

วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการทดลอง

วัสดุและอุปกรณ์

วัสดุและอุปกรณ์ในการเก็บรวบรวมพันธุ์แมงลัก

1. ถูกระดาษ
2. กรรไกรตัดกิ่งไม้
3. collection form ตามแบบของ International Board for Plant Genetic Resources (ภาคผนวก ก)
4. อุปกรณ์สำหรับการสำรวจ เช่น แผนที่ และอื่นๆ

วัสดุและอุปกรณ์ในการคัดเลือกสายพันธุ์แมงลักที่มีปริมาณสารเมือกสูง

1. พืชที่ใช้ในการทดลอง
 - 1.1 แมงลักที่เก็บรวบรวมพันธุ์จากจังหวัดกาญจนบุรี จำนวน 5 ตัวอย่าง
 - 1.2 แมงลักสายพันธุ์ที่มีปริมาณสารเมือกสูง D E และ F จำนวน 9 ตัวอย่าง และลูกผสมชั่วที่ 3 (F_3) ของสายพันธุ์เหล่านี้จำนวน 37 ตัวอย่าง ที่ได้จากการทดลองของ ปกขวัญ หุตางกูร (2531)
 - 1.3 แมงลักจากประเทศอินโดนีเซีย 2 ตัวอย่าง
(รายละเอียดของสายพันธุ์ดูในภาคผนวก ข และ ค)
2. วัสดุการเกษตร
 - 2.1 ดินขุยไผ่
 - 2.2 ไข่ไก่แกลบ
 - 2.3 ปุ๋ยอินทรีย์ กทม-1
 - 2.4 ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15
 - 2.5 ยาฆ่าแมลง
 - 2.6 ถูพลาสติกขนาด 5x7 นิ้ว
 - 2.7 ถูกระดาษ

- 2.8 ตะกร้าพลาสติก
- 2.9 ป้ายปักชื่อต้นไม้
- 2.10 เครื่องมือการเกษตรต่างๆ เช่น จอบ พลั่ว เสียม
3. อุปกรณ์ในการวัดลักษณะทางปริมาณ
 - 3.1 ไม้เมตร และสายวัด
 - 3.2 กระบอกตวงขนาด 10 และ 50 มิลลิลิตร
 - 3.3 บีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร
 - 3.4 ตะแกรงลวด
 - 3.5 เครื่องชั่งอย่างละเอียด
4. อุปกรณ์ในการบันทึกภาพ
 - 4.1 กล้องถ่ายภาพ
 - 4.2 फिल्मสี และฟิล์มสไลด์สี

วิธีดำเนินการทดลอง

1. การสำรวจและเก็บรวบรวมเชื้อพันธุ์แมงลัก
 - 1.1 สำรวจข้อมูลเพื่อหาแหล่งเพาะปลูกแมงลัก จากเอกสาร ร้านขายเมล็ดพันธุ์พืช และหน่วยราชการที่เกี่ยวข้อง
 - 1.2 เดินทางไปเก็บตัวอย่าง 5 ครั้ง โดยการเก็บรวบรวมเมล็ดพันธุ์จากแปลงเพาะปลูกของเกษตรกร ในจังหวัดกาญจนบุรี ในช่วงระหว่างเดือนธันวาคม ถึงมกราคม ซึ่งเป็นฤดูเก็บเกี่ยวของแต่ละปี ตั้งแต่ปี พ.ศ.2531 ถึง 2533 เก็บตัวอย่างโดยการเก็บช่อดอกที่แก่แล้ว วิธีการเก็บทำแบบสุ่มให้ทั่วพื้นที่ปลูก ตัวอย่างละประมาณ 50 ช่อดอก จากประมาณ 20 ต้น บันทึกข้อมูลของแต่ละตัวอย่างลงใน collection form (general) ตามแบบของ IBPGR (1983) ซึ่งแบ่งข้อมูลออกเป็น ข้อมูลของตัวอย่าง ได้แก่ collection number ชื่อวิทยาศาสตร์ แหล่งที่เก็บ ส่วนที่เก็บ เป็นต้น และข้อมูลของการเก็บ ได้แก่ วันที่เก็บ สถานที่เก็บ ชื่อเมือง ที่ใกล้ที่สุด ระยะทาง ทิศทาง จำนวนที่เก็บต่อหนึ่งตัวอย่าง การปลูก และสภาพภูมิประเทศ เป็นต้น
 - 1.3 บริเวณที่เก็บแต่ละตัวอย่างห่างกันประมาณ 5-20 กิโลเมตร โดยกำหนดให้แปลงเพาะปลูกของเกษตรกร 1 แปลง เป็น 1 พื้นที่ของการเก็บตัวอย่าง (sampling site)
 - 1.4 นำช่อดอกที่แห้งแล้วมาแกะทะาะเมล็ด ทำความสะอาด แล้วบรรจุเมล็ดใส่ในกล่องพลาสติก เก็บไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 15 องศาเซลเซียส

2. การคัดเลือกสายพันธุ์แมงลักที่มีปริมาณสารเมือกสูง

ทำการคัดเลือกโดยวิธีคัดเลือกพันธุ์บริสุทธิ์ จากแมงลักที่เก็บรวบรวมจากจังหวัดกาญจนบุรี แมงลักสายพันธุ์ D E และ F และแมงลักจากประเทศอินโดนีเซีย และการคัดเลือกพันธุ์จดประวัติ จากแมงลักลูกผสมชั่วที่ 3 ระหว่างสายพันธุ์ D E และ F

ลักษณะที่ทำการคัดเลือก พิจารณาเรียงตามลำดับดังนี้คือ

- ก. ปริมาณสารเมือก
- ข. น้ำหนัก 1,000 เมล็ด
- ค. ความยาวช่อดอก
- ง. จำนวนช่อดอกต่อต้น
- จ. ความสูง
- ฉ. อายุออกดอก
- ช. อายุเก็บเกี่ยว

ซึ่งการทดลองประกอบด้วยการปลูกแมงลัก จำนวน 3 ครั้ง ดังนี้คือ

2.1 การคัดเลือกครั้งที่ 1

เป็นการปลูกเพื่อคัดเลือกต้นที่มีลักษณะทางการเกษตรที่ดี และมีปริมาณสารเมือกสูง การปลูกใช้วิธีเพาะเมล็ดลงในถุงพลาสติกขนาด 5 นิ้ว ที่บรรจุดินขุยไผ่ ปุ๋ยอินทรีย์ และขี้เถ้า แกลบในอัตรา 2 : 1 : 1 เมื่อต้นกล้าอายุประมาณ 10 วัน ถอนให้เหลือถุงละ 1 ต้น เมื่ออายุประมาณ 1 เดือน จึงย้ายลงปลูกในแปลงทดลอง โดยใช้ระยะปลูก 50 x 50 เซนติเมตร การเตรียมแปลงทำโดยคลุกดินด้วยปุ๋ยอินทรีย์ แล้วใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 ประมาณ 1 ช้อนชา ต่อหลุม ดูแลรดน้ำให้ปุ๋ยและพ่นยาฆ่าแมลงเป็นครั้งคราว ทำการกำจัดวัชพืชเดือนละ 1 ครั้ง

การคัดเลือกครั้งที่ 1 แบ่งการปลูกออกเป็น 2 ส่วน (ภาคผนวก ง) คือ

ส่วนที่ 1

ปลูกที่แปลงทดลองของภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2531 เป็นการปลูกแมงลักที่ได้จากการเก็บรวบรวมพันธุ์จากจังหวัดกาญจนบุรี เมื่อพ.ศ. 2531 จำนวน 5 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 28 ต้น โดยปลูกเป็น 4 แถวละ 7 ต้น รวมทั้งหมด 140 ต้น บันทึกข้อมูลอายุออกดอกของแต่ละต้น หลังจากนั้นคัดเลือกต้นที่มีลักษณะ

แข็งแรง แตกกิ่งก้านดี มีความสูงปานกลาง และไม่เป็นโรค เอาไว้ประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์
 ครอบช่อดอกด้วยถุงกระดาษ เพื่อป้องกันการผสมข้ามต้น ต้นละประมาณ 30 ช่อ ศึกษาลักษณะ
 ความยาวช่อดอก จำนวนช่อดอกต่อต้น และความสูงของต้น เมื่อเมล็ดแก่เก็บเมล็ดจากแต่ละต้น
 นำไปหาค่าปริมาณสารเมือก แล้วคัดเลือกต้นที่มีปริมาณสารเมือกสูงที่สุดไว้ประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์
 นำไปหาค่าน้ำหนัก 1,000 เมล็ด แล้วคัดเลือกต้นที่มีลักษณะปริมาณสารเมือก และน้ำหนัก 1,000
 เมล็ดสูง ประกอบกับลักษณะอื่นๆดี เอาไว้ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ เพื่อใช้ในการปลูกคัดเลือก
 ครั้งที่ 2 โดยใช้เมล็ดที่ได้จากช่อดอกที่ครอบถุงกระดาษไว้

ส่วนที่ 2

ปลูกที่แปลงทดลองของโครงการปลูกสวนสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล
 ณ ศาลายา ในเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2531 เป็นการปลูกแมงลักจำนวน 48 ตัวอย่าง ประกอบด้วย
 แมงลักที่ได้เมล็ดมาจากประเทศอินโดนีเซียจำนวน 2 ตัวอย่าง แมงลักสายพันธุ์ D E และ F ซึ่งมี
 ปริมาณสารเมือกสูง จำนวน 9 ตัวอย่าง และแมงลักลูกผสมชั่วที่ 3 ระหว่างสายพันธุ์ D E และ F
 จากการทดลองของปกขวัญ หุตางกูร (2531) จำนวน 37 ตัวอย่าง ปลูกตัวอย่างละ 12 ต้น โดย
 ปลูกเป็น 2 แถวๆละ 6 ต้น รวมทั้งหมด 558 ต้น (ภาคผนวก ง) บันทึกข้อมูลอายุออกดอกของ
 แต่ละต้น หลังจากนั้นคัดเลือกต้นที่มีลักษณะแข็งแรง แตกกิ่งก้านดี มีความสูงปานกลาง และไม่เป็น
 โรค เอาไว้ประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ เพื่อนำมาศึกษาลักษณะความยาวช่อดอก จำนวนช่อดอกต่อต้น
 และความสูงของต้น เมื่อเมล็ดแก่เก็บเมล็ดจากแต่ละต้นนำไปหาค่าปริมาณสารเมือก แล้วคัดเลือก
 ต้นที่มีค่าปริมาณสารเมือกสูงที่สุดไว้ประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ นำไปหาค่าน้ำหนัก 1,000 เมล็ด
 คัดเลือกต้นที่ลักษณะปริมาณสารเมือก และน้ำหนัก 1,000 เมล็ดสูง รวมทั้งมีลักษณะอื่นๆดีเอาไว้
 ประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ เพื่อใช้ในการปลูกคัดเลือกครั้งที่ 2

วิธีหาค่าของลักษณะที่ใช้ในการคัดเลือก

1. ปริมาณสารเมือก ทำโดยใช้วิธีวัดค่าดัชนีการพองตัว (swelling index) ซึ่งเป็น
 ค่าที่บอกจำนวนเท่าของปริมาตรเมล็ดที่พองตัวเต็มที่ กับปริมาตรเมล็ดแห้ง ซึ่งหาโดยดัดแปลง
 จากวิธีการหาดัชนีการพองตัวของเมล็ด Plantago ovata (Department of Phamaceutical
 Science of the Phamaceutical Society of Great Britain, 1973) ดังนี้

- ก. ชั่งน้ำหนักเมล็ดแห้ง 1 กรัม
- ข. วัดปริมาตรของเมล็ดแห้งจากข้อ ก. ด้วยกระบอกตวงขนาด 10 มิลลิลิตร
- ค. นำเมล็ดจากข้อ ข. ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำ 100
 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง
- ง. เมื่อครบกำหนด เทเมล็ดลงบนตะแกรงลวด ผึ่งไว้ 2 นาที ให้นำส่วนเกิน



ออกให้หมด

จ. นำเมล็ดจากข้อ ง. มาวัดปริมาตรโดยใช้กระบอกตวงขนาด 50 มิลลิลิตร บันทึกปริมาตร

ฉ. นำค่าปริมาตรของเมล็ดที่ฟองตัวเต็มที่ จากข้อ จ. ทหารด้วยปริมาตรของเมล็ดแห้ง จากข้อ ข. ได้เป็นค่าดัชนีการฟองตัว มีหน่วยเป็นเท่า ทำ 2 ซ้ำทุกๆตัวอย่าง

2. นำน้ำหนัก 1,000 เมล็ด หาดตามวิธีของ International Seed Testing Association (1985) ดังนี้

ก. สุ่มนับเมล็ด 100 เมล็ด แล้วนำมาชั่งด้วยเครื่องชั่งละเอียด ทำ 8 ซ้ำ

ข. หาค่าเฉลี่ยจาก 8 ซ้ำ

ค. นำค่าเฉลี่ยจากข้อ ข. คูณด้วย 10 เป็นน้ำหนัก 1,000 เมล็ด

3. ความยาวช่อดอก วัดความยาวช่อดอก โดยการสุ่มต้นละ 20 ช่อดอก นำมาหาค่าเฉลี่ย เป็นความยาวช่อดอกของตน

4. จำนวนช่อดอกต่อต้น นับจำนวนช่อดอกทั้งหมดในระยะที่เก็บเกี่ยว

5. ความสูงของต้น วัดความสูงจากโคนต้นถึงจุดสูงสุดในระยะเก็บเกี่ยว

6. อายุออกดอก นับจำนวนวันจากเริ่มเพาะเมล็ด จนถึงวันที่ดอกแรกบาน

7. อายุเก็บเกี่ยว นับจำนวนวันจากเริ่มเพาะเมล็ด จนถึงวันที่ช่อดอกแก่ 80 เปอร์เซ็นต์

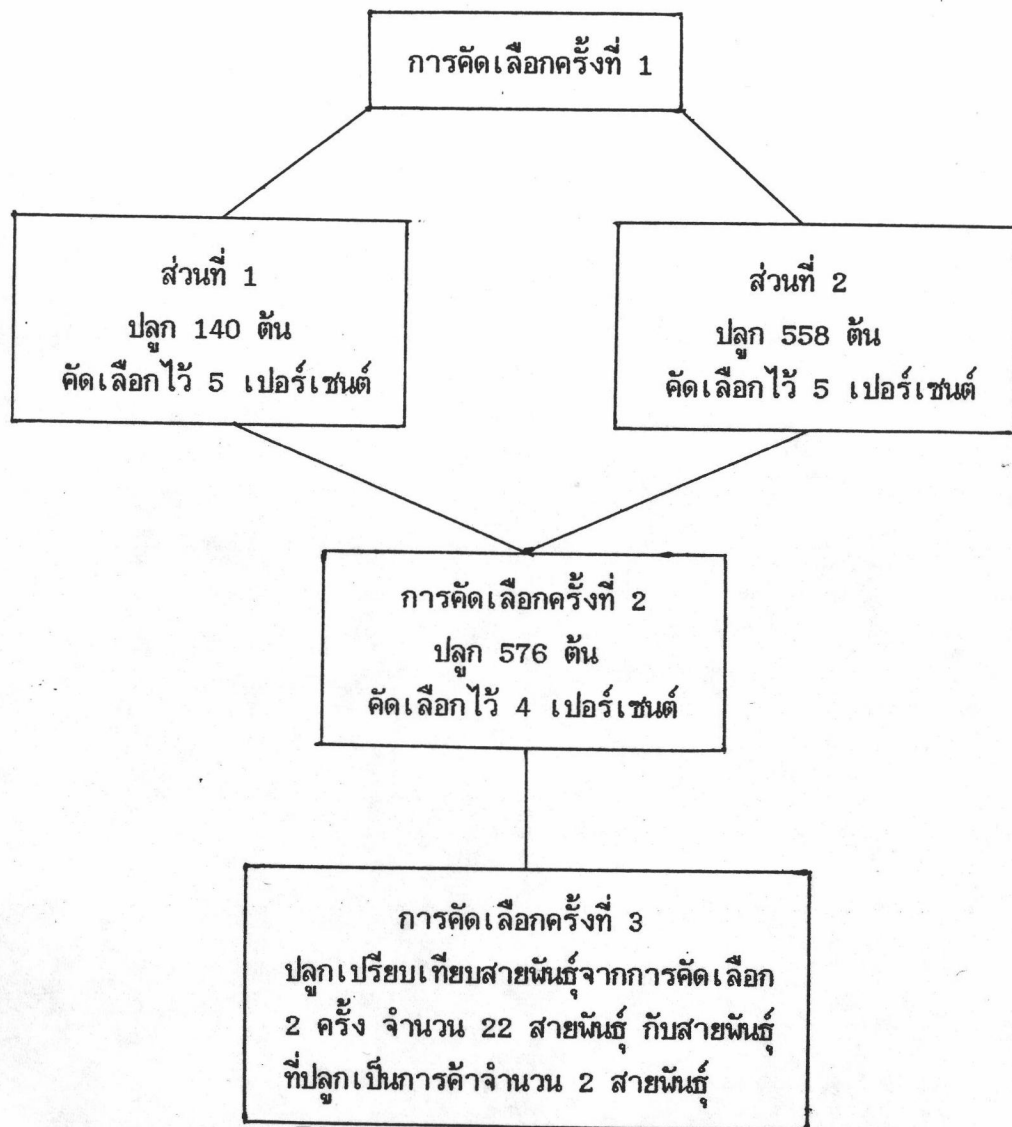
2.2 การคัดเลือกครั้งที่ 2

ปลูกที่แปลงทดลองของโครงการปลูกสวนสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ณ ศาลายา ในเดือนเมษายน พ.ศ. 2532 ปลูกแมงลักที่ได้จากการคัดเลือกครั้งที่ 1 รวมทั้งหมด 32 ตัวอย่าง โดยนำมาปลูกแบบต้นต่อแถวละ 18 ต้น จำนวนทั้งหมด 576 ต้น (ภาคผนวก ง) บันทึกข้อมูลของแต่ละต้น และทำการคัดเลือกเช่นเดียวกับการคัดเลือกครั้งที่ 1 โดยคัดเลือกต้นที่มีลักษณะปริมาณสารเมือก และน้ำหนัก 1,000 เมล็ดสูง รวมทั้งมีลักษณะอื่นๆดี เอาไว้ประมาณ 4 เปอร์เซ็นต์ เพื่อใช้ในการปลูกคัดเลือกครั้งที่ 3

2.3 การคัดเลือกครั้งที่ 3

ปลูกที่เดียวกับการปลูกครั้งที่ 2 ทำการปลูกในเดือนมกราคม พ.ศ. 2533 เป็นการปลูกแมงลักทั้งหมด 24 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ได้จากการคัดเลือกครั้งที่ 2 จำนวน 22 สายพันธุ์ และสายพันธุ์ที่เกษตรกรปลูกเป็นการค้า 2 สายพันธุ์ เพื่อเป็นพันธุ์เปรียบเทียบ โดยวางแผนการทดลองแบบ randomized complete block (RCB) มี 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำปลูกสายพันธุ์ละ

8 ต้น รวมทั้งหมด 576 ต้น (ภาคผนวก ง) บันทึกข้อมูลแต่ละต้น เพื่อเปรียบเทียบลักษณะต่อไปนี้ คือ ปริมาณสารเมือกในเมล็ด น้ำหนัก 1,000 เมล็ด อายุออกดอก ความยาวช่อดอก จำนวนช่อดอกต่อต้น ความสูงต้น และอายุเก็บเกี่ยว นำข้อมูลมาวิเคราะห์โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบ RCB เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละลักษณะระหว่างสายพันธุ์ที่นำมาคัดเลือกจำนวน 22 สายพันธุ์ กับพันธุ์เปรียบเทียบ 2 สายพันธุ์ โดยใช้วิธี Least Significant Difference (LSD) คัดเลือกสายพันธุ์ที่มีปริมาณสารเมือก และน้ำหนัก 1,000 เมล็ดสูง รวมทั้งมีลักษณะอื่นๆดี ไว้เพื่อการศึกษาต่อไป



ภาพที่ 1 แผนผังแสดงการคัดเลือกสายพันธุ์แมงลักที่มีปริมาณสารเมือกสูง

การวิเคราะห์ข้อมูล

ในการปลูกเพื่อคัดเลือกครั้งที่ 3 เพื่อเปรียบเทียบลักษณะระหว่างสายพันธุ์ที่ได้จากการคัดเลือก 22 สายพันธุ์ กับพันธุ์ของเกษตรกร 2 สายพันธุ์ โดยนำข้อมูลของแต่ละลักษณะที่ศึกษามาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบ randomized complete block (RCB) ดังแสดงไว้ในตารางที่ 1 และตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Difference Test (เจริญ จันทลักษณ์, 2534)

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบ RCB

Source of variance	degree of freedom	Sum of square	Mean square	F value
Blocks	(r-1)	$\sum_j (X_{.j}^2 / t) - C.T.$	$\frac{\text{Blocks SS}}{\text{Blocks df}}$	$\frac{\text{Blocks MS}}{\text{Error MS}}$
Treatments	(t-1)	$\sum_i (X_{i.}^2 / r) - C.T.$	$\frac{\text{Treatments SS}}{\text{Treatments df}}$	$\frac{\text{Treatments MS}}{\text{Error MS}}$
Error	(r-1)(t-1)	Total-Blocks-Treatments	$\frac{\text{Error SS}}{\text{Error df}}$	
Total	(rt-1)	$\sum_{i,j} X_{i,j}^2 - C.T.$		

กำหนดให้ $X_{i,j}$ = ค่าสังเกตของทรีตเมนต์ i ในบล็อก j

$$i = 1, 2, \dots, t$$

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

$X_{i.}$ = ผลรวมของทรีตเมนต์ที่ i

$X_{.j}$ = ผลรวมของบล็อกที่ j

r = จำนวนบล็อก

t = จำนวนทรีตเมนต์

C.T. = Correction term มีค่าเท่ากับ $(\sum_{i,j} X_{i,j})^2 / rt$

นำค่า F ที่คำนวณได้มาเปรียบเทียบกับค่า F ในตารางการกระจายของ F ถ้า F ที่คำนวณมีค่ามากกว่า F ในตารางที่ระดับความน่าจะเป็น .05 หรือ .01 ก็สรุปว่าผลการทดลองนี้มีความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของทรีตเมนต์ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % และ 99 % ตามลำดับ

การตรวจสอบค่าเฉลี่ยด้วย LSD ระหว่างสิ่งทดลองคู่ใดคู่หนึ่งที่มีความแตกต่างกันหรือไม่ สามารถทำได้โดย คำนวณหาค่า LSD จากสูตร

$$LSD = t \sqrt{2S^2/r}$$

โดยที่

LSD = ค่า LSD ที่ระดับความน่าจะเป็น .05 หรือ .01

t = ค่า t จากตาราง ที่ระดับความน่าจะเป็น .05 หรือ .01

S^2 = Error Mean Square

r = จำนวนซ้ำในการทดลอง

เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยกับค่า LSD ถ้าผลต่างของค่าเฉลี่ยมีค่ามากกว่าค่า LSD ที่ระดับความน่าจะเป็น .05 หรือ .01 ก็ถือว่ามี ความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % หรือ 99 % ตามลำดับ

สำหรับการวิเคราะห์ความแปรปรวน และการตรวจสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยในการทดลองนี้ ทำโดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติของ SAS (1985)