บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

วัสดุอุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

วัตถุดิบ

1. Shrimp Chitosan ชนิด Flake ที่เป็นแบบ Polymer Type จากบริษัท ต้าหมิง เอ็นเตอร์ไพรส์ จำกัด

2. ดินที่ใช้ศึกษา ได้แก่ ดินเค็ม ซึ่งนำมาจากอำเภอด่านขุนทด จังหวัดนครราชสีมา และดินเปรี้ยว ซึ่งนำมาจากสถาบันวิจัยข้าว อำเภอบางน้ำเปรี้ยว จังหวัดฉะเชิงเทรา

3. เมล็ดพันธุ์ข้าวเจ้าพันธุ์สุพรรณบุรี 1 และพันธุ์ปทุมธานี 1

อุปกรณ์

1. เครื่อง pH Meter รุ่น Sension 3

2. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (Analytical Balance) รุ่น TC-254

3. ตู้ควบคุมการเจริญเติบโต (Growth Chamber) รุ่น 620 R Capacity 400 Litres

4. ตู้อบความร้อน (Hot Air Oven) รุ่น Series Five

5. เครื่อง Magnetic Stirrier Hotplate และ Magnetic Bar

6. เครื่องบดตัวอย่างดิน รุ่น Z-TDA71MR

7. เครื่องเผา (Muffle Furnace) รุ่น Model 30400

8. เครื่องเขย่าตัวอย่าง (Shaker) รุ่น SSeriker II

9. เครื่องเหวี่ยงสารชนิดทำความเย็น (Bench Top Refrigerate Centrifuge) รุ่น MSB080CR

10. เครื่อง UV-Visible Light Spectrophotometer รุ่น Genesys 2

11. เครื่อง Liquid Scintillation Counter รุ่น 1220 Quantulus™

วัสดุ

1. วัสดุต่าง ๆ ที่ใช้ในการปลูกพืช ได้แก่ ถ้วยเพาะขนาด 6 ออนซ์ และ 16 ออนซ์, ตาข่าย, ช้อนปลูก, ถาดรอง, ตะแกรงร่อนดิน และอุปกรณ์สำหรับสเปรย์สาร

2. เครื่องแก้วที่จำเป็นสำหรับวิเคราะห์ดินและพืช และหามวลโมเลกุลของไคโตซาน

3. ขวดพลาสติกชนิดที่มีฝาปิด ขนาด 60 มิลลิลิตร

4. ถ้วย Crucible

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

5. Autopipette

6. Cannon-Ubbelohde Viscometer No.C234

7. กระดาษกรอง (Filter Paper) Whatman เบอร์ 6

สารเคมี

1. ปุ๋ยฟอสเฟต สูตร 16-20-0

2. สารละลายราดิโอไอโซโทปฟอสฟอรัส-32

3. สารละลายสำหรับเลี้ยงพืชสูตร Hoagland Solution

4. เคมีภัณฑ์ชนิด Analytical Reagent ที่จำเป็นสำหรับใช้เตรียมสารละลายไคโตซาน หามวลโมเลกุล และวิเคราะห์ดินและพืช ได้แก่ กรดอะซิติก (CH_3COOH), โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl), คลอโรฟอร์ม, โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH), โซเดียมคลอไรด์ (NaCl), กรดไฮโดรคลอริก (HCl), กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4), Potassium Dihydrogen Phosphate (KH_2PO_4), Ammonium Molybdate ($(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$), Antimony Potassium Tartrate ($KSbO.C_4H_4O_6$) และ Ascorbic Acid

การเตรียมไคโตซานที่ตัดโพลิเมอร์ด้วยการฉายรังสีแกมมา

นำ Shrimp Chitosan ชนิด Flake ที่เป็นแบบ Polymer Type จากบริษัท ต้าหมิง เอ็นเตอร์ไพรส์ จำกัด มาทำให้ละลายในกรดอะซิติกเข้มข้น 2.5 % โดยให้ความเข้มข้นของ Shrimp Chitosan ที่เตรียมเป็น 10 % และเมื่อ Shrimp Chitosan ละลายดีแล้วให้ถ่ายใส่ลงในขวดแก้วที่มีฝาปิดจำนวน 6 ขวด ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นทำการฉายรังสีแกมมาให้กับสารละลายไคโตซานที่ระดับปริมาณรังสีต่าง ๆ กัน ได้แก่ 0 KGy, 50 KGy, 75 KGy, 100 KGy, 150 KGy และ 200 KGy ตามลำดับ โดยทุกตัวอย่างจะใช้ต้นกำเนิดรังสีแกมมาโคบอลต์-60 ณ สำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติ

ตัวอย่างดินที่ใช้ในการวิจัย

ตัวอย่างดินที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ จะใช้ดิน 2 ชุด ได้แก่ ดินเค็ม ซึ่งนำมาจากอำเภอด่านขุนทด จังหวัดนครราชสีมา และดินเปรี้ยว ซึ่งนำมาจากสถาบันวิจัยข้าว อำเภอบางน้ำเปรี้ยว จังหวัดฉะเชิงเทรา โดยจะทำการสุ่มเก็บตัวอย่างดินชั้นบน (Plow Layer Soil) ที่ระดับความลึกจากผิวดิน 0-20 เซนติเมตร โดยเก็บหลาย ๆ จุดในแปลงนำมารวมกันและคลุกเคล้าให้เข้ากันดี จากนั้นนำมาผึ่งลมในที่ร่มให้แห้ง (Air-Dried) นำตัวอย่างดินที่แห้งแล้วไปบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

2 มิลลิเมตร จากนั้นนำตัวอย่างดินที่ได้ไปวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี ซึ่งแสดงผลดังภาคผนวก ก และใช้ในการศึกษาต่อไป

พืชที่ใช้ในการวิจัย

ข้าวเจ้าพันธุ์สุพรรณบุรี 1

ข้าวเจ้าพันธุ์สุพรรณบุรี 1 เป็นข้าวนาสวนไม่ไวต่อช่วงแสง ลำต้นทรงกอตั้ง ต้นแข็งไม่ล้ม สูงประมาณ 125 เซนติเมตร ลักษณะใบสีเขียวเข้มมีขน กาบใบและปล้องสีเขียว ใบธงยาว ค่อนข้างตั้งตรง คอรวงยาว ค่อนข้างแน่น เปลือกเมล็ดและกลีบรองดอกสีฟาง อายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 120-125 วัน สามารถปลูกได้ทั้งฤดูนาปีและนาปรัง ลักษณะเด่นของข้าวพันธุ์นี้ คือ มีการตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยดี สามารถต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาลได้เช่นเดียวกับพันธุ์ กข 23 และสุพรรณบุรี 90 นอกจากนี้ยังสามารถต้านทานโรคไหม้ และเพลี้ยกระโดดหลังขาวได้ดีกว่าข้าวเจ้าพันธุ์สุพรรณบุรี 90 ตลอดจนต้านทานโรคใบหงิก โรคใบสีส้มในสภาพธรรมชาติ และโรคขอบใบแห้งได้ (กรมวิชาการเกษตร, 2543)

พื้นที่ที่เหมาะที่จะปลูกข้าวเจ้าพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ซึ่งกรมวิชาการเกษตรได้แนะนำไว้ คือ บริเวณพื้นที่นาชลประทานภาคกลาง ทั้งนี้เพื่อแก้ไขปัญหาเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยกระโดดหลังขาว โรคไหม้ โรคใบหงิก และโรคใบสีส้ม

ข้าวเจ้าพันธุ์ปทุมธานี 1

ข้าวเจ้าพันธุ์ปทุมธานี 1 เป็นข้าวเจ้าหอมไม่ไวต่อช่วงแสง ลำต้นทรงกอตั้ง สูงประมาณ 104-133 เซนติเมตร ลักษณะใบสีเขียวมีขน ใบแก่ช้า กาบใบและปล้องสีเขียว ใบธงยาวตั้งตรง ปานกลาง คอรวงสั้น รวงอยู่ใต้ใบธง เปลือกเมล็ดสีฟาง มีขน มีหาง กลีบรองดอกสีฟาง อายุการเก็บเกี่ยว นาดำประมาณ 113-126 วัน นาหว่านน้ำตมประมาณ 104-114 วัน สามารถปลูกได้ทั้งฤดูนาปีและนาปรัง ลักษณะเด่นของข้าวพันธุ์นี้ คือ คุณภาพเมล็ดคล้ายพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ข้าวสุกนุ่มเหนียว มีกลิ่นหอม สามารถต้านทานเพลี้ยกระโดดสีน้ำตาล เพลี้ยกระโดดหลังขาว ต้านทานโรคไหม้ และโรคขอบใบแห้งได้ (กรมวิชาการเกษตร, ม.ป.ป. ก)

พื้นที่ที่เหมาะที่จะปลูกข้าวเจ้าพันธุ์ปทุมธานี 1 ซึ่งกรมวิชาการเกษตรได้แนะนำไว้ คือ บริเวณพื้นที่นาชลประทานภาคกลาง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

วิธีการทดลอง

เพื่อให้การวิจัยได้รับผลการศึกษาสอดคล้องตามวัตถุประสงค์ที่กำหนดไว้ ผู้วิจัยจึงได้จำแนกการทดลองออกเป็น 5 ชุดการทดลอง ดังนี้

การทดลองที่ 1 เป็นการศึกษาผลของการตัดสายโพลิเมอร์ของไคโตซานด้วยรังสีแกมมาต่อขนาดมวลโมเลกุล (Molecular Weight) ของไคโตซาน

การทดลองที่ 2 และ 3 เป็นการศึกษาผลของขนาดมวลโมเลกุล (Molecular Weight) ของไคโตซานที่ผ่านการฉายรังสีแกมมาปริมาณและความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการเร่งการเจริญเติบโตของข้าวเจ้าพันธุ์สุพรรณบุรี 1 และข้าวเจ้าพันธุ์ปทุมธานี 1

การทดลองที่ 4 และ 5 เป็นการศึกษาผลของการใช้ไคโตซานที่ตัดโพลิเมอร์ด้วยการฉายรังสีแกมมาต่อปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ต่อพืชของดินและปุ๋ยในดินเค็มและดินเปรี้ยวในนาข้าวเจ้า

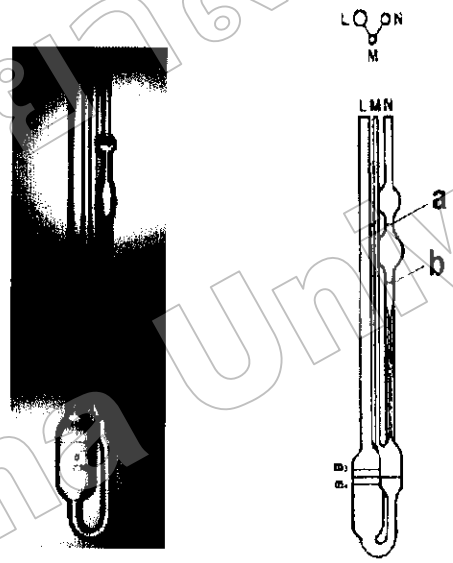
รายละเอียดของการทดลองทั้ง 5 ชุด สรุปได้ดังภาพที่ 3-1

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การทดลองที่ 1: การศึกษาหามวลโมเลกุล (Molecular Weight) ของไคโตซานที่ตัดสายโพลิเมอร์ด้วยการฉายรังสีแกมมา

การออกแบบการทดลอง

ทำการศึกษาเพื่อหามวลโมเลกุล (Molecular Weight) ของไคโตซานที่ตัดสายโพลิเมอร์ด้วยการฉายรังสีแกมมาปริมาณต่างกัน เปรียบเทียบระหว่างไคโตซานที่ไม่ฉายรังสี (0 KGy), ไคโตซานที่ฉายรังสี 50 KGy, ไคโตซานที่ฉายรังสี 75 KGy, ไคโตซานที่ฉายรังสี 100 KGy, ไคโตซานที่ฉายรังสี 150 KGy และไคโตซานที่ฉายรังสี 200 KGy ตามลำดับ จำนวน 3 ซ้ำ ด้วยวิธี Intrinsic Viscosity โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า Ubbelohde Viscometer ดังแสดงในภาพที่ 3-2



ภาพที่ 3-2 Ubbelohde Viscometer

การเตรียม Stock Solution ของไคโตซาน

1. เตรียม Stock Solution ของตัวทำละลาย กรดอะซิติก 0.1 โมลาร์ และโซเดียมคลอไรด์ 0.2 โมลาร์ จำนวน 1 ลิตร

2. เตรียม Stock Solution ของสารละลายไคโตซานที่ฉายรังสีแล้ว ที่มีความเข้มข้นเป็น 1% Chitosan ในระบบตัวทำละลาย 0.1 M CH_3COOH และ 0.2 M NaCl จำนวน 100 มิลลิลิตร (C_1) จากนั้นคนด้วยเครื่อง Magnetic Stirrier Hotplate ไว้เป็นเวลา 1 คืน

3. ทำการเจือจางสารละลายไคโตซาน 1 % ด้วยตัวทำละลายผสมในข้อ 1 ให้ได้ความเข้มข้น 0.50 % (C_4) จำนวน 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดฝาเกลียวขนาด 60 มิลลิลิตร พร้อมทั้งเตรียม

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ตัวทำละลายใส่ลงในขวดไว้อีก 1 ขวดด้วย คนสารละลายที่เจือจางแล้วด้วยเครื่อง Magnetic Stirrier Hotplate เป็นเวลา 1 คืน

4. นำตัวอย่างที่ได้ไปวัดค่าความหนืด ตามวิธีการในหัวข้อถัดไป จนครบทุกตัวอย่างที่ผ่านการฉายรังสีที่ปริมาณต่าง ๆ กัน

การวัดค่าความหนืด

1. ไขตัวทำละลายผสมจากบิวเรตมา 13 มิลลิลิตร เติมลงใน Viscometer (C_O) ที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 ^{O}C ใช้จุกยางดูดสารละลายขึ้นมาให้อยู่เหนือจุด a เล็กน้อย แล้วปล่อยจุกยาง บันทึกเวลาที่สารละลายเคลื่อนที่จากจุด a ถึงจุด b 3 ครั้ง จากนั้นนำช่วงเวลา 2 ครั้งที่ใกล้เคียงกันที่สุดมาหาค่าเฉลี่ย

2. ไขสารละลาย C_1 จากบิวเรตมา 13 มิลลิลิตร ลงใน Viscometer ที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 25 ^{O}C แล้วทำการทดลองเหมือนในข้อที่ 1

3. ไขตัวทำละลายผสมจากบิวเรต 1.5 มิลลิลิตร ลงใน Viscometer ที่บรรจุ C_1 ทำการเขย่าจะได้สารละลาย C_2 แล้วทำการทดลองเหมือนข้อที่ 1

4. ไขตัวทำละลายผสมจากบิวเรต 1.5 มิลลิลิตร ลงใน Viscometer ที่บรรจุ C_2 ทำการเขย่าจะได้สารละลาย C_3 แล้วทำการทดลองเหมือนข้อที่ 1

5. ไขสารละลาย C_4 จากบิวเรตมา 13 มิลลิลิตร ลงใน Viscometer ที่ล้างและทำให้แห้งแล้ว แล้วทำการทดลองเหมือนข้อที่ 1

6. ไขตัวทำละลายผสมจากบิวเรต 1.5 มิลลิลิตร ลงใน Viscometer ที่บรรจุ C_4 ทำการเขย่าจะได้สารละลาย C_5 แล้วทำการทดลองเหมือนข้อที่ 1

7. ไขตัวทำละลายผสมจากบิวเรต 1.5 มิลลิลิตร ลงใน Viscometer ที่บรรจุ C_5 ทำการเขย่าจะได้สารละลาย C_6 แล้วทำการทดลองเหมือนข้อที่ 1

8. นำข้อมูลที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างความเข้มข้นกับ η_{sp}/C นำจุดตัดแกน Y มาคำนวณหามวลโมเลกุล (M_V) โดยกำหนดให้

Relative Viscosity : $\eta_r \approx t_{solution} / t_{solvent}$

Specific Viscosity : $\eta_{sp} = \eta_r - 1$

Intrinsic Viscosity : $[\eta] = \eta_{sp} (C = 0)$

เมื่อ $t_{solvent}$ และ $t_{solution}$ คือ ระยะเวลาที่ตัวทำละลายและสารละลายเคลื่อนที่ ตามลำดับ

9. นำค่า $[\eta]$ ที่ได้มาคำนวณหามวลโมเลกุลของไคโตซาน ตามสมการของ Mark-Houwing (วรรณวิมล ปาสาณพันธ์, 2546; วิภาวี โฮเว่น, 2544) ดังนี้

$$[\eta] = KM_v^a$$

เมื่อ K มีค่า 1.8×10^{-3} g/mL

a มีค่า 0.93

การทดลองที่ 2: การศึกษาเพื่อหาปริมาณรังสีแกมมาที่เหมาะสมในการนำมาใช้ตัดสายโพลิเมอร์ของไคโตซาน ให้ได้มวลโมเลกุลเหมาะสมต่อการเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตของข้าวเจ้าพันธุ์สุพรรณบุรี 1 และข้าวเจ้าพันธุ์ปทุมธานี 1

การออกแบบการทดลอง

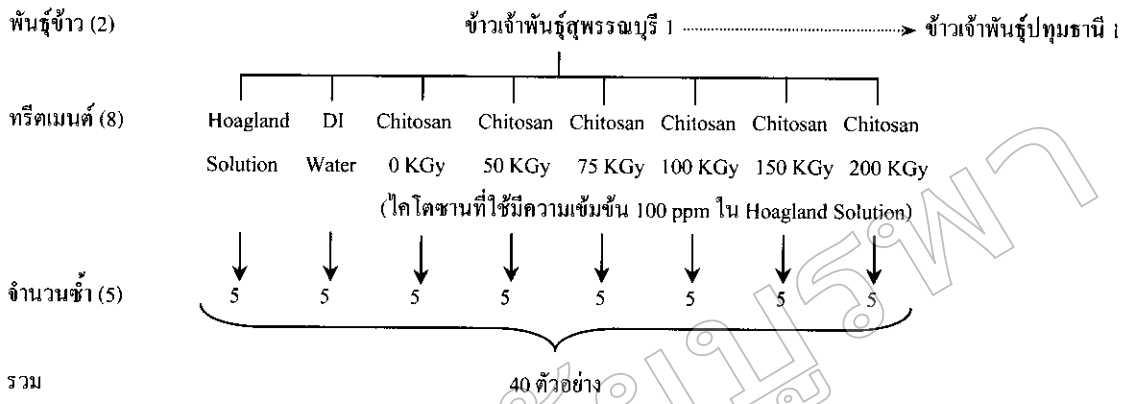
ทำการศึกษาเพื่อหาปริมาณรังสีแกมมาที่เหมาะสมในการนำมาใช้ตัดสายโพลิเมอร์ของไคโตซาน เปรียบเทียบระหว่าง Hoagland Solution (ชุดควบคุม), Deionized Water (แบลงค์), ไคโตซานที่ไม่ฉายรังสี (0 KGy), ไคโตซานที่ฉายรังสี 50 KGy, ไคโตซานที่ฉายรังสี 75 KGy, ไคโตซานที่ฉายรังสี 100 KGy, ไคโตซานที่ฉายรังสี 150 KGy และไคโตซานที่ฉายรังสี 200 KGy ตามลำดับ ทั้งนี้ในการศึกษาจะใช้ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานที่ฉายรังสีแต่ละระดับเป็น 100 ppm ในสารละลาย Hoagland Solution โดยวางแผนการทดลองแบบ 2 x 8 Factorial in Randomized Complete Block Design (RCB) จำนวน 5 ซ้ำ ซึ่งประกอบด้วย

ปัจจัยที่ 1 พันธุ์ข้าวเจ้าจำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ข้าวเจ้าสุพรรณบุรี 1 และพันธุ์ข้าวเจ้าปทุมธานี 1

ปัจจัยที่ 2 ไคโตซานที่ตัดโพลิเมอร์ด้วยการฉายรังสีแกมมาปริมาณต่าง ๆ กัน จำนวน 8 ระดับ ได้แก่ Hoagland Solution (ชุดควบคุม), Deionized Water (แบลงค์), ไคโตซานที่ไม่ฉายรังสี (0 KGy), ไคโตซานที่ฉายรังสี 50 KGy, ไคโตซานที่ฉายรังสี 75 KGy, ไคโตซานที่ฉายรังสี 100 KGy, ไคโตซานที่ฉายรังสี 150 KGy และไคโตซานที่ฉายรังสี 200 KGy ตามลำดับ

สำหรับแผนผังการทดลองแสดงดังภาพที่ 3-3

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University



ภาพที่ 3-3 แผนผังการทดลองที่ 2

วิธีการทดลอง

1. คัดเลือกเมล็ดข้าวเจ้าพันธุ์สุพรรณบุรี 1 และข้าวเจ้าพันธุ์ปทุมธานี 1 ที่มีสภาพสมบูรณ์พันธุ์ละประมาณ 600 เมล็ด นำมาเพาะเมล็ดในถ้วยเพาะขนาด 6 ออนซ์ โดยการนำเมล็ดข้าวใส่ลงไปในถ้วยเพาะ ซึ่งภายในใส่กระดาษทิชชูไว้เพื่อรักษาความชื้น จากนั้นเติมน้ำ Deionized Water ลงไปพอให้เมล็ดข้าวชื้น แช่เมล็ดข้าวไว้ประมาณ 1-2 วัน หรือเริ่มมีปุ่มรากงอกออกมาจากเมล็ดข้าว

2. คัดเลือกเมล็ดข้าวที่ได้จากขั้นที่ 1 ที่มีลักษณะ Homogeneous กัน พันธุ์ข้าวละ 400 เมล็ด มาเพาะต่อในสภาพ Hydroponic โดยใช้สารละลาย Hoagland Solution (รายละเอียดของส่วนประกอบของสารละลาย Hoagland Solution แสดงในภาคผนวก ข) ในถ้วยเพาะขนาด 6 ออนซ์ ที่มีตาข่ายรองบริเวณปากถ้วย โดยใช้เมล็ดข้าว 10 เมล็ดต่อถ้วย จากนั้นเติมสารละลายทรีตเมนต์ต่าง ๆ ดังแผนผังการทดลองในภาพที่ 3-3 ลงในถ้วยเพาะแต่ละถ้วย โดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานที่ฉายรังสีแต่ละระดับเป็น 100 ppm และปริมาณของสารละลายที่เติม 150 มิลลิลิตรต่อถ้วย

3. นำถ้วยเพาะที่เตรียมเสร็จแล้วจากขั้นที่ 2 มาจัดวางในเครื่อง Growth Chamber โดยวางแผนการทดลองแบบ 2 x 8 Factorial in Randomized Complete Block Design (RCB) จำนวน 5 ซ้ำ

กำหนดโปรแกรมการทำงานของเครื่อง Growth Chamber เป็น 2 โปรแกรม โดยให้เครื่องทำงานตามโปรแกรมที่ 1 และ 2 สลับกันไป จนข้าวมีอายุประมาณ 14 วัน สำหรับรายละเอียดของแต่ละโปรแกรมมีดังนี้

โปรแกรมที่ 1	Temperature	28	^{o}C
	Timer	14	ชั่วโมง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

โปรแกรมที่ 2	Relative Humidity	70	%
	Light Intensity	0	Lux
	Temperature	28	^{o}C
	Timer	10	ชั่วโมง
	Relative Humidity	70	%
	Light Intensity	8,500	Lux

4. รักษาระดับของสารละลายในถ้วยเพาะให้คงที่ตลอดช่วงการทดลอง โดยหากระดับของสารละลายลดต่ำลง ให้เติมน้ำ Deionized Water เพื่อรักษาระดับของสารละลายไว้

5. การตรวจผล

5.1 วัดความสูงของต้นข้าวของแต่ละชุดการทดลองหลังจากต้นข้าวมีอายุได้ประมาณ 14 วัน โดยวัดความสูงจากส่วนของโคนต้นที่ติดกับรากถึงปลายใบสูงสุด

5.2 วัดความยาวของรากข้าวของแต่ละชุดการทดลอง หลังจากต้นข้าวมีอายุได้ประมาณ 14 วัน โดยวัดความยาวจากส่วนของรากที่ติดกับโคนต้นถึงปลายรากที่ยาวที่สุด

5.3 ชั่งหาน้ำหนักแห้งของต้นและรากข้าวของแต่ละชุดการทดลอง หลังจากต้นข้าวมีอายุได้ประมาณ 14 วัน โดยนำต้นและรากข้าวไปอบในตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 60 ^{o}C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่ และทิ้งไว้ให้เย็นก่อนนำไปชั่งหาน้ำหนักแห้ง

6. ทำการวิเคราะห์ข้อมูลแบบแฟคทอเรียล (Factorial Experiment) ที่จัดให้รูปบล็อคสุ่มตลอด (Randomized Complete Block Design, RCB) และทำการทดสอบความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้การทดสอบแบบ Duncan' s New Multiple Range Test (DNMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ IRRISTAT Version 3/93 (กรมวิชาการเกษตร, ม.ป.ป. ค)

การทดลองที่ 3: การศึกษาเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของไคโตซานที่ตัดสายโพลิเมอร์ด้วยการฉายรังสีแกมมาต่อการเป็นสารเร่งการเจริญเติบโตของข้าวเจ้าพันธุ์สุพรรณบุรี 1

ทำการคัดเลือกพันธุ์ข้าวเจ้าและปริมาณรังสีแกมมาที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ตัดสายโพลิเมอร์ของไคโตซาน ซึ่งทราบได้จากการทดลองที่ 2 มาทำการทดลองต่อในการทดลองนี้

การออกแบบการทดลอง

ทำการศึกษาเพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของไคโตซานที่ตัดสายโพลิเมอร์ด้วยการฉายรังสีแกมมา เปรียบเทียบระหว่างไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 5, 10, 20, 50, 75, 100, 150 และ 200 ppm ในสารละลาย Hoagland Solution โดยจะใช้ไคโตซานที่ตัดสายโพลิเมอร์ด้วยการฉายรังสีแกมมาปริมาณต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ ไคโตซานที่ไม่ฉายรังสี (0 KGy), ไคโตซานที่ฉายรังสี 75

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

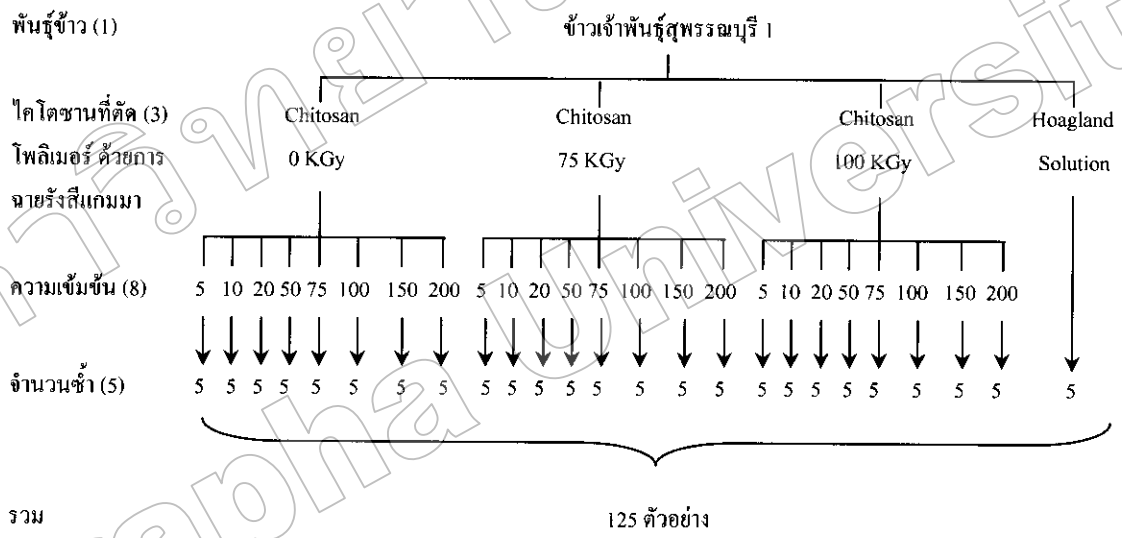
KGy และไคโตซานที่ฉายรังสี 100 KGy ตามลำดับ ทั้งนี้จะวางแผนการทดลองแบบ 3 x 8 Factorial in Randomized Complete Block Design (RCB) With 1 Check จำนวน 5 ซ้ำ ซึ่งประกอบด้วย

ปัจจัยที่ 1 ไคโตซานที่ตัดสายโพลิเมอร์ด้วยการฉายรังสีแกมมาปริมาณต่าง ๆ กันจำนวน 3 ระดับ ได้แก่ ไคโตซานที่ไม่ฉายรังสีแกมมา (0 KGy), ไคโตซานที่ฉายรังสีแกมมา 75 KGy และไคโตซานที่ฉายรังสีแกมมา 100 KGy ตามลำดับ

ปัจจัยที่ 2 ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานที่ตัดโพลิเมอร์ด้วยการฉายรังสีแกมมา จำนวน 8 ระดับ ได้แก่ 5, 10, 20, 50, 75, 100, 150 และ 200 ppm ตามลำดับ

Check ได้แก่ Hoagland Solution (ชุดควบคุม)

สำหรับแผนผังการทดลองแสดงดังภาพที่ 3-4



ภาพที่ 3-4 แผนผังการทดลองที่ 3

วิธีการทดลอง

1. คัดเลือกเมล็ดข้าวเจ้าพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ที่มีสภาพสมบูรณ์ ประมาณ 1,600 เมล็ด นำมาเพาะเมล็ดในถ้วยเพาะขนาด 6 ออนซ์ โดยการนำเมล็ดข้าวใส่ลงไปในถ้วยเพาะ ซึ่งภายในใส่กระดาษทิชชูไว้เพื่อรักษาความชื้น จากนั้นเติมน้ำ Deionized Water ลงไปพอให้เมล็ดข้าวชื้น แช่เมล็ดข้าวไว้ประมาณ 1-2 วัน หรือเริ่มมีปุ่มรากงอกออกมาจากเมล็ดข้าว

2. คัดเลือกเมล็ดข้าวที่ได้จากขั้นที่ 1 ที่มีลักษณะ Homogeneous กัน จำนวน 1,250 เมล็ด มาเพาะต่อในสภาพ Hydroponic โดยใช้สารละลาย Hoagland Solution ในถ้วยเพาะขนาด 6 ออนซ์ ที่มีตาข่ายรองบริเวณปากถ้วย โดยใช้เมล็ดข้าว 10 เมล็ดต่อถ้วย จากนั้นเติมสารละลาย

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ทรีตเมนต์ต่าง ๆ ดังแผนผังการทดลองในภาพที่ 3-4 ลงในถ้วยเพาะแต่ละถ้วย โดยใช้ปริมาณของสารละลายที่เติม 150 มิลลิลิตรต่อถ้วย

3. นำถ้วยเพาะที่เตรียมเสร็จแล้วจากขั้นที่ 2 มาจัดวางในเครื่อง Growth Chamber โดยวางแผนการทดลองแบบ 3 x 8 Factorial in Randomized Complete Block Design (RCB) With 1 Check จำนวน 5 ซ้ำ

กำหนดโปรแกรมการทำงานของเครื่อง Growth Chamber เป็น 2 โปรแกรม โดยให้เครื่องทำงานตามโปรแกรมที่ 1 และ 2 สลับกันไป จนข้าวมีอายุประมาณ 14 วัน เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2

4. รักษาระดับของสารละลายในถ้วยเพาะให้คงที่ตลอดช่วงการทดลอง โดยหากระดับของสารละลายลดต่ำลง ให้เติมน้ำ Deionized Water เพื่อรักษาระดับของสารละลายไว้

5. การตรวจผล

5.1 วัดความสูงของต้นข้าวของแต่ละชุดการทดลอง หลังจากต้นข้าวมีอายุได้ประมาณ 14 วัน โดยวัดความสูงจากส่วนของโคนต้นที่ติดกับรากถึงปลายใบสูงสุด

5.2 วัดความยาวของรากข้าวของแต่ละชุดการทดลอง หลังจากต้นข้าวมีอายุได้ประมาณ 14 วัน โดยวัดความยาวจากส่วนของรากที่ติดกับโคนต้นถึงปลายรากที่ยาวที่สุด

5.3 ชั่งหาน้ำหนักแห้งของต้นและรากข้าวของแต่ละชุดการทดลอง หลังจากต้นข้าวมีอายุได้ประมาณ 14 วัน โดยนำต้นและรากข้าวไปอบในตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 60 ^{o}C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่ และทิ้งไว้ให้เย็นก่อนนำไปชั่งหาน้ำหนักแห้ง

6. ทำการวิเคราะห์ข้อมูลแบบแฟคทอเรียล (Factorial Experiment) ที่จัดให้รูปบล็อคสุ่มตลอด (Randomized Complete Block Design, RCB) และทำการทดสอบความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้การทดสอบแบบ DNMRT โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ IRRISTAT Version 3/93 (กรมวิชาการเกษตร, ม.ป.ป. ค)

การทดลองที่ 4: การใช้เทคนิคทางนิวเคลียร์ในการศึกษาการประเมินค่าความเป็นประโยชน์ของฟอสฟอรัสในดินผสมไคโตซานที่ตัดสายโพลิเมอร์ด้วยการฉายรังสีแกมมา โดยวิธีการแลกเปลี่ยนไอโซโทปที่ใช้สารกัมมันตรังสีฟอสฟอรัส (E-Value)

1. ระยะเวลาสมดุล (Equilibrating Time)

การออกแบบการทดลอง

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการหาระยะเวลาที่ถึงจุดสมดุลระหว่างฟอสฟอรัส-31 ในดินกับฟอสฟอรัส-32 จากปุ๋ยที่เติมลงไป ของดิน 2 ชุด คือ ดินเค็มซึ่งนำมาจากอำเภอด่านขุนทด จังหวัดนครราชสีมา และดินเปรี้ยวซึ่งนำมาจากสถาบันวิจัยข้าว อำเภอบางน้ำเปรี้ยว

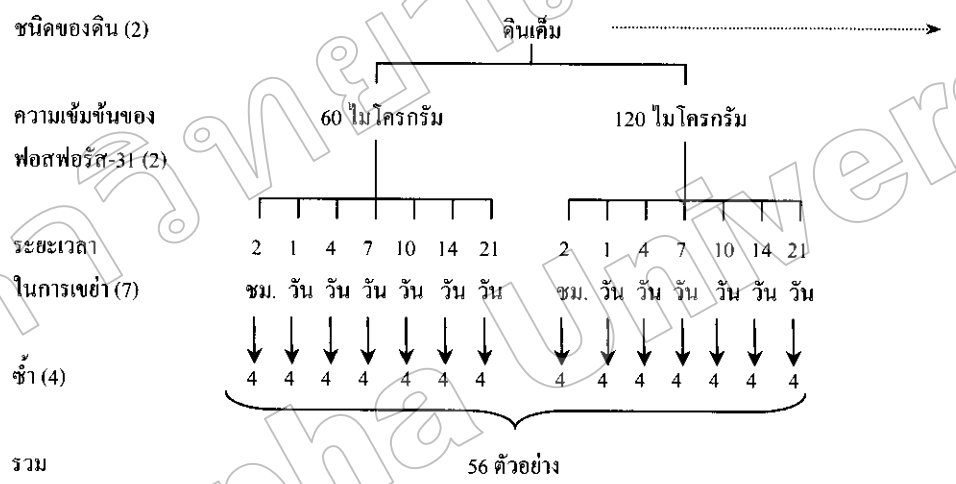
จังหวัดฉะเชิงเทรา โดยเปรียบเทียบความเข้มข้นของฟอสฟอรัส-31 ที่ 2 ความเข้มข้น และใช้ระยะเวลาที่ทำให้ปฏิกิริยาเข้าสู่สมดุล 7 ช่วงเวลา ทั้งนี้จะวางแผนการทดลองแบบ 2 x 2 x 7 Factorial in Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ ซึ่งประกอบด้วย

ปัจจัยที่ 1 ตัวอย่างดิน จำนวน 2 ระดับ ได้แก่ ดินเค็ม และดินเปรี้ยว

ปัจจัยที่ 2 ความเข้มข้นของฟอสฟอรัส-31 จำนวน 2 ระดับ ได้แก่ ระดับที่มีฟอสฟอรัส-31 60 ไมโครกรัม และ 120 ไมโครกรัม

ปัจจัยที่ 3 ระยะเวลาที่ทำให้ปฏิกิริยาเข้าสู่สมดุล จำนวน 7 ระดับ ได้แก่ 2 ชั่วโมง, 1 วัน, 4 วัน, 7 วัน, 10 วัน, 14 วัน และ 21 วัน ตามลำดับ

สำหรับแผนผังการทดลองแสดงดังภาพที่ 3-5



ภาพที่ 3-5 แผนผังการทดลองที่ 4 เพื่อหาระยะเวลาสมดุลระหว่างฟอสฟอรัส-31 ในดินกับฟอสฟอรัส-32 จากปุ๋ยที่เติมลงไป ของดิน 2 ชุด

การเตรียมสารละลายฟอสเฟตติดสลากด้วยฟอสฟอรัส-32

เตรียมสารละลายฟอสเฟตติดสลากด้วยฟอสฟอรัส-32 ซึ่งมีความเข้มข้นของฟอสฟอรัส 60 ไมโครกรัมต่อปริมาตร 5 มิลลิลิตร โดยการชั่ง KH_2PO_4 หนัก 263 มิลลิกรัม ละลายในน้ำจนสารประกอบละลายหมด ใส่สารละลายฟอสเฟตที่ได้ลงใน Volumetric Flask ขนาด 1 ลิตร เติมสารละลายฟอสฟอรัส-32 ซึ่งอยู่ในรูปกรดฟอสฟอริค ที่เป็น Carrier Free มีความแรงรังสี 400 ไมโครคูรี ลงไปใน Volumetric Flask แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรด้วยน้ำ Deionized Water แล้วทิ้งสารละลายฟอสเฟตติดสลากด้วยฟอสฟอรัส-32 ไว้ 1 คืน ก่อนนำไปใช้ในการศึกษา

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

สารละลายฟอสเฟตที่ได้จะมีความเข้มข้นของฟอสเฟต 60 ไมโครกรัมต่อปริมาตร 5 มิลลิลิตร และมีความแรงรังสีของฟอสฟอรัส-32 2 ไมโครคูรีต่อปริมาตร 5 มิลลิลิตร

สำหรับสารละลายฟอสเฟตติดสลากด้วยฟอสฟอรัส-32 ซึ่งมีความเข้มข้นของฟอสฟอรัส 120 ไมโครกรัมต่อปริมาตร 5 มิลลิลิตร เตรียมเหมือนสารละลายข้างต้นทุกประการ ยกเว้นการชั่งน้ำหนัก KH_2PO_4 จะใช้น้ำหนัก 526 มิลลิกรัมแทน

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างดินของดินทั้ง 2 ชุด ตัวอย่างละ 2.5 กรัม ใส่ในขวดพลาสติกที่มีฝาปิดขนาด 60 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 0.022 M KCl 45 มิลลิลิตร และคลอโรฟอร์ม 5 หยด เขย่าเป็นเวลา 1 วัน จากนั้นเติมปุ๋ยฟอสเฟตซึ่งติดสลากด้วยฟอสฟอรัส-32 ที่มีฟอสฟอรัส 60 และ 120 ไมโครกรัม โดยใช้สารละลายที่เตรียมไว้ 5 มิลลิลิตรต่อดิน 1 ตัวอย่าง ปิดฝาให้สนิทแล้วนำไปเขย่าเป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วกรองส่วนที่ใสโดยใช้กระดาษกรอง เบอร์ 6 ปิเปตสารละลายใสอย่างละ 1 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัส-31 โดยวิธี Molybdenum Blue (รายละเอียดของวิธีการดังกล่าวแสดงในภาคผนวก ค) และวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัส-32 ด้วยเครื่องวัดลิควิดซิลทิลเลชัน แบบไม่เติมคอกเทล (วัดรังสีเซเรนคอฟ)

2. ทำการทดลองซ้ำตามแบบข้อที่ 1 อีก 6 ครั้ง โดยแต่ละครั้งใช้เวลาในการเขย่าแตกต่างกันไป คือ 1 วัน, 4 วัน, 7 วัน, 10 วัน, 14 วัน และ 21 วัน ตามลำดับ

3. คำนวณหาปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกตรึงโดยดินตัวอย่าง

4. คำนวณหาปริมาณฟอสฟอรัสที่แลกเปลี่ยนได้ (E-Value) ตามสมการ

$$Et = \left(\frac{Xt \times Y}{Yt}\right) - X$$

เมื่อ Et คือ Isotopically Exchangeable Soil P

X คือ ปริมาณ P^{31} เริ่มต้นในสารละลาย

Xt คือ ปริมาณ P^{31} ที่เหลืออยู่ในสารละลายเมื่อเวลา t

Y คือ ปริมาณ P^{32} เริ่มต้นในสารละลาย

Yt คือ ปริมาณ P^{32} ที่เหลืออยู่ในสารละลายเมื่อเวลา t

2. การศึกษาปริมาณการแลกเปลี่ยนไอโซโทปของฟอสฟอรัสในดินผสมไคโตซานที่ตัดโพลิเมอร์ด้วยการฉายรังสีแกมมา

การออกแบบการทดลอง

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการหาปริมาณการแลกเปลี่ยนไอโซโทปของฟอสฟอรัสในดินเค็ม และดินเปรี้ยวที่ผสมไคโตซานที่ตัดโพลิเมอร์ด้วยการฉายรังสีแกมมาปริมาณต่าง ๆ กัน 3 ระดับ และใช้ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซาน 3 ระดับ ทั้งนี้จะวางแผนการทดลองแบบ 2 x 3 x 3 Factorial in Completely Randomized Design (CRD) With 2 Checks จำนวน 5 ซ้ำ ซึ่งประกอบด้วย

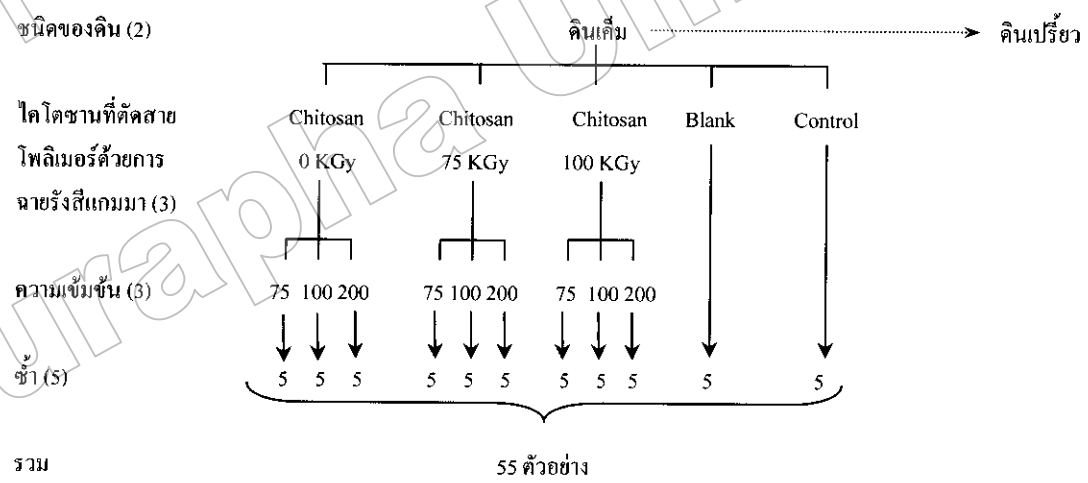
ปัจจัยที่ 1 ตัวอย่างดิน จำนวน 2 ระดับ ได้แก่ ดินเค็ม และดินเปรี้ยว

ปัจจัยที่ 2 ไคโตซานที่ตัดโพลิเมอร์ด้วยการฉายรังสีแกมมาปริมาณต่าง ๆ กัน จำนวน 3 ระดับ ได้แก่ ไคโตซานที่ไม่ฉายรังสี (0 KGy), ไคโตซานที่ฉายรังสี 75 KGy และไคโตซานที่ฉายรังสี 100 KGy ตามลำดับ

ปัจจัยที่ 3 ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานที่ตัดโพลิเมอร์ด้วยการฉายรังสีแกมมา จำนวน 3 ระดับ ได้แก่ 75, 100 และ 200 ppm ตามลำดับ

Checks ได้แก่ แบลงค์ (ไม่ใส่ไคโตซาน แต่ใส่สารละลายฟอสเฟตติดสลากด้วยฟอสฟอรัส-32) และชุดควบคุม (ไม่ใส่ไคโตซานและสารละลายฟอสเฟตติดสลากฟอสฟอรัส–32)

สำหรับแผนผังการทดลองแสดงดังภาพที่ 3-6



ภาพที่ 3-6 แผนผังการทดลองที่ 4 เพื่อหาปริมาณการแลกเปลี่ยนไอโซโทปของฟอสฟอรัสในดินผสมไคโตซานที่ตัดโพลิเมอร์ด้วยการฉายรังสีแกมมา

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างดินของดินทั้ง 2 ชุด ตัวอย่างละ 2.5 กรัม ใส่ในขวดพลาสติกที่มีฝาปิดขนาด 60 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 0.022 M KCl 45 มิลลิลิตร และคลอโรฟอร์ม 5 หยด เขย่าเป็นเวลา 1 วัน

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

จากนั้นเติมปุ๋ยฟอสเฟตซึ่งติดสลากด้วยฟอสฟอรัส-32 ที่มีฟอสฟอรัส 120 ไมโครกรัม โดยใช้สารละลายที่เตรียมไว้ 5 มิลลิลิตรต่อดิน 1 ตัวอย่าง ปิดฝาให้สนิทแล้วนำไปเขย่าเป็นเวลา 10 วัน จากนั้นนำไปเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที แล้วกรองส่วนที่ใสโดยใช้กระดาษกรอง เบอร์ 6 ปิเปตสารละลายใสอย่างละ 1 มิลลิลิตร เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัส-31 โดยวิธี Molybdenum Blue (รายละเอียดของวิธีการดังกล่าวแสดงในภาคผนวก ค) และวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัส-32 ด้วยเครื่องวัดลิควิดซิลทิลเลชัน แบบไม่เติมคอกเทล (วัดรังสีเซเรนคอฟ)

2. คำนวณหาปริมาณฟอสฟอรัสที่ถูกตรึงโดยดินตัวอย่าง

3. คำนวณหาปริมาณฟอสฟอรัสที่แลกเปลี่ยนได้ (E-Value) เช่นเดียวกับที่ทำในการทดลองเพื่อหาระยะเวลาสมดุล (Equilibrating Time)

4. ทำการวิเคราะห์ข้อมูลแบบแฟคทอเรียล (Factorial Experiment) ที่จัดให้รูปสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) และทำการทดสอบความแตกต่างของข้อมูลโดยใช้การทดสอบแบบ DNMRT โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ IRRISTAT Version 3/93 (กรมวิชาการเกษตร, ม.ป.ป. ค)

การทดลองที่ 5: การศึกษาการประเมินค่าความเป็นประโยชน์ของปุ๋ยฟอสเฟตต่อพืช (% FPU) เมื่อใช้ไคโตซานที่ตัดสายโพลิเมอร์ด้วยการฉายรังสีแกมมาร่วมกับปุ๋ยฟอสเฟต โดยใช้ฟอสฟอรัส-32 เป็นตัวติดตาม

การออกแบบการทดลอง

ทำการศึกษาเพื่อประเมินค่า % FPU เมื่อใช้ไคโตซานที่ตัดสายโพลิเมอร์ด้วยการฉายรังสีแกมมาปริมาณต่างกัน เปรียบเทียบระหว่าง Hoagland Solution, Deionized Water, Control (ไม่ใส่ไคโตซาน แต่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 16-20-0 โดยไม่ติดสลากด้วยราดิโอไอโซโทปฟอสฟอรัส-32), ไคโตซานที่ไม่ฉายรังสี (0 KGy), ไคโตซานที่ฉายรังสี 75 KGy และไคโตซานที่ฉายรังสี 100 KGy โดยจะใช้ไคโตซานที่ระดับความเข้มข้น 75, 100 และ 200 ppm ในสารละลาย Hoagland Solution ตามลำดับ ทั้งนี้จะวางแผนการทดลองแบบ 2 x 3 x 3 Factorial in Randomized Complete Block Design (RCB) With 3 Checks จำนวน 5 ซ้ำ ซึ่งประกอบด้วย

ปัจจัยที่ 1 ตัวอย่างดิน จำนวน 2 ระดับ ได้แก่ ดินเค็ม และดินเปรี้ยว

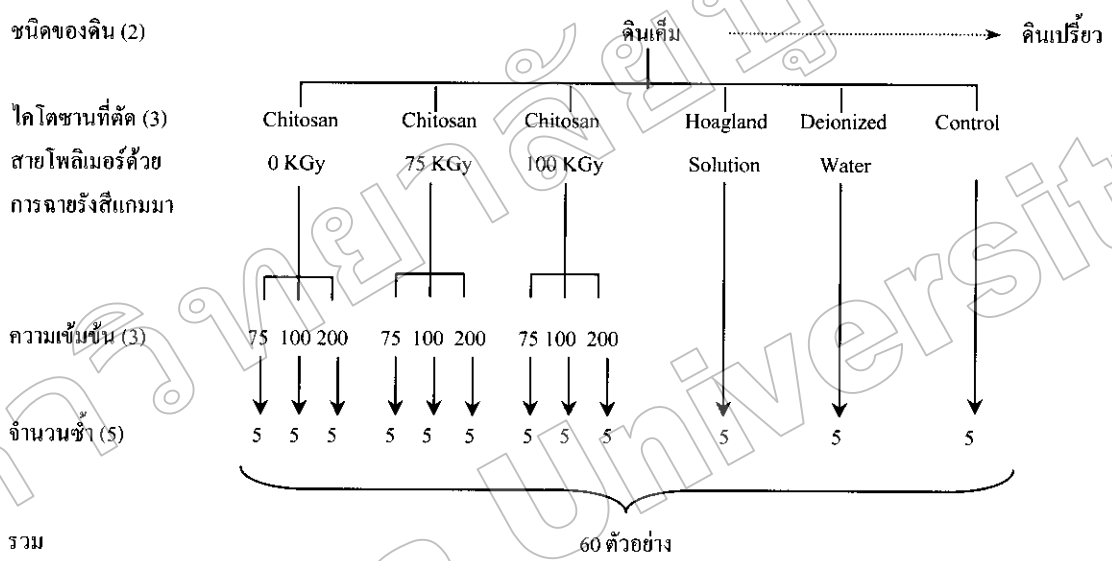
ปัจจัยที่ 2 ไคโตซานที่ตัดสายโพลิเมอร์ด้วยการฉายรังสีแกมมาปริมาณต่าง ๆ กันจำนวน 3 ระดับ ได้แก่ ไคโตซานที่ไม่ฉายรังสีแกมมา (0 KGy), ไคโตซานที่ฉายรังสีแกมมา 75 KGy และไคโตซานที่ฉายรังสีแกมมา 100 KGy ตามลำดับ

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ปัจจัยที่ 3 ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานที่ตัดสายโพลิเมอร์ด้วยการฉายรังสีแกมมาจำนวน 3 ระดับ ได้แก่ 75, 100 และ 200 ppm ตามลำดับ

Checks ได้แก่ Hoagland Solution, Deionized Water และ Control ซึ่งเป็นชุดการทดลองที่ไม่ใส่ไคโตซาน แต่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต 16-20-0 ที่มีฟอสฟอรัสหนัก 4.3206 มิลลิกรัม โดยไม่ติดสลากด้วยราดิโอไอโซโทปฟอสฟอรัส-32

สำหรับแผนผังการทดลองแสดงดังภาพที่ 3-7



ภาพที่ 3-7 แผนผังการทดลองที่ 5

การเตรียมดินปลูก

ทำการผึ่งตัวอย่างดินเค็ม ซึ่งนำมาจากอำเภอด่านขุนทด จังหวัดนครราชสีมา และดินเปรี้ยว ซึ่งนำมาจากสถาบันวิจัยข้าว อำเภอบางน้ำเปรี้ยว จังหวัดฉะเชิงเทรา ในที่ร่ม หลังจากที่ดินแห้งสนิทดีแล้ว จึงบดและร่อนดินผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร ชั่งดินของแต่ละชุดดิน โดยให้แต่ละตัวอย่างหนักตัวอย่างละ 350 กรัม บรรจุลงในถ้วยเพาะที่ป้องกันการระบายน้ำออกนอกถ้วยเพาะได้ จากนั้นเติมน้ำให้ดินในแต่ละถ้วยมีความชื้นพอประมาณ สำหรับดินปลูกที่ใช้ปลูกเพื่อปรับสภาพข้าวที่ย้ายมาจาก Growth Chamber จะเติมสารละลาย Hoagland Solution แทน

การเตรียมทรายติดสลากด้วยราดิโอไอโซโทปฟอสฟอรัส-32

ชั่งทรายละเอียดหนัก 2.000 กรัม ใส่ในถุงพลาสติก จำนวน 55 ถุง (ต่อชุดดินตัวอย่าง 1 ชุด) หยดสารละลายฟอสฟอรัส-32 ที่มีความแรงรังสี (Activity) เริ่มต้น 1.79 ไมโครคูรี ปริมาตร 50

มหาวิทยาลัยบูรพา Burapha University

ไมโครลิตร ลงไปบนทรายแต่ละถุง เปิดปากถุงทิ้งไว้ เพื่อให้ทรายแห้งสนิท จากนั้นปิดปากถุงและคลุกเคล้าทรายให้ทั่ว

วิธีการทดลอง (ต่อชุดดินตัวอย่าง 1 ชุด)

1. คัดเลือกเมล็ดข้าวเจ้าพันธุ์สุพรรณบุรี 1 ที่มีสภาพสมบูรณ์ ประมาณ 1,000 เมล็ด นำมาเพาะเมล็ดในถ้วยเพาะขนาด 6 ออนซ์ โดยการนำเมล็ดข้าวใส่ลงไปในถ้วยเพาะ ซึ่งภายในใส่กระดาษทิชชูไว้เพื่อรักษาความชื้น จากนั้นเติมน้ำ Deionized Water ลงไปพอให้เมล็ดข้าวชื้น แช่เมล็ดข้าวไว้ประมาณ 1-2 วัน หรือเริ่มมีปุ่มรากงอกออกมาจากเมล็ดข้าว

2. คัดเลือกเมล็ดข้าวที่ได้จากขั้นที่ 1 ที่มีลักษณะ Homogeneous กัน จำนวน 600 เมล็ด มาเพาะต่อในสภาพ Hydroponic โดยใช้สารละลาย Hoagland Solution ในถ้วยเพาะขนาด 6 ออนซ์ที่มีตาข่ายรองบริเวณปากถ้วยโดยใช้เมล็ดข้าว 10 เมล็ดต่อถ้วย จากนั้นเติมสารละลาย Hoagland Solution ลงไปในแต่ละถ้วย โดยใช้ปริมาณของสารละลายที่เติม 150 มิลลิลิตรต่อถ้วย นำถ้วยเพาะที่เตรียมเสร็จแล้วมาจัดวางในเครื่อง Growth Chamber โดยวางแผนการทดลองแบบ 2 x 3 x 3 Factorial in Randomized Complete Block Design (RCB) With 3 Checks จำนวน 5 ซ้ำ

กำหนดโปรแกรมการทำงานของเครื่อง Growth Chamber เป็น 2 โปรแกรม โดยให้เครื่องทำงานตามโปรแกรมที่ 1 และ 2 สลับกันไป จนข้าวมีอายุประมาณ 14 วัน เช่นเดียวกับการทดลองที่ 2

3. รักษาระดับของสารละลายในถ้วยเพาะให้คงที่ตลอดช่วงการทดลอง โดยหากระดับของสารละลายลดต่ำลง ให้เติมน้ำ Deionized Water เพื่อรักษาระดับของสารละลายไว้

4. เมื่อข้าวมีอายุประมาณ 14 วัน ทำการย้ายต้นข้าวที่ปลูกในสภาพ Hydroponic มาปลูกในถ้วยเพาะที่ภายในบรรจุดินที่เตรียมไว้ จากนั้นเติม Hoagland Solution ให้ดินในแต่ละถ้วยเพาะมีระดับของสารละลายสูงเหนือดินประมาณ 1 เซนติเมตร และนำมาจัดวางในเรือนเพาะชำ โดยวางแผนการทดลองแบบ 2 x 3 x 3 Factorial in Randomized Complete Block Design (RCB) With 3 Checks จำนวน 5 ซ้ำ เช่นเดียวกับที่อยู่ใน Growth Chamber

5. หลังจากที่ข้าวปรับสภาพได้ประมาณ 14 วัน ทำการคัดเลือกต้นข้าวที่แข็งแรงที่มีลักษณะ Homogeneous กัน จากถ้วยเพาะ ๆ ละ 4 ต้น มาสู่ถ้วยเพาะที่ใส่ดินเตรียมไว้ใหม่อีกครั้ง จากนั้นเติมปุ๋ยฟอสเฟต 16-20-0 ที่มีฟอสฟอรัสหนัก 4.3206 มิลลิกรัม และ Deionized Water ลงไปให้ดินในแต่ละถ้วยเพาะมีระดับของน้ำสูงเหนือดินประมาณ 1 เซนติเมตร โดยวางแผนการทดลองตามเดิม

6. เมื่อข้าวมีอายุประมาณ 30 วัน สเปรย์สารละลายทรีตเมนต์ต่าง ๆ ให้กับต้นข้าวให้ทั่วทั้งต้นดังแผนผังการทดลองในภาพที่ 3-7 โดยใช้ปริมาณของสารละลายที่สเปรย์ 100 มิลลิลิตรต่อ 5

ถ้วย และเติมทรายละเอียดซึ่งติดสลากด้วยราดิโอไอโซโทปฟอสฟอรัส-32 ที่มีความแรงรังสีเริ่มต้น 1.79 ไมโครคูรี ลงรอบโคนต้นข้าวในถ้วยเพาะแต่ละถ้วย

7. ดูแลรักษาโดยการรดน้ำด้วย Deionized Water ทุกวันอย่างสม่ำเสมอจนข้าวมีอายุประมาณ 50 วัน จึงเก็บเกี่ยว

8. การตรวจผล

หลังจากต้นข้าวมีอายุประมาณ 50 วัน ให้ทำการถอนต้นพืช (สวมถุงมือ) แล้วทำการล้างน้ำให้ดินออกให้หมด เพื่อทำการตรวจผลเบื้องต้น ดังนี้

8.1 วัดความสูงของต้นข้าวของแต่ละชุดการทดลอง โดยวัดความสูงจากส่วนของโคนต้นที่ติดกับรากถึงปลายใบสูงสุด

8.2 วัดความยาวของรากข้าวของแต่ละชุดการทดลอง โดยวัดความยาวจากส่วนของรากที่ติดกับโคนต้นถึงปลายรากที่ยาวที่สุด

8.3 ชั่งหาน้ำหนักแห้งของต้นและรากข้าวของแต่ละชุดการทดลอง โดยนำต้นและรากข้าวไปอบในตู้อบความร้อนที่อุณหภูมิ 60 ^{o}C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่ และทิ้งไว้ให้เย็นก่อนนำไปชั่งหาน้ำหนักแห้ง

หลังจากตรวจผลเบื้องต้นแล้ว ให้บดตัวอย่างข้าวให้ละเอียดเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัส-31 และฟอสฟอรัส-32 ในตัวอย่างข้าวต่อไป

9. การวิเคราะห์ตัวอย่างข้าว

9.1 ทำการย่อยสลายตัวอย่างข้าวด้วยวิธี Dry Ashing โดยนำตัวอย่างข้าวที่อบแห้งและบดละเอียดแล้วมาใส่ใน Crucible แล้วนำไปเผาที่อุณหภูมิ 300 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และที่ 500 องศาเซลเซียส อีก 2 ชั่วโมง ในเตาเผา (Muffle Furnace) เมื่อตัวอย่างข้าวเย็นลงละลายตัวอย่างที่เผานี้ด้วย 2 N HCl ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปอุ่นบน Hot Plate เพื่อให้การละลายเป็นไปได้ดี แล้วกรองสารละลายที่ได้ด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 6 ลงในขวด Volumetric Flask ขนาด 25 มิลลิลิตร ล้างตะกอนบนกระดาษกรองหลาย ๆ ครั้ง และปรับปริมาตรด้วย Deionized Water เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไปวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัส-31 โดยวิธี Molybdenum Blue (รายละเอียดของวิธีการดังกล่าวแสดงในภาคผนวก ค) และวิเคราะห์หาปริมาณฟอสฟอรัส-32 ด้วยเครื่องวัดลิควิดซินทิลเลชัน แบบไม่เติมคอกเทล (วัดรังสีเซเรนคอฟ)

9.2 คำนวณหา % Fertiliser P Utilization (International Atomic Energy Agency, 2001)

10. ทำการวิเคราะห์ข้อมูลแบบแฟคทอเรียล (Factorial Experiment) ที่จัดให้รูปบล็อคสุ่มตลอด (Randomized Complete Block Design, RCB) และทำการทดสอบความแตกต่างของ

ข้อมูลโดยใช้การทดสอบแบบ DNMRT โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ IRRISTAT Version 3/93 (กรมวิชาการเกษตร, ม.ป.ป. ค)

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University