บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วิธีการเลี้ยงและการเตรียมเชื้อก่อนนำไปพ่นแห้ง

3.1.1 เชื้อที่ใช้ในการทดลอง และการเพิ่มปริมาณเชื้อ

เชื้อที่ใช้คือไรโซเบียมชนิดโตช้า Bradyrhizobium สองสายพันธุ์ คือ *B. elkanii* GSY012 และ *B. japonicum* NA6080 ที่แยกได้บริสุทธิ์แล้ว มาเลี้ยงขยายเชื้อในอาหารเหลว

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อไรโซเบียม YMB (ดังแสดงในภาคผนวก ก) ดูดใส่ flask ขนาด 500 มล. ปริมาณ 200 ml จากนั้นเขี่ยเชื้อ Bradyrhizobium สายพันธุ์ GSY012 และ สายพันธุ์ NA 6080 ที่แยกได้บริสุทธิ์แล้วจาก slant ใส่ลงในอาหารที่เตรียมไว้ เลี้ยงไว้ประมาณ 3-5 วัน ขึ้นอยู่กับอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ เมื่อเลี้ยงเชื้อไรโซเบียมในอาหารเหลวจนสังเกตเห็นว่าเชื้อมีความขุ่นแล้ว จึงทำการตรวจนับปริมาณเชื้อ โดยใช้ Hemacytometer โดยต้องการให้เชื้อมีปริมาณสูงสุดที่ 10^9 เซลล์/มล.

3.1.2 วิธีการเตรียมเชื้อก่อนนำไปเข้าเครื่องพ่นแห้ง

การเตรียมเชื้อในส่วนที่ไม่เคลือบเซลล์

เมื่อได้เชื้อไรโซเบียมตามจำนวนที่ต้องการ (10^9 เซลล์/มล.) แล้วนำมาผสมกับทาลคัม ซึ่งใช้เป็นวัสดุพาหะมีลักษณะเป็นผงละเอียดสีขาว โดยใช้เชื้อ 200 มล. ต่อผงทาลคัม 1,000 กรัม (ให้มีเชื้อไรโซเบียมในอัตรา 10^8 เซลล์/กรัมของผงทาลคัม) แล้วนำไปทำให้เหลวโดยผสมน้ำกลั่น ให้มีผงแป้งทาลคัมอยู่ 25 % (ทาลคัม 1,000 กรัม ต่อน้ำ 4,000 มล.)

การเตรียมเชื้อในส่วนที่มีการเคลือบเซลล์

ในตำรับที่มีการเคลือบเซลล์ ก่อนที่จะนำเชื้อไปผสมกับทาลคัมจะทำการเคลือบเซลล์ด้วยสารเคลือบเซลล์ ในการทดลองนี้ใช้แป้งปียกเป็นสารเคลือบเซลล์โดยใช้ในอัตรา 20 มก. ต่อเชื้อไรโซเบียม 10^8 เซลล์/กรัม ซึ่งเตรียมจากนำแป้งมันสำปะหลัง 20 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 500 มล. นำไปต้มจนแป้งสุกมีลักษณะเหนียวใสทิ้งไว้ให้เย็น นำเชื้อไรโซเบียมที่ต้องการเคลือบเซลล์ใส่ลงไปใน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แป้งเปียกเขย่าให้เข้ากัน แล้วทิ้งไว้ประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้เชื้อมีการปรับตัว แล้วจึงนำไปผสมกับผงทาลคัมและน้ำกลั่นต่อไปตามลำดับ

3.1.3 การพ่นแห้ง (spray drying)

การผลิตหัวเชื้อไรโซเบียมโดยวิธีการพ่นแห้งได้ทำการทดลองที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ จังหวัดเชียงใหม่โดยมีขั้นตอนคือใส่สารละลายเชื้อลงในถังจ่ายซึ่งต่อกับท่อที่ปลายท่อมีหัวฉีดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.2 mm สารละลายเชื้อจะถูกพ่นด้วยอัตราเร็วประมาณ 16 มล./นาที เข้าไปในห้องอบที่จะทำให้ผงเชื้อแห้ง (drying chamberเส้นผ่าศูนย์กลาง 1 ม. และยาว 5 ม.)โดยกำหนดให้มีอุณหภูมิภายใน (inlet air temperature) อยู่ที่ 70°C และมีอุณหภูมิภายนอก (outlet air temperature) เท่ากับ 40°C ผงของหัวเชื้อไรโซเบียมที่พ่นแห้งออกมาจะถูกบรรจุลงในถุงพลาสติกแล้วปิดปากถุงให้สนิทนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 25°C

3.1.4 การปรับความชื้นของหัวเชื้อที่ได้จากการพ่นแห้ง

หาเปอร์เซ็นต์ความชื้นของหัวเชื้อที่ได้จากการพ่นแห้งโดย ชั่งหัวเชื้อ จำนวน 10 กรัม ใส่ลงใน plate ที่ทราบน้ำหนักที่ทราบน้ำหนักแล้ว แล้วนำไปอบที่ 110°C นาน 48 ชั่วโมง แล้วนำออกมาชั่งหาน้ำหนักแห้ง แล้วนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น โดยใช้สูตรในการคำนวณดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนอบ-น้ำหนักภายหลังอบ}}{\text{น้ำหนักภายหลังอบ}} \times 100$$

หลังจากนั้นปรับความชื้นของหัวเชื้อด้วยน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วให้มีเปอร์เซ็นต์ความชื้นเท่ากับ 3 และ 5% ส่วนหัวเชื้อที่มีความชื้นเกิน 3-5% ให้นำหัวเชื้อไปผึ่งให้แห้งในตู้ปลอดเชื้อแล้วจึงนำมาหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น

ในการพ่นแห้งหัวเชื้อไรโซเบียมได้แบ่งออกเป็น 8 ตำรับ ตำรับละ 3 ซ้ำ ดังนี้

ตำรับที่1. ผงแป้ง Talcum + เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ GSY012 ความชื้น 3%

ตำรับที่2. ผงแป้ง Talcum + เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ GSY012 ความชื้น 5%

ตำรับที่3. ผงแป้ง Talcum + เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ GSY012 + แป้งเปียก 10% (ของปริมาณเชื้อ) ความชื้น 3%

ตำรับที่4 ผงแป้ง Talcum + เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ GSY012 + แป้งเปียก 10% (ของปริมาณเชื้อ) ความชื้น 5%

ตำรับที่5. ผงแป้ง Talcum + เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ NA6080 ความชื้น 3%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตำรับที่6. ผงแป้ง Talcum + เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ NA6080 ความชื้น 5%

ตำรับที่7. ผงแป้ง Talcum + เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ NA6080 + แป้งเปียก 10% (ของปริมาณเชื้อ) ความชื้น 3%

ตำรับที่8. ผงแป้ง Talcum + เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ NA6080 + แป้งเปียก 10% (ของปริมาณเชื้อ)ความชื้น 5

3.2 การศึกษาการมีชีวิตรอดของเชื้อไรโซเบียม

3.2.1 การปลูกถั่วเพื่อใช้ในการทดสอบหัวเชื้อไรโซเบียม

ใช้เมล็ดถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์ เชียงใหม่ 1 มาทำการฆ่าเชื้อที่ผิวโดยขั้นตอนนี้จะทำในตู้ปลอดเชื้อ เริ่มจาก แช่เมล็ดถั่วในเอทานอลเข้มข้น 95 % นาน 5 นาที ต่อจากนั้นแช่ในคลอรอกซ์ (Clorox) เข้มข้น 3% นาน 1 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วอีก 4-5 ครั้งนำไปเพาะในจานเพาะที่มีกระดาษทิชชูและน้ำกลั่นที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ประมาณ 2-3 วัน เมื่อเมล็ดถั่วมีรากโผล่ออกมาเล็กน้อย ใช้ปากคีบที่ฆ่าเชื้อแล้วคีบต้นถั่วไปปลูกในถุงปลูกขนาด 5×8 ซม. ที่มีกระดาษเซลลูโลสที่สามารถดูดซับน้ำได้สูงบรรจุอยู่ภายใน (plastic growth pouch) โดยจะใช้เมล็ดถั่ว 1 เมล็ดต่อถุง แล้วใช้สารละลายสำหรับปลูกถั่ว (N free medium) ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้วใส่ลงในถุงปลูก เมื่อต้นถั่วมีอายุครบ 1 สัปดาห์ จึงทำการปลูกถ่ายหัวเชื้อไรโซเบียมที่ได้จากการพ่นแห้งลงไปบริเวณรากของต้นถั่ว นำถุงปลูกถั่วที่มีต้นถั่วที่ได้รับการปลูกถ่ายเชื้อแล้วไปวางไว้ในที่มีแสง ที่ความเข้มแสง 7,000 ลักส์ เป็นเวลาประมาณ 2-3 สัปดาห์ โดยต้องระวังไม่ให้สารละลายสำหรับปลูกถั่วในถุงปลูกแห้ง

3.2.2 การปลูกถ่ายหัวเชื้อไรโซเบียมผงแป้งที่ได้จากการพ่นแห้ง

เมื่อต้นถั่วมีอายุครบ 1 สัปดาห์ ทำการปลูกถ่ายหัวเชื้อโดยการทำสารละลายหัวเชื้อให้เจือจางลงครั้งละ 10 เท่าเป็น10^{-1} ,10^{-2},10^{-3}…10^{-9} แล้วเติมสารละลายหัวเชื้อแต่ละความเข้มข้นจำนวน 1 มล. ลงในถุงปลูกถั่วที่มีต้นกล้าถั่วเจริญอยู่แล้ว ทำ 4 ซ้ำต่อความเข้มข้น หลังจากคลุกเชื้อแล้วประมาณ 2-3 สัปดาห์สังเกตการณ์เกิดปมที่บริเวณรากถั่ว

การนับปริมาณเชื้อไรโซเบียม ใช้วิธี most probable number (MPN) นับปริมาณเชื้อไรโซเบียมจากจำนวนต้นถั่วที่เกิดปมในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน การคำนวณเซลล์ของไรโซเบียมต่อกรัมของหัวเชื้อจากการพ่นแห้ง ใช้วิธีของ Vincent (1982) (ดังแสดงในภาคผนวก ก)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.3 การทดสอบประสิทธิภาพการเข้าสร้างปมและการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองในกระถางทดลอง

3.3.1 การเตรียมกระถาง

การทดสอบประสิทธิภาพการเข้าสร้างปมและการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองในกระถางทดลอง ดำเนินการ ณ สถานีวิจัยแม่เหียะ โดยใช้ดินในบริเวณที่ไม่เคยมีการปลูกถั่วมาก่อนซึ่งมีคุณสมบัติดังนี้คือปริมาณไนโตรเจนเท่ากับ 0.02 % ปริมาณฟอสฟอรัสเท่ากับ 52 ppm และปริมาณโพแทสเซียมเท่ากับ 203 ppm มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5.5 โดยใส่ปุ๋ย ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมรองพื้นในอัตรา 0 – 9 – 6 นำดินบรรจุลงในกระถางที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 นิ้ว จำนวน 10 กก./กระถาง ในการปลูกใช้เมล็ดถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์เชียงใหม่ 1 จำนวน 3 เมล็ด/กระถาง เมล็ดถั่วที่ปลูกจะได้รับการคลุกหัวเชื้อไรโซเบียมที่ได้จากการพ่นแห้งก่อนหน้านี้ มา 2 ตำรับที่มีปริมาณเชื้อสูงที่สุด ซึ่งก็คือเชื้อจากผงแป้งตำรับที่ 3 (ผงแป้ง Talcum ที่มีเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ GSY012 ที่เคลือบเซลล์ด้วยแป้งเปียก ความชื้น 3%) และ เชื้อจากผงแป้งตำรับที่ 8 (ผงแป้ง Talcum + เชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ NA6080 + แป้งเปียก 10% ความชื้น 5%)โดยนำมาคลุกเมล็ดถั่วเหลืองโดยให้มีปริมาณเชื้อ 10^6,10^5,10^4, 10^3 เซลล์/เมล็ด เปรียบเทียบกับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราแนะนำ และ การใส่หัวเชื้อจากผงพีทที่ผลิตในทางการค้าในอัตราแนะนำ โดยหลังจากถั่วงอก 7 วัน ถอนให้เหลือ 1 ต้น/กระถาง รดน้ำวันละ 2 ครั้ง เช้าเย็นโดยใช้น้ำครั้งละ 0.5 ลิตร/กระถาง การทดลองใช้แผนการทดลอง CRD มี 6 ซ้ำ และมีตำรับการทดลอง 11 ตำรับ ดังนี้

ตำรับ 1. ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนไม่ใส่เชื้อ (Control)

ตำรับ 2. ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราแนะนำ สูตร 46-0-0 อัตรา 24 กิโลกรัม/ไร่

ตำรับ 3. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียมผงพีทอัตราแนะนำ (200g /เมล็ด 15 กก.)

ตำรับ 4. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ GSY 012 อัตรา 10^6 เซลล์/เมล็ด (95.05 ก./เมล็ด 5 ก.)

ตำรับ 5. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ GSY 012 อัตรา 10^5 เซลล์/เมล็ด (10.65ก./เมล็ด 5 ก.)

ตำรับ 6. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ GSY 012 อัตรา 10^4 เซลล์/เมล็ด (0.95ก./เมล็ด 5 ก.)

ตำรับ 7. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ NA 6080 อัตรา 10^3 เซลล์/เมล็ด (0.1ก./เมล็ด 5 ก.)

ตำรับ 8. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ NA 6080 อัตรา 10^6 เซลล์/เมล็ด (67.5ก./เมล็ด 5 ก.)

ตำรับ 9. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ NA 6080 อัตรา 10^5 เซลล์/เมล็ด (6.5ก./เมล็ด 5 ก.)

ตำรับ 10. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ NA 6080 อัตรา 10^4 เซลล์/เมล็ด (0.6ก./เมล็ด 5 ก.)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตำรับ 11. ใส่หัวเชื้อไรโซเบียมสายพันธุ์ NA 6080 อัตรา 10^3 เซลล์/เมล็ด (0.06ก./เมล็ด 5 ก.)

ในตำรับการทดลองที่ 2 ใส่ปุ๋ย 46-0-0 อัตรา 12 กก. /ไร่ 0-50-0 อัตรา 9 กก. /ไร่ และ ปุ๋ย 0-0-60 อัตรา 6 กก. /ไร่ วิธีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในตำรับที่ 2 แบ่งใส่ 2 ครั้ง ใส่ครั้งแรกพร้อมปลูกและใส่ครั้งที่ 2 เมื่อถั่วเหลืองอายุ 35 วัน

3.3.2 การเก็บข้อมูล

3.3.2.1 เก็บข้อมูลในระยะถั่วเหลืองออกดอก (ระยะ R1 คือประมาณ 30-35วันหลังปลูก) จำนวน 3 ซ้ำ

น้ำหนักแห้งของส่วนที่อยู่เหนือดิน

ตัดต้นถั่วเหลืองฝักสดใต้ข้อแรกลงไปให้ชิดดินมากที่สุดด้วยกรรไกร นำไปเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 70° C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงนำมาชั่งน้ำหนักแห้ง

การประเมินประสิทธิภาพของเชื้อไนโตรเจนโดยวิธี Acethylene Reduction Assay

ประกอบด้วยขั้นตอนโดยสังเขปต่อไปนี้

1. เก็บตัวอย่างรากถั่วที่มีปมติดอยู่ โดยตัดส่วนของลำต้นออกตั้งแต่ข้อแรก แยกเอาดินออกโดยพยายามอย่าให้ปมหลุด

2. ใส่ตัวอย่างรากถั่วกับปมที่ติดอยู่กับรากทั้งหมดลงในขวดแก้วที่ทราบปริมาตรที่แน่นอน ปิดด้วยฝาหรือจุกยางให้แน่น

3. ดูดอากาศออกจากขวดแก้วประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรขวดด้วยกระบอกฉีดยา แล้วฉีดแก๊สอะเซทิลีนลงไปแทนที่อากาศ

4. บ่มไว้เป็นเวลา 30 นาที

5. ดูดแก๊สจากขวดที่บ่มไว้ เพื่อนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง gas chromatograph(GC)(ยี่ห้อ ShimaZu GC 14-B)

การวิเคราะห์หาปริมาณอะเซทิลีนที่เปลี่ยนไปเป็นเอทิลีนนั้น ทำได้โดยการเปรียบเทียบความสูงของกราฟที่เกิดขึ้นของเอทิลีนเมื่อฉีดแก๊สตัวอย่างกับเมื่อใช้แก๊สอะเซทิลีนบริสุทธิ์เป็นมาตรฐาน (วิธีคำนวณแสดงในภาคผนวก ก)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

น้ำหนักแห้งของปม และจำนวนปม

ขุดรากถั่วทุกต้นในแต่ละตำรับ ล้างรากด้วยน้ำสะอาด แกะปมออกจากรากนับจำนวนปม และนำปมที่ได้เข้าอบแห้งที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 48 ชม. หลังจากนั้นจึงนำมาชั่งหาน้ำหนักแห้ง

น้ำหนักแห้งราก

ขุดรากถั่วทุกต้นในแต่ละตำรับ ล้างรากด้วยน้ำสะอาด นำเข้าอบแห้งที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 48 ชม. หลังจากนั้นจึงนำมาชั่งหาน้ำหนักแห้ง

3.3.2.2 เก็บข้อมูลในระยะเก็บเกี่ยวผลผลิต(ระยะ R6 คือประมาณ 65-70 วันหลังปลูก)

น้ำหนักแห้งของส่วนที่อยู่เหนือดิน

ตัดต้นถั่วเหลืองฝักสดใต้ข้อแรกลงไปให้ชิดดินมากที่สุดด้วยกรรไกร นำไปเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 70° C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นจึงนำมาชั่งน้ำหนักแห้ง

น้ำหนักแห้งของปมและจำนวนปม

ขุดรากถั่วทุกต้นในแต่ละตำรับ ล้างรากด้วยน้ำสะอาด แกะปมออกจากรากนับจำนวนปม และนำปมที่ได้เข้าอบแห้งที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 48 ชม. หลังจากนั้นจึงนำมาชั่งหาน้ำหนักแห้ง

น้ำหนักแห้งราก

ขุดรากถั่วทุกต้นในแต่ละตำรับ ล้างรากด้วยน้ำสะอาด นำเข้าอบแห้งที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 48 ชม. หลังจากนั้นจึงนำมาชั่งหาน้ำหนักแห้ง

จำนวนฝัก

นับจำนวนฝักที่เกิดขึ้นในแต่ละตำรับการทดลอง

น้ำหนักแห้งเมล็ด

ผึ่งฝักให้แห้งในที่ที่มีแสงแดด เมื่อฝักมีลักษณะแห้งกรอบแล้วกระเทาะเอาเมล็ดออกจากฝักแล้วชั่งหาน้ำหนักแห้งของเมล็ด

วิเคราะห์สัดส่วนของสารประกอบไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมในตัวอย่างเนื้อเยื่อของลำต้นแห้ง

หลังจากชั่งน้ำหนักของลำต้นแห้งที่อบแล้ว นำตัวอย่างไปบดด้วยเครื่องบดตัวอย่างพืชให้ละเอียดแล้วนำไปวิเคราะห์หาสัดส่วนของสารประกอบไนโตรเจนตามวิธีการ ดังแสดงในภาคผนวก ก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 7 วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างพืช

การวิเคราะห์	วิธีการหาความเข้มข้น*	เอกสารอ้างอิง
total N	ย่อยตัวอย่างพืชโดยชั่งตัวอย่าง 0.5000 g ใส่กรดย่อยตั้งทิ้งไว้ 1 คืน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น แล้วนำมากลั่นหาปริมาณไนโตรเจนโดยใช้ NaOH 40% เติมลงในหลอดกลั่นที่มีสารละลายตัวอย่างอยู่ 25 ml. รองรับสารที่กลั่นได้ด้วย Boric 15 ml. แล้วนำไปไตเตรทหาปริมาณไนโตรเจนโดยใช้ H_2SO_4	Bremner, 1965
total P	ดูดสารละลายตัวอย่างที่ย่อยแล้วมา 5 ml. ใส่ใน volumetric flask 25 ml. เติม Mixed reagent จำนวน 5 ml. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น เขย่าตั้งทิ้งไว้ 20 นาที แล้วนำไปวัดค่าความเข้มของแสงที่เกิดขึ้น โดยเปรียบเทียบกับ standard curve	ศรีสม, 2544
total K	ดูดสารละลายตัวอย่างที่ได้การย่อยจำนวน 1 ml. ลงใน Volumetric flask 100 ml. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น อ่านค่าด้วยเครื่อง Flame photometer	Helmke และ Sparke, 1996

3.4 การทดสอบประสิทธิภาพการเข้าสร้างปมและการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองในแปลง

การทดลองในแปลงทดลองดำเนินการ ณ สถานีวิจัยแม่เหียะ ในพื้นที่ที่ไม่ได้ผ่านการปลูกถั่วมาก่อน โดยการทดลองดำเนินการในช่วงเดือนกันยายน พ.ศ. 2549 ถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2549 โดยใช้ถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์ สจ.5 แปลงทดลองมีขนาด 3 x 5 เมตร โดยใช้ระยะปลูก 50 x 25 ซม. โดยใช้เมล็ด 3 เมล็ด/หลุม แต่ถอนแยกให้เหลือ 1 ต้น/หลุมหลังจากปลูกได้ 14 วัน

การทดลองใช้แผนการทดลองแบบ CRD มี 3 ซ้ำ และมีตำรับการทดลอง 6 ตำรับ ดังนี้

ตำรับที่1 ไม่คลุกเชื้อไรโซเบียม และไม่ใส่ปุ๋ยยูเรีย (control)
ตำรับที่2 ไม่คลุกเชื้อไรโซเบียมแต่ใส่ปุ๋ยยูเรียในอัตรา 24 กก. N/ไร่
ตำรับที่3 คลุกหัวเชื้อไรโซเบียมชนิดผงพีทในอัตราแนะนำ(200g /เมล็ด 15 กก.)
ตำรับที่4 คลุกหัวเชื้อไรโซเบียมจากการพ่นแห้งในอัตรา 10^5 เซลล์/เมล็ด
ตำรับที่5 คลุกหัวเชื้อไรโซเบียมจากการพ่นแห้งในอัตรา 10^4 เซลล์/เมล็ด
ตำรับที่6 คลุกหัวเชื้อไรโซเบียมจากการพ่นแห้งในอัตรา 10^3 เซลล์/เมล็ด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.4.1 วิธีการให้น้ำและการจัดการศัตรูพืช

ตารางที่ 8 แสดงการใช้สารเคมีกำจัดศัตรูพืช

อายุหลังจากหยอดเมล็ด (วัน)	การปฏิบัติ
6-7	พ่น ฮอสตาธีออน 2 มล. /น้ำ2ลิตร (ต้องพ่นก่อนให้น้ำ 1-2 วัน)
15-20	ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 12 กก./ไร่(โรยข้างต้น)ในตำรับการทดลองที่ 2
25-30	พ่นฮอสตาธีออน 45(1 กรัม /น้ำ 1ลิตร)
40-45	พ่นฮอสตาธีออน ผสมกับเบโนมิล(เบนเลทไอดีน) อัตรา 1.5 กรัม /น้ำ 1 ลิตร
60-65	พ่นเบนเลทโอดี

* รดน้ำ ทุก 10- 14 วัน ส่วนวัชพืชกำจัดโดยการถอนทิ้ง

3.4.2 การเก็บข้อมูล

เก็บตัวอย่างต้นถั่วจากแปลงทดลองแต่ละแปลงโดยใช้พื้นที่ 2×4 ตารางเมตรต่อแปลง โดยเก็บข้อมูลเช่นเดียวกันกับการทดลองในกระถาง

3.5 การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ทางสถิติใช้ analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของสิ่งทดลองโดยวิธี DMRT (Duncan's multiple range test) ที่ความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม STAT ISTIC version 8 และ IRRISTAT

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved