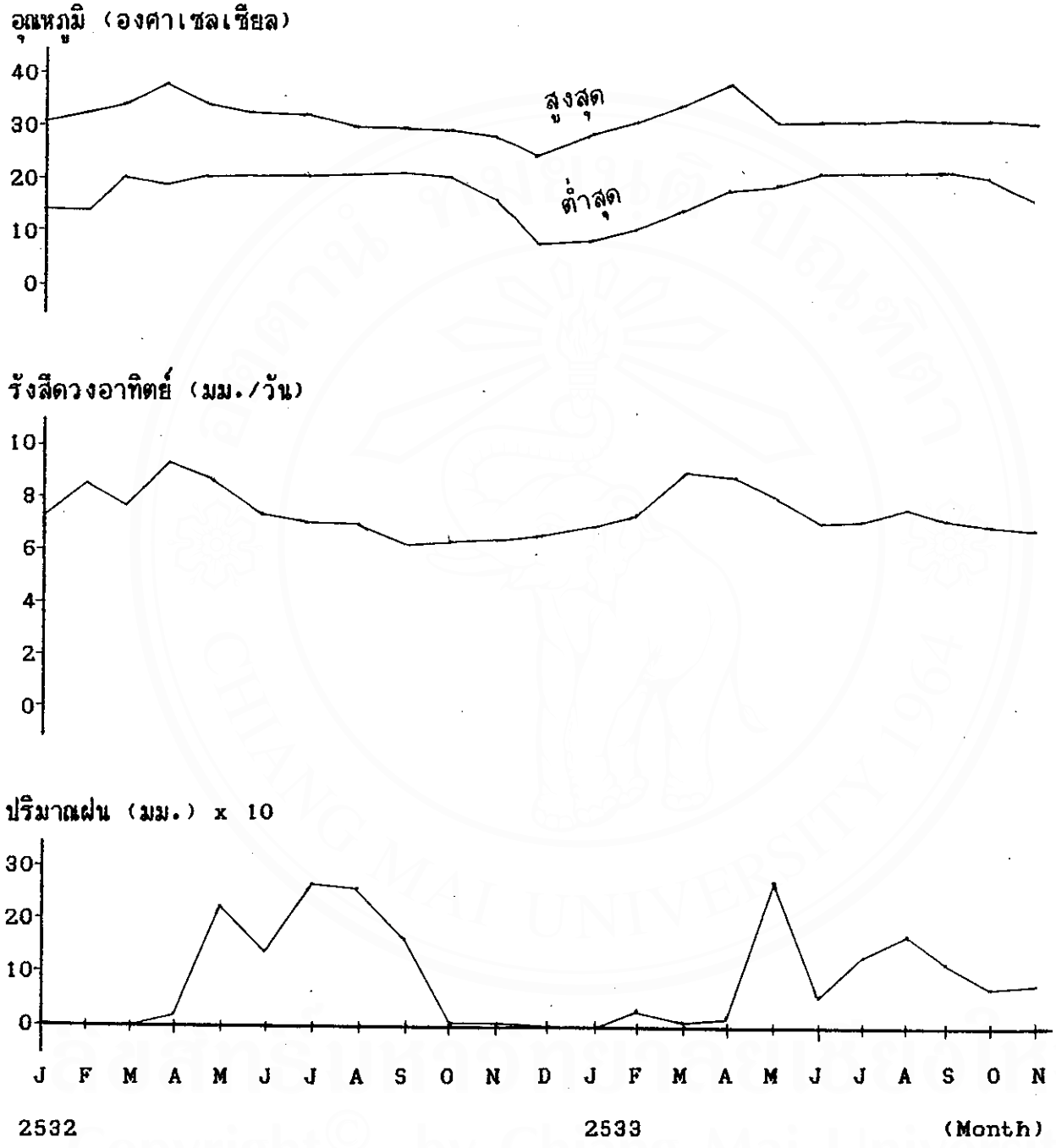
ภาคผนวก

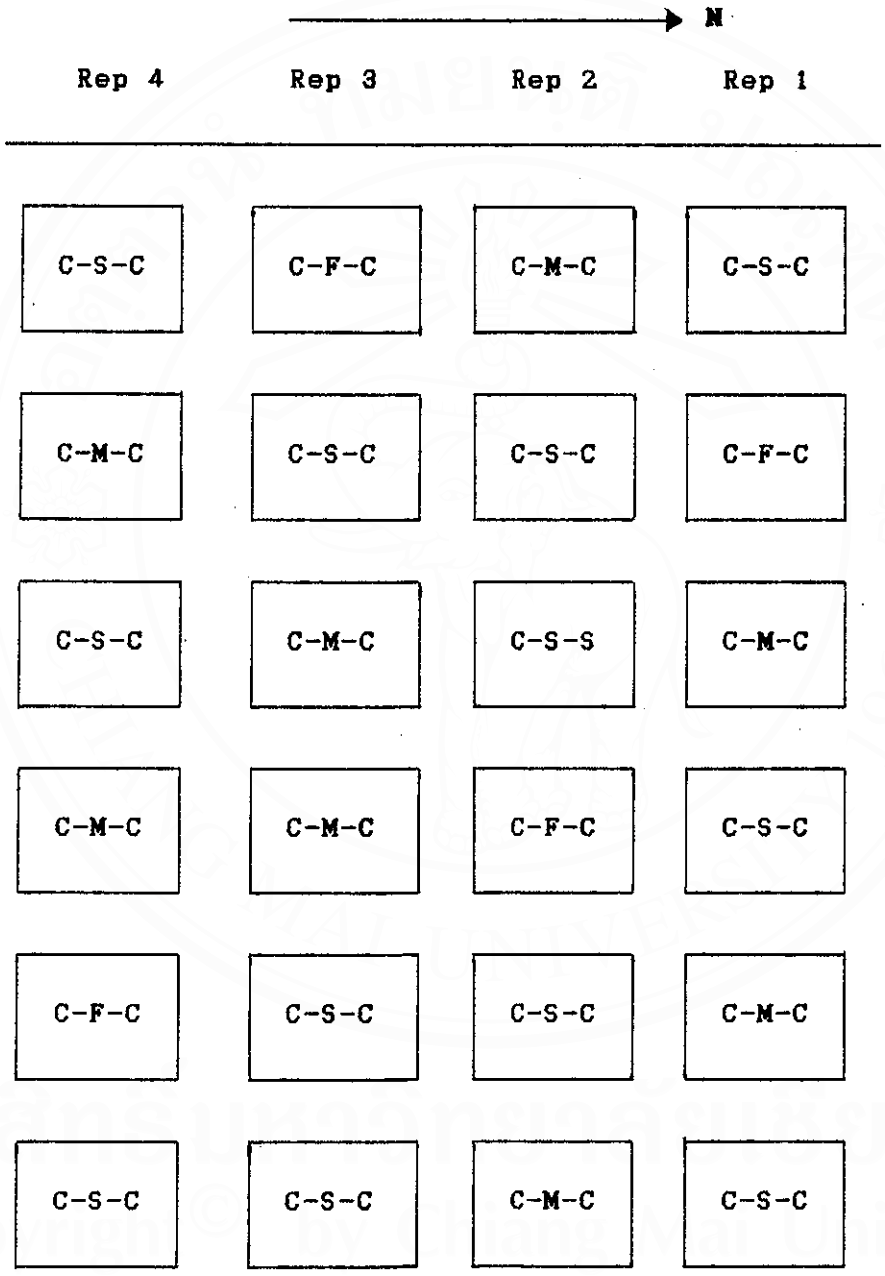
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพผนวกที่ 1 ข้อมูลอุตุนิยมวิทยา สถานีวิจัยและศูนย์ฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ อ.เมือง จ.เชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพผนวกที่ 2 แผนภาพการทดลอง



Note :

C : Corn S : Soybean M : Mungbean F : Fallow

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 1 น้ำหนักแห้งของต้น+ใบ และไนโตรเจนของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ. 5 ที่ปลูกปลายฤดูฝนตามหลังข้าวโพด

พันธุ์	ซ้ำ	อายุหลังงอก (วัน) 21	29	37	44	50	58	67
		น้ำหนักแห้งของต้น+ใบ (กก./เฮกแตร์)						
สจ. 5	1	167.9	184.4	515.2	539.1	839.9	1276.2	1400.4
	2	175.5	237.3	345.3	529.5	941.2	1379.2	1398.2
	3	168.0	219.6	384.2	1091.8	1353.5	1518.0	1263.9
	4	139.9	306.9	525.5	797.7	1027.2	1388.2	2316.6
	เฉลี่ย	162.8	237.1	442.6	739.5	1040.5	1390.4	1594.8
		ไนโตรเจน (%)						
	1	5.06	4.47	3.94	3.76	4.31	3.94	3.84
	2	4.40	3.79	3.71	3.95	3.40	3.80	3.57
	3	4.26	3.86	3.16	3.93	3.46	3.57	3.77
	4	4.44	3.74	3.80	4.02	4.53	3.74	4.03
	เฉลี่ย	4.54	3.97	3.65	3.92	3.93	3.76	3.80
		ไนโตรเจน (กก./เฮกแตร์)						
	1	8.50	8.24	20.30	20.27	36.20	50.28	53.78
	2	7.72	8.99	12.81	20.92	32.00	52.41	49.92
	3	7.16	8.48	12.14	42.91	46.83	54.19	47.65
	4	6.21	11.48	19.97	32.07	46.53	51.92	93.36
	เฉลี่ย	7.39	9.40	16.16	28.95	40.84	52.31	60.64

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 2 น้ำหนักแห้งราก และไนโตรเจนของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 ที่ปลูกปลายฤดูฝนตามหลังข้าวโพด

พันธุ์	ซ้ำ	อายุหลังงอก (วัน) 21	29	37	44	50	58	67
		น้ำหนักแห้งราก (กก./เฮกแตร์)						
สจ. 5	1	33.9	38.1	83.2	69.8	80.0	82.4	89.3
	2	42.3	43.5	55.3	65.6	72.5	91.9	89.8
	3	41.2	47.9	58.9	122.2	121.3	98.3	61.7
	4	39.8	60.6	82.9	97.1	84.1	95.7	114.5
	เฉลี่ย	39.3	47.5	70.1	88.7	89.5	92.1	88.8
		ไนโตรเจน (%)						
	1	-	2.00	1.75	1.93	2.34	1.70	1.14
	2	-	2.02	1.64	1.86	2.06	1.60	1.25
	3	-	2.05	1.75	1.97	1.68	1.52	1.12
	4	-	2.11	1.70	1.92	2.25	1.53	1.11
	เฉลี่ย	-	2.05	1.71	1.92	2.08	1.59	1.16
		ไนโตรเจน (กก./เฮกแตร์)						
	1	-	0.76	1.46	1.35	1.87	1.40	1.02
	2	-	0.88	0.91	1.22	1.49	1.47	1.12
	3	-	0.98	1.03	2.41	2.04	1.49	0.69
	4	-	1.28	1.41	1.86	1.89	1.46	1.27
	เฉลี่ย	-	0.97	1.20	1.70	1.86	1.46	1.03

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 3 น้ำหนักแห้งของต้น+ใบ และไนโตรเจนของถั่วเขียวผิวมัน พันธุ์ กพส.1 ที่ปลูกปลายฤดูฝนตามหลังข้าวโพด

พันธุ์	ซ้ำ	อายุหลังงอก (วัน) 16	26	31	38	45	52
		น้ำหนักแห้งของต้น+ใบ (กก./เฮกแตร์)					
กพส. 1	1	171.0	759.4	770.0	1263.7	2870.8	3698.2
	2	204.1	826.4	1354.9	2616.0	3727.5	4726.9
	3	252.7	936.8	820.6	1256.9	1816.3	3140.7
	4	154.6	798.7	893.8	1984.3	2758.6	3849.4
	เฉลี่ย	195.6	830.3	959.8	1780.2	2793.3	3853.8
		ไนโตรเจน (%)					
	1	4.80	3.13	3.83	3.50	3.90	3.48
	2	5.14	4.40	3.52	3.28	3.28	2.97
	3	3.91	3.34	3.67	3.29	3.17	3.03
	4	3.75	4.40	4.87	3.94	3.95	3.03
	เฉลี่ย	4.40	3.82	3.97	3.50	3.58	3.13
		ไนโตรเจน (กก./เฮกแตร์)					
	1	8.21	23.77	29.49	44.23	111.96	128.70
	2	10.49	36.36	47.69	85.80	122.26	140.39
	3	9.88	31.29	30.12	41.35	57.58	95.16
	4	5.80	35.14	43.53	78.18	108.96	116.64
	เฉลี่ย	8.61	31.70	38.13	62.35	99.86	120.53

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 4 น้ำหนักแห้งราก และไนโตรเจน ของถั่วเขียวผิวมันพันธุ์ กพส. 1 ที่ปลูกปลายฤดูฝนตามหลังข้าวโพด

พันธุ์	ซ้ำ	อายุหลังงอก (วัน) 16	26	31	38	45	52
		น้ำหนักแห้งราก (กก./เฮกแตร์)					
กพส. 1	1	-	93.9	128.6	140.7	176.4	159.9
	2	-	108.5	180.8	226.5	238.1	249.1
	3	-	120.5	137.3	151.5	150.7	137.2
	4	-	115.8	133.1	206.8	141.7	164.0
	เฉลี่ย	-	109.7	145.0	181.4	176.7	177.6
		ไนโตรเจน (%)					
	1	-	-	1.25	1.11	1.01	0.97
	2	-	-	1.38	1.08	1.00	0.77
	3	-	-	1.24	0.96	0.76	0.89
	4	-	-	1.52	1.21	1.18	0.81
	เฉลี่ย	-	-	1.35	1.09	0.99	0.86
		ไนโตรเจน (กก./เฮกแตร์)					
	1	-	-	1.61	1.56	1.78	1.55
	2	-	-	2.50	2.45	2.38	1.92
	3	-	-	1.70	1.45	1.15	1.22
	4	-	-	2.02	2.50	1.67	1.33
	เฉลี่ย	-	-	1.95	1.98	1.75	1.53

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 5 น้ำหนักแห้งของปม และปริมาณยูรีไอด์ของถั่วเหลืองพันธุ์ สจ. 5 ที่ปลูกปลายฤดูฝนตามหลังข้าวโพด

พันธุ์	ซ้ำ	อายุหลังงอก (วัน) 21	29	37	44	50	58
		น้ำหนักแห้งปม (ก./ตร.ม.)					
สจ. 5	1	0.41	0.89	3.36	2.68	3.67	3.12
	2	0.89	1.37	2.63	2.35	3.04	4.91
	3	1.01	1.35	2.70	4.07	5.11	4.18
	4	1.48	1.94	3.83	5.10	3.93	3.65
	เฉลี่ย	1.83	1.39	3.13	3.55	3.94	3.97
		ปริมาณยูรีไอด์ (%)					
	1	57.74	51.41	89.22	79.59	89.43	85.40
	2	58.27	73.91	92.81	89.73	93.02	88.00
	3	65.91	86.06	88.31	88.94	89.76	79.93
	4	87.22	88.66	91.36	87.34	87.90	88.45
	เฉลี่ย	71.92	83.32	90.70	86.92	90.92	86.56

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 6 น้ำหนักแห้งปม และปริมาณยูรีไอด์ ของถั่วเขียวผิวมันพันธุ์ กพส. 1 ที่ปลูกปลายฤดูฝนตามหลังข้าวโพด

พันธุ์	ซ้ำ	อายุหลังงอก (วัน) 16	26	31	38	45	52
		น้ำหนักแห้งปม (ก./ตร.ม.)					
กพส. 1	1	-	1.67	3.28	4.02	2.56	0.97
	2	-	2.67	2.70	2.62	1.14	1.57
	3	-	1.57	2.25	3.22	2.94	1.34
	4	-	1.39	2.64	3.40	4.64	2.64
	เฉลี่ย	-	1.83	2.72	3.32	2.82	1.63
		ปริมาณยูรีไอด์ (%)					
	1	79.38	83.85	71.35	73.94	85.98	85.10
	2	82.36	92.78	67.58	88.06	76.82	87.37
	3	29.27	84.03	68.78	84.93	87.10	81.15
	4	74.29	72.56	77.86	87.61	77.14	80.92
	เฉลี่ย	73.60	84.46	71.38	81.67	81.64	83.55

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 7 น้ำหนักแห้ง(กก./เฮกแตร์) ของส่วนเหนือดินของข้าวโพดพันธุ์ สุวรรณ 1 ที่ระยะออกดอก เมื่อปลูกที่ระบบการปลูกพืชต่าง ๆ 3 ระบบ และได้รับปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่แตกต่างกัน 3 ระดับ

ระดับ N (กก./เฮกแตร์)	ซ้ำ	ระบบการปลูกพืช		
		ข้าวโพดอย่างเดียว	ข้าวโพดตามถั่วเหลือง	ข้าวโพดตามถั่วเขียว
0	1	686.7	2721.1	4359.3
	2	1543.3	4054.7	3646.7
	3	3233.3	4277.0	7426.7
	4	1469.3	2337.0	6854.7
	เฉลี่ย	1733.1	3347.5	5571.9
50	1	2624.7	3682.0	4866.7
	2	2598.7	3238.3	6296.7
	3	4474.7	5090.3	6914.7
	4	2818.7	5797.3	3173.3
	เฉลี่ย	3129.2	4452.0	5312.9
100	1	4312.0	5085.3	4370.7
	2	3044.7	5234.0	6795.3
	3	6156.7	4271.0	8392.0
	4	4062.0	5751.7	5080.0
	เฉลี่ย	4393.9	5085.5	6159.5

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดิน ของข้าวโพดพันธุ์ สุวรรณ 1 ที่ระยะออกดอก เมื่อปลูกในระบบการปลูกพืชต่าง ๆ 3 ระบบ และได้รับปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่แตกต่างกัน 3 ระดับ

Source of variation	df	SS	MS	F
Replication	3	19437000	6479100	5.20*
C (cropping sys.)	2	40498000	20249000	16.24**
Error (a)	6	7479600	1246600	
D (level N)	2	16632000	8316200	7.29**
C x D	4	5232800	1308200	1.15ns
Error (b)	18	20538000	1141000	
Total	35			

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 9 เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนในส่วนเหนือดินของข้าวโพดพันธุ์ สุวรรณ 1 ที่ระยะออกดอก เมื่อปลูกที่ระบบการปลูกพืชต่าง ๆ 3 ระบบ และได้รับปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่แตกต่างกัน 3 ระดับ

ระดับ N (กก./เฮกแตร์)	ซ้ำ	ระบบการปลูกพืช		
		ข้าวโพดอย่างเดียว	ข้าวโพดตามถั่วเหลือง	ข้าวโพดตามถั่วเขียว
0	1	0.91	1.05	0.94
	2	0.93	0.88	1.17
	3	0.81	0.79	1.09
	4	1.19	0.99	1.13
	เฉลี่ย	0.96	0.93	1.08
50	1	0.81	0.88	0.81
	2	1.07	0.89	1.19
	3	0.60	1.04	1.00
	4	0.89	0.78	0.83
	เฉลี่ย	0.84	0.90	0.96
100	1	0.84	1.02	0.79
	2	0.79	1.15	0.66
	3	1.10	0.98	0.81
	4	0.76	0.97	0.93
	เฉลี่ย	0.87	1.03	0.80

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนของส่วนเหนือดินของข้าวโพดพันธุ์ สุวรรณ 1 ที่ระยะออกดอก เมื่อปลูกที่ระบบการปลูกพืชต่าง ๆ 3 ระบบ และได้รับปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่แตกต่างกัน 3 ระดับ

Source of variation	df	SS	MS	F
Replication	3	0.029386	0.0097954	1.18^{ns}
C (cropping sys.)	2	0.026272	0.013136	1.58^{ns}
Error (a)	6	0.049906	0.0083176	
D (level N)	2	0.065406	0.032703	1.33^{ns}
C x D	4	0.16629	0.041574	1.69^{ns}
Error (b)	18	0.44163	0.024535	
Total	35			

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 11 ไนโตรเจนทั้งหมด (กก./เฮกแตร์) ของส่วนเหนือดินของข้าวโพดพันธุ์ สุวรรณ 1 ที่ระยะออกดอก เมื่อปลูกที่ระบบการปลูกพืชต่าง ๆ กัน 3 ระบบ และได้รับปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่แตกต่างกัน 3 ระดับ

ระดับ N (กก./เฮกแตร์)	ซ้ำ	ระบบการปลูกพืช		
		ข้าวโพดอย่างเดียว	ข้าวโพดตามถั่วเหลือง	ข้าวโพดตามถั่วเขียว
0	1	6.25	25.58	45.77
	2	14.35	47.44	32.09
	3	26.19	46.62	58.67
	4	17.49	26.41	67.86
	เฉลี่ย	16.07	36.51	51.10
50	1	21.26	29.82	42.83
	2	27.81	38.54	56.04
	3	26.85	50.90	71.91
	4	25.09	48.12	24.75
	เฉลี่ย	25.25	41.85	48.88
100	1	36.22	40.17	44.58
	2	24.05	34.54	78.15
	3	67.72	34.60	82.24
	4	30.87	53.49	49.28
	เฉลี่ย	39.72	40.70	63.56

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน ของไนโตรเจนทั้งหมด (กก./เฮกแตร์) ในส่วนเหนือดินของข้าวโพด พันธุ์สุวรรณ 1 ที่ระยะออกดอก เมื่อปลูกที่ระบบการปลูกพืชต่าง ๆ 3 ระบบ และได้รับปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่แตกต่างกัน 3 ระดับ

Source of variation	df	SS	MS	F
Replication	3	1778.3	592.75	7.35*
C (cropping sys.)	2	4547.3	2273.70	28.20**
Error (a)	6	483.8	80.63	
D (level N)	2	1137.4	568.68	3.30ns
C x D	4	563.5	140.87	0.82ns
Error (b)	18	3100.5	172.25	
Total	35			

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 13 การสะสมน้ำหนักแห้ง (กก./เฮกแตร์) ของเมล็ดข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 1 ที่ปลูกตามหลังถั่วเหลืองและถั่วเขียว

ระดับ N (กก./เฮกแตร์)	ซ้ำ	ระบบการปลูกพืช		
		ข้าวโพดอย่างเดียว	ข้าวโพดตามถั่วเหลือง	ข้าวโพดตามถั่วเขียว
0	1	563.3	1985.7	2451.3
	2	1300.7	2208.0	3028.7
	3	1260.0	3006.7	3030.7
	4	1432.0	1354.0	3076.0
	เฉลี่ย	1139.0	2139.0	2897.0
50	1	530.0	1971.0	2615.3
	2	2172.0	2018.7	3038.0
	3	1658.7	2133.7	3036.7
	4	508.0	1829.3	3021.3
	เฉลี่ย	1217.0	1988.0	2928.0
100	1	654.0	2268.3	2008.0
	2	1763.3	2597.7	3048.0
	3	2574.7	2643.7	2733.3
	4	1215.3	2177.3	3040.0
	เฉลี่ย	1552.0	2422.0	2707.0

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักแห้งเมล็ดของข้าวโพดพันธุ์ สุวรรณ 1 เมื่อปลูกตามหลังถั่วเหลืองและถั่วเขียว

Source of variation	df	SS	MS	F
Replication	3	3516000	1172000	4.23^{ns}
C (cropping sys.)	2	14349000	7174600	25.91**
Error (a)	6	1661300	276890	
D (level N)	2	248190	124090	1.07^{ns}
C x D	4	638190	159550	1.37^{ns}
Error (b)	18	2093900	116330	
Total	35			

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 15 เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนในเมล็ดของข้าวโพดพันธุ์ สุวรรณ 1 ที่ปลูกตามหลังถั่วเหลืองและถั่วเขียว

ระดับ N (กก./เฮกแตร์)	ซ้ำ	ระบบการปลูกพืช		
		ข้าวโพดอย่างเดียว	ข้าวโพดตามถั่วเหลือง	ข้าวโพดตามถั่วเขียว
0	1	1.36	1.40	1.26
	2	1.35	1.35	1.21
	3	1.07	1.20	1.02
	4	1.17	1.44	1.36
	เฉลี่ย	1.24	1.35	1.22
50	1	1.17	1.19	1.23
	2	1.18	1.28	1.20
	3	1.20	1.30	1.07
	4	1.68	1.16	1.30
	เฉลี่ย	1.31	1.23	1.20
100	1	1.24	1.18	1.10
	2	1.19	1.32	1.06
	3	1.09	1.13	1.29
	4	1.38	1.37	1.29
	เฉลี่ย	1.23	1.25	1.19

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 16 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนในเมล็ดข้าวโพดพันธุ์ สุวรรณ 1 เมื่อปลูกตามหลังถั่วเหลืองและถั่วเขียว

Source of variation	df	SS	MS	F
Replication	3	0.17776	0.059255	9.32*
C (cropping sys.)	2	0.038850	0.019425	3.06ns
Error (a)	6	0.038128	0.0063546	
D (level N)	2	0.012717	0.0063583	0.39ns
C x D	4	0.035333	0.0088333	0.54ns
Error (b)	18	0.29288	0.016271	
Total	35			

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 17 ไนโตรเจนทั้งหมด (กก./เฮกแตร์) ในเมล็ดของข้าวโพดพันธุ์สุวรรณ 1 ที่ปลูกตามหลังถั่วเหลืองและถั่วเขียว

ระดับ N (กก./เฮกแตร์)	ซ้ำ	ระบบการปลูกพืช		
		ข้าวโพดอย่างเดียว	ข้าวโพดตามถั่วเหลือง	ข้าวโพดตามถั่วเขียว
0	1	7.66	27.80	30.89
	2	17.56	29.81	36.65
	3	13.48	36.08	30.91
	4	16.75	19.50	41.83
	เฉลี่ย	13.90	28.30	35.10
50	1	6.20	23.45	32.17
	2	25.63	25.84	36.46
	3	19.90	27.74	32.49
	4	8.53	21.22	39.28
	เฉลี่ย	15.10	24.60	35.10
100	1	8.11	26.77	22.09
	2	20.98	34.29	32.31
	3	28.06	29.87	35.26
	4	16.77	29.83	39.22
	เฉลี่ย	18.50	30.20	32.20

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางผนวกที่ 18 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของไนโตรเจนในเมล็ดทั้งหมด (กก./เฮกแตร์) ของข้าวโพดพันธุ์ สุวรรณ 1 เมื่อปลูกตามหลังถั่วเหลืองและถั่วเขียว

Source of variation	df	SS	MS	F
Replication	3	380.73	126.91	2.29^{ns}
C (cropping sys.)	2	2074.40	1037.20	18.75**
Error (a)	6	331.95	55.33	
D (level N)	2	25.62	12.81	0.81^{ns}
C x D	4	107.78	26.95	1.70^{ns}
Error (b)	18	284.65	15.81	
Total	35			

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การวิเคราะห์สารประกอบไนโตรเจนในน้ำหล่อเลี้ยงลำต้น และที่สะกัดจากเนื้อเยื่อ

(อ้างอิงจาก เบญจวรรณ และ คณะ (2532))

1. เครื่องมือ

สิ่งต่อไปนี้จำเป็นในการวิเคราะห์

-เครื่องชั่งที่ชั่งได้แม่นยำถึง 0.1 มก

-หลอดทดลอง (ขนาด 18 x 150 มม) พร้อมที่ตั้ง

-ไมโครปิเป็ตต์ พร้อมหัว (e.g. Gilson Pipetman, France)และ/หรือ dispensers (e.g. Wheaton Zippette, England) ที่มีขนาดต่อไปนี้

2-20 ไมโครลิตร

50-200 ไมโครลิตร

0.2-1 มล

1-5 มล

-Vortex mixer

-Boiling-water Bath

-อ่างน้ำแข็ง หรือ Refrigerated-water Bath

-Spectrophotometer หรือ Colorimeter

2. การวิเคราะห์ยูริไอด์

(References: Young and Conway 1942)

2.1 รีเอเจ้นต์

A. 0.5 M NaOH

NaOH (Analytical grade)	20 กรัม
น้ำกลั่น	1 ลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

B. Phenylhydrazine hydrochloride

Phenylhydrazine hydrochloride*	0.33 กรัม
น้ำกลั่น	100 มล

ต้องผสมใหม่ทุกวันที่จะใช้ เมื่อผสมแล้วต้องเก็บไว้ในขวดหุ้มด้วย tinfoil

* เก็บไว้รวมกับสารดูดความชื้นในตู้แช่แข็ง

C. 0.65 M HCl

กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (32% w/w)	6.5 มล
เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้	100 มล

D. Potassium ferricyanide

Potassium ferricyanide	0.833 กรัม
น้ำกลั่น	50 มล

ต้องผสมใหม่ทุกวันที่จะใช้ เมื่อผสมแล้วต้องเก็บไว้ในขวดหุ้มด้วย tinfoil

E.กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (32% w/w = 10 M)แช่เย็นไว้ที่ 0 °C

F. มาตรฐานอะลันโทอิน (Allantoin standards)

เตรียมใหม่สำหรับวันที่จะใช้ 1 ไมโครโมล/มล allantoin stock โดยผสม

Allantoin (เก็บไว้กับสารดูดความชื้น)	15.8 มก
น้ำกลั่น	100 มล

ทำ allantoin stock ให้เจือจางดังต่อไปนี้

1 มล ใน 100 มล ด้วยน้ำกลั่น (10 nmole/ml), ใช้ 2.5 มล = 25 nmole

2 มล ใน 100 มล ด้วยน้ำกลั่น (20 nmole/ml), ใช้ 2.5 มล = 50 nmole

3 มล ใน 100 มล ด้วยน้ำกลั่น (30 nmole/ml), ใช้ 2.5 มล = 75 nmole

5 มล ใน 100 มล ด้วยน้ำกลั่น (50 nmole/ml),ใช้ 2.5 มล = 125 nmole

10 มล ใน 100 มล ด้วยน้ำกลั่น(100 nmole/ml),ใช้ 2.5 มล = 250 nmole

หมายเหตุ ใช้น้ำกลั่น 2.5 มล เป็น Blank ร่วมไปกับ standard เสมอ ก่อนจะดำเนินไปถึงการวิเคราะห์ยูริไอด์ ควรจะได้ลองวิเคราะห์ standard ดู 1 ชุด ตั้งแต่ 0-250 nmole เพื่อยืนยันลักษณะการตอบสนองว่าเป็นเส้นตรงจริง

2.2 วิธีการ

เนื่องจากสีที่เกิดขึ้นไม่มีความคงที่ (ดูตอนต่อไป) จึงควรวิเคราะห์ยูริไอด์ทีละ 20-30 ตัวอย่างเท่านั้น ซึ่งรวมทั้ง water blanks 2 และอย่างน้อย 3 ureide standards (e.g. 10, 20 and 50 nmole/ml)

(ก) นำตัวอย่างน้ำหล่อเลี้ยงลำต้นที่สะกัดได้ 0.2 มล หรือ 0.05-0.1 มล ตัวอย่างที่ได้จากดูดจากต้นหรือที่ซึมออกมาจากตอถั่วใส่ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นให้ครบ 2.5 มล สำหรับ blanks ใช้น้ำกลั่น 2.5 มล และ standard ใช้ 2.5 มล ของสารละลายที่ได้เจือจางไว้

(ข) เติมโซเดียมไฮดร็อกไซด์ที่มีความเข้มข้น 0.5 M ลงไป 0.5 มล

(ค) เขย่าเพื่อผสมให้เข้ากัน แล้วนำหลอดทดลองลงไปต้มในอ่างน้ำเดือดเป็นเวลา 10-15 นาที

(ง) ยกหลอดทดลองออกจากอ่างน้ำเดือดแล้วทิ้งไว้ให้เย็น แล้วเติมกรดไฮโดรคลอลิก (HCL) ความเข้มข้น 0.65 M ลงไปหลอดละ 0.5 มล ตามด้วย phenylhydrazine ที่เตรียมไว้ 0.5 มล

(จ) ผสมให้ทั่วกันแล้วนำไปต้มใน boiling-water baht อีก 2-4 นาที

(ฉ) ยกออกจากน้ำร้อนแล้วจุ่มลงในอ่างน้ำเย็นจัด (ice-water baht) ทิ้งไว้ 15 นาที ในขั้นตอนนี้การเย็นลงทันทีของสารละลายในหลอดทดลองมีความจำเป็นมากต่อการทำให้เกิดสีที่จะเป็นเครื่องบ่งความเข้มข้นของยูริไอด์ ดังนั้นอาจจำเป็นต้องใช้เกลือผสมกับน้ำแข็งเพื่อให้เย็นจัดมากขึ้น

(ช) เอาออกจากอ่างน้ำแข็ง เติม กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นที่แช่เย็นไว้ 2 มล และ potassium ferricyanide 0.5 มล

(ซ)ผสมให้เข้ากันทันทีที่เติม potassium ferriccyanide ทุกครั้ง

(ฐ) ทิ้งไว้ที่อุณภูมิห้อง 10 นาทีแล้วนำไปอ่านความเข้มแสง (Optical Density หรือ Absrobance) ด้วย spectrophotometer ที่ 525 nm

สีที่ใช้อ่านนี้ไม่อยู่ตัว ถ้าปล่อยไว้นาน 1 ชั่วโมงสีจะจางไป 10-15% ดังนั้นจึงควรที่จะทำตัวอย่างทั้งหมด รวมทั้ง blanks และ standards ด้วยที่จะสามารถอ่านเสร็จได้ในเวลาประมาณ 20 นาที

(ณ) สร้างเส้นแสดงความสัมพันธ์ (Standard curve) ระหว่างความเข้มข้นของ allantoin standard และค่าที่อ่านได้ (250 mole standard ควรจะอ่านค่า optical density ได้ 1.0-1.4) จาก standard curve และการใช้ correction factor (ต.ย. ถ้าใช้ตัวอย่าง 0.05 มล correction factor เป็น 2.5/0.05 = x 50) จะสามารถอ่านความเข้มข้นของยูริไอด์ในตัวอย่างได้เป็น nmole/ml

3. วิธีวิเคราะห์กรดอะมิโนโดยวิธีนินไฮดริน

[Reference: Yemm and Cocking (1955). วิธีการที่นำเสนอต่อไปนี้ได้บรรยายไว้โดยละเอียดโดย Herridge (1984)]

3.1 รีเอเจนต์

A. 0.2 M Citrate buffer

กรดซิตริก	21 กรัม
NaOH (Analytical grade)	8 กรัม
น้ำกลั่น	500 มล

ปรับ pH ให้ได้ 5.0

B. นินไฮดริน รีเอเจนต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

0.01 M potassium cyanide 10 มล
(65 มก ในน้ำกลั่น 100 มล เก็บไว้ได้ 3 เดือนที่ 20 °C
อย่าดูดด้วยปาก)
Methoxy-ethanol (Analytical grade) 590 มล
นินไฮดริน (Ninhydrin) 5 กรัม

ควรเตรียมนินไฮดรินรีเอเจนต์อย่างน้อย 24 ชั่วโมงก่อนใช้ รีเอเจนต์นี้ทำปฏิกริยาต่อแสงไวมาก ควรเก็บในที่มืดในขวดแก้วสีน้ำตาล สามารถเก็บไว้ได้ประมาณ 2 สัปดาห์ที่อุณหภูมิห้อง ถ้าเก็บที่ 4 °C จะเก็บไว้ได้นานขึ้น

C. มาตรฐานกรดอะมิโน (Amino acid standards)

เตรียมใหม่ทุกวันที่ใช้สารละลายอัสปาระจีนผสมกลูตามีน(asparagine: glutamine) ในอัตราส่วน 50:50 ความเข้มข้น 2.5 ไมโครโมล/มล โดยใช้

Asparagine (เก็บไว้กับสารดูดความชื้น) 16.5 มก
Glutamine (เก็บไว้กับสารดูดความชื้น) 18.2 มก
น้ำกลั่น 100 มล

นำมาละลายให้เจือจางดังต่อไปนี้

0.1 มล ใน 10 มล ด้วยน้ำกลั่น(25 nmole/ml),ใช้ 0.5 มล = 12.5 nmole
0.2 มล ใน 10 มล ด้วยน้ำกลั่น (50 nmole/ml), ใช้ 0.5 มล = 25 nmole
0.4 มล ใน 10 มล ด้วยน้ำกลั่น(100 nmole/ml), ใช้ 0.5 มล = 50 nmole
1.0 มล ใน 10 มล ด้วยน้ำกลั่น(250 nmole/ml),ใช้ 0.5 มล = 125 nmole
2.0 มล ใน 10 มล ด้วยน้ำกลั่น(500 nmole/ml),ใช้ 0.5 มล = 250 nmole

<u>หมายเหตุ</u> ใช้น้ำกลั่น 0.5 มล เป็น Blank ร่วมไปกับ standard เสมอ

3.2 วิธีการ

(ก) ใส่ตัวอย่าง 0.5 มล (น้ำหล่อเลี้ยงลำต้น 20-50 ไมโครลิตร ผสมน้ำกลั่น 450-180 ไมโครลิตร)ลงในหลอดทดลอง สำหรับ Standard curve ใช้สารละลายมาตรฐานกรดอะมิโนอย่างละ 0.5 มล ส่วน blank (2 ซ้ำ) ใช้น้ำกลั่น 0.5 มล

(ข) เติม citrate buffer (pH 5) ความเข้มข้น 0.2 M 1.0 มล

(ค) เติมนินไฮดรินรีเอเจ้นต์ 1.2 มล

(ง) ผสมให้เข้ากันแล้วนำหลอดไปตั้งในอ่างน้ำเดือด (Boiling-water bath) ประมาณ 10-15 นาที

(จ) ยกออกจากอ่างน้ำเดือดปล่อยให้เย็นตามอุณหภูมิห้อง

(ฉ) อ่าน optical dentity (absorbance ด้วย spectrophotometer ที่ 570 nm

(ช) สร้าง standard curve แล้วอ่านค่าความเข้มข้นกรดอะมิโนในหลอดทดลองจาก standard curve (standard 250 nmole ควรจะอ่าน optical density ได้ประมาณ 1.2) ใช้ correction factor (ต.ย. ถ้าใช้ตัวอย่าง 50 ไมโครลิตร หรือ 0.05 มล correction factor คือ 1.0/0.05 = x 20) เปลี่ยนเป็นความเข้มข้น nmole/ml ในตัวอย่างที่เก็บมาจากพืช

4. วิธีวิเคราะห์ไนเตรทโดยวิธีกรดซาลิไซลิก

(Reference : Cataldo et al.(1975))

4.1 รีเอเจ้นต์

A. กรดซาลิไซลิก (Salicylic acid) (5% w/v)

กรดซาลิไซลิก	5 กรัม
กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (conc H_2SO_4)	100 กรัม

รีเอเจ้นต์ตัวนี้ควรเตรียมล่วงหน้าไว้หลาย ๆ วันก่อนใช้ เมื่อเตรียมแล้วสามารถเก็บไว้ได้หลายสัปดาห์

B. โซเดียมไฮดร็อกไซด์ 2 M (2 M NaOH)

NaOH (Analytical grade)	40 กรัม
น้ำกลั่น	500 มล

Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

C. มาตรฐานไนเตรต (Nitrate standard)

เตรียมสารละลายโปแตสเซียมไนเตรท (KNO_3) เข้มข้น 25 ไมโครโมล/มล

KNO_3	0.253 กรัม
น้ำกลั่น	100 มล

(ถ้าไม่มี KNO_3 ใช้ $Ca(NO_3)_2$ แทนได้)

ละลายให้เจือจางดังต่อไปนี้

1 มล ใน 10 มล ด้วยน้ำกลั่น(2.5 nmole/ml)ใช้ 0.05 มล = 0.125 micro mole

2 มล ใน 10 มล ด้วยน้ำกลั่น(5 nmole/ml) ใช้ 0.05 มล = 0.25 micro mole

4 มล ใน 10 มล ด้วยน้ำกลั่น (10 nmole/ml) ใช้ 0.05 มล = 0.5 micro mole

6 มล ใน 10 มล ด้วยน้ำกลั่น (15 nmole/ml) ใช้ 0.05 มล = 0.75 micro mole

8 มล ใน 10 มล ด้วยน้ำกลั่น (20 nmole/ml)ใช้ 0.05 มล = 1 micromole

หมายเหตุ แทรก blanks (น้ำกลั่น 0.05 มล) ใน standard ด้วยทุกครั้งที่วิเคราะห์

4.2 วิธีการ

(ก) เอาตัวอย่าง 0.05 มล ใส่ลงในหลอดทดลอง (มาตรฐานไนเตรทที่เตรียมไว้ใช้อย่างละ 0.05 มล พร้อมทั้งน้ำกลั่น 0.05 มล 2 ซ้ำเป็น blanks

(ข) เติมสารละลายซาลิไซลิก (5%) ผสมให้เข้ากัน

(ค) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 20 นาที แล้วเติม 2 M NaOH 4.75 มล (เพื่อเพิ่ม pH > 12)

(ง) ปล่อยให้เย็นตามอุณหภูมิห้อง อ่าน optical density

Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

(absorbance) ที่ 410 nm

(จ) สร้าง standard curve (1 ไมโครโมล standard ไนเตรท ควรอ่าน optical density ได้ประมาณ 1.2) อ่านค่าความเข้มข้นไนเตรทในหลอดทดลองจาก standard curve

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาววีณา กลิบอุบล

วัน เดือน ปี เกิด 30 พฤศจิกายน 2509

ประวัติการศึกษา

สำเร็จชั้นมัธยมศึกษาตอนปลาย สายวิทยาศาสตร์ จาก โรงเรียนจันทร์หุ่นบำเพ็ญ จังหวัดกรุงเทพมหานคร ปีการศึกษา 2527

สำเร็จปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2531

สำเร็จปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สาขาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ปีการศึกษา 2534

ประสบการณ์การทำงาน

ปี พ.ศ. 2531-2534 ทำงานเป็นผู้ช่วยนักวิจัยของ รศ. เฉลิมพล แซมเพชร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved