อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. แผนงานทดลองในระดับไร่นา

ได้ทำการคัดเลือกพื้นที่ทดลองไว้ 2 แห่งด้วยกันคือ สถานีทดลองข้าวไร่และธัญพืชเมืองหนาวสะเมิง อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งเป็นดินที่สูง มีสีแดงปนน้ำตาล จัดอยู่ในกลุ่ม slope complex และไร่ทดลองบริษัทคาร์ลสเบอร์กบริวเวอรี (ประเทศไทย) จำกัด บ้านน้ำอิง ตำบลต้า อำเภอขุนตาล จังหวัดเชียงราย เป็นดินที่จัดอยู่ในชุดดินพาน คุณสมบัติทางเคมีและฟิสิกส์บางประการของดินในการวิจัยครั้งนี้ แสดงไว้ในตารางที่ 3

วางแผนการทดลองแบบ Split-split-plot design มี 3 ซ้ำด้วยกัน โดยใส่ปุ๋ยเกรด 15-15-15 ก่อนปลูกในอัตรา 25 กก./ไร่ และหลังจากข้าวบาร์เลย์งอกแล้ว 20 วันใส่ปุ๋ยเกรด 21-0-0 ในอัตรา 10 กก./ไร่ ใช้เมล็ดจำนวน 20 กก./ไร่ ปลูกพันธุ์ละ 8 แถว ระหว่างแถวกว้าง 20 ซม. มีการให้น้ำแบบฉีดพ่นเป็นฝอย (sprinkle) ทุก ๆ 5- 7 วัน การกำจัดวัชพืชใช้สารเคมีสตอม (pendimetalin) หลังจากปลูก และกำจัดโรคที่เกิดจากเชื้อราใช้สารเคมีไดเทนเอ็ม 45 และฟูจิ 1 (isoprothiolane) รายละเอียดของผังการทดลองมีดังต่อไปนี้

Main plot ประกอบด้วย การใส่ปูนโดโลไมท์ (dolomite) จำนวน 4 ระดับ ได้แก่ 0, 35, 70 และ 140 กก./ไร่

Subplot ประกอบด้วยพันธุ์ข้าวบาร์เลย์ 4 พันธุ์ ได้แก่ Morex(6 แถว), Beka(2 แถว), Caruso(2 แถว) และ BRB 9(2 แถว)

Sub-subplot ประกอบด้วยการให้ปุ๋ยทางใบซึ่งมี 3 ตำรับ (โดยแบ่งแปลงย่อยออกเป็น 3 ส่วน ๆ ละ 2x2 เมตร) ที่ประกอบด้วยชนิดธาตุอาหารในปริมาณที่มีความเข้มข้นต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 4

ระยะเวลาการให้ปุ๋ยทางใบ

ก่อนการให้ปุ๋ยทางใบแต่ละครั้งได้ใช้พลาสติกกั้นสูงประมาณ 1.20 เมตร ตลอดตามแนวแปลงย่อยทั้งสองด้านที่ได้แบ่งออกเป็น 3 ส่วน ๆ ละ 2x2 เมตร แล้วจึงทำการฉีดพ่นปุ๋ยทางใบ ที่ระยะ 20, 30, 40 วันหลังจากที่ข้าวบาร์เลย์งอก และระยะออกรวง (แต่ละสายพันธุ์ออกรวงไม่พร้อมกัน)

ตารางที่ 3 คุณสมบัติทางฟิสิกส์ และเคมีบางประการของดินที่สูงสะเมิง จ.เชียงใหม่ และชุดดินพาน บ้านน้ำอิง อ.ขุนตาล จ. เชียงราย

คุณสมบัติ	ดินที่สูงสะเมิง	ชุดดินพาน
เนื้อดิน	Clay	Silty clay loam
sand (%)	24.90	8.00
silt (%)	28.72	59.62
clay (%)	46.38	32.38
pH	5.48	4.75
อินทรีย์วัตถุ (%)	2.62	2.73
N (%)	0.11	0.15
P (ppm)	3.5	5.9
K (ppm)	256	113
Na (ppm)	28.0	37.6
Ca (me/100g soil)	4.80	3.21
Mg (me/100g soil)	1.03	0.98
Cu [1/]	1.2	2.4
Zn [1/]	2.9	1.5
Mn [1/]	36	34
Fe [1/]	21	26
B [2/]	0.15	0.08

[1/] สกัดด้วย DTPA (ppm)

[2/] Hot water soluble (ppm)

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

ตารางที่ 4 ชนิด และความเข้มข้นของธาตุอาหารที่ให้หางใบในตำรับต่าง ๆ

ชนิด	ตำรับ 1	ตำรับ 2	ตำรับ 3
		%	
KNO3	-	0.50	0.25
$NaNO_3$	-	-	0.25
KH_2PO_4	-	0.25	0.25
Fe-EDTA	-	0.075	0.075
$ZnSO_4.7H_2O$	-	0.10	0.10
Borax	-	0.10	0.10
$CuSO_4.5H_2O$	-	0.04	0.04
$Na_2MoO_4.2H_2O$	-	0.02	0.02

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

2. การเก็บตัวอย่าง

2.1 การเก็บตัวอย่างดิน

ทำการเก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0-15 ซม. และ 15-30 ซม. โดยเก็บในแต่ละแปลงย่อย (Sub plot)

2.1.1 ก่อนการทดลอง

2.1.2 ระยะที่ข้าวบาร์เลย์ตั้งท้อง

2.1.3 หลังการทดลอง

2.2 การเก็บตัวอย่างพืช

ทำการเก็บตัวอย่างพืชในแต่ละ sub-subplot ที่ระยะการเจริญเติบโตต่าง ๆ ดังนี้

2.2.1 ส่วนที่อยู่เหนือดิน หลังจากข้าวบาร์เลย์งอก 30 วัน จำนวน 25 ต้น

2.2.2 ใบที่2 และ 3 นับจากยอดระยะตั้งท้อง จำนวน 30-50 ใบ

2.2.3 ใบธง ระยะออกรวง จำนวน 30-50 ใบ

2.2.4 ผลผลิต เก็บจากพื้นที่ 2 ตารางเมตร

3. การวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

3.1 ตัวอย่างดิน

นำตัวอย่างดินมาผึ่งให้แห้งในที่ร่ม แล้วบดร่อนผ่านตะแกรงขนาด 2 มม. (ยกเว้นกรณี OM. และ N ใช้ขนาด 0.5 มม.) เพื่อนำไปวิเคราะห์หา pH, OM, N, P, K, Ca, Mg, Na, Mn, Fe, Zn, Cu และ B

3.2 ตัวอย่างพืช

นำตัวอย่างต้นและใบมาล้างด้วยน้ำประปา และน้ำกลั่นให้สะอาด นำไปอบที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 48 ชม. จากนั้นนำไปบดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดตัวอย่างพืชอย่างละเอียด (Disc mill) หรือเทียบเท่าที่ผ่านตะแกรงไม่เกินขนาด 40 mesh

3.3 การวิเคราะห์ตัวอย่างพืช

ตัวอย่างพืชใช้วิธี Dry ashing โดยการชั่งตัวอย่างพืช 0.5 กรัม ใส่ใน crucible แล้วนำไปเผาที่อุณหภูมิ 550°C เป็นเวลา 12 ชม. ปล่อยให้เย็นแล้วนำไปละลายเถ้าด้วยกรด HCl 2 N จำนวน 10 มล. จากนั้นทำให้เจือจางด้วยน้ำกลั่น (deionized water) 10 มล. แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 เก็บไว้วิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารต่าง ๆ ยกเว้น ธาตุไนโตรเจน

3.4 วิธีการวิเคราะห์ทางเคมี ตามวิธีการของ Jackson (1967)

3.4.1 การวิเคราะห์หาความเป็นกรด-ด่างของดินโดยใช้อัตราส่วนระหว่าง ดิน : น้ำ = 1:1

ชั่งตัวอย่างดิน 10 กรัม ใส่ใน beaker ขนาด 50 มล. เติมน้ำกลั่น 10 มล. คนน้ำกับดินให้เข้ากัน 3 ครั้งห่างกัน 5 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ให้ครบ 30 นาที จึงนำไปวัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter

3.4.2 การวิเคราะห์หาปริมาณอินทรีย์วัตถุดินโดย Walkley-Black method

ชั่งตัวอย่างดิน 1 กรัม ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 250 มล. เติม $K_2Cr_2O_7$ 1 N จำนวน 10 มล. เขย่าเบา ๆ เพื่อให้น้ำยากับตัวอย่างผสมเข้ากันดี ใส่กรดซัลฟูริคเข้มข้น 20 มล. เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้เย็น เติมน้ำกลั่น 100 มล. แล้วนำไปไตเตรทกับสารละลายมาตรฐาน ferrous sulfate 0.5 N โดยใช้ O-phenanthroline ferrous complex เป็น indicator แล้วนำปริมาณ $K_2Cr_2O_7$ และ ferrous sulfate ที่ใช้ไปคำนวณหาปริมาณอินทรีย์วัตถุในดิน

3.4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณธาตุไนโตรเจนในดินและพืช ใช้วิธี Micro - Kjeldahl

ชั่งตัวอย่างดิน 1 กรัม (ตัวอย่างพืช 0.2 กรัม) ใส่ใน digestion tube เติม Potassium sulfate - catalyst mixture ประมาณ 1.1 กรัม เติมกรดซัลฟูริคเข้มข้น 5 มล. เขย่าเบา ๆ ให้เข้ากันแล้วนำเข้าเตาย่อยในตู้ดูดควันโดยใช้อุณหภูมิต่ำก่อน ประมาณ 1 ชม. แล้วจึงเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นจนกว่าตัวอย่างย่อยเรียบร้อย ใช้เวลาประมาณ 5 ชม. จึงนำออกจากเตาย่อยทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำไปกลั่นหาปริมาณไนโตรเจนด้วยเครื่องกลั่นไนโตรเจนต่อไป

3.4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณธาตุฟอสฟอรัสที่สกัดได้ในดินโดยวิธี Bray II แล้วพัฒนาสีด้วย Ascorbic acid method (Watanabe และ Olsen, 1962)

ชั่งตัวอย่างดิน 2 กรัม ใส่ใน Erlenmeyer flask ขนาด 125 มล. ใส่น้ำยาสกัด Bray II จำนวน 20 มล.เขย่า 1 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 ดูดสารละลายที่ได้ 5 มล. และพัฒนาสีด้วย Ascorbic acid method หลังจากตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที นำไปอ่านหาปริมาณฟอสฟอรัสด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 882 นาโนเมตร

3.4.5 การวิเคราะห์หาปริมาณธาตุฟอสฟอรัสในพืช

โดยดูดสารละลายที่สกัดได้ตามวิธี Dry ashing จำนวน 5 มล. ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 25 มล. พัฒนาสีเหลืองด้วย Vanadate ตั้งทิ้งไว้ครบ 30 นาที แล้วนำไปอ่านหาปริมาณฟอสฟอรัสด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร

3.4.6 การวิเคราะห์หาปริมาณ cations ในดิน

Extractable K, Na, Ca and Mg

ชั่งตัวอย่างดิน 5 กรัม ใส่ใน centrifuge tube ขนาด 50 มล. เติมน้ำยาสกัด NH_4OAc 1 N pH 7 จำนวน 25 มล. ปิดจุกเขย่า 30 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 5 ดูดนำสารละลายที่สกัดได้ จำนวน 1 มล. ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 25 มล. แล้วปรับปริมาตรด้วย Lanthanum chloride 0.25 % เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปอ่านหาปริมาณ K, Na, Ca และ Mg ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer เปรียบเทียบกับค่าที่อ่านได้จากสารละลายความเข้มข้นมาตรฐานของ K, Na, Ca และ Mg ตามลำดับ

Extractable Cu, Zn, Mn and Fe

ชั่งตัวอย่างดิน 10 กรัม ใส่ใน centrifuge tube ขนาด 50 มล. เติมน้ำยาสกัด DTPA pH 7.3 (ที่ประกอบด้วย 0.005 M DTPA, 0.1 M Triethanolamine และ 0.01 M $CaCl_2$) จำนวน 20 มล. ปิดจุก เขย่า 2 ชม. แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 42 นำสารละลายที่ได้ไปอ่านหาปริมาณความเข้มข้นด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer เปรียบเทียบกับค่าที่อ่านได้จากสารละลายความเข้มข้นมาตรฐานของธาตุที่ต้องการทราบ ตามวิธีของ Lindsay and Norvell (1978)

3.4.7 การวิเคราะห์หาปริมาณซัลเฟอร์ในพืช

ตัวอย่างพืชใช้วิธี Wet ashing โดยการชั่งตัวอย่างพืช 0.5 กรัม ใส่ใน digestion flask ขนาด 100 มล. เติมกรดผสม HNO_3 : $HClO_4$ (อัตราส่วน 6:1) จำนวน 15 มล. ทิ้งไว้ค้างคืน แล้วนำเข้าเตาย่อย

โดยใช้อุณหภูมิต่ำก่อนประมาณ 30 นาที แล้วจึงเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นประมาณ 400°C จนกว่าตัวอย่างเกิดควันสีขาวของ percloric acid ปิดเตาย่อยทันที ปล่อยให้เย็น แล้วถ่ายสารละลายลงใน volumetric flask ขนาด 50 มล. เก็บไว้วิเคราะห์หาปริมาณซัลเฟอร์

ดูดสารละลายจำนวน 5-10 มล. ใส่ใน volumetric flask ขนาด 25 มล. เติมสารละลาย H_2O:$HClO_4$ อัตราส่วน 1:1 ลงไป 1 มล. เขย่าให้เข้ากันเท $BaCl_2.2H_2O$ ลงไป 1 กรัม เขย่า 1 นาที ใส่ gum acasia 0.25% 1 มล. เขย่าให้เข้ากันแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 25 มล. นำไปอ่านหาปริมาณซัลเฟอร์ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่อ่านได้ไปคำนวณหาปริมาณด้วยการเปรียบเทียบกับค่า standard curve ที่อ่านได้จากสารละลายความเข้มข้นซัลเฟอร์มาตรฐาน

3.4.8 การวิเคราะห์หาปริมาณธาตุโบรอนในพืช

นำสารละลายที่ได้ตามวิธี Dry ashing ร่วมกับ $CaCO_3$ จำนวน 1 มล. มาเติมสารละลาย Azomethine-H (Azomethine-H 0.80 กรัม ละลายในน้ำ 100 มล.) จำนวน 1 มล. และ Buffer-masking (เป็นสารละลายที่ประกอบด้วย NH_4OAc จำนวน 140 กรัม, Nitrilotriacetic acid จำนวน 8 กรัม, EDTA tetrasodium salt จำนวน 10 กรัม, potassium acetate จำนวน 10 กรัม, Ascorbic acid จำนวน 2 กรัม และ acetic acid 62.5 มล. ในน้ำ 1 ลิตร) จำนวน 2 มล. ตามวิธีของ Lohse (1982) เมื่อครบ 1 ชม. นำไปอ่านหาปริมาณโบรอนด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่อ่านได้ไปคำนวณหาปริมาณด้วยการเปรียบเทียบกับค่า standard curveที่อ่านได้จากสารละลายความเข้มข้นโบรอนมาตรฐาน

3.4.9 การวิเคราะห์หาปริมาณ cation ต่าง ๆ ในพืช

ตัวอย่างพืชที่ได้จากการเตรียมตามข้อ 3.3 มาหาปริมาณ Cu, Zn, Mn และ Fe โดยการอ่านด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer ได้โดยตรง สำหรับ Ca, Mg, Na และ K นั้นต้องทำให้เจือจางก่อนด้วยการดูดสารละลายในข้อ 3.3 จำนวน 1 มล. ใส่ใน Volumetric flask ขนาด 100 มล. แล้วปรับปริมาตรด้วย Lanthanum chloride 0.25 % เขย่าให้เข้ากัน นำไปอ่านหาปริมาณธาตุด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer เปรียบเทียบกับค่าที่อ่านได้จากสารละลายความเข้มข้นมาตรฐานของธาตุที่ต้องการทราบ

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูลด้านผลผลิตและคุณภาพ

3.5.1 ผลผลิตและคุณภาพพันธุ์ข้าวบาร์เลย์โดยพิจารณาจากองค์ประกอบผลผลิตผลิต ได้แก่ น้ำหนักรวมผลผลิต จำนวนรวงต่อพื้นที่ น้ำหนัก 1000 เมล็ด จำนวนเมล็ดต่อรวง ดัชนีการติดเมล็ด และ ปริมาณโปรตีนในเมล็ด

3.5.2 ประเมินสภาพความเพียงพอของธาตุอาหาร ที่เหมาะสมสำหรับพันธุ์ข้าวบาร์เลย์ที่นำมาศึกษาโดยใช้ดัชนีธาตุอาหารในเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของข้าวบาร์เลย์ คือ ต้นอายุ 30 วันหลังงอก ใบ 2 และ 3 นับจากยอดระยะตั้งท้อง ใบธง และเมล็ดข้าวบาร์เลย์

สถานที่ทำการวิจัย

1. สถานีทดลองข้าวไร่และธัญพืชเมืองหนาวสะเมิง อำเภอสะเมิง จังหวัดเชียงใหม่
2. ไร่ทดลองของบริษัทคาร์ลสเบอร์กบริวเวอรี (ประเทศไทย) จำกัด บ้านน้ำอิง ตำบลต้า อำเภอขุนตาล จังหวัดเชียงราย
3. ห้องปฏิบัติการวิเคราะห์ดินและพืช ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางเกษตร มหาวิยาลัยเชียงใหม่

ระยะเวลาที่ทำการวิจัย

ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน 2539 ถึงเดือนเมษายน 2540

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University