

## อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาถึงผลของความชื้นและอุณหภูมิต่อสีและคุณภาพเมล็ดพันธุ์โดยปลูกถั่วเหลืองที่ใช้ในงานวิจัยระหว่างเดือน มกราคม 2540 ถึงเมษายน 2541 ที่แปลงปฏิบัติการภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ พันธุ์ที่ใช้คือเชียงใหม่ 60 และเก็บตัวอย่างถั่วเหลืองนำมาเข้าสู่กรรมวิธีต่างๆ ที่ศึกโครงการวิจัยวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและห้องปฏิบัติการวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

### การจัดการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ split split plot in RCBD (randomized complete block design) โดยกำหนดให้ระยะเวลาเก็บเกี่ยวถั่วเหลืองเป็น main plot แบ่ง 2 ระยะคือ

1. ระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา (physiological maturity: PM) คือ ระยะที่มีใบและลำต้นเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลืองประมาณ 70 % มีเพียงส่วนยอดและกิ่งแขนงที่ยังคงมีสีเขียวอยู่ ฝักเปลี่ยนเป็นสีเหลืองที่ข้อใดข้อหนึ่งบนลำต้นหลัก

2. หลังระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา 10 วัน คือระยะที่ใบและลำต้นเปลี่ยนเป็นสีเหลืองหมด และมีบางส่วนเริ่มเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล ฝักประมาณ 70% เป็นสีเหลือง บางส่วนเริ่มเป็นสีน้ำตาล

กำหนดสีฝักขณะเก็บเกี่ยวเป็น sub plot แบ่ง 2 กลุ่ม

1. ฝักสีเขียว คือฝักที่มีสีเขียวทั้งฝัก
2. ฝักสีเหลือง คือฝักที่มีสีเหลืองมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์

กำหนดความชื้นเริ่มต้นของฝักถั่วเหลืองก่อนบ่มเป็น sub sub plot แบ่ง 3 ระดับ

1. ความชื้นสูงประมาณ 24 เปอร์เซ็นต์
2. ความชื้นปานกลาง ประมาณ 19 เปอร์เซ็นต์
3. ความชื้นต่ำประมาณ 14 เปอร์เซ็นต์

กำหนดอุณหภูมิในการบ่มเป็น sub sub sub plot แบ่ง 4 ระดับ

1. อุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส)
2. อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส
3. อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส
4. อุณหภูมิ 46 องศาเซลเซียส

โดยเก็บถั่วเหลืองทั้งต้นที่ระยะต่างๆ นำมาแยกฝักออกจากต้นแบ่งฝักออกเป็น 2 ชนิดคือ ฝักสีเขียว(green pod)มีสีเขียวทั้งฝัก และฝักสีเหลือง(yellow pod) ที่เปลือกมีสีเหลืองมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้นนำฝักถั่วเหลืองมาลดความชื้นโดยใช้ตู้อบ ที่อุณหภูมิค่าซึ่งไม่ก่อให้เกิดอันตรายกับเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองประมาณ 32 -35 องศาเซลเซียส โดยเกลี่ยฝักถั่วเหลืองเป็นชั้นบางอย่างสม่ำเสมอบนถาดตั้งกะสีนำไปในตู้อบลดความชื้น หลังจากนั้นทำการเกลี่ยเพื่อกลับตัวอย่างด้วยมือทุกหนึ่งชั่วโมงและสุ่มตัวอย่างเพื่อตรวจสอบความชื้นระยะแรกๆทุก 2 ชั่วโมงและระยะหลัง ทุก 1 ชั่วโมง ฝักถั่วเหลืองที่ความชื้นต่างๆจะใช้ระยะเวลาแตกต่างกันในการลดความชื้น โดยฝักที่ความชื้น 24 % ใช้เวลา 50 ชั่วโมง ที่ความชื้น 19 % ใช้เวลา 52 ชั่วโมง และที่ความชื้น 14 % ใช้เวลา 55 ชั่วโมง สุ่มตัวอย่างฝักถั่วเหลืองเพื่อวัดคุณสมบัติเริ่มต้นของเมล็ดตามที่กำหนด นำฝักถั่วเหลืองที่ความชื้นต่างๆมาเก็บที่อุณหภูมิที่กำหนดในOven โดยบรรจุในกล่องกระดาษเจาะรูเพื่อการระบายอากาศในชั้นถั่วเหลือง ทำการเก็บตัวอย่างด้วยวิธีการสุ่มทุกวันเป็นระยะเวลา 4 วันนำมาวัดคุณสมบัติต่างๆของเมล็ด

ข้อมูลที่เกิดขึ้นและวิธีการวัดคุณสมบัติของเมล็ด

#### 1. การวัดสีด้วยเครื่องChromameter

การวัดการเปลี่ยนแปลงสีของเมล็ดถั่วเหลืองสามารถทำได้ โดยการนำใส่ลงในกระป๋องอะลูมิเนียม โดยให้ระดับของเมล็ดเสมอกับขอบด้านบนของกระป๋องอะลูมิเนียม กดหัววัดให้สัมผัสกับผิวเมล็ดถั่วมากที่สุดบันทึกข้อมูลซึ่งประกอบด้วยค่าL, a และb ซึ่งค่า L คือค่าแสดงความสว่างของสีเมล็ด ค่า a แสดงสีเขียวและ ค่า b แสดงถึงสีเหลืองของเมล็ด ทำการวัดทั้งหมด 3 ครั้ง เพื่อคำนวณค่าเฉลี่ย โดยแต่ละครั้งก่อนวัดต้องคลุกเคล้าเมล็ดให้กระจายสม่ำเสมอก่อนด้วยการใช้ฝ่ากระป๋องปิดและเขย่า

#### 2. การตรวจสอบความชื้นของเมล็ด ฝักถั่วเหลือง

นำเมล็ดถั่วเหลืองที่ได้จากการสุ่ม ไปทดสอบความชื้นด้วยวิธี hot air oven method (นงลักษณ์, 2528) กรณีที่เมล็ดมีความชื้นสูงกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ ต้องทำการลดความชื้นของเมล็ดลงระดับหนึ่งก่อน โดยการนำถั่วเหลืองไปอบที่อุณหภูมิประมาณ 70 องศาเซลเซียสประมาณ 2-5

ชั่วโมงนำมา บดด้วยเครื่องบดและชั่งน้ำหนักก่อนอบใส่ลงในกระป๋องอะลูมิเนียม นำเข้าอบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักหลังอบ คำนวณความชื้นเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักสด(wet weight basis) ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนอบ} - \text{น้ำหนักหลังอบ}}{\text{น้ำหนักก่อนอบ}} * 100$$

สำหรับถั่วเหลือง ที่มีความชื้นสูงต้องทำการลดความชื้นในขั้นแรกก่อนและตามด้วยขั้นที่ 2 สามารถคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นได้ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{M1 + M2 - \frac{(M1 * M2)}{100}}{100}$$

M1 คือเปอร์เซ็นต์ความชื้นที่ได้จากการลดความชื้นในขั้นที่ 1

M2 คือเปอร์เซ็นต์ความชื้น ที่ได้จากการลดความชื้นในขั้นที่ 2

### 3. น้ำหนัก 100 เมล็ด

นำเมล็ดลดความชื้นจนกระทั่งเมล็ดแห้งสนิท สุ่มกรรมวิธีละ 100 เมล็ด ทำการชั่งน้ำหนักแห้งเมล็ด(seed dry weight) รายงานน้ำหนักเป็น กรัมต่อ 100 เมล็ด

### 4. เปอร์เซ็นต์เมล็ดเขียว

สุ่มเมล็ดถั่วเหลือง 100 เมล็ดแยกทีละเมล็ดออกจากกัน โดยแบ่งเป็นเมล็ดคิและเมล็ดเขียว นำเมล็ดทั้งสองชนิดมาทำการชั่งน้ำหนัก และคำนวณเปอร์เซ็นต์เมล็ดเขียวรายงานเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก

## 5. ปริมาณคลอโรฟิลล์ของเมล็ดถั่วเหลือง

นำเมล็ดถั่วเหลืองที่ได้จากการสุ่มจากแต่ละกรรมวิธี ตรวจสอบปริมาณคลอโรฟิลล์ด้วยวิธีของMackinney(Amon, 1949) นำเมล็ด บดให้ละเอียดด้วยเครื่องบดเมล็ดซึ่งน้ำหนักเมล็ดที่บดแล้ว 5 กรัมใส่ลงในขวดกลุขมพู่ เคมีสารละลายอะซิโตน(aqueous acetone ) 80 เปอร์เซ็นต์ซึ่งเป็นตัวทำละลายปริมาตร 20 มิลลิลิตร ปิดฝาด้วยกระดาษฟลอยด์ เขย่าขวดเพื่อให้เมล็ดกระจายทิ้งไว้ประมาณ30 นาที จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์1 นำสารละลายที่กรองได้ปรับปริมาตรด้วยอะซิโตน 80 เปอร์เซ็นต์จนกระทั่งมีปริมาตร20 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง(absorbance) ด้วยเครื่องSpectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง645 และ663 นาโนเมตรโดยใช้อะซิโตนเป็น blank บันทึกข้อมูลนำมาคำนวณปริมาณคลอโรฟิลล์ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{Chlorophyll a} = 0.0127 D_{663} - 0.00269 D_{645} * \frac{\text{final volume}}{100 * \text{weight(g)}} * 100$$

$$\text{Chlorophyll b} = 0.0229 D_{645} - 0.00468 D_{663} * \frac{\text{final volume}}{100 * \text{weight(g)}} * 100$$

$$\text{Total chlorophyll} = 20.2 D_{645} - 8.02 D_{663}$$

D645 คือค่าOD ที่ความยาวคลื่น 645 นาโนเมตร

D663 คือค่า OD ที่ความยาวคลื่น 663 นาโนเมตร

## 6. คุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

### 6.1 ความแข็งแรงของเมล็ด(seed vigor test)

ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์สามารถทดสอบได้หลายวิธีด้วยกัน สำหรับวิธีที่ใช้ในการทดลองนี้คือการวัดดัชนีการงอกของเมล็ด (germination Index)(จวงจันท์, 2529) สำหรับการทดลองนี้ไม่ได้ใช้วิธีมาตรฐาน เนื่องจากตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองมีไม่เพียงพอ ซึ่งเป็นข้อจำกัดของขนาดตู้ลดความชื้นที่ใช้นั้น จึงไม่สามารถทำการเพิ่มตัวอย่างให้มากกว่านี้ได้ จึงต้องให้ตัวอย่างชุดเดียวกับที่ใช้ในการทดสอบความงอก โดยการนำเมล็ดถั่วเหลืองที่ได้จากการสุ่มของแต่ละกรรมวิธีมาเพาะลงบนกระดาษเพาะ นำเก็บที่อุณหภูมิห้องประมาณ 25 องศาเซลเซียส ในช่วงที่ทำ

การทดสอบต้องรักษาความชื้นให้คงที่ประมาณ 100 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนับจำนวนเมล็ดที่งอกในแต่ละวัน เนื่องจากผู้ทำการทดสอบจำเป็นต้องตั้งเกณฑ์ของต้นกล้าจำนวนมากที่จะตรวจนับขึ้นเอง (จวงจันทร์, 2529) ในการทดลองนี้จึงได้ตั้งเกณฑ์ว่าเมื่อรากงอก 0.5-1.0 เซนติเมตร นับเป็นต้นกล้าที่งอก นำข้อมูลที่ได้คำนวณดัชนีการงอกได้จากสมการ

$$\text{ดัชนีการงอกของเมล็ดพันธุ์} = \frac{\text{ผลบวกของ(จำนวนต้นกล้าที่งอก)}}{\text{จำนวนวันหลังเพาะ}}$$

## 6.2 ความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง

ความงอกของเมล็ดพันธุ์ทดสอบได้ด้วยวิธีเพาะบนกระดาษเพาะ (between paper test) นำกระดาษเพาะชุบน้ำให้ทั่วรีดน้ำส่วนเกินออก วางกระดาษลงบนพื้นราบ นำเมล็ดที่ต้องการทดสอบวางเรียงบนกระดาษเพาะจำนวน 50 เมล็ด ปิดทับด้วยกระดาษอีกชั้นหนึ่ง จากนั้นม้วนกระดาษนำเก็บในตู้เพาะที่ความชื้น 100 เปอร์เซ็นต์อุณหภูมิ ประมาณ 25 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 8 วัน ทำการนับจำนวนต้นที่งอกในวันที่ 5 และ 8 ซึ่งแบ่งเป็นลักษณะต่างๆคือ ต้นงอกปกติ ต้นผิดปกติ เมล็ดแข็ง คำนวณเปอร์เซ็นต์ความงอกจากจำนวนต้นกล้าที่งอกปกติ

### การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติด้วยวิธี analysis of variance และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธี ด้วยวิธี LSD. (least significant difference test)