อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ดำเนินการทดลองที่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ แบ่งเป็น 2 การทดลอง ได้แก่ การทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ห้องปฏิบัติการของภาควิชาโรคพืช และการทดลองในสภาพกระถางที่โรงปฏิบัติการของภาควิชาพืชไร่

<u>การทดลองที่</u> 1 การประเมินความต้านทานของถั่วลิสง 16 สายพันธุ์ ในสภาพห้องปฏิบัติการ

การทดลองในห้องปฏิบัติการก่อนที่จะนำไปปลูก โดยแบ่งเมล็ดถั่วลิสงแต่ละสายพันธุ์ออกมาจำนวนหนึ่งเพื่อตรวจสอบความต้านทาน วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design มี 4 ซ้ำ ๆ ละ 100 เมล็ดโดยใช้สายพันธุ์ถั่วลิสง 16 สายพันธุ์ คือ

1. (J 11 x RCM 387)-8-6-2
2. (Monir 240-3 x NC 7)-18-4
3. (Ah 7223 x NC 7)-9-1
4. (Var.27 x NC 8C)-7-8-15
5. (J 11 x Ah 24439)-18-11-6
6. J 11
7. KK 60-1
8. KK 60-2
9. KK 60-3
10. Tainan 9
11. Lampang
12. SK 38
13. Roi-et
14. RCM 387
15. CMU collection 1
16. CMU collection 2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

และใช้เชื้อรา *A. flavus* ที่สกัดได้จากดินในแปลงถั่วลิสง ที่มีความสามารถในการสร้างอะฟลาท็อกซินในระดับที่รุนแรง ซึ่งได้รับความช่วยเหลือจากกองโรคพืช และจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร

การจัดการทดลอง

วิธีการการทดสอบความต้านทานของถั่วลิสงต่อเชื้อรา *A. flavus* คือ นำเมล็ดถั่วลิสงมาฆ่าเชื้อที่ผิวด้วย Clorox 10 % นาน 3 นาที แล้วล้างออกด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง นำเมล็ดทั้งหมดมาทำการปลูกเชื้อด้วยสารแขวนลอยสปอร์ (spore suspension) ของ *A. flavus* ที่ความเข้มข้น $1x10^7$ spore/ml. นำเมล็ดไปเพาะบนกระดาษเพาะโดยวิธี Between paper เก็บไว้ในตู้เพาะเมล็ด 7 วัน หลังจากนั้นทำการตรวจนับเปอร์เซนต์ของเมล็ดที่มีเชื้อราเจริญอยู่

การบันทึกข้อมูล

ทำการตรวจนับเปอร์เซนต์ของเมล็ดที่มีเชื้อรา *A. flavus* เจริญอยู่ เมล็ดที่ตรวจพบโคโลนีของเชื้อราเท่ากับหรือน้อยกว่า 15 % ถือว่าเป็นพันธุ์ต้านทาน, 15.01-30.00 % ต้านทานปานกลาง, 30.01-50.00 % อ่อนแอ และมากกว่า 50 % อ่อนแอมาก (Mixon and Roger, 1973) นำผลที่ได้ไปวิเคราะห์หาความแตกต่างของระดับความต้านทานในสายพันธุ์ถั่วลิสงต่าง ๆ

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธี Analysis of Variance เพื่อหาความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยระหว่างสายพันธุ์ถั่วลิสง โดยใช้ Least Significant Difference (LSD) ในการเปรียบเทียบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

<u>การทดลองที่ 2</u> ศึกษาระยะการเจริญเติบโตที่วิกฤตของถั่วลิสง 16 สายพันธุ์ต่อการเข้าทำลายของเชื้อรา *A. flavus*

เป็นการทดลองที่ปลูกบนกระถางที่มีขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลาง 10 นิ้ว ซึ่งวางแผนการทดลองแบบ Split-plot Design มี 3 ซ้ำ ประกอบด้วย

main-plot ได้แก่ สายพันธุ์ถั่วลิสง 16 สายพันธุ์ คือ

1. (J 11 x RCM 387)-8-6-2
2. (Monir 240-3 x NC 7)-18-4
3. (Ah 7223 x NC 7)-9-1
4. (Var.27 x NC 8C)-7-8-15
5. (J 11 x Ah 24439)-18-11-6
6. J 11
7. KK 60-1
8. KK 60-2
9. KK 60-3
10. Tainan 9
11. Lampang
12. SK 38
13. Roi-et
14. RCM 387
15. CMU collection 1
16. CMU collection 2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

sub-plot ได้แก่ ระยะการปลูกเชื้อในแต่ละระยะการเจริญเติบโตของถั่วลิสง ประกอบด้วย

1. ระยะดอกแรกบาน (T1)
2. ระยะหลังออกดอก 2 สัปดาห์ (T2)
3. ระยะฝักแก่ (T3)
4. ไม่ได้ปลูกเชื้อ (T4)

การจัดการทดลอง

ทำการปลูกถั่วลิสงลงในกระถาง โดยที่ดินในกระถางนั้นผ่านการอบฆ่าเชื้อด้วย Metylbromide และเมื่อถึงแต่ละระยะเวลาที่กำหนด ทำการปลูกเชื้อโดยใช้สายพันธุ์ *Aspergillus flavus* เช่นเดียวกับ การทดลองที่ 1 วิธีการทดลองคือ ทำการปลูกเชื้อ *A. flavus* ลงดินในแต่ละระยะการเจริญเติบโตของถั่วลิสง โดยแบ่งเป็น 3 ระยะได้แก่ ระยะดอกแรกบาน, ระยะหลังออกดอก 2 สัปดาห์, ระยะฝักแก่ เปรียบเทียบกับที่ไม่ได้ปลูกเชื้อโดยใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว หลังเก็บเกี่ยว นำเมล็ดที่ได้จากการทดลองนี้ไปทำการตรวจหาการติดเชื้อรา *A. flavus* ด้วยวิธีเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ (Agar method) โดยนำเมล็ดแช่ใน Clorox 10 % นาน 3 นาที ล้างออกด้วยน้ำกลั่นสะอาด 2 ครั้ง แล้วนำเมล็ดไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA) บ่มไว้ที่ 25 °C ในที่มืด 5-7 วัน หลังจากนั้นตรวจนับเมล็ดถั่วลิสงที่มีโคโลนีของเชื้อรา *A. flavus* เจริญอยู่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การบันทึกข้อมูล

การทดลองในสภาพกระถาง ได้เก็บตัวอย่างเมื่อถั่วลิสงสายพันธุ์ต่าง ๆ ถึงระยะเก็บเกี่ยวที่กำหนด โดยนำมาวิเคราะห์หาสิ่งต่อไปนี้

1. น้ำหนักฝัก 10 ฝัก โดยวิธีการสุ่มจากตัวอย่างทั้งหมดในแต่ละกรรมวิธีการทดลอง

2. น้ำหนักเมล็ด 100 เมล็ด โดยวิธีการสุ่มจากตัวอย่างทั้งหมดในแต่ละกรรมวิธีการทดลอง

3. นำเมล็ดถั่วลิสงสายพันธุ์ต่าง ๆ หลังจากเก็บเกี่ยวมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 5-7 วัน และทำการตรวจหาการติดเชื้อรา *A. flavus* โดยตรวจนับเปอร์เซ็นต์เมล็ดที่มีเชื้อราเจริญเติบโตเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วิเคราะห์ผลการทดลองโดยวิธี Analysis of Variance เพื่อหาความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยระหว่างสายพันธุ์และระหว่างระยะเวลาในการปลูกเชื้อ โดยใช้การเปรียบเทียบระหว่างค่าเฉลี่ย Least Significant Difference (LSD)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved