

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

1. สถานที่และระยะเวลาทำการทดลอง

ทำการทดลองปลูกถั่วคาโลโปโกเนียม ซีรูเลียม ในแปลงเกษตรกร ซึ่งเป็นดินชุดน้ำพอง (isohyperthermic, Ustoxic Quartzipsamments) ที่บ้านชำจาน ตำบลบ้านค้อ อำเภอเมือง จังหวัดขอนแก่น ในบริเวณใกล้เคียงกับแปลงที่เคยปลูกถั่วลิสง และพืชแสดงอาการขาดโบรอน โดยเก็บตัวอย่างดินก่อนปลูกที่ระดับความลึก 0-20 เซนติเมตร เพื่อนำมาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและคุณสมบัติทางเคมี รายละเอียดของวิธีการวิเคราะห์และผลการวิเคราะห์แสดงไว้ในตารางที่ 1 และ 2 ใช้พื้นที่ทั้งหมดประมาณ 3,600 ตารางเมตร โดยปลูกเมื่อวันที่ 4 มิถุนายน พ.ศ. 2533 และเก็บผักเมื่อพืชให้ผักแก่เต็มที่ โดยทยอยเก็บในช่วงระหว่างวันที่ 25 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2534 ถึงวันที่ 8 เมษายน พ.ศ. 2534 ในการเก็บผักแก่ครั้งสุดท้ายทำการเก็บลำต้นและใบส่วนเหนือดินด้วยรวมอายุพืชได้ 308 วัน

ทำการวิเคราะห์ตัวอย่างดินและพืชในห้องปฏิบัติการของ ภาควิชาปฐพีศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น และทำการทดสอบคุณภาพของเมล็ดในห้องปฏิบัติการวิทยาการเมล็ดพันธุ์ของ ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

2. แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design มี 4 ซ้ำ 6 คำรับการทดลอง ประกอบด้วยการใส่โบรอน 5 อัตรา ได้แก่ 0, 0.25, 0.5, 1 และ 2 กิโลกรัมโบรอนต่อเฮกตาร์ โดยมีการใส่ปุ๋ยรองพื้นในทุกอัตรา และมีคำรับการทดลอง 1 คำรับที่ไม่มีการใส่ปุ๋ยรองพื้นหรือโบรอน

ตารางที่ 1 วิธีการวิเคราะห์ดิน

Properties	Method	Reference
A. Physical properties		
- particle size distribution	pipette method	Drilon (1980)
B. Chemical properties		
- pH (1:1)	Std. glass electrode	Black (1965)
- Organic matter	Walkley and Black	Black (1965)
- Total N	Kjedahl method	Black (1965)
- Exchangeable K, Ca, Mg	NH ₄ OAc and Atomic adsorption spectro photometry	Cottenie (1980)
- Extractable SO ₄	Acetate-acetic turbidimetric method	พงศ์ศิริ (2524)
- Exchangeable Al	Colorimetric	ทัศนีย์ และ จงรักษ์ (2527)
- B	Hot calcium chloride soluble	McGeehan และคณะ (1989)
- Zn, Mn, Fe, Cu	DTPA-extractant	Cottenie (1980)
- C.E.C.	Peech method	พงศ์ศิริ (2524)
- Lime requirement	Titration	พงศ์ศิริ (2524)

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์ดินก่อนปลูก ความลึก 0-20 เซนติเมตร

คุณสมบัติดิน	ความเข้มข้น
คุณสมบัติทางกายภาพ	
Percent sand	80
Percent silt	17
Percent clay	3
Textural class	Loamy sand
คุณสมบัติทางเคมี	
pH (1:1)	5.4
Organic matter (%)	0.25
Total N (%)	0.01
Available P (mg/kg)	4.3
Exchangeable K (meq/100 g)	0.23
Exchangeable Ca (meq/100 g)	0.67
Exchangeable Mg (meq/100 g)	0.18
Exchangeable SO_4^{2-} (mg/kg)	84.3
Exchangeable Al (meq/100 g)	Trace
Hot calcium chloride soluble B (mg B/kg)	0.06
Other trace elements (mg/kg)	
Zn (mg/kg)	0.49
Mn (mg/kg)	19.05
Fe (mg/kg)	0.99
Cu (mg/kg)	0.49
Cation exchangeable capacity (meq/100 g)	1.9
Lime requirement (kg $CaCO_3$ /ha)	563

3. การเตรียมปุ๋ยรองพื้นและปุ๋ยโปรอน

ซึ่งปุ๋ยรองพื้นชนิดต่างๆตามอัตราที่กำหนดในตารางที่ 1 และปุ๋ยโปรอนตามอัตราที่กำหนดในตารางที่ 2 โดยทำการชั่งสำหรับแต่ละแถวใน 1 แปลง แล้วนำมาผสมให้เข้ากันเป็นอย่างดี นำไปใส่โดยวิธีโรยรอบโคนต้น โดยแบ่งปุ๋ยที่ผสมกันแล้วออกเป็น 6 ส่วนเท่าๆกัน เพื่อใช้โรยรอบต้นของถั่วแต่ละต้น ทำการหุ้ครอบรอบโคนต้นเพื่อสำหรับโรยปุ๋ย ซึ่งหลังจากโรยปุ๋ยเสร็จแล้วทำการพรวนดินกลบให้เรียบร้อย

ปุ๋ยทุกชนิดรวมทั้งโปรอนแบ่งใส่ 2 ครั้ง ครั้งแรกใส่หลังปลูก 30 วัน ครั้งที่ 2 ใส่หลังปลูกประมาณ 150 วัน (ระยะก่อนพืชออกดอก) และก่อนใส่ปุ๋ยครั้งแรก 15 วัน ทำการใส่ปุ๋ยแถวอัตรา 50 กิโลกรัมต่อเอเคตาร์ โดยทำการหว่านให้ทั่วทั้งแปลงในทุกแปลงปลูก

ตารางที่ 3 อัตราปุ๋ยรองพื้นที่ใช้ในการทดลอง

ธาตุอาหาร	สารเคมี	อัตราที่ใส่	
		(กก. ของสารเคมี/ (กรัม/ต้น/ครั้ง) เอเคตาร์)	
P	monocalcium phosphate (24.42%P)	205	20.5
K	K ₂ SO ₄ (45%K, 18%S)	330	33.0
Ca	CaSO ₄ .2H ₂ O (17%S)	40	23.5
Mg	MgSO ₄ .7H ₂ O AR grade	60	6.0
Zn	ZnSO ₄ .7H ₂ O AR grade	14	1.4
Cu	CuSO ₄ .5H ₂ O AR grade	4	1.2
Co	CoSO ₄ .7H ₂ O AR grade	0.6	0.006
Mo	Na ₂ MoO ₄ AR grade	1.2	0.12



หอสมุดกลาง

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

วพ
3
รชช
ก.๒

25

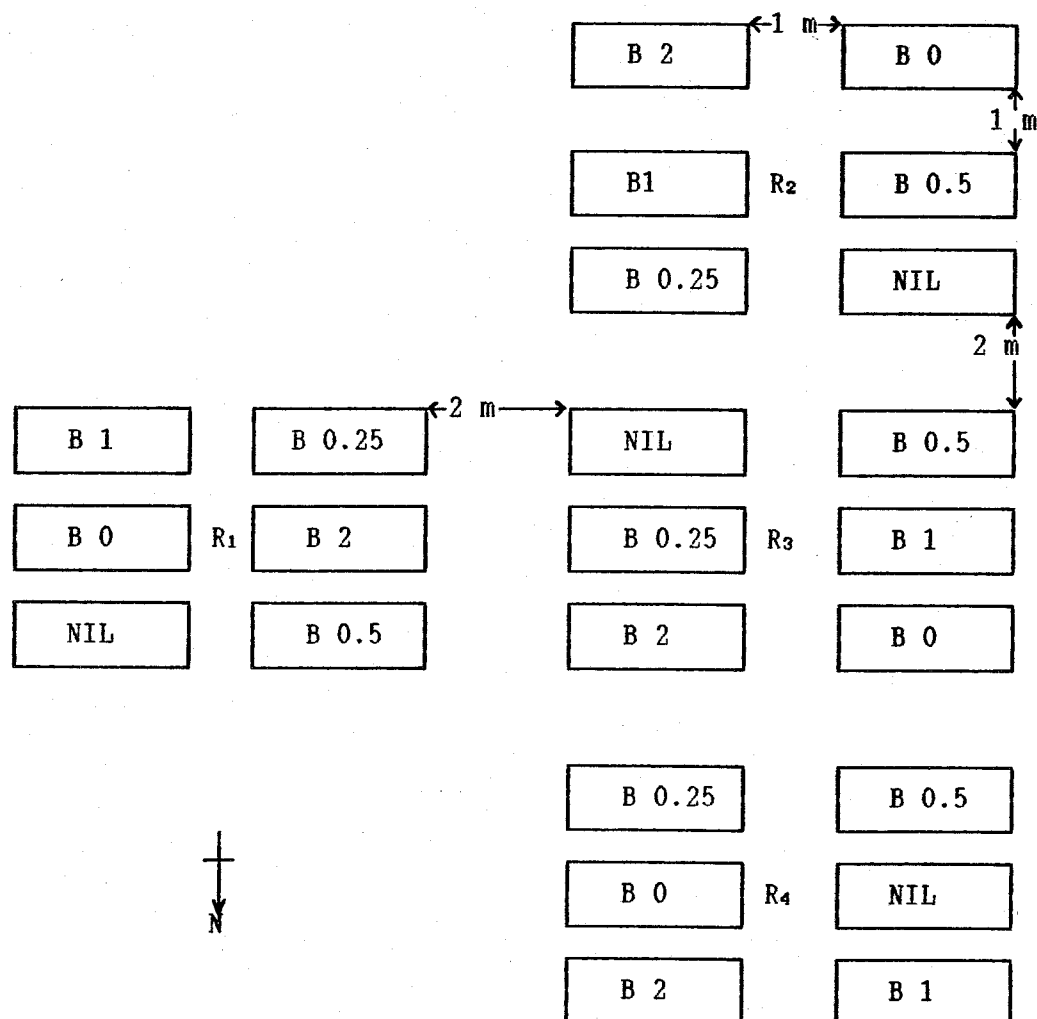
ตารางที่ 4 อัตราปุ๋ยโบรอนที่ใช้ในการทดลอง

ท. 53266

อัตราโบรอน (กก.B/เฮกตาร์)	ปริมาณกรดโบรค (กรัม/ต้น/ครั้ง)
0	0
0.25	0.14
0.5	0.29
1	0.57
2	1.14

4. การเตรียมแปลงทดลอง

ทำการไถพรวนทั้งหมด 2 ครั้ง และคราด 1 ครั้ง เพื่อปรับพื้นที่ให้เรียบ และเก็บเศษวัชพืชออกไปจากแปลง วัชพืชที่แบ่งเป็นแปลงย่อยขนาด 6x14 ตารางเมตร จำนวน 24 แปลงย่อย โดยแบ่งออกเป็น 4 แปลงใหญ่(block) แต่ละแปลงใหญ่ประกอบด้วย 6 แปลงย่อย ระหว่างแปลงใหญ่กันด้วยทางเดินขนาดกว้าง 2 เมตร ระหว่างแปลงย่อยทำทางเดินขนาดกว้าง 1 เมตร (ดังแสดงในรูปที่ 1) และแต่ละแปลงย่อยทำร่องน้ำขนาดกว้าง 50 เซนติเมตรล้อมรอบ



รูปที่ 1 แสดงแผนผังแปลงทดลอง

- โดย NIL = ไม่มีการใส่ปุ๋ยชนิดใดๆ
 B 0 = ใส่ปุ๋ยรองพื้นแต่ไม่มีโบรอน
 B 0.25 = ใส่ปุ๋ยรองพื้น + โบรอน 0.25 กก./เฮกตาร์
 B 0.5 = ใส่ปุ๋ยรองพื้น + โบรอน 0.5 กก./เฮกตาร์
 B 1 = ใส่ปุ๋ยรองพื้น + โบรอน 1 กก./เฮกตาร์
 B 2 = ใส่ปุ๋ยรองพื้น + โบรอน 2 กก./เฮกตาร์

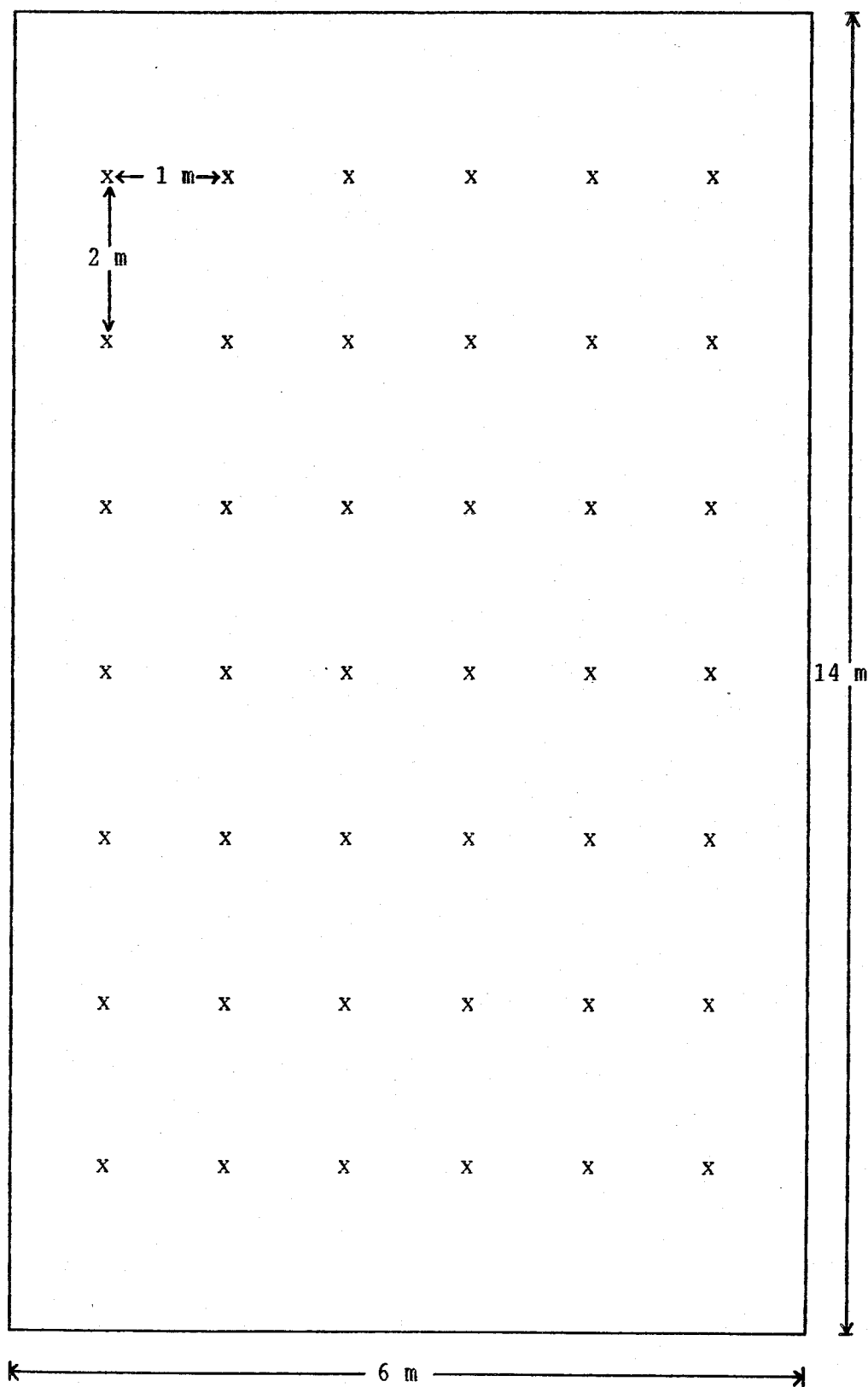
5. การปลูกและการดูแลรักษา

เมื่อเตรียมแปลงเรียบร้อยแล้ว นำเมล็ดถั่วคาโลโปโกเนียม ซีรูเลียม ที่จะใช้ปลูก ไปแช่ด้วยกระดาษทราย เพื่อให้เปลือกหุ้มเมล็ดบางลง แล้วนำไปคลุกกับเชื้อไรโซเบียม สำหรับถั่วลิสง ที่ผลิตโดยกรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ (เนื่องจาก ยังไม่มีเชื้อไรโซเบียมที่ผลิตสำหรับถั่วคาโลโปโกเนียม ซีรูเลียม โดยเฉพาะ)

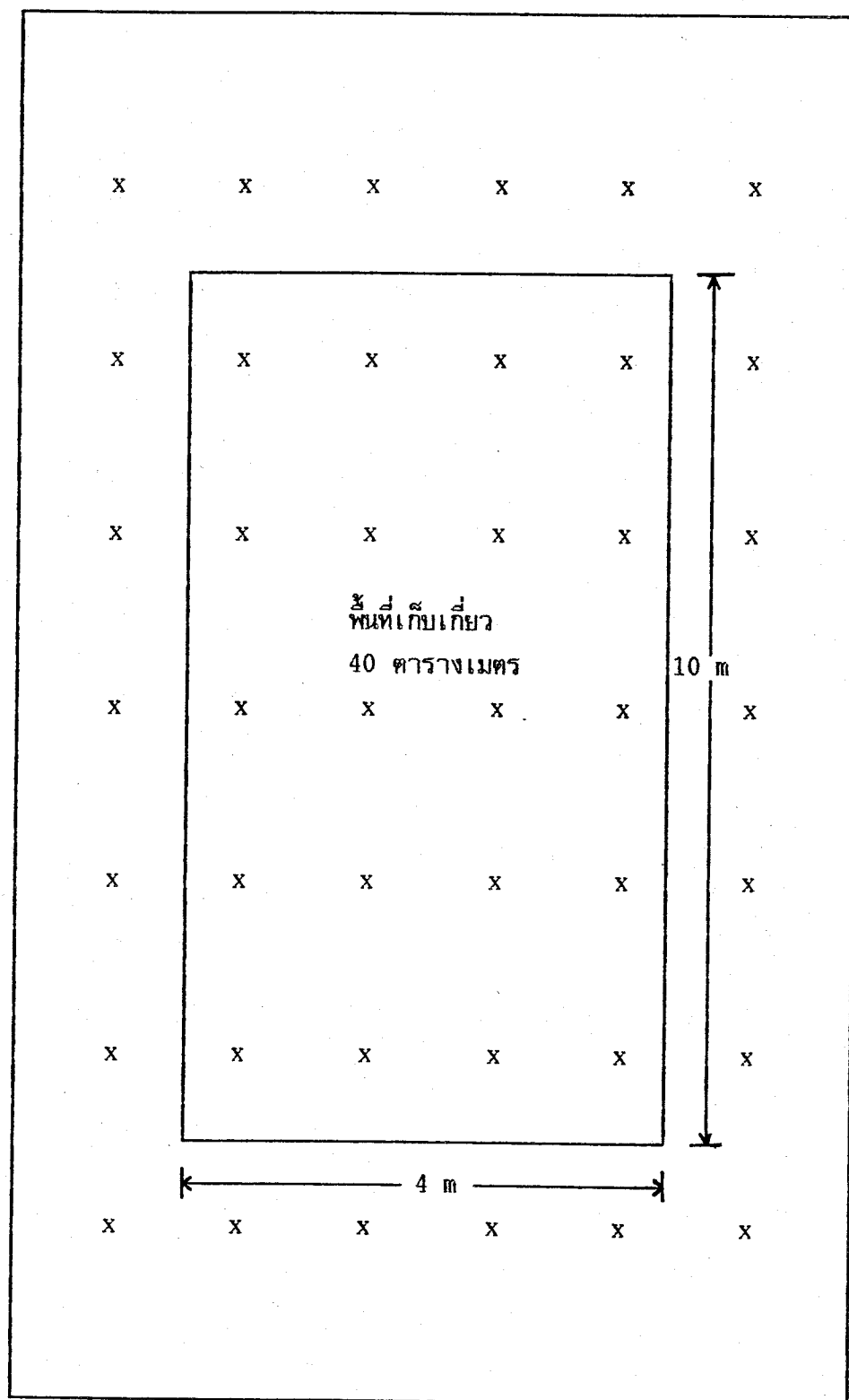
การปลูก ใช้ระยะปลูก 1x2 เมตร ดังรูปที่ 2 โดยทำเป็นหลุมลึกประมาณ 1 นิ้ว รองก้นหลุมด้วยปุ๋ยมูลสัตว์ 3 จี แล้วเอาดินกลบก่อนหยอดเมล็ด นำเมล็ดที่เตรียมไว้มาหยอด ลงในหลุมละ 3 เมล็ด แล้วเอาดินกลบ เสร็จแล้วฉีดสารเคมีควบคุมวัชพืชใบแคบ (แกลสโซ) เพื่อป้องกันไม่ให้วัชพืชพวกหญ้าขึ้นมา หลังจากเมล็ดงอกแล้วได้ทำการถอน แยกให้เหลือหลุมละ 1 ต้น (โดยใช้วิธีตัดต้นที่ไม่ต้องการออก เพื่อไม่ให้กระทบ กระเทือนต้นที่ต้องการเอาไว้) ส่วนหลุมที่ไม่งอกได้ทำการปลูกซ่อมภายใน 1 สัปดาห์ เมื่อ ต้นพืชงอกได้ยาวประมาณ 1 ฟุต ให้นำไม้ไผ่ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.5-2 เมตร ยาวประมาณ 2 เมตร มาปักทำค้ำให้ต้นถั่วเลื้อยขึ้น โดยแต่ละต้นใช้ไม้ไผ่ 2-3 ลำ ทำ ค้ำให้แต่ละต้นแยกออกจากกัน ในระยะแรกที่ต้นถั่วยังเล็กอยู่จำเป็นต้องใช้เชือกมัดต้นถั่ว ให้ติดกับค้ำ เพื่อป้องกันไม่ให้ถั่วเลื้อยไปบนดิน และทำการกำจัดวัชพืชทุก 15 วัน โดยใช้ แรงงานคน เป็นเวลาประมาณ 2 เดือน เมื่อต้นถั่วเลื้อยพันค้ำแล้วจึงทำการ กำจัดวัชพืชรอบโคนต้นเป็นครั้งคราว เพื่อไม่ให้รบกวนต้นถั่วที่ปลูก

6. การเก็บเกี่ยวและการเก็บข้อมูล

ทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตในพื้นที่ 40 ตารางเมตร (ดังรูปที่ 3) โดยทำการทยอย เก็บเมื่อมีฝัก ซึ่งสังเกตว่าฝักจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มหรือดำ เพราะถ้าทิ้งไว้ฝักจะแตก เมื่อแห้งจัด ทำการเก็บฝักแก่ครั้งแรกเมื่อวันที่ 25 กุมภาพันธ์ 2534 (ถั่วมีอายุได้ 266 วัน) และทยอยเก็บฝักครั้งสุดท้ายหมดเมื่อวันที่ 8 เมษายน 2534 จึงทำการตัดลำต้น ส่วนเหนือดินออก เพื่อนำมาหาค่าหนักแห้ง และวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนในห้องปฏิบัติการ ต่อไป ฝักแก่ที่ทำการเก็บเกี่ยวแล้วนำมาคั่วให้แห้ง แล้วนำมาหาข้อมูลเกี่ยวกับผลผลิต ดังนี้



รูปที่ 2 แสดงระยะปลูกและขนาดแปลงทดลอง



รูปที่ 3 แสดงพื้นที่เก็บเกี่ยวในแต่ละแปลง

- นำมาซึ่งหาน้ำหนักแห้งของฝักและเมล็ดต่อต้น
- นับจำนวนต้นทั้งหมดต่อแปลงทดลอง
- บันทึกจำนวนต้นที่ให้เมล็ดต่อแปลงทดลอง
- นับจำนวนฝักต่อต้นและจำนวนเมล็ดต่อฝัก
- นับจำนวนเมล็ดคี่และเมล็ดคู่ทั้งหมดในพันธุ์ปลูก (โดยเมล็ดคี่ คือ เมล็ดที่มีการเจริญไม่เต็มที่ เมล็ดจะมีขนาดเล็กและแบน และคาดว่าเป็นเมล็ดที่ไม่สามารถงอกได้) ซึ่งน้ำหนักของเมล็ดทั้งหมดที่นับจำนวนแล้วนำมาคำนวณหาน้ำหนัก 100 เมล็ด
- หาเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด โดยนำเมล็ดคี่ที่เก็บไว้นาน 6 เดือน ๗ อุณหภูมิห้อง จำนวน 200 เมล็ด มาซัดด้วยกระดาษทราย แล้วนำมาเพาะบนกระดาษเพาะเมล็ด (roll paper) หลังจากเพาะ 10 วันนำมานับจำนวนเมล็ดที่งอก
- ทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดโดยวิธีเร่งอายุ (Accelerated aging test for seed vigor, AA) โดยการนำเมล็ดไปอบที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 วัน 5 วัน และ 7 วัน แล้วนำมาเพาะหาเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ด
- วิเคราะห์หาโปรตอนในใบอ่อนที่คลี่เต็มที่ (youngest fully expanded leaf) ซึ่งทำการเก็บในระยะที่พืชออกดอก (180 วันนับจากวันปลูก) โดยนำมาอบที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วนำมาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตอน
- วิเคราะห์หาปริมาณโปรตอนในลำต้นและใบส่วนเหนือดินที่เก็บในระยะเก็บเกี่ยว (อายุ 308 วันหลังจากปลูก) โดยนำมาอบแห้งเช่นเดียวกับใบอ่อนที่คลี่เต็มที่

7. การวิเคราะห์โบรอนในดินและพืช

7.1 วิธีวิเคราะห์โบรอนในดิน

สกัดโบรอนในดินด้วยสารละลาย CaCl_2 ที่ร้อน ตามวิธีของ McGeehan และคณะ (1989) โดยการชั่งดินที่ตากแห้ง ณ อุณหภูมิห้อง 12.5 กรัม ใส่ถุงพลาสติกกรองขนาด 6x4 นิ้ว เติม CaCl_2 เข้มข้น 0.01 M ปริมาณ 25 มิลลิลิตรในถุงพลาสติก ผสมให้เข้ากันแล้วปิดปากถุงให้สนิท นำไปต้มในน้ำเดือดนาน 14 นาที (ประยูทธ, 2535) นำถุงดินขึ้นมาคงทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำไป centrifuge เป็นเวลา 5 นาที นำน้ำใส่ที่ได้ไปหาโบรอนโดยวิธี Azomethine-H คัดแปลงจาก John และคณะ (1975) โดยนำสารละลายที่ได้จำนวน 2 มิลลิลิตรใส่ลงในขวดพลาสติก เติมน้ำฟอสฟอรัส 4 มิลลิลิตร และ Azomethine-H 4 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ช่วงคลื่น 420 nm ค่าที่อ่านได้นำไปเปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโบรอนมาตรฐานความเข้มข้น 0-1.0 ไมโครกรัมโบรอนต่อมิลลิลิตร

7.2 วิธีวิเคราะห์โบรอนในพืช

ใช้วิธีเกี่ยวกับการทดลองของ John และคณะ (1975) ซึ่งตัวอย่างพืชที่บดละเอียดแล้ว 0.5 หรือ 1.00 กรัม ใส่ลงใน crucible เติม CaCO_3 0.1 กรัม ผสมให้เข้ากัน นำไปเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วละลายด้วยกรด HCl เข้มข้น 2 N จำนวน 10 มิลลิลิตร กรองสารละลายที่ได้ด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 42 แล้วเก็บไว้ในขวด poly-propylene นำใส่ที่ได้นำไปหาโบรอนโดยวิธี Azomethine-H โดยนำสารละลายที่เตรียมได้จำนวน 2 มิลลิลิตร เติมน้ำฟอสฟอรัสระหว่างน้ำฟอสฟอรัสกับ Azomethine-H ในอัตราส่วน 2:1 จำนวน 6 มิลลิลิตร ลงในขวดพลาสติก เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ช่วงคลื่น 420 nm ค่าที่อ่านได้นำไปเปรียบเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายโบรอนมาตรฐานเข้มข้น 0-1.25 ไมโครกรัมโบรอนต่อมิลลิลิตร

8. การวิเคราะห์ข้อมูล

เนื่องจากจำนวนต้นทั้งหมดต่อพื้นที่ในแต่ละแปลงไม่เท่ากัน จึงใช้การวิเคราะห์ข้อมูลแบบ Analysis of covariance เพื่อให้ทราบว่าจำนวนต้นมีผลต่อผลผลิตหรือไม่ แต่จากการวิเคราะห์พบว่า จำนวนต้นทั้งหมดไม่มีผลต่อน้ำหนักแห้งลำต้นและใบ และน้ำหนักผลผลิต (ตารางผนวกที่ 1, 2, 3) จึงทำการวิเคราะห์ข้อมูลแบบ analysis of variance ตามแบบ Randomized Complete Block Design เพื่อเปรียบเทียบอิทธิพลของอัตราไปรอนที่ใส่ต่อปริมาณและคุณภาพของผลผลิต และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test ในกรณีที่ค่าเฉลี่ยแต่ละตัวรับการทดลองมีความแปรปรวนไม่สามารถอธิบายได้เด่นชัด จึงใช้การเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธีการทำ orthogonal comparison ระหว่างการไม่ใส่ปุ๋ยกับการใส่ปุ๋ย และระหว่างการไม่ใส่ไปรอนกับการใส่ไปรอน โดยใช้โปรแกรม M-stat (Nissan et al., 1984)

ข้อมูลที่ทำกรวิเคราะห์มีดังต่อไปนี้ คือ น้ำหนักแห้งลำต้นและใบ น้ำหนักแห้งฝัก น้ำหนักแห้งเมล็ด จำนวนต้นทั้งหมดในพื้นที่ จำนวนต้นที่ให้ผลผลิต เปอร์เซ็นต์ต้นที่ให้ผลผลิต เปอร์เซ็นต์ความงอก ความแข็งแรงของเมล็ด ค่าดัชนีเก็บเกี่ยว เปอร์เซ็นต์กระเพาะเปลือก จำนวนฝักต่อต้น เปอร์เซ็นต์เมล็ดลีบ จำนวนเมล็ดต่อฝัก ความเข้มข้นของไปรอนในลำต้นและใบ ความเข้มข้นของไปรอนในใบอ่อนที่คลี่เต็มที่ ความเข้มข้นของไปรอนในเมล็ด ปริมาณไปรอนที่พืชดูดขึ้นมาในลำต้น ใบ และในเมล็ด

เนื่องจากต้นถั่วไม่ได้ให้ผลผลิตฝักและเมล็ดทุกต้น จำนวนต้นที่ให้ผลผลิตต่อพื้นที่ในแต่ละแปลงไม่เท่ากัน จึงได้ทำการวิเคราะห์ข้อมูลแบบ analysis of covariance เพื่อให้ทราบว่าจำนวนต้นที่ให้ผลผลิตมีผลต่อน้ำหนักของผลผลิตหรือไม่ จากการวิเคราะห์พบว่า จำนวนต้นที่ให้ผลผลิตมีผลต่อน้ำหนักของผลผลิต อย่างไรก็ตาม เนื่องจากความแตกต่างของจำนวนต้นที่ให้ผลผลิตเป็นอิทธิพลที่คาดว่าเกิดจากตัวรับทดลอง จึงมิได้ปรับข้อมูลเพื่อให้มีจำนวนต้นที่ให้ผลผลิตเท่ากัน