

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ทดลองที่ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางเกษตร และภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตั้งแต่เดือนสิงหาคม พ.ศ. 2548 ถึง เดือนธันวาคม พ.ศ. 2550 แบ่งการทดลองออกเป็น 3 การทดลอง ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

การทดลองที่ 1 เปรียบเทียบการตอบสนองของข้าวและข้าวสาลีในสภาพขาดออกซิเจนและฟอสฟอรัสต่ำ

เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและการสะสมปริมาณธาตุอาหารของข้าวและข้าวสาลีในสภาพน้ำขังและฟอสฟอรัสต่ำ วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Randomized Complete Block Design (RCB) ทวนซ้ำ 4 ครั้ง โดยใช้ข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวสาลีพันธุ์ฝาง 60 ปลูกในถังพลาสติกสีดำขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร ลึก 30 เซนติเมตร ที่บรรจุสารละลายธาตุอาหารปริมาตร 10 ลิตร โดยจำลองสภาพน้ำไม่ขัง (aerated) ด้วยการให้ออกซิเจนแก่สารละลาย 24 ชั่วโมงต่อวัน ให้มีความเข้มข้นออกซิเจน 18 - 20 % และสภาพน้ำขัง (stagnant) โดยการผสมผงวุ้นในสารละลายธาตุอาหาร 0.1 % (w/v) (Wiengweera, 1997) ให้ความเข้มข้นฟอสฟอรัส 2 ระดับคือ 0.05 (1.6 μM) และ 6.2 ppm (200 μM) เพาะเมล็ดบนกระดาษเพาะใน Petri dish เมื่อต้นอ่อนอายุ 3 วัน ย้ายปลูกลงในสารละลายธาตุอาหารที่ให้ออกซิเจนเป็นเวลา 16 วัน จำนวน 5 ต้นต่อถัง แล้วจึงย้ายปลูกลงแต่ละกรรมวิธีการทดลองเป็นเวลา 12 วัน ปรับ pH สารละลายธาตุอาหารเป็น 6.5 ทุกวันตลอดทั้งการทดลองและเก็บข้อมูลก่อนย้ายลงแต่ละกรรมวิธี 1 วัน และหลังย้ายลงแต่ละกรรมวิธี 4, 8 และ 12 วัน

ในสารละลายธาตุอาหารประกอบด้วย ($\mu\text{mol/ L}$): KNO_3 : 3750; KH_2PO_4 : 100; NH_4NO_3 : 625; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 400; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 1000; NaCl : 50; SiO_2 : 100; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$: 2; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 2; $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 1; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: 0.5; H_3BO_3 : 25; $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 0.5; Fe-EDTA: 100

ปรับ pH 6.5 โดยใช้ NaOH และ HCl 1 N (Insalud, 2006)

ข้อมูลที่บันทึกได้แก่

1. ความยาวราก
2. จำนวนราก

3. % ความพรุนราก

$$\% \text{ porosity} = \frac{\text{volume of gas in root}}{\text{volume of root}} \times 100$$

(Thomson et al., 1990)

4. สัดส่วนน้ำหนักแห้งรากต่อต้น
5. การพัฒนาโพรงอากาศ (aerenchyma) และแนวผนังกั้นการรั่วไหลของออกซิเจน (barrier to radial oxygen loss)
6. น้ำหนักแห้งรากและต้น
7. การสะสมธาตุฟอสฟอรัสในส่วนรากและส่วนเหนือดิน
8. สมรรถภาพในการดูดฟอสฟอรัสต่อกรัมน้ำหนักแห้งราก

การทดลองที่ 2 เปรียบเทียบการปรับตัวของพันธุ์ข้าวไทยต่อสภาพขาดออกซิเจน

เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและการสะสมปริมาณธาตุอาหารของข้าว 15 พันธุ์ วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCB) ทวนซ้ำ 4 ครั้ง โดยใช้ข้าว 15 พันธุ์ คือ

1. ข้าวไร่ 5 พันธุ์ ได้แก่ ชิวแมงจัน เจ้าอ้อ น้ำรู่ ขาวโป่งไคร้ และ อาร์ 258
2. ข้าวนาสวน 9 พันธุ์ ได้แก่ กข7 ชัยนาท 1 พิษณุโลก 60-2 สุพรรณบุรี 1 ปทุมธานี 1 ขาวดอกมะลิ 105 น้ำสะกวย 19 เหมยหนอง 62เอี่ยม และเหนียวสันป่าตอง
3. ข้าวน้ำลึก 1 พันธุ์ ได้แก่ ปราจีนบุรี 2

เพาะเมล็ดบนกระดาษเพาะใน Petri dish ปลุกต้นกล้าอายุ 3 วัน จำนวน 5 ต้นต่อถัง โดยใช้ถังพลาสติกสีดำขนาดความจุ 10 ลิตร ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร และลึก 30 เซนติเมตร ในสารละลายธาตุอาหารที่จำลองสภาพน้ำไม่ขัง (aerated) ด้วยการให้ออกซิเจนแก่สารละลาย 24 ชั่วโมงต่อวัน ให้มีความเข้มข้นออกซิเจน 18 - 20 % เป็นเวลา 21 วัน เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารใหม่ทุก ๆ 7 วัน แล้วจึงย้ายลงในสารละลายธาตุอาหารที่จำลองสภาพน้ำขัง (stagnant) ด้วยการผสมผงวุ้นในสารละลายธาตุอาหาร 0.1 % (w/v) (Wiengweera, 1997) เป็นเวลา 7 วัน ปรับ pH สารละลายธาตุอาหารเป็น 6.5 ทุกวันตลอดทั้งการทดลอง เก็บข้อมูลก่อนย้ายปลูกลงในสารละลาย stagnant 1 วัน และหลังย้ายปลูกลงในสารละลาย stagnant 7 วัน

ในสารละลายธาตุอาหารประกอบด้วย ($\mu\text{mol/L}$): KNO_3 : 3750; KH_2PO_4 : 100; NH_4NO_3 : 625; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 400; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 1000; NaCl : 50; SiO_2 : 100; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$: 2; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 2; $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 1; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: 0.5; H_3BO_3 : 25; $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 0.5; Fe-EDTA: 100

ปรับ pH 6.5 โดยใช้ NaOH และ HCl 1 N (Insalud, 2006)

ข้อมูลพื้นฐานที่ทำได้แก่

1. ความยาวรากและต้น
2. จำนวนรากพอม (รากที่มี lateral root) และรากอ้วน (รากที่ไม่มี lateral root)
3. จำนวนใบ และหน่อ
4. % ความพรุนราก

$$\% \text{ porosity} = \frac{\text{volume of gas in root}}{\text{volume of root}} \times 100$$

(Thomson et al., 1990)

5. น้ำหนักแห้งรากและต้น
6. การสะสมธาตุฟอสฟอรัสในส่วนรากและส่วนเหนือดิน
7. สมรรถภาพในการดูดฟอสฟอรัสต่อกรัมน้ำหนักแห้งราก
8. Relative growth rate (RGR; กรัม/กรัม/วัน)

การทดลองที่ 3 เปรียบเทียบการตอบสนองของข้าวและสมรรถภาพการดูดฟอสฟอรัสของรากชนิดต่างๆ ในสภาพขาดออกซิเจน

เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและการสะสมปริมาณธาตุอาหาร และประเมินลักษณะการตอบสนองของข้าวที่จะบ่งชี้ได้อย่างเด่นชัดว่ามีความสามารถในการดูดฟอสฟอรัสในสภาพน้ำขัง โดยใช้ข้าว 3 พันธุ์ ที่คัดเลือกมาจากการทดลองที่ 2 ได้แก่

1. พันธุ์สุพรรณบุรี 1 มีประสิทธิภาพการดูดฟอสฟอรัสลดลงเมื่อได้รับสภาพขาดออกซิเจน
2. พันธุ์หมยนอง 62 เอ็ม มีประสิทธิภาพการดูดฟอสฟอรัสไม่เปลี่ยนแปลงทั้งในสภาพขาดและไม่ขาดออกซิเจน
3. พันธุ์น้ำสะกูด 19 มีประสิทธิภาพการดูดฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นเมื่อได้รับสภาพขาดออกซิเจน

วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Randomized Complete Block Design (RCB) ทวนซ้ำ 4 ครั้ง โดยเพาะเมล็ดบนกระดาษเพาะใน Petri dish ปลูกต้นกล้าอายุ 3 วัน จำนวน 5 ต้น ต่อถัง โดยใช้ถังพลาสติกสีดำขนาดความจุ 10 ลิตร ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร และลึก 30 เซนติเมตร ในสารละลายธาตุอาหารที่จำลองสภาพน้ำไม่ขัง (aerated) ด้วยการให้ออกซิเจนแก่สารละลาย 24 ชั่วโมงต่อวัน ให้มีความเข้มข้นออกซิเจน 18 - 20 % เป็นเวลา 21 วัน เปลี่ยนสารละลายธาตุอาหารใหม่ทุก ๆ 7 วัน แล้วจึงย้ายลงในสารละลายธาตุอาหารอาหารที่จำลองสภาพน้ำขัง (stagnant) ด้วยการผสมผงวุ้นในสารละลายธาตุอาหาร 0.1 % (w/v) (Wiengweera, 1997) หรือในสารละลายธาตุอาหาร aerated ที่ระดับฟอสฟอรัสต่ำ (1.6 μM) หรือฟอสฟอรัสสูง (200 μM) ทวนซ้ำ 4 ครั้ง เป็นเวลา 7 วัน ปรับ pH สารละลายธาตุอาหารเป็น 6.5 ทุกวันตลอดทั้งการทดลอง โดยก่อนย้ายปลูก 1 วัน ข้าวในแต่ละกรรมวิธีจะถูกแบ่งออกเป็น 3 ชนิดรากได้แก่ข้าวที่มี

รากปกติ (ไม่มีการตัดราก) ข้าวที่มีแต่รากอ้วน (ถูกตัดรากที่มี lateral root ออก) และข้าวที่มีแต่รากผอม (ถูกตัดรากที่ไม่มี lateral root ออก) เก็บข้อมูลก่อนตัดราก 1 วันและหลังจากย้ายปลูกลงในแต่ละกรรมวิธี 7 วัน

ในสารละลายธาตุอาหารประกอบด้วย ($\mu\text{mol/L}$): KNO_3 : 3750; KH_2PO_4 : 100; NH_4NO_3 : 625; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 400; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 1000; NaCl : 50; SiO_2 : 100; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$: 2; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$: 2; $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$: 1; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$: 0.5; H_3BO_3 : 25; $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$: 0.5; Fe-EDTA: 100

ปรับ pH 6.5 โดยใช้ NaOH และ HCl 1 N (Insalud, 2006)

ข้อมูลที่บันทึกได้แก่

1. ความยาวราก
2. จำนวนราก
3. น้ำหนักแห้งรากและดิน
4. การสะสมธาตุฟอสฟอรัสในส่วนรากและส่วนเหนือดิน
5. สมรรถภาพการดูดฟอสฟอรัสต่อกรัมน้ำหนักแห้งราก

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ตามแบบแผนการทดลองแบบ RCB และ Factorial in RCB เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยสิ่งทดลองโดยใช้ LSD (Least Significant Difference) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % และวิธี Duncan's Multiple Rang Test