

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย

แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ กิจกรรมที่ 1 การรวบรวมเมล็ดพันธุ์ข้าวไร่เพื่อใช้ในการศึกษา ข้อได้เปรียบ-เสียเปรียบของพันธุ์ และกิจกรรมที่ 2 งานศึกษาวิจัย ซึ่งแบ่งเป็น 2 การทดลอง ได้แก่ การทดลอง ในห้องปฏิบัติการ (ประกอบด้วย 3 การทดลองย่อย) และการทดลองที่ 2 ในพื้นที่ปลูกข้าวไร่ในแปลงของ เกษตรกร ดังรายละเอียด ดังนี้

กิจกรรมที่ 1 การรวบรวมเมล็ดพันธุ์ข้าวไร่

เก็บข้อมูลการปลูกข้าว การคัดเลือกพันธุ์เพื่อใช้ในการปลูกของเกษตรกรปากะญอ รวมไปถึง ข้อมูลด้านอื่นๆ เช่น การบำรุงดิน การใช้พื้นที่ในการปลูกข้าวไร่ เป็นต้น

สำหรับการเก็บรวบรวมเมล็ดพันธุ์จากเกษตรกร เนื่องจากเป็นการศึกษาในปีแรก คณะผู้วิจัย มุ่งเน้นกลุ่มเกษตรกรที่ไม่เคยได้รับการความรู้ด้านการเกษตร หรือเป็นกลุ่มเกษตรกรที่มีปัญหาในการปลูก ข้าวไร่ ซึ่งกลุ่มปากะญอเป็นกลุ่มเกษตรกรที่ได้รับโอกาสในการเข้ารับการอบรมหรือเสริมสร้างความรู้เรื่อง การเกษตรน้อยกว่าเกษตรกรกลุ่มอื่น ๆ

การรวบรวมมีทั้งการแลกเปลี่ยนความรู้เรื่องการปลูกข้าวไร่ไปพร้อมกับการรวบรวมเมล็ดพันธุ์จาก เกษตรกร และการลงพื้นที่ไปหาเกษตรกรแต่ละรายเพื่อรวบรวมเมล็ดพันธุ์ในพื้นที่ป่าละอูน้อย ตำบลห้วยสัตว์ ใหญ่ อำเภอหัวหิน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

กิจกรรมที่ 2 การศึกษาวิจัย

การทดลองที่ 1 ศึกษาข้าวไร่ในห้องปฏิบัติการ

การทดลองที่ 1.1 การตอบสนองของข้าวไร่พันธุ์ต่าง ๆ ต่อสภาพการปลูกในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้น ของธาตุฟอสฟอรัสในระดับที่แตกต่างกัน

อุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์

1. ขวดเพาะเลี้ยง ขนาด 8 ออน
2. ขวดเพาะเลี้ยง ขนาด 4 ออน
3. เครื่องชั่ง
4. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
5. กล้องเตอริโอไมโครสโคป (stereo microscop)
6. เมล็ดพันธุ์ข้าวไร่ ได้แก่ บ่อแผ่ชู รอบี นาสาร กิพู อังเจิงใหญ่ เราสุหยา และนิกอ

สารเคมี

1. MS medium
2. Myo-inositol
3. Nicotinic acid
4. Pyridoxine.HCl
5. Thiamine.HCl
6. Glycine
7. Agar
8. Sucrose

ศึกษาโดยใช้แผนการทดลองแบบแฟกทอเรียลที่มีการสุ่มสมบูรณ์ (3x5 Factorial in Completely randomized design; CRD) แบ่งออกเป็น 8 ซ้ำ

ปัจจัยที่ใช้ในการศึกษา

ปัจจัยที่ 1 ระดับความเข้มข้นของธาตุฟอสฟอรัส 5 ระดับ ได้แก่

1. ระดับฟอสฟอรัส 0 ppm
2. ระดับฟอสฟอรัส 2.5 ppm
3. ระดับฟอสฟอรัส 5 ppm
4. ระดับฟอสฟอรัส 7.5 ppm
5. ระดับฟอสฟอรัส 10 ppm

ปัจจัยที่ 2 พันธุ์ข้าวไร่ 3 พันธุ์ ได้แก่ บ่อแผ่ชู รอบี และนาสาร

วิธีการทดลอง

กะเทาะเปลือกเมล็ดข้าวไร่ใส่ใน flask ที่สะอาด ฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวเมล็ดด้วยคลอโรกซ์ 30 เปอร์เซนต์ เป็นเวลา 30 นาที นำภาชนะเข้าตู้ปลอดเชื้อ รินสารละลายออก ใช้ช้อนสะอาดตักเมล็ดข้าวลงขวดที่มีน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ลนปากภาชนะด้วยเปลวไฟก่อนรินน้ำทิ้ง หลังจากนั้นนำปากคีบที่สะอาดคีบเมล็ดวางบนกระดาษเพื่อซับน้ำแล้ววางบนอาหารแข็งสูตรอาหาร MS เมื่อต้นกล้าข้าวอายุได้ 3-5 วัน ทำการย้ายต้นกล้าข้าวเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงโดยให้มีความเข้มข้นฟอสฟอรัส 0, 2.5, 5, 7.5 และ 10 ppm ตามลำดับ

ลักษณะที่ศึกษา

ในการทดลองครั้งนี้ได้ทำการศึกษาและบันทึกลักษณะต่างๆ ของต้นกล้าข้าว ได้แก่ การแตกแขนงของราก การแตกกอ จำนวนรากแขนง ลักษณะการแผ่กระจายของราก และน้ำหนักแห้งของราก จะเก็บผลหลังจากปลูกได้ 1 เดือน และ 2 เดือน

การทดลองที่ 1.2 การตอบสนองของข้าวไรพันธ์ต่างๆ ต่อสภาพการปลูกในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้นของ Polyethylene glycol ในระดับที่ต่างกัน

อุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์

1. ขวดเพาะเลี้ยง ขนาด 8 ออนซ์
2. ขวดเพาะเลี้ยง ขนาด 4 ออนซ์
3. เครื่องชั่ง
4. เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)
5. กล้องเตอริโอไมโครสโคป (stereo microscope)
6. เมล็ดพันธุ์ข้าวไร ได้แก่ บ่อแผ่ชู รอบี นาสาร กิพู อังเจิงใหญ่ ไร่สุทธยา และนิกอ

สารเคมี

1. MS medium
2. Myo-inositol
3. Nicotinic acid
4. Pyridoxine.HCl
5. Thiamine.HCl
6. Glycine
7. Agar
8. Sucrose
9. Polyethylene glycol 6000 (PEG6000)

การศึกษานี้เพื่อจำลองลักษณะแล้งให้แก่ข้าวที่ทนต่อสภาวะแล้ง ศึกษาโดยใช้แผนการทดลองแบบแฟกทอเรียลที่มีการสุ่มสมบูรณ์ (2x6 Factorial in Completely randomized design; CRD) แบ่งออกเป็น 8 ซ้ำ

ปัจจัยที่ใช้ในการศึกษา

ปัจจัยที่ 1 ระดับความเข้มข้นของ Polyethylene glycol 6000 (PEG6000) 6 ระดับ ได้แก่

1. ระดับ PEG6000 0 เปอร์เซ็นต์
2. ระดับ PEG6000 5 เปอร์เซ็นต์
3. ระดับ PEG6000 10 เปอร์เซ็นต์
4. ระดับ PEG6000 15 เปอร์เซ็นต์
5. ระดับ PEG6000 20 เปอร์เซ็นต์
6. ระดับ PEG6000 25 เปอร์เซ็นต์

ปัจจัยที่ 2 คือพันธุ์ข้าวไร่ 2 พันธุ์ ได้แก่ รอบี และนาสาร

วิธีการทดลอง

กะเทาะเปลือกเมล็ดข้าวไร่ใส่ใน flask ที่สะอาด ฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวเมล็ดด้วยคลอโรกซ์ 30 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที นำภาชนะเข้าตู้ปลอดเชื้อ รินสารละลายออก ใช้ช้อนสะอาดตักเมล็ดข้าวลงขวดที่มีน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้ว 3 ครั้ง ลนปากภาชนะด้วยเปลวไฟก่อนรินน้ำทิ้ง หลังจากนั้นนำปากคีบที่สะอาดคีบเมล็ดวางบนกระดาษเพื่อซับน้ำแล้ววางบนอาหารแห้ง MS เมื่อต้นกล้าข้าวอายุได้ 3-5 วัน ทำการย้ายต้นกล้าข้าวเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงโดยการเติมสาร PEG6000 ความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การทดลองที่ 1.3 ผลของความเข้มข้นฟอสฟอรัสต่อบางลักษณะของข้าวไร่จากสองพื้นที่ปลูก

ทำการทดลองโดยใช้พันธุ์ข้าวไร่ 5 สายพันธุ์ ได้แก่ กิพู รอบี อังเจิงใหญ่ เรา้สุหยาและนิกอ โดยพันธุ์กิพูและรอบีเป็นสายพันธุ์ที่ได้จากเกษตรกรในพื้นที่ป่าละอู อำเภอยางชุมน้อย จังหวัดศรีสะเกษ ขณะที่สายพันธุ์อังเจิงใหญ่ได้จากเกษตรกรในพื้นที่อำเภอนงนุญป่าละอู จังหวัดเพชรบุรี สำหรับพันธุ์เรา้สุหยาและนิกอเป็นสายพันธุ์ที่ได้รับความอนุเคราะห์จากฝ่ายวิจัยมูลนิธิโครงการหลวง จังหวัดเชียงใหม่

การตอบสนองของข้าวไร่พันธุ์ต่างๆ ต่อสภาพการปลูกในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีความเข้มข้นของธาตุฟอสฟอรัสในระดับที่แตกต่างกัน ศึกษาโดยใช้แผนการทดลองแบบแฟกทอเรียลที่มีการสุ่มสมบูรณ์ (5x4 Factorial in Completely randomized design; CRD) แบ่งออกเป็น 5 ซ้ำ

ปัจจัยที่ใช้ในการศึกษา

ปัจจัยที่ 1 ระดับความเข้มข้นของธาตุฟอสฟอรัส 4 ระดับ ได้แก่

1. ระดับฟอสฟอรัส 2.5 ppm
2. ระดับฟอสฟอรัส 5.0 ppm

3. ระดับฟอสฟอรัส 7.5 ppm

4. ระดับฟอสฟอรัส 10.0 ppm

ปัจจัยที่ 2 พันธุ์ข้าวไร่ 5 สายพันธุ์ ได้แก่ กิพู รอปี่ อังเจิงใหญ่ เรา้สุหย้าและนิกอ

วิธีการทดลอง

กะเทาะเปลือกเมล็ดข้าวไร่แต่ละพันธุ์ใส่ใน flask ที่สะอาด นำไปล้างน้ำ 2-3 ครั้ง หลังจากนั้นนำมาแช่ในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 วินาที และล้างด้วยน้ำกลั่น 2-3 นาที นำไปฟอกฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ผิวเมล็ดด้วยคลอโรกซ์ 15 เปอร์เซ็นต์ โดยทำในตู้ปลอดเชื้อ เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นรินสารละลายออก ใช้ซ็อนสะอาดตักเมล็ดข้าวลงขวดที่มีคลอโรกซ์ 10 เปอร์เซ็นต์ แช่เป็นเวลา 10 นาที และรินสารละลายออก นำเมล็ดข้าวไปล้างน้ำกลั่นฆ่าเชื้อแล้ว 2 ซ้ำๆละ 2-3 นาที ลนปากภาชนะด้วยเปลวไฟก่อนรินน้ำทิ้ง หลังจากนั้นนำปากคืบที่สะอาดคืบเมล็ดวางบนภาชนะที่มีกระดาษเพื่อซับน้ำ หลังจากนั้นนำปากคืบที่สะอาดคืบเมล็ดข้าววางบนอาหารแข็งสูตรอาหาร MS เมื่อต้นกล้าข้าวอายุได้ 3-5 วัน ทำการย้ายต้นกล้าข้าวไปเลี้ยงบนอาหารสูตร MS ดัดแปลงโดยให้ความเข้มข้นฟอสฟอรัส 2.5, 5.0, 7.5, และ 10.0 ppm ตามลำดับ

ลักษณะที่ศึกษา

ในการทดลองที่ 1.1-1.3 มีการบันทึกลักษณะต่างๆ ของต้นกล้าข้าวแตกต่างกันไป ได้แก่ การแตกแขนงของรากโดยการให้ค่าคะแนน การแตกกอ จำนวนรากแขนง และน้ำหนักสดน้ำหนักแห้งของรากและยอดเก็บผลหลังจากปลูกได้ 1 เดือน

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทั้งการทดลองที่ 1.1 และการทดลองที่ 1.2 ใช้แผนการทดลองแบบแฟกทอเรียลที่มีการสุ่มสมบูรณ์ (Factorial in Completely Randomized Design; CRD) นำข้อมูลทั้งหมดที่ได้จากการศึกษาเข้าประมวลผลทางสถิติ โดยทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) หากเกิดความแตกต่างเนื่องจากทรีทเมนต์ให้ทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทรีทเมนต์แบบวิธีของดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test, DMRT) ตามโมเดลของการทดลองดังนี้

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + \epsilon_{ijk} \quad , \quad i = 1, 2, \dots, a$$

$$j = 1, 2, \dots, b$$

$$k = 1, 2, \dots, r$$

เมื่อ Y_{ijk} = ค่าสังเกตของหน่วยทดลองที่ k ที่ได้รับทรีทเมนต์คอมบินเนชันของระดับที่ i ของปัจจัย

A และ ระดับที่ j ของปัจจัย B

μ = ค่าเฉลี่ยรวม

A_i = อิทธิพลของปัจจัย A

B_j = อิทธิพลของปัจจัย B

AB_{ij} = อิทธิพลร่วม AB

ϵ_{ijk} = ความคลาดเคลื่อนจากการทดลอง (error)

และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยทรีทเมนต์ด้วยวิธีออร์ทोगอนัลโพลีโนเมียล
(Treatment means analysis using Orthogonal Polynomial)

สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร
วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลการบำรุงดินในพื้นที่ปลูกข้าวไร่

ทำการศึกษาผลการบำรุงดิน 2 วิธีการ ได้แก่ การใส่ปุ๋ยคอก และการใช้ปุ๋ยพืชสดในการบำรุงดิน
เทียบการแปลงควบคุมที่ไม่มีการบำรุงดิน แต่ในทุกแปลงเป็นแปลงปลูกข้าวไร่ของเกษตรกรที่ได้มีการเผาแปลง
มาก่อนหน้านี้แล้ว

วัสดุ และอุปกรณ์

1. เมล็ดถั่วเขียวพันธุ์ถั่วเกษตร
2. ปุ๋ยคอก (ปุ๋ยวัวหลุม)
3. พันธุ์ข้าวไร่
4. ชุดตรวจวัดธาตุอาหารในดิน
5. โกร่งบดดิน
6. ตะแกรงร่อนดิน

วิธีการศึกษา

- 1) การเก็บตัวอย่างดินก่อนทำการบำรุงดิน

1.1 เก็บตัวอย่างดินก่อนทำการบำรุงดินเพื่อปลูกข้าวจากแปลงปลูกข้าวไร่ 2 แปลง
ของเกษตรกรซึ่งในแต่ละแปลงใหญ่นั้นจะแบ่งเป็นอีก 3 แปลงย่อย ได้แก่ แปลงควบคุม (ไม่บำรุงดิน) , บำรุง
ดินโดยถั่วเขียว (ปุ๋ยพืชสด) และการบำรุงดินโดยการใส่ปุ๋ยคอก (วัวหลุม) (ตารางที่ 1)

1.2 นำตัวอย่างดินที่เก็บได้มารวมกันผึ่งไว้ในร่มหลังจากนั้นนำไปบดและร่อนผ่านตะแกรง
ขนาด 0.2 มิลลิเมตร แล้วนำไปวิเคราะห์หาธาตุอาหารในดิน

2) การบำรุงดิน

2.1 การปลูกถั่วเขียวจะปลูกในเดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2555 สับลงดินเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2555 ทิ้งไว้ 1 เดือน

2.2 โดยทำการหมักถั่วเขียวมีการดำเนินการไป พร้อมกับใส่ปุ๋ยอินทรีย์ (ตารางที่ 1) ในแปลงที่เตรียมไว้ หมักทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 1 เดือนเช่นเดียวกันในเดือนมิถุนายน

3) ทำการปลูกข้าวไร่

ปลูกข้าวไร่เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2555 โดยการหยอดเมล็ด อัตรา 5-6 เมล็ด/หลุม

4) เก็บตัวอย่างดินหลังทำการบำรุงดิน และเก็บข้อมูล

4.1 เมื่อข้าวใกล้เก็บเกี่ยว (เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2555) ทำการเก็บตัวอย่างดินมาวิเคราะห์หาธาตุอาหารในดินโดยทำเช่นเดียวกับข้อ 1 และ 2 และบันทึกข้อมูลเช่นการกักลม วัดความสูงของต้น ความยาวรวง จำนวนรวง/กอ และจำนวนต้น/กอ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิจัยนี้มีกลุ่มการทดลองทั้งหมดจำนวน 3 ทรีตเมนต์ ได้แก่ แปลงควบคุม (ไม่บำรุงดิน) แปลงบำรุงดินโดยถั่วเขียว (ปุ๋ยพืชสด) และการบำรุงดินโดยการใส่ปุ๋ยคอก (ปุ๋ยวัวหลุม) จำนวน 3 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (Randomized Complete block design ; RCBD) นำข้อมูลทั้งหมดที่ได้จากการศึกษาเข้าประมวลผลทางสถิติ โดยทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) หากเกิดความแตกต่างเนื่องจากทรีตเมนต์ให้ทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยทรีตเมนต์แบบวิธีของดันแคน (Duncan's New Multiple Range Test, DMRT)

สถานที่ดำเนินการทดลอง

หมู่ 3 บ้านป่าละอูน้อย ตำบลห้วยสัตว์ใหญ่ อำเภอหัวหิน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์มูลปุ๋ยหมักวัวหลุมคอกที่ 2 ของชุมชนสหกรณ์โคนมภาคใต้ จังหวัด
ประจวบคีรีขันธ์ (วิเคราะห์ 24 ตุลาคม 2555)

รายการ	สัญลักษณ์	ค่าวิเคราะห์
ความเป็นกรด-ด่าง	pH (1:10)	7.95
ความชื้น	Moisture content at 75°C 20 hrs.(%)	70.57
ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด	Total N (%)	0.91
ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด	Total P ₂ O ₅ (%)	0.62
ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด	Total K ₂ O (%)	1.95
ปริมาณโซเดียม	Sodium (%)	0.09
ค่าการนำไฟฟ้า	EC (1:10)(dS/m)	2.40
คาร์บอนอินทรีย์	Organic carbon (%)	21.76
อินทรีย์วัตถุ	Organic matter (%)	37.42
สัดส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน	C:N ratio	24:1
การปนเปื้อนของพลาสติก เศษแก้ว	Plastic, Glass Etc.	ไม่พบ
เปอร์เซ็นต์เศษแก้ว	Gravel (%)	0
ขนาดวัตถุเท่ากับ 12.5 x 12.5 มม.	Sieve size (12.5 x 12.5 mm) (%)	100
ดัชนีเมื่อนำมาเพาะความงอก (92.20%)	Germination index (92.20%)	สมบูรณ์

ทดสอบ Inhouse method based on AOAC