อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาถึงผลของระยะเวลาปลูกต่อเปอร์เซ็นต์การเกิดเมล็ดเขียว คุณภาพความงอก และการมีอยู่ของเอนไซม์ dehydrogenase ในเมล็ดถั่วเหลือง มีขอบเขตการวิจัยที่การผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในฤดูปลูกแล้งหลังการทำนา โดยศึกษาในถั่วเหลือง 2 พันธุ์ คือพันธุ์ สจ.5 และพันธุ์เชียงใหม่ 60 การวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ การทดลองในสภาพแปลงปลูก และการทดลองใน growth chamber

การจัดการทดลอง

1. การทดลองในสภาพแปลงปลูก วางแผนการทดลองแบบ split plot in CRD โดยกำหนดให้วันปลูกเป็น main plot และพันธุ์ถั่วเหลืองเป็น sub plot ใน main plot จะมี 3 ระยะวันปลูกคือ

- วันที่ 9 พฤศจิกายน 2535 (ปลูกเร็วกว่าวันปลูกปกติของเกษตรกร early planting date)
- วันที่ 5 มกราคม 2536 (เป็นวันปลูกตามปกติทั่วไปของเกษตรกร traditional planting date)
- วันที่ 20 มกราคม 2536 (ปลูกล่ากว่าการปลูกปกติของเกษตรกร late planitng date)

แต่ละวันปลูกจะมีพื้นที่แปลงขนาด 800 ตารางเมตรต่อพันธุ์ มีระยะปลูก 20x50 เซนติเมตร ในอัตรา 3 ต้น/หลุม มีการถอนแยกหลังปลูก 7 วัน การกำจัดวัชพืชจะใช้แรงงานคนและมีการให้น้ำอย่างสม่ำเสมอ กรณีที่มีการเข้าทำลายของแมลงศัตรูพืชจะทำการฉีดพ่นด้วยสารเคมี Azodrin อัตรา 120 cc. ต่อน้ำ 20 ลิตร ผสมกับ Benlate

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร และฉีดพ่นสารเคมี Dithane M45 อัตรา 70 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เพื่อป้องกันกำจัดโรค หลังจากต้นถั่วเหลืองเจริญถึงอายุเก็บเกี่ยวในแปลง (R_8 : เมื่อต้นถั่วเหลืองมีฝักใดฝักหนึ่งบนลำต้นหลักเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และมากกว่าร้อยละ 50 ของพื้นที่ปลูก (ทรงเชาว์, 2531)) ทำการเก็บเกี่ยวและลดความชื้นโดยการตากแดดนาน 2 วัน จากนั้นทำการนวดด้วยมือและสุ่มตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองให้ได้ 5000 กรัม เพื่อนำไปทดสอบคุณภาพและเอนไซม์ dehydrogenase ในเมล็ดต่อไป

2. การทดลองใน growth chamber โดยปลูกถั่วเหลืองทั้ง 2 พันธุ์ ที่เรือนเพาะชำ ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในกระถางดินเผาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 นิ้ว อัตรา 3 ต้นต่อกระถาง พันธุ์ละ 18 กระถาง ทยอยปลูกชุดละ 6 กระถางแต่ละชุดปลูกห่างกัน 7 วัน ให้น้ำทุก 3 วันหากมีการเข้าทำลายของแมลงจะฉีดพ่นด้วยสารเคมี Azodrin อัตรา 120 cc. ต่อน้ำ 20 ลิตร ผสมกับสาร Benlate อัตรา 20 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร กรณีที่มีการเข้าทำลายของโรคและเชื้อราฉีดพ่นด้วยสารเคมี Dithane M45 อัตรา 70 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร เมื่อต้นถั่วเหลืองเข้าสู่ระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา (R_7 : ต้นถั่วเหลืองมีฝักใดฝักหนึ่งบนลำต้นหลักเริ่มเปลี่ยนเป็นสีเหลืองและมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ของพื้นที่ปลูก(ทรงเชาว์, 2531)) นำถั่วเหลือง 2 กระถางต่อชุดไปไว้ใน growth chamber ที่ควบคุมให้มีอุณหภูมิ 30°/40°C (กลางคืน/กลางวัน) และงดการให้น้ำ เพื่อจำลองสถานการณ์ในสภาพปลูกช่วงเมล็ดสุกแก่ มีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำและมีอุณหภูมิสูง ปล่อยไว้จนกระทั่งต้นถั่วเหลืองเจริญถึงอายุเก็บเกี่ยว (R_8) จึงเก็บเกี่ยวและนำมาลดความชื้น นวดด้วยมือ เก็บรักษาเมล็ดเพื่อรอการทดสอบคุณภาพและเอนไซม์ dehydrogenase ในเมล็ดต่อไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองในสภาพแปลงปลูกของวันปลูกเร็ว วันปลูกล่า และการทดลองใน growth chamber ได้ทำการทดลองที่แปลงปฏิบัติการและที่เรือนเพาะชำของภาควิชาพืช-

ไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ซึ่งอยู่ในเขตอำเภอเมืองจังหวัดเชียงใหม่ ส่วนการทดลองในสภาพแปลงของวันปลูกตามปกติทั่วไปของเกษตรกร ได้ทำการทดลองในแปลงเกษตรกร บ้านแสนตอ ตำบลน้ำแพร่ ซึ่งอยู่ในเขตอำเภอหางดงจังหวัดเชียงใหม่

บันทึกผล

1. บันทึกข้อมูล อุณหภูมิอากาศและความชื้นสัมพัทธ์ของบรรยากาศ ของการทดลองสภาพแปลงปลูก ตั้งแต่ระยะเริ่มติดเมล็ดจนกระทั่งถึงระยะเก็บเกี่ยว

2. เปอร์เซ็นต์การเกิดเมล็ดเขียว

ตัวอย่างที่สุ่มมาจากการปลูกในสภาพแปลงปลูกจำนวน 5000 กรัม มาแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ ถั่วเหลืองที่มีเมล็ดสีเหลืองปกติและเมล็ดเขียว (ถั่วเหลืองที่มีเมล็ดสีเหลืองปกติ หมายถึง เมล็ดถั่วเหลืองที่ตรวจสอบด้วยสายตาแล้วไม่มีสีเขียวปะปนอยู่ และถั่วเหลืองเมล็ดสีเขียว หมายถึง เมล็ดที่ตรวจสอบด้วยสายตาแล้วไม่เป็นสีเหลืองทั้งเมล็ด) การตรวจสอบแยกชนิดของเมล็ดถั่วเหลืองนี้ จะกระทำในที่ที่แสงแดดสามารถส่องถึง ซึ่งจะอาศัยแสงแดดช่วยในการคัดแยก คำนวณเปอร์เซ็นต์เมล็ดเขียวจากน้ำหนักเมล็ดที่ความชื้น 9 เปอร์เซ็นต์ โดยคำนวณดังต่อไปนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์เมล็ดเขียว} = \frac{\text{น้ำหนักเมล็ดเขียวที่ 9\%MC}}{\text{น้ำหนักเมล็ดเหลืองที่ 9\%MC + น้ำหนักเมล็ดเขียวที่ 9\%MC}} \times 100$$

ตัวอย่างที่ได้จากการปลูกในสภาพกระถาง นำมาแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ เมล็ดเหลืองและเมล็ดเขียวเช่นเดียวกันตามวิธีการดังกล่าวข้างต้น คำนวณหาเปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การเกิดเมล็ดเขียวจากสูตรต่อไปนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์เมล็ดเขียว} = \frac{\text{จำนวนเมล็ดเขียว}}{\text{จำนวนเมล็ดเหลือง+จำนวนเมล็ดเขียว}} \times 100$$

3. ความงอกเมล็ดพันธุ์ ทดสอบด้วยวิธี Standard Germination Test แบบ between paper method ตามวิธีของ ISTA (1985) โดยทดสอบตัวอย่างละ 4 ซ้ำๆ ละ 50 เมล็ด ตรวจนับความงอกในวันที่ 5 และ 8 หลังการเพาะ ประเมินผลต้นอ่อนปกติ (normal seedling) ต้นอ่อนผิดปกติ (abnormal seedling) เมล็ดดูดน้ำแต่ไม่งอก (fresh ungerminated seed) เมล็ดแข็ง (hard seed) และ เมล็ดเน่า (dead seed) แล้วคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความงอกจากจำนวนต้นอ่อนปกติ

4. น้ำหนัก 100 เมล็ด ทำการตรวจหาความชื้นเมล็ดด้วยวิธี air oven method (ISTA, 1985) บันทึกผล จากนั้นสุ่มตัวอย่างเมล็ดเหลืองและเมล็ดเขียวจำนวน 8 ซ้ำๆ ละ 100 เมล็ด ชั่งน้ำหนักโดยให้มีทศนิยม 2 ตำแหน่ง คำนวณน้ำหนัก 100 เมล็ด ที่ความชื้นเมล็ด 9 เปอร์เซ็นต์

5. ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองสีเหลืองและเมล็ดเขียว ทดสอบด้วยวิธีการ TZ test ตามวิธีการของ ISTA (1985) โดยทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อนำมาทดสอบตัวอย่างละ 2 ซ้ำๆ ละ 100 เมล็ด นำเมล็ดไปแช่ในสารละลาย tetrazolium 1.0 เปอร์เซ็นต์ (สาร 2,3,5-Triphenyl tetrazolium chloride 10 กรัมในน้ำกลั่น 1000 ml.) ที่อุณหภูมิ 42°C นาน 6 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลาทำการล้างเมล็ดด้วยน้ำกลั่นอย่างน้อย 3 ครั้ง แกะเปลือกหุ้มเมล็ดออก ตรวจนับความแข็งแรงและความมี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชีวิตของเมล็ดพันธุ์ โดยแบ่งเมล็ดเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีชีวิตและไม่มีชีวิต (กลุ่มเมล็ดที่มีชีวิต หมายถึง เมล็ดที่สามารถงอกได้เป็นต้นอ่อนที่สมบูรณ์ กลุ่มเมล็ดที่ไม่มีชีวิต หมายถึง เมล็ดที่ไม่สามารถงอกได้ และเมล็ดที่สามารถงอกได้แต่ให้ต้นอ่อนมีลักษณะที่ผิดปกติ) โดยประเมินผลการติดสีของ formazan ของส่วนประกอบต่างๆ ของเมล็ด (ISTA, 1985; นงลักษณ์, 2528; จวงจันทร์, 2529)

6. ตรวจสอบเอนไซม์ dehydrogenase ในเมล็ดถั่วเหลือง โดยวัดจากความเข้มข้นของสาร formazan ที่เกิดจากการทดสอบด้วยวิธีการ TZ Test ด้วยวิธีการ formazan extraction technique (Sung and Chen, 1988) เฉพาะกลุ่มเมล็ดที่มีชีวิต โดยสุ่มตัวอย่างมาตรวจสอบตัวอย่าง 3 ซ้ำๆ ละ 10 เมล็ด มาทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้องนาน 2 ชั่วโมง หั่นเมล็ดตามขวางด้วยมีดสะอาดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดประมาณ 3-5 มิลลิเมตร แล้วนำไปแช่ในสาร ethylene glycol monoethyl ether ปริมาตร 50 ml. โดยทยอยแช่ 5 ครั้งๆ ละ 10 ml. แต่ละครั้งแช่นาน 24 ชั่วโมงเพื่อให้สาร formazan ถูกสกัดออกจากเมล็ดจนหมด วัดปริมาณสาร formazan ที่สกัดออกมาด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ 480 nm. หากสารละลายที่ตรวจสอบมีความเข้มข้นเกินความสามารถของเครื่องที่จะอ่านค่าได้ ให้เติม ethylene glycol monoethylether อีก 8 เท่าก่อนนำมาวัด

7. บันทึกการเจริญเติบโตและการพัฒนาเมล็ดระยะ R_5-R_8 ของถั่วเหลืองที่ปลูกในวันปลูกปกติและวันปลูกล่า โดยทำการสุ่มเก็บตัวอย่างต้นถั่วเหลืองครั้งละ 100 ต้น สุ่มตัวอย่างทุก 3 วัน จนกระทั่งถั่วเหลืองเจริญถึงระยะ R_8 กะเทาะฝักด้วยมือเพื่อแยกเมล็ดออกมา ตรวจวัดความชื้นเมล็ดด้วยวิธี Air Oven method นำตัวอย่างเมล็ดที่เหลือล้างฆ่าเชื้อบริเวณเปลือกเมล็ดโดยนำไปแช่ในสารละลาย sodium hypochlorite 10% (clorox) นาน 45-60 วินาที ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง ตรวจสอบความมีชีวิตด้วยวิธี TZ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Test ตรวจวัดค่า optical density ของสาร formazan ที่ 480 nm. เพื่อทดสอบระดับเอนไซม์ dehydrogenase

วิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเกิดเมล็ดเขียว คุณภาพของเมล็ดและปริมาณการมีอยู่ของเอนไซม์ dehydrogenase ในเมล็ดเหลืองและเมล็ดเขียว ที่ได้จากการปลูกในวันปลูกต่างๆ ด้วยวิธีการทางสถิติ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved