

### บทที่ 3

## อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 การศึกษาถึงวันปลูกที่เหมาะสมที่มีผลต่อการเจริญเติบโต ผลผลิต และสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในฟ้าทะลายโจร

วางแผนการทดลองแบบ Split plot in randomized complete block design มีจำนวน 3 ซ้ำ Main plot คือ ฟ้าทะลายโจร จำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่

1. ฟ้าทะลายโจร พันธุ์พิษณุโลก5-4
2. ฟ้าทะลายโจร พันธุ์ปราจีนบุรี
3. ฟ้าทะลายโจร พันธุ์นครปฐม

Sub plot ได้แก่ วันปลูกของฟ้าทะลายโจรที่แตกต่างกัน ดังนี้คือ

1. ปลูกฟ้าทะลายโจรวันที่ 1 เดือน มีนาคม
2. ปลูกฟ้าทะลายโจรวันที่ 1 เดือน เมษายน
3. ปลูกฟ้าทะลายโจรวันที่ 1 เดือน พฤษภาคม
4. ปลูกฟ้าทะลายโจรวันที่ 1 เดือน มิถุนายน
5. ปลูกฟ้าทะลายโจรวันที่ 1 เดือน กรกฎาคม

ปลูกฟ้าทะลายโจรลงในแปลงย่อย ขนาด 2 ตารางเมตร จำนวน 45 แปลงย่อย โดยหยอดเป็นหลุมให้ลึก 2-5 เซนติเมตร มีระยะห่างระหว่างต้นและแถว ตามสิ่งทดลองที่กำหนดคือ 50x20 เซนติเมตร หยอดหลุมละ 4-5 เมล็ด และเกลี่ยดินกลบเบาๆ ก่อนปลูกมีการให้น้ำแก่ดินโดยให้ดินมีความชื้นที่ระดับความจุสนาม (field capacity) แล้วจากนั้นมีการให้น้ำชลประทานแก่ฟ้าทะลายโจรอย่างเพียงพอตลอดฤดูปลูก สำหรับการใส่ปุ๋ยคอกคือไม่มีการใส่เพียงครั้งเดียวก่อนปลูก ในอัตราที่ 2 ตันต่อไร่ ส่วนการกำจัดวัชพืชได้มีการกำจัดวัชพืชโดยใช้มือถอนออกจำนวน 2 ครั้ง เมื่อฟ้าทะลายโจรมีอายุได้ 30 และ 60 วันหลังปลูก หลังจากนั้นฟ้าทะลายโจรก็จะเจริญเติบโตคลุมพื้นที่ เมื่อฟ้าทะลายโจรมีอายุถึง 60 วันหลังปลูก ฟ้าทะลายโจรมีการแตกกิ่งก้านสาขาและยอดอ่อน มีการแตกออกเป็นพุ่ม สีสวยสดและสามารถเก็บผลผลิตต้นสดได้เมื่อฟ้าทะลายโจรมีอายุตั้งแต่ 120 วัน เป็นต้นไป

#### การเก็บข้อมูล

1. วัดความสูงของลำต้น จำนวนข้อบนลำต้น และจำนวนกิ่ง หลังจากนั้นนำตัวอย่างพืชไปอบแห้งในตู้อบโดยใช้อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักแห้งคงที่ แล้วจึงนำมาชั่งน้ำหนักแห้งของต้น และใบ ซึ่งในการตรวจวัดหาน้ำหนักสดและแห้งนี้ตรวจวัดเมื่อฟ้าทะลายโจรมีอายุ 120 วัน หลังปลูก ตามลำดับ

2. ตรวจวัดพื้นที่ใบ เมื่อนำใบฟ้าทะลายโจรมาชั่งน้ำหนักสดเสร็จแล้ว ก็จะรวบรวมใบทั้งหมดมาตรวจวัดพื้นที่ใบ ก่อนที่จะนำเอาเข้าตู้อบเพื่อหาพื้นที่ใบแห้ง การวัดพื้นที่ใบตรวจวัดโดยใช้เครื่องมือวัดพื้นที่ใบ คือ Leaf area meter รุ่น LI-3100 ของบริษัท Li-cor ผลิตที่ประเทศสหรัฐอเมริกา

3. ตรวจวัดหาค่าคลอโรฟิลล์ภายในใบของฟ้าทะลายโจร โดยทำการตรวจวัดใบที่ 2 นับจากยอดลงมา ใช้ใบตรวจวัดจำนวน 3 ใบ โดยใช้ใบที่มีการขยายตัวเต็มที่ นำมาวัดด้วยเครื่อง SPAD chlorophyll meter reading (รุ่น SPAD-502) จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ย ตรวจวัดที่อายุ 120 วันหลังปลูก

4. การวิเคราะห์หาปริมาณของสารออกฤทธิ์ คือ ปริมาณแอนโดรกราโฟไลด์ในใบของฟ้าทะลายโจร ใช้วิธีของ Thai Herbal Pharmacopeia (Ministry of Public Health, 1995)

5. ตรวจวัดผลผลิตน้ำหนักใบแห้งของฟ้าทะลายโจรที่อายุ 120 วันหลังปลูก หลังจากนั้นเมื่อได้น้ำหนักใบแห้งต่อต้น ก็นำมาคำนวณเป็นผลผลิตน้ำหนักใบแห้งต่อพื้นที่ (ตารางเมตร)

### ขั้นตอนและวิธีการวิเคราะห์

วิเคราะห์ข้อมูลที่รวบรวมได้ทางสถิติตามแผนการทดลอง Split plot in randomized complete block design และ หาค่า LSD เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละสิ่งทดลอง หลังจากนั้นทำกราฟ ตาราง และ รายงานผลการทดลองที่ 1

การทดลองที่ 2 การศึกษาถึงวันเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมที่มีผลต่อการเจริญเติบโต ผลผลิต และสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในฟ้าทะลายโจร

วางแผนการทดลองแบบ Split plot in randomized complete block design มีจำนวน 3 ซ้ำ Main plot คือ ฟ้าทะลายโจร จำนวน 3 พันธุ์ ได้แก่

1. ฟ้าทะลายโจร พันธุ์พิษณุโลก5-4
2. ฟ้าทะลายโจร พันธุ์ปราจีนบุรี
3. ฟ้าทะลายโจร พันธุ์นครปฐม

Sub plot ได้แก่ วันเก็บเกี่ยวฟ้าทะลายโจรแตกต่างกันคือ

1. เก็บเกี่ยวฟ้าทะลายโจรที่อายุ 120 วันหลังปลูก
2. เก็บเกี่ยวฟ้าทะลายโจรที่อายุ 135 วันหลังปลูก
3. เก็บเกี่ยวฟ้าทะลายโจรที่อายุ 150 วันหลังปลูก
4. เก็บเกี่ยวฟ้าทะลายโจรที่อายุ 170 วันหลังปลูก

ปลูกฟ้าทะลายโจรลงในกระถางทั้งหมดจำนวน 360 กระถาง ก่อนปลูกมีการให้น้ำแก่ดินที่ระดับความจุสนาม (field capacity) หลังจากนั้นมีการให้น้ำแก่ฟ้าทะลายโจรทุกวันในปริมาณเทียบเท่ากับปริมาณน้ำฝนเท่ากับ 5 มิลลิเมตร ช่วงเวลาของการให้น้ำจะให้ช่วงเวลาเช้าและมีการให้อย่างสม่ำเสมอโดยใช้บัวรดน้ำ การให้น้ำให้พร้อมกันทั้งหมดทุกกระถางตลอดอายุการเจริญเติบโต สำหรับการดูแลรักษามีการกำจัดวัชพืช จำนวน 3

ครั้ง เมื่อฟ้าทะลายโจรมีอายุ 30, 60 และ 90 วันหลังปลูก ส่วนการป้องกันกำจัดโรคและแมลง พบว่าในฟ้าทะลายโจรมีแมลงศัตรูพืชมารบกวนน้อยมาก จึงไม่มีการป้องกันกำจัด หลังจากฟ้าทะลายโจรมีอายุ 60 วันหลังปลูก ก็จะมีการแตกกิ่งก้านสาขาและแตกยอดอ่อนเป็นกอและเป็นพุ่มสีเขียวสด และสามารถเก็บต้นสดได้เมื่อฟ้าทะลายโจรมีอายุตามสิ่งทดลองที่กำหนด

### การเก็บข้อมูล

1. วัดความสูงของลำต้น จำนวนข้อบนลำต้น และจำนวนกิ่ง หลังจากนั้นนำตัวอย่างพืชไปอบแห้งในตู้อบโดยใช้อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักแห้งคงที่ แล้วจึงนำมาชั่งน้ำหนักแห้งของต้น และใบ ซึ่งในการตรวจวัดหาน้ำหนักสดและแห้งนี้ ตรวจวัดเมื่อฟ้าทะลายโจรมีอายุ 120, 135, 150 และ 170 วันหลังปลูก ตามลำดับ

2. ตรวจวัดพื้นที่ใบ เมื่อนำใบฟ้าทะลายโจรมาชั่งหาน้ำหนักสดเสร็จแล้ว ก็จะรวบรวมใบทั้งหมดมาตรวจวัดพื้นที่ใบก่อนที่จะนำเอาเข้าตู้อบเพื่อหาน้ำหนักใบแห้ง การวัดพื้นที่ใบตรวจวัดโดยใช้เครื่องมือวัดพื้นที่ใบ คือ Leaf area meter รุ่น LI-3100 ของบริษัท Li-cor ผลิตที่ประเทศสหรัฐอเมริกา

3. ตรวจวัดหาค่าคลอโรฟิลล์ภายในใบของฟ้าทะลายโจร โดยทำการตรวจวัดใบที่ 2 นับจากยอดลงมา ใช้ใบตรวจวัดจำนวน 3 ใบ โดยใช้ใบที่มีการขยายตัวเต็มที่ นำมาวัดด้วยเครื่อง SPAD chlorophyll meter reading (รุ่น SPAD-502) จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ย ตรวจวัดที่อายุ 120 วันหลังปลูก

4. การวิเคราะห์หาปริมาณของสารออกฤทธิ์ ซึ่งวิเคราะห์หาปริมาณของสารออกฤทธิ์ในใบ โคนตรวจวัดสารแอนโดรกลาโพลิดในใบของฟ้าทะลายโจร ใช้วิธี High performance liquid chromatography (HPLC) โดยใช้คอลัมน์ PR-C<sub>13</sub>Phenomenex (250 x 4.9 nm. I.D. 5 µm) และระบบ ACN/water (Gradient Elution) ด้วย flow rate 1.0 mL/min ที่ความยาวคลื่น 225 nm.

5. ตรวจวัดผลผลิตน้ำหนักรากของฟ้าทะลายโจรที่อายุ 120, 135, 150 และ 170 วันหลังปลูก เมื่อตรวจวัดได้ผลผลิตน้ำหนักรากต่อต้น จึงนำมาคำนวณหาผลผลิตน้ำหนักรากต่อพื้นที่ (ตารางเมตร)

### ขั้นตอนและใช้ในการวิเคราะห์

วิเคราะห์ข้อมูลที่รวบรวมได้ทางสถิติตามแผนการทดลอง Split plot in randomized complete block design และ หาค่า LSD เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละสิ่งทดลอง หลังจากนั้นทำกราฟ ตาราง และ รายงานผลการทดลองที่ 2

### สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

แปลงทดลองของภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

### ระยะเวลาทำการวิจัย

ระยะเวลาทำการวิจัย ตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ.2558 ถึง เดือนกันยายน พ.ศ.2559