

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 สถานที่และระยะเวลาทำการทดลอง

ทำการทดลองในกระถางในโรงเรือนทดลองคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ใช้ชุดดินน้ำพองที่เก็บจากบ้านชำจาน ตำบลบ้านค้อ อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น ซึ่งมีเนื้อดินเป็นดินทรายปนร่วน) loamy sand โดยเก็บดินจากไร่เกษตรกรที่ระดับความลึก 20-0 เซนติเมตร ระยะเวลาในการดำเนินการทดลอง ตั้งแต่วันที่ 31 สิงหาคม 2550 ถึง วันที่ 1 ธันวาคม 2550

3.2 อุปกรณ์การทดลอง

- 2.1 ถั่วลันเตาพันธุ์ขอนแก่น 4
- 2.2 สารเคมีสำหรับเป็นธาตุอาหารพืช
- 2.3 กระถางพลาสติกสีดำเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร
- 2.4 อุปกรณ์อื่นๆ ที่จำเป็นในการเก็บดิน และการทดลองในกระถางในโรงเรือน
- 2.5 อุปกรณ์ และเครื่องมือในการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน และพืชในห้องปฏิบัติการวิจัย

3.3 แผนการทดลอง

ทำการปลูกถั่วลันเตาในกระถางแบบ Factorial randomized complete block design จำนวน 4 ซ้ำ ดำรับทดลองประกอบด้วย ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) และโพแทสเซียม (K) อย่างละ 3 ระดับ และโบรอน (B) 2 ระดับ ดังนี้

NO, N1, N2	อัตรา 0, 20 และ 60 kg N ha ⁻¹ ในรูป Urea
PO, P1, P2	อัตรา 0, 30 และ 60 kg P ha ⁻¹ ในรูป Ca (H ₂ PO ₄) ₂
KO, K1, K2	อัตรา 0, 100 และ 200 kg K ha ⁻¹ ในรูป K ₂ SO ₄
BO, B1	อัตรา 0, 1 kgB ha ⁻¹ ในรูป Borax

3.4 วิธีการดำเนินงาน

เก็บดินชุดน้ำพองที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร จากไร่เกษตรกรซึ่งเป็นดินที่ขาดโบรอน (ดินอยู่ในบริเวณเดียวกันกับที่ เพิ่มพูน และประเทือง(2531)) เคนนำมาทดลองและพบว่าขาดโบรอน) นำดินมาผึ่งให้แห้งแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มิลลิเมตร ทำการวิเคราะห์ดินก่อนปลูก ซึ่งมีคุณสมบัติทางเคมีและทางฟิสิกส์ ดังแสดง ในตารางที่ 3.1 ทำการซังดินที่ร่อนแล้วอัตรา 10 กิโลกรัม ใส่ในถุงพลาสติก จากนั้นนำกระดาชกรองเบอร์ 1 รองพื้นกระถาง แล้วเทดินจากถุงพลาสติกใส่ในกระถางที่มีตาครอบกันกระถาง ความสูงของดินในกระถางห่างจากปากกระถาง

ประมาณ 2 นิ้ว ซึ่งให้ พื้นที่หน้าตัดของดินเท่ากับ 0.05 ตารางเมตร ใส่ธาตุอาหาร B N P และ K ตามตำรับทดลองที่ได้กล่าวมาแล้วพร้อมด้วยธาตุอาหารอื่นๆ เป็นปุ๋ยรองพื้นดังรายละเอียดที่แสดงในตารางที่ 3.2 โดยใส่ในรูปของสารละลาย ปูกล ถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 4 ลงในกระถางๆ ละ 5 เมล็ด ระยะห่างระหว่างเมล็ดประมาณ 1 นิ้ว จากนั้นทำการให้น้ำที่ระดับ field capacity และถอนแยกถั่วลิสงให้เหลือ 3 ต้นต่อกระถาง เมื่อพืชอายุ 9 วันหลังปลูก ดูแลรักษาระดับน้ำที่ field capacity ตลอดระยะเวลา พร้อมทั้งกำจัดวัชพืช ทำการเก็บตัวอย่างใบอ่อนที่เจริญเต็มที่ (youngest fully expanded leaf, YFEL) เมื่อพืชอยู่ในระยะออกดอก เพื่อทำการวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารในใบ ทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตเมื่อถั่วลิสงอายุ 100 วันหลังปลูก บันทึกน้ำหนักเมล็ด ฝัก ลำต้นใบ และราก ทำการแยกเมล็ดออกเป็น 2 ขนาด คือ ขนาดใหญ่ และขนาดเล็ก ซึ่งเป็นเมล็ดที่ร้อนไม่ผ่านและร้อนผ่านช่องตระแกรงขนาด 0.7 x 2.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ บันทึกน้ำหนักของเมล็ดขนาดใหญ่ และขนาดเล็ก

ตารางที่ 3.1 คุณสมบัติทางฟิสิกส์ และเคมีของดินก่อนปลูกพืช

คุณสมบัติทางฟิสิกส์ และเคมี	วิธีการ	ค่าวิเคราะห์
Sand (%)	Pipette method	87
Silt (%)		10
Clay (%)		3
Texture class		Loamy sand
Field capacity (%)	Column method	14.0
Electrical conductivity (dS m ⁻¹)	Saturation extract	0.03
Cation Exchange Capacity (cmol _c kg ⁻¹)	NH ₄ OAC , pH7	1.3
pH	1:5 H ₂ O	5.30
Organic matter(%)	Wet oxidation	0.37
Total nitrogen (%N)	Micro-Kjeldahl	0.02
Bray II extractable phosphorus (mgP kg ⁻¹)	Molybdate and spectrophotometry	4.80
Ammonium acetate extractable potassium (mgK kg ⁻¹)	Flame photometry	9.71
Exchangeable B (mgB kg ⁻¹)	Hot CaCl ₂ extraction method, spectrophotometry	0.06

ตารางที่ 3.2 ชนิดและอัตราของธาตุอาหารพืชในปุ๋ยรองพื้น

ธาตุอาหาร	kg element ha ⁻¹	สารประกอบ (salt)	kg salt ha ⁻¹	g element pot ^{1*}	g salt pot ^{1*}
N	20,60	(CO(NH ₂) ₂)	63,189	0.1,0.3	0.3,0.9
P	30,60	Ca(H ₂ PO ₄) ₂	113,227	0.2,0.3	0.6,1.3
K	100,200	K ₂ SO ₄	223,446	0.5, 1.0	1.1,2.2
B	1	(NaB ₄ O ₇ ·10H ₂ O)	9	0.01	0.04**
Ca	139	CaSO ₄ ·2H ₂ O	600	0.7	3 **
Mg	5.92	MgSO ₄ ·7H ₂ O	60	0.03	0.3
Zn	3.18	ZnSO ₄ ·7H ₂ O	14	0.02	0.07
Cu	1.02	CuSO ₄ ·5H ₂ O	4	0.005	0.02
Mo	0.24	Na ₂ MoO ₄ ·2H ₂ O	0.6	0.001	0.003
Co	0.13	CoSO ₄ ·7H ₂ O	0.6	0.001	0.003

* = 0.05 ตารางเมตร

**= แบ่งใส่เป็น 2 ครั้ง ครั้งแรกเมื่อปลูก และครั้งที่ 2 เมื่อระยะถั่วติงลงเข็ม

นับจำนวนเมล็ด และจำนวนฟักต่อกระถาง ทำการตรวจสอบลักษณะอาการขาดโบรอนของเมล็ด โดยแกะเมล็ดออกเป็น 2 ซีก แล้วบันทึกจำนวนเมล็ดที่มีเนื้อเยื่อเมล็ดภายในเจริญผิดปกติ ซึ่งให้ชื่อว่า เมล็ดกลวง (hollow heart seed)

3.5 การวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหาร ในใบ YFEL ของถั่วลิสง

อบใบ YFEL ที่อุณหภูมิ 70°C จนแห้งสนิท แล้วบดผ่านตะแกรงขนาด 40 mesh (0.42 mm) จากนั้นนำตัวอย่างพืชที่บดแล้วมาวิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหาร

3.5.1 การวิเคราะห์หาปริมาณ Nitrogen (Total N)

ใช้วิธี Micro Kjeldahl ซึ่งเป็นการย่อยสลายพืชแบบ wet oxidation

3.5.1.1 วิธีย่อยสลาย

1. ชั่งตัวอย่างพืชจำนวน 200 mg ใส่ในหลอดย่อย
2. เติม salt mixture (K₂SO₄:CuSO₄·5H₂O: Se powder = 100:10:1) ปริมาณใกล้เคียงกับน้ำหนักพืชที่ใช้
3. เติมกรด H₂SO₄ เข้มข้น 4 ml

4. นำไปย่อยสลายบนเตาย่อยด้วยอุณหภูมิต่ำๆ หลังจากนั้นเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นอย่างช้าๆ จนกระทั่งถึง 380°C เมื่อได้สารละลายใส digest ต่อไปอีก 1 ชั่วโมง แล้วกลั่นตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

3.5.1.2 การกลั่นเพื่อวิเคราะห์หาไนโตรเจน

สารเคมี :

1. Mixed indicator : ละลาย bromocresol green 0.033 g และ methyl red 0.0165 g ใน ethanol 50 ml
2. Boric acid - indicator solution : ละลาย H_3BO_3 จำนวน 20 g ในน้ำร้อน จำนวน 700 ml เมื่อสารละลายเย็น ถ่ายลง volumetric flask ขนาด 1 ลิตรเติม mixed indicator จำนวน 20 ml หลังจากผสมสารละลายให้เข้ากันดีแล้วปรับปริมาตรเป็นประมาณ 950 ml แล้วค่อยๆ เติม 0.1 N NaOH ลงไปที่ละน้อย จนได้สารละลายสีม่วงแดง แล้วปรับ ปริมาตรสารละลายเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น
3. Sodium hydroxide 40% : ละลาย NaOH 400 g ในน้ำกลั่น 600 ml เมื่อสารละลายเย็น เก็บไว้ในขวดพลาสติกฝาเกลียว
4. Standard H_2SO_4 0.05 N

วิธีการ :

นำสารละลายที่ได้มากลั่นโดยตรง โดยนำสารละลายใส่ที่ย่อยได้เติมน้ำกลั่นประมาณ 5 ml เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้จนสารละลายเย็น เตรียมสารละลาย boric indicator acid 2% จำนวน 20 ml ใน Erlenmeyer flask 125 ml วาง flask นี้สำหรับรองรับ NH_4OH ที่กลั่นได้ใส่ condenser ให้ปลาย condenser จุ่มลงในสารละลาย กลั่นจนได้สารละลายทั้งหมดประมาณ 40 ml rinse ปลาย condenser ด้วยน้ำกลั่น นำสารละลายที่ได้ไป titrate ด้วยกรด H_2SO_4 หรือ HCl 0.05 N

การคำนวณ

หลักการคำนวณ : meq ของ $\text{NH}_4^+\text{-N}$ = Normality HCl x ml of HCl แล้วเปลี่ยนค่าที่ได้เป็น g โดยใช้ atomic weight ของ N เท่ากับ 14

$$\% \text{ N ในตัวอย่าง} = \frac{(\text{Sample-blank}) \times \text{Normality} \times 14 \times 100}{\text{น้ำหนักพืช (g)} \times 1,000}$$

3.5.2 การวิเคราะห์หาปริมาณ P K Ca Mg B Zn และ Cu ในตัวอย่างพืช

ย่อยสลายด้วยวิธี dry ashing โดยการชั่งตัวอย่างพืชประมาณ 0.20-0.25 กรัม (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ใส่ด้วย crucible แล้วนำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550°C นาน 5 ชั่วโมง จากนั้นนำเถ้าที่ได้ไปละลายด้วย 1 N HCl จำนวน 10 ml ตั้งทิ้งไว้ 1 ชม. เติมน้ำกลั่น 10 ml คนให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้อีก 1 คืน ดูด aliquot เฉพาะส่วนที่ใส่ใส่ tube แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารด้วยเครื่อง ICP

3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของข้อมูลพืช Analysis of variance (ตามแผนการทดลองแบบ factorial randomized complete block design และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของค่ารับทดลอง โดยใช้วิธี Duncan's Multiple Range Test) DMR T (โดยใช้โปรแกรม MSTAT - C)