

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

แบบของการวิจัย

ในการวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาวิจัยเชิงทดลอง

วิธีดำเนินการวิจัย

แบ่งเป็น 4 การทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 ศึกษาสถานะที่ถูกต้องและเหมาะสม ในการเตรียมต้นกล้าที่สมบูรณ์ของหญ้ารัฐี และหญ้าอะตราตัม

1. เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง
 - 1.1 เมล็ดพันธุ์หญ้า
 - 1.1.1 หญ้ารัฐี (*Brachiaria ruziziensis*)
 - 1.1.2 หญ้าอะตราตัม (*Paspalum atratum*)
 - 1.2 ทรายเพาะเมล็ด
 - 1.3 กะละมังพลาสติก
 - 1.4 ขวดแก้วปากกว้าง
 - 1.5 ตะแกรงร่อนเมล็ด
 - 1.6 เครื่องเป่าเมล็ด
 - 1.7 เครื่องชั่ง ทศนิยม 2 ตำแหน่ง
 - 1.8 บีกเกอร์
 - 1.9 แท่งแก้ว
 - 1.10 ห้องสำหรับเลี้ยงต้นกล้า
 - 1.11 ห้องเลี้ยงต้นกล้า (Growth chamber)
 - 1.12 เครื่องวัดความเข้มแสง
 - 1.13 เทอร์โมมิเตอร์

2. สารเคมี

- 2.1 กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid; H_2SO_4) ชนิด commercial grade, Scharlau
- 2.2 โพแทสเซียมไนเตรท (Potassium nitrate; KNO_3) ชนิด commercial grade, BDH
- 2.3 สารละลายธาตุอาหาร (Hoagland solution) ประกอบด้วย
- 2.3.1 โพแทสเซียมไนเตรท (Potassium nitrate; KNO_3) ชนิด AR grade, Merck
- 2.3.2 แคลเซียมซัลเฟต (Calcium sulfate; $CaSO_4 \cdot 2H_2O$) ชนิด AR grade, Carlo
- 2.3.3 แมกนีเซียมซัลเฟต (Magnesium sulfate; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$) ชนิด AR grade, Scharlau
- 2.3.4 แอมโมเนียมซัลเฟต (Ammonium sulfate; $(NH_4)_2 \cdot SO_4$) ชนิด AR grade, Scharlau
- 2.3.5 โพแทสเซียมไฮโดรเจนซัลเฟต (Potassium hydrogen sulfate; KH_2SO_4) ชนิด AR grade, Merck
- 2.3.6 เอททาลีนไดอะมีนเตตระอะซีติกแอซิดไดโซเดียมซอลต์ไดไฮเดรต (Ethylenediamine tetraacetic acid disodiumsalt dihydrate; $C_{10}H_{14}N_2Na_2O \cdot 2H_2O$) ชนิด AR grade, BDH
- 2.3.7 เฟอร์รัสซัลเฟต (Ferrous sulfate; $Fe_2SO_4 \cdot 7H_2O$) ชนิด AR grade, BDH
- 2.3.8 แมงกานีสซัลเฟต (Manganese (II) sulfate ($MnSO_4 \cdot H_2O$)) ชนิด AR grade, BDH
- 2.3.9 กรดบอริก (Boric acid; H_3BO_3) ชนิด AR grade, BDH
- 2.3.10 โพแทสเซียมไอโอไดด์ (Potassium iodide; KI) ชนิด AR grade, BDH
- 2.3.11 โซเดียมโมลิบเดตไดไฮเดรต (Sodium molybdate dehydrate; $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$) ชนิด AR grade, Merck
- 2.3.12 คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulfate; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$) ชนิด AR grade, Merck
- 2.3.13 โคบอลต์คลอไรด์ (Cobalt (II) chloride; $CoCl_2 \cdot 6H_2O$) ชนิด AR grade, Carlo
- 2.3.14 ซิงค์ซัลเฟต (Zinc sulfate; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) ชนิด AR grade, Merck
- สำหรับสารละลายธาตุอาหาร Hoagland solution (HA) ปริมาตร 1 ลิตร ประกอบด้วยธาตุอาหาร ดังนี้ (Hershey. 1994 : 23)
1. Potassium nitrate 1 M ปริมาตร 5 มิลลิลิตร
 2. Calcium nitrate 1 M ปริมาตร 5 มิลลิลิตร
 3. mono-Potassium phosphate 1 M ปริมาตร 1 มิลลิลิตร
 4. Magnesium sulfate 1 M ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

5. Micronutrient solution ปริมาตร 2 มิลลิลิตร (ประกอบด้วย Boron 0.50 mg/L, Manganese 0.50 mg/L, Zinc 0.05 mg/L, Copper 0.02 mg/L และ Molybdenum 0.01 mg/L)

6. Iron chelate ปริมาตร 1-5 มิลลิลิตร

3. วิธีดำเนินการทดลอง (ภาพที่ 4.1 – 4.6)

3.1 การหาความบริสุทธิ์ของเมล็ด

3.1.1 นำเมล็ดหญ้ารูซี่ และหญ้าอะตราดัม มาทำความสะอาดโดยการร่อนเอาเศษผงออกด้วยตะแกรง แล้วจึงนำเมล็ดไปใส่ในเครื่องเป่า

3.1.2 นำเมล็ดมาคัดแยกด้วยมือ โดยการแบ่งเมล็ดจนได้น้ำหนักตามที่กำหนด คือหญ้ารูซี่ น้ำหนักที่ชั่ง คือ 10 กรัมและหญ้าอะตราดัม คือ 7 กรัม ซึ่งประมาณการว่าจะมีเมล็ดไม่น้อยกว่า 2,500 เมล็ด

3.1.3 คัดแยกออกเป็นส่วนต่าง ๆ คือ เมล็ดพันธุ์แท้ เมล็ดพันธุ์พืชอื่นและสิ่งเจือปน พร้อมทั้งชั่งน้ำหนักในแต่ละส่วน

3.1.4 กำหนดหาความบริสุทธิ์ของเมล็ด ดังนี้

$$\text{ความบริสุทธิ์ของเมล็ด (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(\text{น้ำหนักเมล็ดพันธุ์แท้ (กรัม)} \times 100)}{\text{น้ำหนักเมล็ดเริ่มต้น (กรัม)}}$$

3.2 การหาอัตราการงอกของเมล็ด

3.2.1 ขั้นตอนการ Treat เมล็ดด้วยกรด

3.2.1.1 นำเมล็ดพันธุ์แท้ ที่ได้จากการคัดความบริสุทธิ์เรียบร้อยแล้ว มาทำการ Treat ด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น เพื่อทำลายเปลือกหุ้มเมล็ด โดยนำเมล็ดใส่ลงบีกเกอร์ (beaker) แก้ว แล้วจึงค่อย ๆ เทกรดให้ไหลผ่านแท่งแก้วลงไปให้ปริมาณกรดที่ใช้สามารถคลุกเคล้ากับเมล็ดได้พอดี

3.2.1.2 ปล่อยให้ทิ้งไว้สักครู่ จนสังเกตเห็นว่าเมล็ดจะมีสีน้ำตาลแดง บันทึกระยะเวลาที่ใช้ หลังจากนั้นเทน้ำลงไป แล้วใช้แท่งแก้วคน

3.2.1.3 ล้างเมล็ด โดยการเทเมล็ดลงบนตะแกรง แล้วล้างกรดออก โดยการเปิดน้ำให้ไหลชะล้างเมล็ด จนสีของน้ำล้างที่ได้ใส

3.2.1.4 เทเมล็ดที่ล้างจนหมดกรดแล้ว ลงบนกระดาษ เพื่อซับน้ำให้แห้ง เกลี่ยเมล็ดให้กระจาย และผึ่งลมจนแห้ง แล้วจึงนำเมล็ดไปเพาะ



3.2.2 ขั้นตอนการเพาะเมล็ด และศึกษาอัตราการงอกเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์

3.2.2.1 นับเมล็ดที่ต้องการเพาะ จำนวน 4 ซ้ำ ๆ ละ 25 เมล็ด

3.2.2.2 เพาะเมล็ดลงในวัสดุเพาะชนิดต่าง ๆ และชุบน้ำยาชนิดต่าง ๆ รวมทั้งในสภาวะต่าง ๆ กัน โดยมีรายละเอียด ดังนี้

ลักษณะการเพาะ แบ่งเป็น 2 ลักษณะ คือ

1. TP (Top of paper) เป็นการเพาะเมล็ดในหิ้งอกบนกระดาษเพาะ โดยการตัดกระดาษเพาะให้พอดีกับภาชนะเพาะ แทนด้วย A

2. BP (Between paper) เป็นการเพาะเมล็ดในหิ้งอกระหว่างกระดาษเพาะ 2 ชั้น โดยการตัดกระดาษเพาะให้เป็นแผ่นสี่เหลี่ยมให้มีขนาดพอเหมาะกับขนาดและจำนวนเมล็ดที่จะเพาะ แทนด้วย B

ชนิดน้ำยาที่ใช้ชุบกระดาษเพาะ แบ่งเป็น 3 ชนิด คือ

1. น้ำกลั่น แทนด้วย C

2. สารละลายโปแทสเซียมไนเตรท (KNO_3) ความเข้มข้น 0.2% แทนด้วย D

3. สารละลายธาตุอาหาร (Hoagland solution) แทนด้วย E

อุณหภูมิสำหรับการเพาะ แบ่งเป็น 2 ลักษณะ คือ

1. อุณหภูมิห้อง ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$) แทนด้วย F

2. อุณหภูมิ $32\pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ แทนด้วย G

ความเข้มแสงสำหรับการเพาะ แบ่งเป็น 2 ลักษณะ คือ

1. ความเข้มแสงธรรมชาติ (ช่วงเช้าและเย็น ประมาณ 700 Lux ช่วงกลางวัน ประมาณ 3000 Lux) ไม่มีการควบคุม แทนด้วย H

2. ควบคุมให้มีความเข้มแสงเป็น 1500 Lux แทนด้วย I

จากสภาวะทั้งหมด ทำให้สามารถกำหนด Treatment สำหรับศึกษาเทคนิคการเพาะเมล็ด และอัตราการงอกของเมล็ดหญ้ารูซี่และหญ้าอะตราตัม ได้ดังนี้

ตารางที่ 3.1 แสดงเทคนิคการเพาะเมล็ด และอัตราการงอกของเมล็ดหญ้ารูซี่และหญ้าอะตราตัม

ลักษณะการเพาะ	Treatments			
A	ACFH	ACFI	ACGH	ACGI
A	ADFH	ADFI	ADGH	ADGI
A	AEFH	AEFI	AEGH	AEGI

ตารางที่ 3.1 (ต่อ)

ลักษณะการเพาะ	Treatments			
B	BCFH	BCFI	BCGH	BCGI
B	BDFH	BDFI	BDGH	BDGI
B	BEFH	BEFI	BEGH	BEGI

3.3.3 ปล่อยให้ทิ้งไว้ประมาณ 1 สัปดาห์ สังเกตว่าเมล็ดงอก และเกิดเป็นต้นกล้าที่สมบูรณ์วันที่เท่าไร บันทึกผล

3.3.4 นับจำนวนต้นกล้าที่งอกสมบูรณ์ บันทึกผล

3.3 การใช้สารละลายธาตุอาหาร Hoagland solution (HA) เลี้ยงต้นกล้าของหน่อข้าวและหน่ออะตราดัม

3.3.1 นำเมล็ดหน่อข้าวและหน่ออะตราดัมมาเพาะตามเทคนิควิธีการที่ได้จากการศึกษาในขั้นตอนที่ 3.2 จนกระทั่งได้ต้นกล้าที่มีความสมบูรณ์

3.3.2 คัดต้นกล้าที่มีความสมบูรณ์ และมีความยาวประมาณ 10 เซนติเมตร

3.3.3 นำต้นกล้ามาเลี้ยงในสารละลายธาตุอาหาร Hoagland solution เป็นเวลา 2 สัปดาห์ โดยศึกษาปัจจัยที่มีผล ดังต่อไปนี้

3.3.3.1 จำนวนต้นกล้าที่ใช้ในการเลี้ยงในขวดแก้ว ที่เติมสารละลายธาตุอาหาร Hoagland solution โดยกำหนดดังนี้

N1 = 50 ต้น

N2 = 100 ต้น

3.3.3.2 ปริมาณสารละลายธาตุอาหาร Hoagland solution ที่ใส่ลงไปในขวดแก้ว สำหรับเลี้ยงต้นกล้า โดยกำหนดดังนี้

S1 = 20 mL

S2 = 30 mL

S3 = 40 mL

3.3.3.3 ระยะเวลาในการเปลี่ยนสารละลายธาตุอาหาร Hoagland solution ในขวดแก้ว สำหรับเลี้ยงต้นกล้า โดยกำหนดดังนี้

T1 = เปลี่ยนทุกวัน

T2 = เปลี่ยนวันเว้นวัน

T3 = เปลี่ยนทุก 2 วัน

การทดลองที่ 2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์หาปริมาณสารโปรตีนในหญ้า ด้วยเทคนิค Spectrophotometry

1. เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

- 1.1 เครื่อง UV-VIS Spectrophotometer, Model Cintral 101 PerkinElmer
- 1.2 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
- 1.3 อ่างน้ำเย็น (Ice bath)
- 1.4 เครื่อง Vortex mixer
- 1.5 เครื่องชั่งไฟฟ้า (Analytical balance) ชนิดทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- 1.6 Volumetric pipette ขนาด 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 มิลลิลิตร
- 1.7 Micropipette ขนาด 20-2000 ไมโครลิตร

2. สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณสารโปรตีน

- 2.1 โปรตีน (L-Proline, $C_5H_9NO_2$) ชนิด AR grade
- 2.2 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, HCl) ชนิด AR grade
- 2.3 กรดฟอสฟอริก (ortho-Phosphoric acid, H_3PO_4) ชนิด AR grade
- 2.4 นินไฮดริน (Ninhydrin, $C_9H_6O_4$) ชนิด AR grade
- 2.5 กรดซัลโฟซาลิไซลิกไดไฮเดรต (5-Sulfosalicylic acid dihydrate, $C_7H_6O_6S \cdot 2H_2O$) ชนิด AR grade
- 2.6 โทลูอีน (Toluene, $C_6H_5CH_3$) ชนิด AR grade
- 2.7 กรดอะซิติก (Glacial acetic acid, CH_3COOH) ชนิด AR grade

3. การเตรียม reagents

3.1 3% sulfosalicylic acid (w/v); ชั่ง 5-sulfosalicylic acid dihydrate 3 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

3.2 6 M phosphoric acid; ตวง phosphoric acid 85% ปริมาตร 344 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 1 ลิตร

3.3 ninhydrin acid; ชั่ง ninhydrin 1.25 กรัม เติม glacial acetic acid ปริมาตร 30 มิลลิลิตร และ 6 M phosphoric acid ปริมาตร 20 มิลลิลิตร อุ่นให้ละลายด้วย water bath ปล่อยให้เย็น นำสารละลายที่ได้ไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ ประมาณ 4 °C (สารละลายควรเตรียมใหม่ทุกครั้ง)

3.4 สารละลายมาตรฐานโพรลีนสำหรับใช้เป็น stock standard proline 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร; ชั่ง L-proline 0.1 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วย 0.1 N HCl ให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

3.5 สารละลายมาตรฐานโพรลีนสำหรับการทำกราฟมาตรฐาน (Working standard proline) โดยการเจือจาง stock standard proline 1000 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้ standard proline ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร คูณสารละลาย standard proline ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 0.1 0.5 1.0 2.0 5.0 และ 10.0 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้ standard proline ความเข้มข้น 0.1 0.5 1 2 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

4. วิธีการทดลอง

4.1 หาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวัด

4.1.1 หาค่าความยาวคลื่น ที่ให้ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (λ_{max})

โดยใช้ standard proline 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร มาเติม glacial acetic acid 5 มิลลิลิตร และ acid ninhydrin 5 มิลลิลิตร นำไปต้มบน water bath ที่อุณหภูมิ ประมาณ 100 °C นานประมาณ 1 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาทันทีโดยการแช่ใน ice bath เติม toluene ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น คูณสารละลายสีส้มเหลือง (colored product) บริเวณที่อยู่เหนือผิวของ toluene ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นตั้งแต่ 400-600 นาโนเมตร โดยใช้ toluene เป็น blank

4.1.2 หาปริมาณการเติม ninhydrin acid ที่เหมาะสม

คูณสารละลาย standard proline 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทำการทดลองทำนองเดียวกับข้อ 4.1.1 แต่ทำการปรับเปลี่ยนปริมาตรการเติม ninhydrin acid เป็น 0.5 1.0 2.0 3.0 4.0 และ 5.0 มิลลิลิตร ตามลำดับ

4.1.3 หาระยะเวลาการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสม

คูณสารละลาย standard proline 5 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ทำการทดลองทำนองเดียวกับข้อ 2.4.1.1 แต่ทำการปรับเปลี่ยนระยะเวลาการต้มบน water bath ที่อุณหภูมิประมาณ 100 °C เป็น 15 30 45 60 และ 90 นาที ตามลำดับ

4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณสารโปรตีนด้วยเทคนิค Spectrophotometry

4.2.1 การเตรียมตัวอย่าง

นำต้นกล้าหญ้าสด มาตัดให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วบดให้ละเอียดด้วยโกร่ง ชั่งตัวอย่างบดละเอียด 0.5 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง สกัดด้วย 3% sulfosalicylic acid จำนวน 10 มิลลิลิตร แช่ทิ้งไว้ 30 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง whatt man เบอร์ 41

4.2.2 การสร้างกราฟมาตรฐาน

ดูดสารละลาย standard proline ความเข้มข้น 0.1 0.5 1 2 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อลิตร มาอย่างละ 5 มิลลิลิตร เติม glacial acetic acid 5 มิลลิลิตร และ ninhydrin acid 5 มิลลิลิตร นำไปต้มบน water bath ที่อุณหภูมิประมาณ 100 °C นานประมาณ 1 ชั่วโมง หยุดปฏิกิริยาทันทีโดยการแช่ใน ice bath เติม toluene ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น ดูดสารละลายสีส้มเหลือง (colored product) บริเวณที่อยู่เหนือผิวของ toluene ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ λ_{\max} โดยใช้ toluene เป็น blank

4.2.3 การหาเปอร์เซ็นต์การกลับคืนได้ของวิธีการวิเคราะห์ (%recovery)

4.2.3.1 ชั่งตัวอย่างหญ้าสด ที่บดละเอียดแล้ว ประมาณ 0.5 กรัม ใส่ในหลอดทดลอง spike สารละลาย standard proline ที่ทราบค่าความเข้มข้นลงไป สกัดด้วย 3% sulfosalicylic acid จำนวน 10 มิลลิลิตร แช่ทิ้งไว้ 30 นาที กรองด้วยกระดาษกรอง whatt man เบอร์ 41

4.2.3.2 เตรียมสารละลายตัวอย่างและวิเคราะห์หาปริมาณสารโปรตีน ตามวิธีการที่ได้จากข้อ 1.

4.3.3.3 คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนได้ของวิธีการวิเคราะห์ สามารถคำนวณได้ดังนี้

$$\text{ค่าเปอร์เซ็นต์การกลับคืนได้} = \frac{\text{ปริมาณสารโปรตีนที่วิเคราะห์ได้} \times 100}{\text{ปริมาณสารโปรตีนที่มีอยู่จริง}}$$

การทดลองที่ 3 ศึกษาปริมาณสารโพรลินที่มีในต้นกล้าของหญ้าที่จำลองให้เกิดภาวะแล้งและเจริญเติบโตในสารละลายธาตุอาหาร Hoagland solution

โดยการใช้ PEG6000 เป็นสารจำลองภาวะแล้ง โดยวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) จำนวน 5 ซ้ำ ดังนี้

1. นำเมล็ดหญ้ารูซี่ และหญ้าอะตราดัมมาเพาะตามเทคนิควิธีการที่ได้จากการศึกษาในการทดลองที่ 1 จนกระทั่งได้ต้นกล้าที่มีความสมบูรณ์

2. คัดต้นกล้าที่มีความสมบูรณ์ และมีความยาวประมาณ 10 เซนติเมตร

3. ย้ายต้นกล้าที่มีความยาวประมาณ 10 เซนติเมตร มาเลี้ยงในสารละลายธาตุอาหาร Hoagland solution โดยแยกเป็น 2 ชุดการทดลอง คือ ชุดทดลองที่เพาะเลี้ยงต้นกล้าในสารละลายธาตุอาหาร ที่เติม PEG6000 ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ คือ 5 10 15 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ และในสารละลายธาตุอาหารที่ไม่ผสม PEG6000 วางบนชั้นแสงที่มีความเข้ม 1500 ลักซ์ 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 32 ± 1 °C ทำการเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 สัปดาห์

4. เก็บตัวอย่างทั้งหมดทุกสัปดาห์ ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 หลังจากย้ายต้นกล้าที่มีความยาวของยอด 10 เซนติเมตร มาเลี้ยงในสารละลายธาตุอาหาร รวมทั้งสิ้น 5 สัปดาห์ นำมาสกัดเพื่อตรวจสอบปริมาณสาร โพรลิน ในสถานะที่เหมาะสมด้วยเทคนิค Spectrophotometry ที่ได้จากการศึกษาในการทดลองที่ 2

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

การทดลองที่ 4 ศึกษาปริมาณสารโพรลินที่มีในหญ้าที่สภาวะปกติและสภาวะขาดน้ำ โดยการปลูกหญ้าในกระถาง และเลี้ยงในโรงเรือนเพาะชำ

1. เครื่องมือและวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง

1.1 เมล็ดหญ้ารูซี่ และหญ้าอะตราดัม

1.2 กระถางพลาสติก

1.3 โรงเรือนเพาะชำ ที่มุงด้วยพลาสติกใส เพื่อป้องกันฝน

1.4 เกี่ยวเกี่ยวหญ้า

2. วิธีการทดลอง

2.1 ปลูกหญ้ารัฐซี และหญ้าอะตราตัมลงในกระถางที่ใส่วัสดุปลูก คือ ดิน

2.2 ตัดปรับหญ้าในกระถาง หลังจากปลูกหญ้าได้ ประมาณ 60 วัน โดยใช้เกี่ยวเกี่ยวให้ห่างจากพื้นดิน ประมาณ 5 เซนติเมตร

2.3 แบ่งหญ้าเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มควบคุม (Control) และกลุ่มทดสอบ (Treatment) โดยวางแผนการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD) จำนวน 5 ซ้ำ ดังนี้

2.3.1 กลุ่มควบคุม คือ กลุ่มที่ทำการให้น้ำทุกวัน และเลี้ยงในโรงเรือนเพาะชำ เพื่อให้ได้รับแสงตามปกติ

2.3.2 กลุ่มทดสอบ คือ กลุ่มที่ไม่ให้น้ำ และเลี้ยงใน โรงเรือนเพาะชำเพื่อให้ได้รับแสงตามปกติ

2.4 เก็บตัวอย่างหญ้าทั้ง 2 กลุ่ม ทุกสัปดาห์ โดยการใช้เกี่ยวเกี่ยวเป็นเวลา 1 เดือน

2.5 วิเคราะห์หาปริมาณสาร โปรตีน

2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)