

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

งานวิจัยแบ่งออกเป็น 2 ส่วนด้วยกัน โดยส่วนแรกเป็นการทดลอง ณ แปลงทดลองของ สถานีวิจัยเกษตรชลประทาน ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย เชียงใหม่ ในระหว่างเดือนเมษายน ถึงเดือนตุลาคม 2543 ส่วนที่สองคือ การวิเคราะห์หาชนิด และ ปริมาณเชื้อราที่ก่อให้เกิด โรคทางดินของถั่วเหลือง และเชื้อราปฏิปักษ์

แผนการทดลองและวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ Strip Plot in RCB มี 3 ซ้ำ โดยใช้ถั่วเหลืองพันธุ์ สจ.5 และมี วันปลูกถั่วเหลือง 3 วันปลูกเป็น main plot และวิธีการที่ทดลอง เป็น subplot ดังนี้

main plot ประกอบด้วย

1. 24 พฤษภาคม 2543
2. 13 มิถุนายน 2543
3. 27 มิถุนายน 2543

subplot ประกอบด้วย

1. Treatment ที่ 1 Control (ไม่มีการควบคุมโรค) (T_1)
2. Treatment ที่ 2 Solarization (T_2)
3. Treatment ที่ 3 เชื้อรา *Trichoderma* spp. ในรูปผงคลุกเมล็ด + สารจับใบ (surfactant) (T_3)
4. Treatment ที่ 4 เชื้อรา *Trichoderma* spp. ในรูปผง คลุกเมล็ด + สารจับใบ (surfactant) + รอกันหุลุมด้วยเชื้อรา *Trichoderma* spp. ที่ผสมแล้ว (T_4)

การปลูกถั่วเหลือง โดยแปลงทดลองมีขนาดแปลงย่อย 5x5 เมตร ใน treatment ที่ 2 ใช้ พลาสติกใสคลุมแปลง (กว้าง 1.2 เมตร ความหนา 0.08 มิลลิเมตร) คลุมพลาสติกโดยดึงปลายทั้งสองด้านให้ปิดลงตรงบริเวณร่องดินระหว่างแปลงพอดี รอยต่อระหว่างพลาสติกทับกันประมาณ 6 นิ้ว เริ่มคลุมในวันที่ 10 เมษายน 2543 ในทุกวันปลูกและนำพลาสติกออกในแต่ละวันปลูก (คิด

เป็น 44 64 และ 78 วันก่อนปลูก) โดยก่อนปลูกถั่วเหลือง มีการเตรียมแปลงปลูกโดยไถพรวน กำจัดวัชพืชและยกร่องปลูก พร้อมทำร่องระบายน้ำ ไม่มีการไถดินอีกใน treatment ที่ 2 ภายหลังจากนำพลาสติกออก ก่อนปลูกใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 16-16-16 ของ $N-P_2O_5-K_2O$ กิโลกรัม/ไร่ ผสมในอัตรา 25 กิโลกรัม/ไร่ โดยการหว่านแล้วคลุกกลบ โดยใช้ระยะปลูก 50 x 25 เซนติเมตร ใน treatment ที่ 3 และ 4 มีการคลุกเมล็ดกับเชื้อรา *Trichoderma* spp. ของ Appliedchem (Thailand) Co.,LTD. มีชื่อการค้าว่า ไตรซานในอัตรา 15 กรัม ต่อเมล็ด 1 กิโลกรัม โดยมีส่วนของเชื้อรา *Trichoderma* spp. 2 ชนิด คือ *Trichoderma harzianum* และ *Trichoderma viride* และใน treatment ที่ 4 ในส่วนที่ใช้รองก้นหลุมประกอบด้วยหัวเชื้อ *Trichoderma* spp. ราข้าวละเอียด และปุ๋ยอินทรีย์ ในอัตราส่วน 1:4:10 กิโลกรัม/ไร่ ทำรองปลูกแล้วหว่านเชื้อที่ผสมแล้ว คลุกกลบ แล้วจึงหยอดเมล็ด พร้อมโรยฟูลราดาน หลังจากนั้นเมื่อถั่วเหลืองมีอายุประมาณ 14-16 วัน ทำการถอนแยกให้เหลือ 3 ต้น/หลุมใน treatment ที่ 1, 3 และ 4 และเหลือ 2 ต้น ใน treatment ที่ 2 หลังจากนั้นมีการดูแลรักษา ป้องกันและกำจัดศัตรูพืชตามความจำเป็น การให้น้ำเป็นแบบการให้น้ำฝน

การเก็บข้อมูล

1. ระยะเวลาเจริญเติบโตของถั่วเหลือง โดยวิธีการสังเกตการงอกโผล่พื้นผิวดิน และการโผล่ของใบ โดยยึดหลักเกณฑ์การโผล่ 50 เปอร์เซ็นต์ถือว่าเป็นขั้นการเจริญเติบโต (growth stage) นั้นๆ และบันทึกข้อมูลจนกระทั่งถึงระยะเก็บเกี่ยว (Fehr *et al.*, 1971) ดังแสดงไว้ในตารางภาคผนวกที่ 7

2. วัดความสูงของต้นถั่วในระยะ V_1 V_3 V_5 และ V_7

3. วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของต้นเฉลี่ย (ซม.) ที่ความสูง 5 ซม. จากโคนต้นที่ระยะ R_1

4. ข้อมูลการเจริญเติบโต

4.1 ที่ระยะ R_0 เก็บตัวอย่างเพื่อวัดหาน้ำหนักแห้งของปมถั่ว ใช้ตัวอย่างในแต่ละแปลงย่อย โดยการชั่งน้ำหนักไปล้างแยกปมออก

4.2 เก็บเกี่ยวจากพื้นที่ 3 ตารางเมตร หาอัตราส่วนของเมล็ดดีของแต่ละ Treatment หาจำนวนเมล็ด/ฝัก จำนวนฝัก/ต้น น้ำหนัก 1,000 เมล็ด (เมล็ดเต็ม) และผลผลิตเมล็ด/ไร่

5. ข้อมูลภูมิอากาศ เก็บโดยใช้เครื่องตรวจวัดอากาศ DATA Logger แบบอัตโนมัติ ซึ่งเก็บข้อมูล อุณหภูมิสูงสุด อุณหภูมิต่ำสุด ปริมาณน้ำฝน

6. ข้อมูลดิน สุ่มเก็บตัวอย่างดินแบบ Composite sample ที่ระดับความลึก 0-10 เซนติเมตร ทั้งหมด 3 จุด ในแต่ละหน่วยการทดลองนำมารวมเป็น 1 ตัวอย่าง ในทุกครั้งก่อนปลูกโดยแยกดินที่คลุมด้วยพลาสติกกับไม่คลุมจากนั้นนำดินตัวอย่างผึ่งในที่ร่มเพื่อลดความชื้นลงบ้าง

6.1 ดินบางส่วนนำไปตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมี คือ ระดับความเป็นกรด-ด่างของดิน % N ทั้งหมด ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ได้ และ โปแทสเซียมที่สามารถแลกเปลี่ยนได้

6.2 ดินบางส่วนนำไปวิเคราะห์หาชนิดของเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคโดยวิธีการ Soil Dilution Plate ดังนี้ ชั่งดิน 10 กรัม ใส่น้ำกลั่นที่นิ่งมาเชื้อแล้ว 100 ml. ใน Erlenmeyer Flask 250 ml. เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้สักครู่ (dilution 1: 10) ใช้ pipette ดูด suspension ปริมาตร 10 ml. ใส่น้ำกลั่น 90 ml. เขย่าให้เข้ากัน (dilution 1: 100) แล้วดูด suspension ความเข้มข้น 10^{-2} มา 10 ml. ใส่น้ำกลั่น 90 ml. เขย่าให้เข้ากัน จะได้ dilution 1: 1000 (10^{-3}) ดูด suspension 10^{-3} มา 10 ml. ใส่น้ำกลั่น 90 ml. จะได้ dilution 1: 10000 (10^{-4}) ดูด suspension 10^{-4} มา 10 ml. ใส่น้ำกลั่น 90 ml. จะได้ dilution 1: 100000 (10^{-5}) จากนั้นใช้ pipette ดูด suspension ในความเข้มข้นของอนุภาคดินที่ 10^{-3} 10^{-4} 10^{-5} จานละ 1 ml. ทำ 3 ซ้ำ แล้วเทอาหาร Martin's medium (Peptone Glucose Rose Bengal Streptomycin Agar) ที่มีส่วนประกอบของ Rose Bengal และ streptomycin ลงในจาน ค่อยๆเขย่าให้เข้ากัน แล้วบ่มไว้ในที่มืดเป็นเวลา 2-3 วัน จึงแยกเชื้อราที่เจริญมาใส่ใน slant PDA เพื่อเก็บเป็นเชื้อบริสุทธิ์ (pure culture) เมื่อเชื้อราเจริญได้ 2 อาทิตย์ ก็นำมาเลือกและจำแนกเป็นกลุ่มตามลักษณะของโคโลนีและสีของสปอร์บน slant PDA จากนั้นก็ศึกษาเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคทางดินถั่วเหลืองต่อไป

7. ตรวจเชื้อราปฏิบัติในหัวเชื้อชีวภัณฑ์

8. นับจำนวนต้นถั่วเหลืองที่ตายด้วยโรคทางดินตั้งแต่ปลูกจนระยะ R_7

วิธีการวิเคราะห์ข้อมูล

- วิเคราะห์ตามแบบแผนของ Design เพื่อทดสอบหาความแตกต่างของแต่ละ treatments
- วิเคราะห์ กำไร-ขาดทุนของผลผลิตของถั่วเหลืองที่มีการใช้เชื้อราชีวภัณฑ์และพลังงาน

แสงอาทิตย์เปรียบเทียบกับแปลงที่ไม่ควบคุมโรค