

### บทที่ 3

#### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ทดลองที่ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร และภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ระหว่างเดือนตุลาคม พ.ศ. 2544 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ.2547 การศึกษาประกอบด้วย 4 การทดลอง ซึ่งมีรายละเอียดดังนี้

การทดลองที่ 1 ศึกษาอิทธิพลของระดับโบรอนต่อการสร้างผลผลิตและความเข้มข้นโบรอนในเมล็ด

ใช้ถั่ว 4 พันธุ์ คือ ถั่วพุ่ม 2 สายพันธุ์ จากภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยเรียกชื่อพันธุ์เป็น ถั่วพุ่ม 1 และถั่วพุ่ม 2 ถั่วฝักยาว 2 สายพันธุ์ จากภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เรียกชื่อพันธุ์ว่า ถั่วฝักยาวไร่ค่าง และจากบริษัทเจียใต้ จำกัด เรียกชื่อพันธุ์ว่า ถั่วฝักยาวขึ้นค่าง

ทดลองในกระถางดินเผาเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 ซม. ลึก 30 ซม. โดยรองกระถางด้วยถุงพลาสติกเจาะรูและบรรจุทรายแม่น้ำที่ล้างโดยน้ำกรอง ก่อนทดลองได้ทดสอบระดับโบรอนในทรายโดยปลูกถั่วเขียวฝักดำพันธุ์ Regur ลงในแต่ละกระถาง หากถั่วเขียวพันธุ์ Regur แสดงอาการขาดโบรอนโดยชะงักการเจริญเติบโตหลังจากใบจริงคู่แรกคลี่กางเต็มที่แสดงว่าระดับโบรอนต่ำพอจะใช้ทดลองได้ (อยุธย์ 2545) จัดสิ่งทดลองแบบ Factorial 2 ปัจจัย ในแผนการทดลองแบบ Complete Randomize Design (CRD) จำนวน 4 ซ้ำ ปัจจัยแรกคือระดับโบรอนประกอบด้วย ระดับโบรอนในสารละลาย 1  $\mu\text{MB}$  (B1) และ 10  $\mu\text{MB}$  (B10) โดยเตรียมเป็นสารละลายธาตุอาหารพืชตัดแปลงจาก Broughton and Dilworth (1971) มีธาตุอาหารที่จำเป็นประกอบด้วย  $\text{CaCl}_2$  1000  $\mu\text{M}$ ,  $\text{MgSO}_4$  250  $\mu\text{M}$ ,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  500  $\mu\text{M}$ ,  $\text{FeEDTA}$  10  $\mu\text{M}$ ,  $\text{K}_2\text{SO}_4$  250  $\mu\text{M}$ ,  $\text{MnSO}_4$  1 $\mu\text{M}$ ,  $\text{ZnSO}_4$  0.5  $\mu\text{M}$ ,  $\text{CuSO}_4$  0.2  $\mu\text{M}$ ,  $\text{CoSO}_4$  0.4  $\mu\text{M}$  และ  $\text{NaMoO}_4$  0.1  $\mu\text{M}$  ยกเว้นโบรอน (BO) ปัจจัยที่สองคือถั่ว 2 ชนิดประกอบด้วยถั่วพุ่มและถั่วฝักยาว โดยใช้ถั่วพุ่ม 2 พันธุ์ (ถั่วพุ่ม1, ถั่วพุ่ม2) และถั่วฝักยาว 2 พันธุ์ (พันธุ์ไร่ค่าง, พันธุ์ขึ้นค่าง) ก่อนปลูกนำเมล็ดถั่วแต่ละพันธุ์มาคลุกเชื้อไรโซเบียมสำหรับถั่วเขียว จากกองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร ปลูก 10 เมล็ดต่อกระถาง เมื่อถั่วแต่ละพันธุ์เริ่มงอกรดด้วยสารละลายธาตุอาหาร เมื่อต้นถั่วอายุ 14 วันหลังออกจึงถอนแยกให้เหลือกระถางละ 5 ต้น เก็บตัวอย่างเมื่อฝักแก่และบันทึกข้อมูล ดังนี้

- บันทึกลักษณะอาการขาดโบรอนที่เห็นด้วยตา ได้แก่ ลักษณะลำต้น ใบ และดอก

- เก็บตัวอย่างที่ระยะสุกแก่ โดยเก็บฝักที่เริ่มแก่ ซึ่งสังเกตได้จากฝักจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ แล้วบันทึกข้อมูล จำนวนฝักต่อกระถาง จำนวนเมล็ดต่อกระถาง น้ำหนัก 100 เมล็ด (กรัม) ผลผลิตเมล็ด (กรัมต่อกระถาง) และวิเคราะห์ความเข้มข้นโบรอนในเมล็ด โดยใช้วิธี Azomethine-H (Lohse, 1982)

### การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของระดับโบรอนต่อการงอกของเมล็ด

ปลูกเมล็ดถั่วในตะกร้าพลาสติกขนาด กว้าง 30 ซม. ยาว 40 ซม. ลึก 12 ซม. รองก้นตะกร้าด้วยถุงพลาสติกเจาะรูบรรจุด้วยทรายแม่น้ำที่ล้างแล้วก่อนปลูก จัดการทดลองแบบ Factorial 3 ปัจจัยจำนวน 2 ซ้ำ ปัจจัยแรก คือ ระดับโบรอน 2 ระดับ คือ ไม่ใส่โบรอนในสารละลาย (B0) และใส่โบรอนในสารละลาย 10  $\mu$ M (B10) ปัจจัยที่สองคือที่มาของเมล็ด 2 แหล่ง โดยได้มาจากการทดลองที่ 1 ประกอบด้วย เมล็ดที่เก็บจากกรรมวิธีที่ให้โบรอน 1  $\mu$ M (SB1) และเมล็ดที่เก็บมาจากการกรรมวิธีที่ให้โบรอน 10  $\mu$ M (SB10) ปัจจัยที่สามคือสายพันธุ์ถั่วพุ่ม 2 พันธุ์ (ถั่วพุ่ม 1, ถั่วพุ่ม 2) และ ถั่วฝักยาว 2 พันธุ์ (พันธุ์ไร่ค้าง, พันธุ์ขึ้นค้าง) หนึ่งตะกร้ามี 4 หน่วยการทดลอง หนึ่งหน่วยการทดลองมี 4 แถว แถวละ 5 หลุม ปลูกหลุมละ 1 เมล็ด หลังปลูกรดด้วยสารละลายที่มีธาตุอาหารจำเป็นครบตามสูตรของ Broughton and Dilworth (1971) เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 ที่ไม่ใส่โบรอน (B0) และใส่โบรอนในสารละลาย 10  $\mu$ M (B10) บันทึกข้อมูลเมื่อต้นถั่วอายุได้ 14 วัน บันทึกเปอร์เซ็นต์ความงอก และเปอร์เซ็นต์การเกิดต้นอ่อนผิดปกติ

### การทดลองที่ 3 ศึกษาอิทธิพลของระดับโบรอนในการสร้างผลผลิตของถั่วพุ่ม

ใช้กระถางดินเผาเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 ซม. ลึก 30 ซม. โดยรองก้นกระถางด้วยถุงพลาสติกเจาะรู บรรจุด้วยทรายแม่น้ำที่ล้าง โดยน้ำกรอง จัดตั้งทดลองแบบ Factorial 2 ปัจจัย ปัจจัยแรกคือพันธุ์ถั่วพุ่ม 2 พันธุ์ (ถั่วพุ่ม 1, ถั่วพุ่ม 2) ก่อนปลูกคลุกเมล็ดด้วยเชื้อไรโซเบียมปลูกถั่วกระถางละ 5 หลุม หลุมละ 2 เมล็ด หลังจากนั้น 7 วันถอนแยกให้เหลือหลุมละ 1 ต้น ปัจจัยที่สองคือโบรอนที่ให้ในสารละลายที่มีธาตุอาหารพืชครบตัดแปลงจาก Broughton and Dilworth (1971) เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 ที่มีโบรอน 1  $\mu$ M รดสารละลายให้ต้นถั่วครั้งละ 1 ลิตร 2 ครั้ง เข้า-เย็น ตั้งแต่เริ่มปลูกจนถึงเริ่มสร้างดอก แล้วรดด้วยน้ำกรอง เป็นเวลา 1 วัน เพื่อล้างโบรอนที่อาจตกค้างในทรายที่ปลูก แล้วจึงแบ่งการใส่โบรอนในสารละลายธาตุอาหารเป็น 5 ระดับประกอบด้วย ไม่ใส่โบรอน (B0), ใส่โบรอน 0.05, 0.1, 0.5 และ 1  $\mu$ M แล้วรดสารละลายให้ต้นถั่วครั้งละ 1 ลิตร 2 ครั้ง เข้า-เย็น เก็บตัวอย่างและการบันทึกข้อมูล ดังนี้

- บันทึกลักษณะอาการขาดโบรอนที่เห็นด้วยตา เช่น ลักษณะลำต้น ใบ และดอก

- บันทึกข้อมูลผลผลิตเมล็ด โดยชั่งน้ำหนักเมล็ด (กรัม/กระถาง)

#### การทดลองที่ 4 ศึกษาประสิทธิภาพการดูดใช้ธาตุอาหาร โบรอน

ใช้กระถางดินเผาเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 ซม. ลึก 30 ซม. โดยรองก้นกระถางด้วยถุงพลาสติกเจาะรู บรรจุด้วยทรายแม่น้ำที่ล้างด้วยน้ำกรอง จัดตั้งทดลองแบบ Factorial 2 ปัจจัย ปัจจัยแรกคือพันธุ์ถั่วพุ่มที่ใช้ปลูก 2 พันธุ์ (ถั่วพุ่ม1, ถั่วพุ่ม2) ก่อนปลูกคลุกเมล็ดด้วยเชื้อไรโซเบียมปลูกถั่วกระถางละ 5 หลุม หลุมละ 2 เมล็ด หลังจากนั้น 7 วันถอนแยกให้เหลือหลุมละ 1 ต้น ปัจจัยที่สองคือ การให้โบรอนในสารละลายที่มีธาตุอาหารพืชครบคัดแปลงจาก Broughton and Dilworth (1971) เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 โดยมีรายละเอียดของระดับโบรอนดังนี้

1. ไม่ให้โบรอนในสารละลายตลอดช่วงระยะเวลาในการปลูก (B0-0)
2. ให้โบรอนในสารละลาย 1  $\mu\text{MB}$  เมื่อถึงระยะที่มีใบจริงใบที่ 4 ( $V_4$ ) ใช้สารละลายธาตุอาหารที่ไม่มีโบรอนในสารละลาย รดให้ต้นถั่วต่อไป (B1-0)
3. ให้โบรอนในสารละลายตลอดช่วงระยะเวลาในการปลูก 1  $\mu\text{MB}$

รดสารละลายให้ต้นถั่วครั้งละ 1 ลิตร 2 ครั้ง เข้า-เย็น เก็บตัวอย่างและบันทึกข้อมูลดังนี้ เก็บใบอ่อนที่สุดที่แผ่ขยายเต็มที่ (YFEL = Youngest Fully Expanded Leaf) ต้น และราก บันทึกข้อมูลน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดิน น้ำหนักแห้งราก และวิเคราะห์ความเข้มข้นโบรอนในใบ โดยใช้วิธี Azomethine-H (Lohse, 1982) โดยแบ่งเก็บสองครั้ง ครั้งที่ 1 เก็บในระยะที่มีใบ YFEL ใบที่ 4 และครั้งที่ 2 เก็บในระยะที่มีใบ YFEL ใบที่ 8 ( $V_8$ )

#### การวิเคราะห์ข้อมูล

ข้อมูลที่ได้แต่ละลักษณะนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least significant difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยแปลงข้อมูลบางส่วนโดยใช้ Square root transformation,  $\text{Log}_{10}$  transformation และ Arcsine transformation