าวสุรินทร์ 1 แห่ง ใช้พันธุ์เปรียบเทียบ 2 พันธุ์ได้แก่ พันธุ์พิษณุโลก 2 พันธุ์ปทุมธานี 1 ทำการปลูกข้าวในแปลงย่อยขนาด 1.25 x 6 ตารางเมตร ระยะปักดำ 0.25 x 0.25 เมตร ปักดำ 3 ต้น/หลุม ตกกล้าวันที่ 13 กรกฎาคม 2544 ปักดำวันที่ 20 สิงหาคม 2544 ก่อนปักดำทำการใส่ปุ๋ยรองพื้นด้วยปุ๋ยสูตร 16 - 20 - 0 อัตรา 10 กิโลกรัม/ไร่ ภายหลังการปลูกมีการดูแลการให้น้ำในแปลง การป้องกันโรค และกำจัดศัตรูพืชตามความเหมาะสม

การบันทึกข้อมูล

1.การเก็บตัวอย่างดิน

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดินในบริเวณพื้นที่ปลูกข้าวก่อนการปักดำ สุ่มตัวอย่างแบบ composit sample นำดินที่สุ่มเก็บได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารในดิน โดยวิเคราะห์หา

ค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) อินทรียวัตถุ ปริมาณไนโตรเจน ปริมาณฟอสฟอรัส ปริมาณโพแทสเซียม ปริมาณโซเดียมและปริมาณคลอไรด์

2.การเก็บตัวอย่างพืช

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างข้าวในพื้นที่เก็บตัวอย่าง 4 ตารางเมตร เมื่อข้าวถึงระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา (physiological maturity) เพื่อหาน้ำหนักผลผลิต และสุ่มเก็บตัวอย่างข้าวจำนวน 2 กอ เพื่อหาองค์ประกอบผลผลิต ได้แก่ จำนวนรวงต่อกอ จำนวนเมล็ดต่อรวง และน้ำหนัก 1,000 เมล็ด

3.การวิเคราะห์ปริมาณสารหอม 2AP

ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างใบข้าว 3 ระยะ คือ ระยะแตกกอ ระยะก่อนกำเนิดช่อดอก และระยะแป้งอ่อน และสุ่มเก็บตัวอย่างเมล็ดข้าวที่ระยะเก็บเกี่ยว ส่วนของเมล็ดที่นำมาวิเคราะห์ใช้เมล็ดข้าวกล้อง ทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารหอม 2AP ในใบและเมล็ดข้าว โดยวิธีการสกัดด้วยสารละลายกรดและตัวทำละลายอินทรีย์ ตรวจวัดด้วย GC เช่นเดียวกับวิธีปฏิบัติในการทดลองที่ 2.1

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของสิ่งทดลองด้วย Least Significant Difference (LSD)