บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 การทดลองในพื้นที่เกษตรกร

เลือกพื้นที่ปลูกพริกของ นายทวี ทองอิ่ม ต.หนองบัว อ.ศรีนคร จ.สุโขทัย เป็นพื้นที่ทดลอง พื้นที่ดังกล่าวเป็นพื้นที่ราบ และเป็นพื้นที่ปลูกพริกของเกษตรกรในกลุ่มกาญจนาปลอดสารพิษ เครือข่ายผักปลอดสารพิษ ภาคเหนือตอนล่าง แปลงทดสอบที่ใช้ทดสอบมี 2 แปลง แปลงแรกได้ปลูกพริกโดยใช้น้ำสกัดชีวภาพมาแล้ว 2 ปี แปลงที่สองไม่เคยใช้น้ำสกัดชีวภาพเลยและมีการปลูกพริกโดยใช้ปุ๋ยเคมีและสารเคมีมาโดยตลอด ในการทดลองประกอบด้วยกรรมวิธีการปลูกพริกขี้หนู พันธุ์จินดา 3 กรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 การปลูกพริกจินดาโดยใช้น้ำสกัดชีวภาพติดต่อกันเป็นเวลา 3 ปี

กรรมวิธีที่ 2 การปลูกพริกจินดาโดยใช้น้ำสกัดชีวภาพเป็นปีแรก

กรรมวิธีที่ 3 การปลูกพริกจินดาโดยการใส่ปุ๋ยเคมี

ทำการปลูกพริกจินดาเมื่อวันที่ 10 กรกฎาคม 2545 โดยใช้พื้นที่แปลงที่ 1 สำหรับการปลูกพริกจินดาโดยกรรมวิธีที่ 1 ส่วนกรรมวิธีที่ 2 และ 3 ใช้เป็นพื้นที่แปลงที่ 2 ในการปลูกพริกแต่ละกรรมวิธี ใช้พื้นที่แปลงขนาด 20 x 10 เมตร และมี 10 ซ้ำ แต่ละซ้ำประกอบด้วยพริก 1 แถวๆ ละ 40 ต้น (320 ต้น/ไร่)

ในการปลูกพริกโดยใช้น้ำสกัดชีวภาพ เกษตรกรจะผลิตน้ำสกัดชีวภาพ 2 สูตร สูตรที่หนึ่งสำหรับการเร่งการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบ ประกอบด้วยเศษปลา หอย ผักต่างๆ หมักกับกากน้ำตาลในอัตราส่วน 1 : 1 ส่วนสูตรที่สองใช้สำหรับระยะออกดอกและระยะติดผล ประกอบด้วยเศษปลา หอย ผักต่างๆ และเพิ่มผลไม้สีเหลือง เช่น กล้วย มะละกอ ฟักทอง นอกจากนี้ยังมีตะไคร้หอม สาบเสือ และผลพริกใส่ลงไปด้วย โดยนำวัสดุหมักดังกล่าวไปหมักกับกากน้ำตาลในอัตราส่วน 1 : 1 เช่นเดียวกัน เกษตรกรจะเตรียมน้ำสกัดชีวภาพทั้ง 2 สูตรไว้ล่วงหน้าก่อนการเพาะปลูก ฉีดพ่นน้ำสกัดชีวภาพทุกสัปดาห์ สัปดาห์ละ 1 ครั้ง โดยเริ่มตั้งแต่ 1 สัปดาห์หลังย้ายกล้าไปจนสิ้นสุดการเพาะปลูก ในแต่ละครั้งใช้น้ำสกัดชีวภาพแต่ละสูตรในอัตรา 60 มิลลิลิตรต่อน้ำ 40 ลิตรต่อพื้นที่ 1 ไร่ สำหรับการใส่ปุ๋ยเคมีเกษตรกรใช้ปุ๋ยเกรด 15-15-15 อัตรา 50 กก./ไร่ โดยแบ่งใส่ 3 ครั้งคือ หลังย้ายกล้า ช่วงเริ่มออกดอก และช่วงติดผล ทุกกรรมวิธีจะใส่ปุ๋ยหมักรองพื้น

ในอัตรา 1,000 กก./ไร่ นอกจากนี้ยังใส่ปูนโดโลไมท์ ในอัตรา 40 กก./ไร่ หว่านในช่วงเตรียมดินและในช่วงย้ายกล้าใส่เพิ่มอีก 40 กก./ไร่ โดยใส่ระหว่างแถวปลูก

3.1.1 สมบัติทางเคมีของน้ำสกัดชีวภาพ

นำน้ำสกัดชีวภาพของเกษตรกรที่ใช้ในแปลงทดลองมาวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีดังนี้

3.1.1.1 pH วัดโดยใช้เครื่อง pH meter

3.1.1.2 ปริมาณธาตุอาหารในน้ำสกัดชีวภาพ

นำน้ำสกัดชีวภาพ 2 มล. ใส่หลอดแก้วที่ใช้ย่อยตัวอย่าง เติมกรด H_2SO_4 เข้มข้นจำนวน 7 มล. ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน หลังจากนั้นเติม 50 % H_2O_2 จำนวน 3 มล. โดยแบ่งทีละน้อย จากนั้นนำไปย่อยโดยใช้ N digestion block ในการย่อยจะเร่งอุณหภูมิให้สูงขึ้นทีละน้อยจนถึง 350 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันไม่ให้เกิดปฏิกิริยารุนแรงจนกระทั่งตัวอย่างล้นออกมานอกหลอดย่อย ย่อยตัวอย่างจนกระทั่งได้สารละลายใส ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วนำไปปรับปริมาตรเป็น 100 มล. ด้วยน้ำกลั่น และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณ N P K Ca Mg Fe Mn Cu และ Zn ด้วยวิธีการดังตารางที่ 2 และรายละเอียดในภาพผนวก ก

3.1.2 สมบัติทางเคมีและชีวภาพของดิน

เก็บตัวอย่างดินในแต่ละพื้นที่ที่ระดับความลึก 0-10 เซนติเมตร จำนวน 4 ครั้ง ดังนี้

ก่อนปลูก	กลางเดือนมิถุนายน (8 มิถุนายน 2545)
ต้นฤดูปลูก (หลังย้ายกล้า)	กลางเดือนกรกฎาคม (17 กรกฎาคม 2545)
กลางฤดูปลูก (ออกดอกติดผล)	ปลายเดือนตุลาคม (28 ตุลาคม 2545)
ปลายฤดูปลูก (เก็บเกี่ยว)	ปลายเดือนมกราคม (25 มกราคม 2545)

ในการเก็บตัวอย่างดิน ใช้วิธีการเก็บแบบ composite sample จำนวน 1 ตัวอย่างต่อซ้ำ โดยเก็บตัวอย่าง 3 จุดต่อ composite sample 1 ตัวอย่าง ในแต่ละกรรมวิธีเก็บจำนวน 10 ซ้ำ ตัวอย่างสำหรับดินที่เก็บมาแต่ละครั้งนำไปผึ่งให้แห้งในที่ร่ม บดตัวอย่างดินและวิเคราะห์หาสมบัติบางประการของดิน ได้แก่ pH, organic matter, available P , exchangeable K Ca และ Mg , extractable Fe Mn Cu และ Zn ตามวิธีการต่างๆ ในตารางที่ 3 และรายละเอียดในภาคผนวก สำหรับตัวอย่างดินที่เก็บในช่วงกลางฤดูปลูกและปลายฤดูปลูก นอกจากวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ดังระบุไว้ข้างต้น นำมาวิเคราะห์หาไนโตรเจนที่ปลดปล่อยให้เป็นประโยชน์ได้ (mineralized N) และมวลชีวภาพของจุลินทรีย์ดิน (microbial biomass) อีกด้วย

ในการวิเคราะห์หา mineralized N และมวลชีวภาพของจุลินทรีย์ดิน ใช้ตัวอย่างดินในแต่ละกรรมวิธีเพียง 4 ซ้ำ ในการวิเคราะห์ inorganic N ใช้ดินที่เก็บจากแปลงทดลองบรรจุลงในกระป๋องพลาสติกที่มีฝาปิด นำไปฝังไว้ในดินในแปลงทดลอง และห้องปฏิบัติการอย่างละ 1 ชุด เป็นเวลา 1 เดือน หลังจากนั้นจึงนำตัวอย่างดินในกระป๋องพลาสติกไปวิเคราะห์หา inorganic N ($NH_4^+ + NO_3^-$) หลังการบ่มดินตามวิธีการที่ระบุไว้ตารางที่ 3 และรายละเอียดในภาพผนวก ก ก่อนการบ่มดินทำการหา mineralized N จะแบ่งตัวอย่างดินมาวิเคราะห์หาปริมาณ inorganic N ที่มีอยู่เดิมในดินด้วยวิธีการเดียวกันกับที่ใช้ในการวิเคราะห์จากตัวอย่างดินที่ผ่านการบ่มแล้ว และคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนที่ถูกปลดปล่อยออกมาจากดิน (mineralized N) ดังนี้

$$\text{Total mineralized nitrogen} = (NH_4^+\text{-N} + NO_3^-\text{-N} + NO_2^-\text{-N})_{t+1} - (NH_4^+\text{-N} + NO_3^-\text{-N} + NO_2^-\text{-N})_{t0}$$

$_{t+1}$ = ระยะเวลาใดๆหลังการบ่มดิน

$_{t0}$ = ระยะเวลาก่อนนำไปบ่มดิน

สำหรับการหามวลชีวภาพของจุลินทรีย์ดิน จะใช้ตัวอย่างที่เก็บมาจากแปลงทดลองและเก็บรักษาไว้ในกระติกน้ำแข็งหรือในตู้เย็นตลอดเวลาภายหลังจากการเก็บตัวอย่างดินจนถึงช่วงเวลาวิเคราะห์ โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำต่อตัวอย่าง และใช้วิธีการวิเคราะห์ตามตารางที่ 3 ดังรายละเอียดที่ระบุไว้ในภาคผนวก ก

3.1.3 การเจริญเติบโต ผลผลิตและการดูดใช้ธาตุอาหารพริก

3.1.3.1 การเจริญเติบโตของพริก โดยวัดความสูง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของทรงพุ่มและขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของลำต้น 3 ครั้ง โดยสุ่มวัด 3 ต้น/ซ้ำ รวม 30 ต้น/กรรมวิธี/ซ้ำ

3.1.3.2 ผลผลิตพริกสด ใช้วิธีการสุ่มตัวอย่าง โดยเก็บผลผลิต 10 ต้น/ซ้ำ

3.1.3.3 เก็บรักษาผลพริก นำพริกที่เก็บผลผลิตได้มา 10 กรัมนำไปแช่ในตู้เย็นเป็นเวลา 35 วันและเช็ควันเหี่ยวของพริก

3.1.3.4 การดูดใช้ธาตุ N P K Ca Mg Fe Mn Cu และ Zn ในผลพริกและต้นพริกที่เหลือจากการเก็บเกี่ยวในระยะสุดท้าย โดยใช้ 3 ต้น/ซ้ำ รวม 30 ต้น/กรรมวิธี

นำตัวอย่างพืชที่บดแล้วมาชั่ง 0.5 กรัม ย่อยตัวอย่างด้วยกรดผสมซึ่งพัฒนามาจากวิธีการของ Bergersen *et al.* (1988) ซึ่งประกอบด้วย H_2SO_4 1000 มล. Na_2SO_4 100 กรัม และ Se 1 กรัม โดยใช้ N digest block โดยเริ่มจากอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสและค่อยๆ เพิ่มอุณหภูมิขึ้นจนถึง 350 องศาเซลเซียสจนได้สารละลายใส ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มล. นำสาร

ละลายที่ได้ไปวิเคราะห์ N P K Ca Mg Fe Mn Cu และ Zn ตามวิธีการในตารางที่ 2 และรายละเอียดในภาคผนวก ก

ตารางที่ 2 วิธีการวิเคราะห์น้ำสกัดชีวภาพและพืช

การวิเคราะห์	วิธีการหาความเข้มข้น	เอกสารอ้างอิง
total N	โดยการกลั่นด้วย NaOH 40%	Bremner, 1996
total P	พัฒนาสีด้วย ammonium vanadophospho molybdate วัดด้วยเครื่อง spectrophotometer	ศรีสม, 2544
total K	Flame photometer	Helmke และ Sparke, 1996
total Ca และ Mg	Atomic absorption spectrophotometer	Walinga *et al.*, 1989
total Fe Mn Cu และ Zn	Atomic absorption spectrophotometer	Walinga *et al.*, 1989

ตารางที่ 3 วิธีการวิเคราะห์สมบัติของดิน

วิเคราะห์	วิธีการ	เอกสารอ้างอิง
pH	ดิน : น้ำ 1 : 1 วัดด้วย pH meter	เนาวรัตน์, 2527
organic matter	Walkley& Black	Nelson และ Somners, 1996
mineralized N	Aerobic incubation ในสภาพไร่นาและห้องปฏิบัติการ	Mulvaney, 1996
available P	สกัดด้วย Bray II พัฒนาสีด้วย ammonium molybdate, antimony potassium tartrate, ascorbic acid วัดด้วยเครื่อง spectrophotometer	Houba *et al.*, 1988b
exchangeable K	สกัดด้วย NH_4OAc 1 M pH 7 วัดโดย Flame photometer	Helmke และ Sparks, 1996
exchangeable Ca และ Mg	สกัดด้วย NH_4OAc 1 M pH 7 วัดโดย Atomic absorption spectrophotometer	Suarez, 1996
extractable Fe Mn Cu และ Zn	สกัดด้วย DTPA วัดโดย Atomic absorption spectrophotometer	Lindsay และ Norvell, 1978
Microbial biomass	วิธี Chloroform fumigation - extraction	Nunan *et al.*, 1998

3.2 การทดลองในห้องปฏิบัติการ

3.2.1 การศึกษาผลของน้ำสกัดชีวภาพต่อความสามารถในการปลดปล่อยอนินทรีย์ในโตรเจนของดินในอัตราของน้ำสกัดชีวภาพต่าง ๆ

ทำการศึกษาโดยการบ่มดินในห้องทดลอง โดยใช้การทดลองแบบ 2x3 Factorial แบบ CRD มี 3 ซ้ำ มีปัจจัยทดลอง 2 ปัจจัย ปัจจัยแรกคือชนิดของดิน ดินชนิดแรกได้จากพื้นที่ที่ใช้น้ำสกัดชีวภาพมาเป็นเวลา 3 ปี ดินชนิดที่ 2 เป็นดินที่ใช้ปุ๋ยเคมีมาโดยตลอด ปัจจัยที่ 2 เป็นอัตราการใส่น้ำสกัดชีวภาพ 3 อัตรา ได้แก่ 0 (ไม่ใส่น้ำสกัดชีวภาพ) ใส่น้ำสกัดชีวภาพเจือจางด้วยน้ำอัตรา 1:500 และเจือจางด้วยน้ำ อัตรา 1: 250 ตามลำดับ ใส่น้ำสกัดชีวภาพลงในดินตามอัตราดังกล่าวทุกๆ สัปดาห์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ในการบ่มดิน ดินแต่ละชนิดที่ผึ่งให้แห้งในที่ร่มและผ่านการร่อนด้วยตะแกรงขนาด 2 มม. จำนวน 25 กรัมใส่ถุงพลาสติก เติมน้ำสกัดชีวภาพที่เจือจางด้วยน้ำในอัตราส่วน 1:500 และอัตรา 1:250 ลงไปในดินแต่ละชนิดในปริมาณที่ทำให้ดินมีความชื้นประมาณ 60 % ของดินที่สามารถอุ้มน้ำไว้ได้ทั้งหมด ชั่งน้ำหนักของถุงพลาสติกที่มีตัวอย่างดินบรรจุอยู่เพื่อใช้ในการประเมินปริมาณน้ำที่จะต้องเพิ่มลงไปในตัวอย่างสำหรับการรักษาความชื้นให้อยู่ในระดับเดียวกันตลอดการทดลอง ในการใส่น้ำสกัดชีวภาพในช่วงสัปดาห์ที่ 2 และ 3 ใช้น้ำสกัดชีวภาพเข้มข้นเติมลงไปในตัวอย่างดินในถุงพลาสติก ในปริมาณเท่ากับที่ใช้เจือจางด้วยน้ำในช่วงต้นการทดลอง ทำการบ่มดินกับน้ำสกัดชีวภาพตามอัตราดังกล่าวโดยใส่น้ำสกัดชีวภาพทุกสัปดาห์รวมเป็น 4 สัปดาห์ นำดินที่บ่มได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณอนินทรีย์ในโตรเจนตามวิธีการตารางที่ 3 และรายละเอียดระบุในภาคผนวก ก

3.3 การวิเคราะห์ข้อมูล

เนื่องจากในการทดลองนี้ใช้พื้นที่เกษตรกรในการดำเนินงาน จึงไม่สามารถที่จะใช้แปลงทดลองที่มีกรรมวิธีทุกกรรมวิธีในแต่ละ block ได้ ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลในระหว่างกรรมวิธีแต่ละคู่ จึงใช้ t-test ซึ่งเป็นวิธีการวิเคราะห์ข้อมูลที่ Marafa และ Chau (1999) ใช้ในการเปรียบเทียบความแตกต่างของคุณสมบัติของดินในพื้นที่ที่มีไฟป่าทุกปีเป็นเวลา 6 ปีกับพื้นที่ซึ่งมีการเผาป่าเป็นปีแรก นอกจากการเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลระหว่างกรรมวิธีที่ต่างกันแล้วยังวิเคราะห์สหสัมพันธ์ระหว่างสมบัติของดินกับผลผลิตและการดูดใช้ธาตุอาหารพืชด้วย