

บทที่ 3

อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 การทดลองที่ 1 ผลของระยะปลูกที่มีต่อการเจริญเติบโตทางลำต้น ผลผลิต และสารสำคัญในฟ้าทะลายโจร

วางแผนการทดลองแบบ Split plot design มีจำนวน 3 ซ้ำ

Main plot คือ พันธุ์ฟ้าทะลายโจรพันธุ์ต่างๆ จำนวน 4 พันธุ์ ได้แก่

1. ฟ้าทะลายโจรพันธุ์ พิษณุโลก 5-4
2. ฟ้าทะลายโจรพันธุ์ ปราจีนบุรี
3. ฟ้าทะลายโจรพันธุ์ ราชบุรี
4. ฟ้าทะลายโจรพันธุ์ พิจิตร 4-4

Sub plot คือ ระยะปลูกของฟ้าทะลายโจรแตกต่างกัน 4 ระยะปลูก ได้แก่

1. ระยะปลูก 20 x 20 เซนติเมตร
2. ระยะปลูก 30 x 30 เซนติเมตร
3. ระยะปลูก 40 x 40 เซนติเมตร
4. ระยะปลูก 50 x 50 เซนติเมตร
5. ระยะปลูก 60 x 60 เซนติเมตร

ปลูกฟ้าทะลายโจรจำนวน 60 แปลงย่อย ลงในแปลงปลูกพีชขนาด 3 x 3 เมตร โดยปลูกลงในหลุมให้ลึก 2-5 เซนติเมตร มีระยะห่างระหว่างต้นและแถว ตามสิ่งทดลองที่กำหนด หยอดหลุมละ 4-5 เมล็ด และเกลี่ยดินกลบเบาๆ ก่อนปลูกมีการให้น้ำแก่ดินโดยให้ดินมีความชื้นที่ระดับความจุสนาม (Field capacity) แล้วจากนั้นมีการให้น้ำแก่ฟ้าทะลายโจรทุกวันเทียบเท่ากับปริมาณน้ำฝน 5 มิลลิเมตร เมื่อปลูกฟ้าทะลายโจรไปได้ 15 วันหลังออก ก็จะทำกรถอนแยกให้ได้จำนวน 1 ต้นต่อหลุม สำหรับการใส่ปุ๋ยคอกคือมูลไก่มีการใส่เพียงครั้งเดียวก่อนปลูก ในอัตราที่ 2 ต้นต่อไร่ ส่วนการกำจัดวัชพืชได้มีการกำจัดวัชพืชโดยใช้มือถอนออกจำนวน 2 ครั้ง เมื่อฟ้าทะลายโจรมีอายุได้ 30 และ 60 วันหลังปลูก หลังจากนั้นฟ้าทะลายโจรก็จะเจริญเติบโตคลุมพื้นที่ หลังจากฟ้าทะลายโจรมีอายุถึง 60 วัน ฟ้าทะลายโจรมีการแตกกิ่งก้านสาขาและยอดอ่อน มีการแตกกอเป็นพุ่ม สีสวยงาม และสามารถเก็บผลผลิตต้นสดได้เมื่อฟ้าทะลายโจรมีอายุตั้งแต่ 120 วัน เป็นต้นไป

การเก็บข้อมูล

1. ตรวจวัดความสูงของลำต้น นับจำนวนข้อบนลำต้น ชั่งน้ำหนักสดของลำต้น ใบ ราก ดอก และฝัก หลังจากนั้นนำไปอบแห้งในตู้อบโดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักแห้งคงที่ แล้วจึงนำมาชั่งน้ำหนักแห้งของลำต้น ใบ ราก ดอก และฝัก ซึ่งในการตรวจวัดหา น้ำหนักสดและแห้งนี้ ตรวจวัดเมื่อฟ้าทะลายโจรมีอายุ 120 วันหลังปลูก

2. ตรวจวัดพื้นที่ใบ โดยทำการรวบรวมใบสดของฟ้าทะลายโจรทั้งหมด มาตรวจวัดพื้นที่ใบ โดยใช้ เครื่องวัดพื้นที่ใบ คือ Leaf Area Meter รุ่น LI-3100 ของบริษัท LI-COR

3. ตรวจวัดหาปริมาณคลอโรฟิลล์ภายในใบของฟ้าทะลายโจร นำมาวัดด้วยเครื่องวัดปริมาณ คลอโรฟิลล์ภายในใบ คือ SPAD Chlorophyll meter reading รุ่น SPAD-502

4. การวิเคราะห์หาปริมาณของสารออกฤทธิ์ปริมาณของแลคโตนรวมในใบและลำต้นของฟ้าทะลาย โจรใช้วิธีของ Thai Herbal Pharmacopeia (Ministry of Public Health, 1995)

5. วิเคราะห์หาปริมาณของสารออกฤทธิ์ คือ สารแอนโดรกราโฟไลด์ ภายในใบและลำต้นของฟ้า ทะลายโจร โดยใช้วิธี High performance liquid chromatography (HPLC) โดยใช้คอลัมน์ PR-C₁₈ 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.

ขั้นตอนและใช้ในการวิเคราะห์

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

3.2 การทดลองที่ 2 ผลของการพร่างแสงที่มีผลต่อการเจริญเติบโตทางลำต้น ผลผลิต และสาระสำคัญ ใน ฟ้าทะลายโจร

วางแผนการทดลองแบบ Split plot design มีจำนวน 3 ซ้ำ

Main plot คือ พันธุ์ฟ้าทะลายโจรพันธุ์ต่างๆจำนวน 4 พันธุ์ ได้แก่

1. ฟ้าทะลายโจรพันธุ์ พิษณุโลก5-4
2. ฟ้าทะลายโจรพันธุ์ ปราจีนบุรี
3. ฟ้าทะลายโจรพันธุ์ ราชบุรี
4. ฟ้าทะลายโจรพันธุ์ พิจิตร 4-4

Sub plot ได้แก่ การพรางแสงให้แก่ฟ้าทะลายโจรที่แตกต่างกัน ดังนี้คือ

1. ฟ้าทะลายโจรที่ได้รับการพรางแสง 20 เปอร์เซ็นต์ (ได้รับแสง 80 เปอร์เซ็นต์)
2. ฟ้าทะลายโจรที่ได้รับการพรางแสง 40 เปอร์เซ็นต์ (ได้รับแสง 60 เปอร์เซ็นต์)
3. ฟ้าทะลายโจรที่ได้รับการพรางแสง 50 เปอร์เซ็นต์ (ได้รับแสง 50 เปอร์เซ็นต์)
4. ฟ้าทะลายโจรที่ได้รับการพรางแสง 80 เปอร์เซ็นต์ (ได้รับแสง 20 เปอร์เซ็นต์)
5. ฟ้าทะลายโจรที่ไม่ได้รับการพรางแสง หรือได้รับแสงแดด 100 เปอร์เซ็นต์ (Control)

ปลูกฟ้าทะลายโจรลงในกระถางจำนวนทั้งหมด 60 กระถาง ก่อนปลูกมีการให้น้ำแก่ดินที่ระดับความจุสนาม (Field capacity) หลังจากนั้นมีการให้น้ำแก่ฟ้าทะลายโจรทุกวันในปริมาณเทียบเท่ากับปริมาณน้ำฝนเท่ากับ 5 มิลลิเมตร จนกระทั่งฟ้าทะลายโจรมีอายุได้ 15 วันหลังปลูกก็เริ่มมีการให้ฟ้าทะลายโจรได้รับการพรางแสงตามสิ่งทดลองที่กำหนด ช่วงเวลาของการให้น้ำจะให้ช่วงเวลาเช้าและมีการให้อย่างสม่ำเสมอโดยใช้บัวรดน้ำ การให้น้ำให้พร้อมกันทั้งหมดทุกกระถาง ตลอดอายุการเจริญเติบโต สำหรับการดูแลรักษามีการกำจัดวัชพืช จำนวน 3 ครั้ง เมื่อฟ้าทะลายโจรมีอายุ 30, 60 และ 90 วันหลังปลูก ส่วนการป้องกันกำจัดโรคและแมลงพบว่าในฟ้าทะลายโจรมีแมลงศัตรูพืชมารบกวนน้อยมาก จึงไม่มีการป้องกันกำจัด หลังจากฟ้าทะลายโจรมีอายุ 60 วันหลังปลูก ก็จะมีการแตกกิ่งก้านสาขาและแตกยอดอ่อนเป็นกอและเป็นพุ่มสีเขียวสด สามารถเก็บต้นสดได้เมื่อฟ้าทะลายโจรมีอายุ 120 วัน

การเก็บข้อมูล

1. ตรวจวัดความสูงของลำต้น นับจำนวนข้อบนลำต้น ชั่งหาน้ำหนักสดของลำต้น ใบ ราก ดอก และฝัก หลังจากนั้นนำไปอบแห้งในตู้อบโดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักแห้งคงที่ แล้วจึงนำมาชั่งหาน้ำหนักแห้งของลำต้น ใบ ราก ดอก และฝัก ซึ่งในการตรวจวัดหาน้ำหนักสดและแห้งนี้ ตรวจวัดเมื่อฟ้าทะลายโจรมีอายุ 120 วันหลังปลูก
2. ตรวจวัดพื้นที่ใบ โดยทำการรวบรวมใบสดของฟ้าทะลายโจรทั้งหมด มาตรวจวัดพื้นที่ใบ โดยใช้เครื่องวัดพื้นที่ใบ คือ Leaf Area Meter รุ่น LI-3100 ของบริษัท LI-COR
3. ตรวจวัดหาปริมาณคลอโรฟิลล์ภายในใบของฟ้าทะลายโจร นำมาวัดด้วยเครื่องวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ภายในใบ คือ SPAD Chlorophyll meter reading รุ่น SPAD-502
4. การวิเคราะห์หาปริมาณของสารออกฤทธิ์ปริมาณของแลคโตนรวมในใบและลำต้นของฟ้าทะลายโจรใช้วิธีของ Thai Herbal Pharmacopeia (Ministry of Public Health, 1995)
5. วิเคราะห์หาปริมาณของสารออกฤทธิ์ คือ สารแอนโดรกลาโพลด์ ภายในใบและลำต้นของฟ้าทะลายโจร โดยใช้วิธี High performance liquid chromatography (HPLC) โดยใช้คอลัมน์ PR-C₁₃

Phenomenex (250 x 4.9 mm, I.D. 5 μ m) และระบบ ACN/water (Gradient Elution) ด้วย flow rate 1.0 mL/min ที่ความยาวคลื่น 225 nm.

ขั้นตอนและวิธีการในการวิเคราะห์

วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้รับรวมได้ทางสถิติ ตามแผนการทดลองแบบ Split plot in randomized complete block design และหาค่า LSD เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแต่ละสิ่งทดลอง จากนั้นทำกราฟ และตาราง รวมทั้งรายงานผลการทดลอง

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

โรงเรียนทดลองของสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช

คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ระยะเวลาทำการวิจัย และแผนการดำเนินงานตลอดโครงการวิจัย

เริ่มทำการทดลองตั้งแต่ เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2557 ถึง เดือนมกราคม พ.ศ. 2559