

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และระเบียบวิธีวิจัย

1. วัสดุ และอุปกรณ์

1.1 วัสดุ และอุปกรณ์ ภาคสนาม

- 1.1.1 ต้นลองกองอายุ 8 - 12 ปี จำนวน 100 ต้น
- 1.1.2 ต้นลองกองอายุ 11 ปี จำนวน 25 ต้น
- 1.1.3 แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) ความบริสุทธิ์ 99.99 % ยี่ห้อ Merck
- 1.1.4 สังกะสีซัลเฟต ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) ความบริสุทธิ์ 99.99 % ยี่ห้อ Merck
- 1.1.5 ทองแดงซัลเฟต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) ความบริสุทธิ์ 99.99 % ยี่ห้อ Merck
- 1.1.6 ปุ๋ยธาตุอาหารจุลภาคแบบรวม
ประกอบด้วยแมกนีเซียม 2.4 %, เหล็ก 1.5%, แมงกานีส 1.5%, สังกะสี 0.5%,
ทองแดง 0.5 %, โบรอน 0.3 %, โมลิบดีนัม 0.03 % และโคบอลต์ 0.03 %
- 1.1.7 ปุ๋ยแอมโมเนียมซัลเฟต (21-0-0)
- 1.1.8 ปุ๋ยโพแทสเซียมคลอไรด์ (0-0-60)

1.2 วัสดุ และอุปกรณ์ ในห้องปฏิบัติการ

- 1.2.1 ตะแกรงร่อนดิน ที่มีขนาดช่องผ่าน 2 มิลลิเมตร
- 1.2.2 โกร่งบดดิน
- 1.2.3 โถดูดความชื้น
- 1.2.4 เครื่องแก้วสำหรับการวิเคราะห์ทางเคมี
- 1.2.5 เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์บชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์
(atomic absorption spectrophotometer, AAS)
ยี่ห้อ Perkin-Elmer รุ่น AA 100
- 1.2.6 เครื่องเฟลมโฟโตมิเตอร์ (flame photometer)
ยี่ห้อ Corning รุ่น M 410
- 1.2.7 เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer)
ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น UV-1201

- 1.2.8 เครื่องชั่ง (balance) 4 ตำแหน่ง
ยี่ห้อ Mettler-Toledo รุ่น AT 261 DeltaRang
- 1.2.9 เครื่องวัดปฏิกิริยาติน (pH meter)
ยี่ห้อ Mettler-Toledo รุ่น Delta 345
- 1.2.10 เครื่องกลั่นไนโตรเจน (nitrogen distillation)
ยี่ห้อ Gerhardt รุ่น VAP 2
- 1.2.11 ตู้อบลมร้อนแบบควบคุมอุณหภูมิ (hot air oven)
ยี่ห้อ Memmert รุ่น U 40
- 1.2.12 เครื่องย่อยตัวอย่างแบบควบคุมอุณหภูมิ (digestion block)
ยี่ห้อ BioSan รุ่น TDB-400
ยี่ห้อ Gerhardt รุ่น KT 40
- 1.2.13 เครื่องให้ความร้อนแบบควบคุมอุณหภูมิ (hot plate)
ยี่ห้อ STUART SCIENTIFIC รุ่น SH 3
- 1.2.14 เครื่องต้มน้ำแบบควบคุมอุณหภูมิ (heating water bath)
ยี่ห้อ Memmert รุ่น WB 7
- 1.2.15 เครื่องกลั่นน้ำ (water distillation)
ยี่ห้อ Aquarius รุ่น GS-60
- 1.2.16 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge)
ยี่ห้อ Kokousan รุ่น -700
- 1.2.17 เครื่องเขย่า (shaker)
ยี่ห้อ Denley รุ่น RECIPROCAL MIXER
- 1.2.18 เครื่องบดตัวอย่างพืช (sample mill)
ยี่ห้อ Hitachi รุ่น H
- 1.2.19 สารเคมี
- 1.2.19.1 1, 10 ฟิแนนโทรลีน (1,10-phenanthroline monohydrate: $C_{12}H_8N_2 \cdot H_2O$)
- 1.2.19.2 กรดซัลฟิวริก เข้มข้น 98 % (98 % sulfuric acid: H_2SO_4)
- 1.2.19.3 กรดไนตริก เข้มข้น 65 % (65 % nitric acid: HNO_3)
- 1.2.19.4 กรดเพอร์คลอริก เข้มข้น 70 % (70 % perchloric acid: $HClO_4$)
- 1.2.19.5 กรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 35 % (35 % hydrochloric acid: HCl)
- 1.2.19.6 กรดบอรัริก (boric acid: H_3BO_3)
- 1.2.19.7 กรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid: $C_6H_8O_6$)
- 1.2.19.8 คอปเปอร์คลอไรด์ (copper chloride: $CuCl_2$)

- 1.2.19.9 แคลเซียมคลอไรด์ (calcium chloride: $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)
- 1.2.19.10 แคลเซียมออกไซด์ (calcium oxide: CaO)
- 1.2.19.11 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide: NaOH)
- 1.2.19.12 ไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide: $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$)
- 1.2.19.13 ไดเอทิลีนไตรเอมีนเพนทาอะซีติกแอซิด (diethylenetriamine pentaacetic acid: $\text{C}_{14}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_{10}$)
- 1.2.19.14 ทริสไฮดรอกซีเมทิลอะมีโนมีเทน (tris (hydroxymethyl) aminomethane: $\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$)
- 1.2.19.15 ไตรเอทานอลามีน (triethanolamine: $\text{C}_6\text{H}_{15}\text{NO}_3$)
- 1.2.19.16 โบรโมกรีน (bromocresol green)
- 1.2.19.17 โพแทสเซียมคลอไรด์ (potassium chloride: KCl)
- 1.2.19.18 โพแทสเซียมไดโครเมต (potassium dichromate: $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$)
- 1.2.19.19 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (potassium dihydrogen phosphate: KH_2PO_4)
- 1.2.19.20 เฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (ferrous ammonium sulfate: $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)
- 1.2.19.21 เฟอร์ริกคลอไรด์ (ferric chloride: FeCl_3)
- 1.2.19.22 เมทิลเรด (methyl red: $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{N}_3\text{O}_2$)
- 1.2.19.23 แมงกานีสคลอไรด์ (manganese chloride: MnCl_2)
- 1.2.19.24 แลนทานัมคลอไรด์ (lanthanum chloride: LaCl_3)
- 1.2.19.25 เอทานอล 95 % (95 % ethanol: $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$)
- 1.2.19.26 แอนติโมนีโพแทสเซียมตาทาต (antimony potassium tatarate: $\text{KSbO} \cdot \text{C}_4\text{H}_4\text{O}_5$)
- 1.2.19.27 แอมโมเนียมฟลูออไรด์ (ammonium fluoride: NH_4F)
- 1.2.19.28 แอมโมเนียมเมทาวานาเดต (ammonium metavanadate: NH_4VO_3)
- 1.2.19.29 แอมโมเนียมโมลิบเดต (ammonium molybdate: $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)
- 1.2.19.30 แอนโทรน (anthrone: $\text{C}_6\text{H}_4\text{COC}_6\text{H}_4\text{CH}_2$)
- 1.2.19.31 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide: H_2O_2)

2. ระเบียบวิธีวิจัย

การศึกษานี้ประกอบด้วย 4 การศึกษาย่อย คือ 1) การสร้างค่าความเข้มข้นมาตรฐานเบื้องต้นของเหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง และโบรอน ของใบลองกอง 2) ศึกษาการปนเปื้อนธาตุอาหารจุลภาคแบบรวมต่อการเปลี่ยนแปลงของใบลองกอง 3) ศึกษาการปนเปื้อนทองแดง สังกะสี และแมงกานีสต่อการเปลี่ยนแปลงของใบลองกอง และ 4) ศึกษาวิธีการให้ปุ๋ยธาตุอาหารจุลภาคแบบรวมต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้าง และความสมบูรณ์ของต้นลองกอง ซึ่งแต่ละการศึกษามีรายละเอียดในการศึกษา ดังนี้

2.1 ค่าความเข้มข้นมาตรฐานเบื้องต้นของเหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง และโบรอน ของใบลองกอง

การศึกษานี้ใช้สวนลองกองที่มีการจัดการสวน คือ เกษตรกรมีการจัดการปุ๋ยให้กับต้นลองกอง โดยช่วงหลังเก็บเกี่ยวผลผลิตเกษตรกรจะมีการตัดแต่งกิ่งและทรงพุ่มต้น และใส่ปุ๋ยสูตร 15-15-15 อัตรา 3 กิโลกรัมต่อต้น ในช่วงก่อนออกดอก (ประมาณ 1 เดือน) เกษตรกรใส่ปุ๋ยสูตร 8-24-24 อัตรา 3 กิโลกรัมต่อต้น และในช่วงการพัฒนาของผล (อายุผลประมาณ 10 สัปดาห์) เกษตรกรใส่ปุ๋ยสูตร 13-13-21 อัตรา 3 กิโลกรัมต่อต้น ทุกสวนใช้ในการศึกษามีการจัดการน้ำให้กับลองกอง และไม่มีการให้ปุ๋ยทางใบและไม่ใช้ยาปราบศัตรูพืช โดยต้นลองกองที่ใช้ในการศึกษามีอายุ 8-12 ปี และมีสภาพต้นที่สมบูรณ์ คือ ต้นมีการตัดแต่งกิ่งที่ดี ทำให้มีกิ่งกระจายทั่วทั้งต้น ทรงพุ่มต้นมีลักษณะสมบูรณ์ ใบมีขนาดปกติและกระจายทั่วทั้งต้น ใบมีสีเขียวเข้มเป็นมัน และไม่มีการรบกวนของโรค โดยการศึกษานี้ได้เก็บตัวอย่างใบลองกองจากใบย่อยคู่กลาง ของใบประกอบที่ 2 โดยสุ่มเก็บรอบทรงพุ่มต้นละ 6 - 8 ใบ ในช่วงหลังเก็บเกี่ยวผลผลิต (เดือนกันยายน) ซึ่งใบมีอายุ 5 เดือน และนำตัวอย่างใบมารวมกันเพื่อเป็นตัวแทนของต้นที่ศึกษา โดยเก็บตัวอย่างใบลองกองจากสวนของเกษตรกรในจังหวัดสงขลาจำนวน 7 สวน และจังหวัดนราธิวาสจำนวน 3 สวน สวนละ 10 ต้น ปีละครั้ง เป็นระยะเวลา 3 ปี ตั้งแต่ปี 2545 - 2547 รวมมีตัวอย่างใบที่ใช้ในการศึกษาทั้งสิ้น 300 ตัวอย่าง พร้อมทั้งเก็บข้อมูลปริมาณผลผลิตรายต้น ตั้งแต่ปี 2545 - 2547 เป็นระยะเวลา 3 ปี เพื่อนำมาใช้สร้างค่าความเข้มข้นมาตรฐานเบื้องต้น โดยตัวอย่างใบที่เก็บมาจะทำความสะอาด และเตรียมตัวอย่างใบสำหรับการวิเคราะห์ตามข้อ 3.2.2 และวิเคราะห์หาความเข้มข้นของเหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดงในใบ ตามข้อ 4.2.3.2 และวิเคราะห์ความเข้มข้นของโบรอนตามข้อ 4.2.3.3 การศึกษานี้ได้เก็บตัวอย่างดินในช่วงหลังเก็บเกี่ยวผลผลิตปี 2545 บริเวณในทรงพุ่มและนอกทรงพุ่ม ที่ระดับความลึก 0 - 15 เซนติเมตร โดยสุ่มเก็บบริเวณละ 4 จุดต่อต้น และนำตัวอย่างดินแต่ละบริเวณของทุกต้นในสวนเดียวกันมาผสมรวมเป็นตัวอย่างเดียว เพื่อเป็นตัวแทนของตัวอย่างดินบริเวณในและนอกทรงพุ่ม

ของแต่ละสวน และนำตัวอย่างดินที่เก็บมาเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ตามข้อ 3.1 เพื่อวิเคราะห์ค่าปฏิกิริยาดิน ปริมาณอินทรีย์วัตถุ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ปริมาณเหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง และโบรอนที่สกัดได้ ตามข้อ 4.1.1 ถึง 4.1.5

การสร้างค่าความเข้มข้นมาตรฐานธาตุอาหารพืชเบื้องต้นของการศึกษานี้ใช้ 2 วิธี คือ 1) การสร้างค่าความเข้มข้นมาตรฐานธาตุอาหารพืชเบื้องต้นโดยใช้ต้นลองกองที่ให้ผลผลิตสูง (high yield method) และ 2) การสร้างค่าความเข้มข้นมาตรฐานธาตุอาหารพืชเบื้องต้นโดยใช้เส้นขอบเขต (boundary line method) โดยมีวิธีการสร้างค่าความเข้มข้นมาตรฐานเบื้องต้น ดังนี้

วิธีที่ 1) การสร้างค่าความเข้มข้นมาตรฐานธาตุอาหารพืชโดยใช้ต้นลองกองที่ให้ผลผลิตสูง เป็นวิธีการหาค่าความเข้มข้นมาตรฐานวิธีหนึ่งที่ยอมรับใช้สำหรับไม้ผลวิธีหนึ่ง ซึ่งมีแนวคิดที่ว่า ต้นที่ให้ผลผลิตสูงเป็นต้นที่ได้รับปัจจัยต่างๆ ในการผลิตที่เหมาะสม รวมทั้งการได้รับธาตุอาหารในระดับและสัดส่วนที่เหมาะสมด้วย โดยการศึกษาได้กำหนดให้ต้นลองกองที่ให้ผลผลิตมากกว่า 70 กิโลกรัมต่อต้น เป็นต้นที่ให้ผลผลิตสูง เนื่องจากการศึกษาค่าความเข้มข้นมาตรฐานของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ของลองกอง ของจำป๋นและคณะ (2549ก) ได้กำหนดให้ต้นลองกองที่ให้ผลผลิตมากกว่า 70 กิโลกรัมต่อต้นเป็นต้นที่มีผลผลิตสูง ดังนั้นการใช้ปริมาณผลผลิตระดับนี้ จะทำให้สามารถใช้ค่าความเข้มข้นมาตรฐานร่วมกันได้ ซึ่งจะมีความสะดวกในการประเมินระดับธาตุอาหารของลองกอง

การหาค่าความเข้มข้นมาตรฐานด้วยวิธีนี้ได้้นำความเข้มข้นของเหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง และโบรอน ของต้นลองกองที่ให้ผลผลิตสูง (> 70 กิโลกรัมต่อต้น) มาคำนวณตามสมการข้างล่าง ซึ่งค่าที่ได้จากการคำนวณจะกำหนดเป็นช่วงความเข้มข้นที่ระดับเพียงพอ คือ เป็นช่วงความเข้มข้นที่สามารถทำให้พืชให้ผลผลิตในระดับที่ต้องการ (> 70 กิโลกรัมต่อต้น) และถ้าความเข้มข้นต่ำกว่าค่าพิสัยล่างของความเข้มข้นระดับเพียงพอ เป็นความเข้มข้นของธาตุที่ทำให้พืชไม่สามารถให้ผลผลิตได้ในระดับที่ต้องการ เนื่องมาจากการได้รับธาตุอาหารที่ไม่เพียงพอ และถ้าความเข้มข้นสูงกว่าค่าพิสัยบนของความเข้มข้นระดับเพียงพอ เป็นความเข้มข้นที่ทำให้พืชไม่สามารถให้ผลผลิตได้ในระดับที่ต้องการ เนื่องมาจากการได้รับธาตุอาหารที่มากเกินไป

$$\text{ช่วงความเข้มข้นมาตรฐาน} = \bar{X} \pm \left(\frac{Z_{\alpha/2} \times S.D.}{\sqrt{n}} \right)$$

โดย	\bar{X}	คือ	ค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของธาตุที่ศึกษา ของต้นที่ให้ผลผลิตสูง
	S.D.	คือ	ค่าของส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของ \bar{X}
	n	คือ	จำนวนต้นที่ให้ผลผลิตสูงทั้งหมด
	$Z_{\alpha/2}$	คือ	ค่าที่ได้จากการเปิดตาราง Z

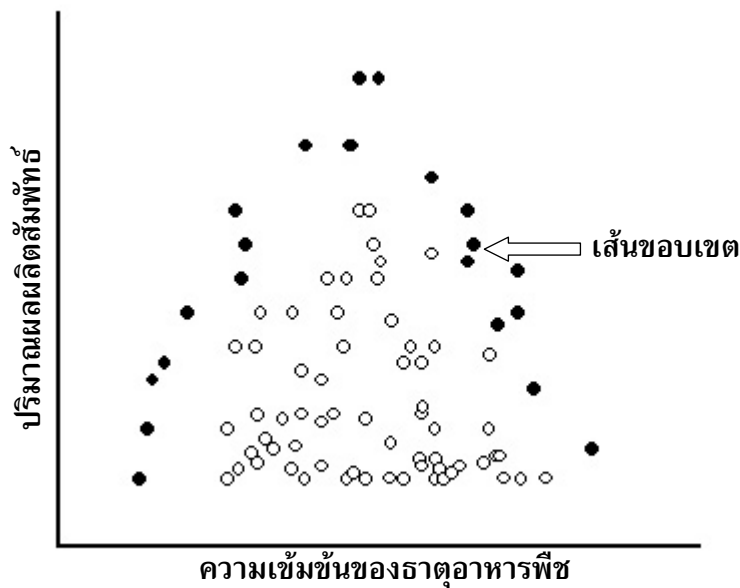
ที่มา: จำป๋น (2547ก)

ปัจจุบันสามารถหาค่าความเข้มข้นมาตรฐานของธาตุอาหารพืช โดยใช้โปรแกรมทางสถิติเข้ามาช่วยในการคำนวณได้ ซึ่งโปรแกรมที่สามารถเลือกใช้ได้ เช่น โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS โดยใช้คำสั่งการประมาณค่า ซึ่งสามารถศึกษาได้จากหนังสือที่แนะนำการใช้โปรแกรม SPSS ทั่วไป และสำหรับการสร้างความเข้มข้นมาตรฐานเบื้องต้นในครั้งนี้ได้ใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS รุ่น 13.0 ตามวิธีของศิริชัย (2544) โดยได้กำหนดระดับความเชื่อมั่นในการประมวลผลไว้ที่ระดับ 95 %

วิธีที่ 2) การสร้างค่าความเข้มข้นมาตรฐานธาตุอาหารพืชเบื้องต้นโดยใช้เส้นขอบเขต เป็นวิธีการหาค่าความเข้มข้นมาตรฐานวิธีหนึ่งที่นิยมใช้สำหรับไม้ผลวิธีหนึ่งเช่นกัน โดยวิธีนี้เป็นการหาความเข้มข้นมาตรฐานจากความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณผลผลิตสัมพันธ์ (relative yield) กับความเข้มข้นของธาตุอาหารพืช ซึ่งได้จากการนำข้อมูลจากเส้นขอบเขต (boundary line) มาสร้างความสัมพันธ์ โดยมีแนวคิดที่ว่า จุดข้อมูลผลผลิตที่เกิดจากอิทธิพลของปัจจัยการผลิตที่อยู่ในแนวของเส้นขอบเขต เป็นจุดข้อมูลที่แสดงถึงปัจจัยการผลิตที่มีผลต่อปริมาณผลผลิตโดยตรง แต่ถ้าจุดข้อมูลดังกล่าวอยู่ใต้แนวของเส้นขอบเขต (ได้รับปัจจัยการผลิตเหมือนกัน แต่ให้ผลผลิตต่ำกว่า) แสดงว่าผลผลิตที่ได้รับมีอิทธิพลของปัจจัยการผลิตอื่นเข้ามาจำกัดปริมาณผลผลิต ทำให้ผลผลิตที่ได้ลดต่ำลง (สุมิตรา และวิเชียร, 2546; Schnug *et al.*, 1996) โดยมีวิธีการหาความเข้มข้นมาตรฐาน ดังนี้

2.1) นำความเข้มข้นของเหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง และโบรอน กับปริมาณผลผลิตสัมพันธ์ (relative yield) ซึ่งปริมาณผลผลิตสัมพันธ์สามารถคำนวณได้ตามสมการข้างล่าง มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ ซึ่งการกระจายของข้อมูลในกราฟจะมีการกระจายตัวคล้ายรูปสามเหลี่ยม (triangular pattern) โดยจะมีจุดข้อมูลจำนวนหนึ่งที่มีลักษณะการกระจายและเรียงตัวกันคล้ายเส้นตรง (●) ซึ่งอยู่บริเวณรอบนอกสุดของจุดข้อมูลทั้งหมด ซึ่งเรียกจุดที่เรียงตัวคล้ายเส้นตรงนี้ว่า เส้นขอบเขต (รูปที่ 4)

$$\text{ปริมาณผลผลิตสัมพันธ์ (\%)} = 100 \times [\text{ผลผลิต} / \text{ผลผลิตสูงสุด}]$$



รูปที่ 4 การกระจายของข้อมูลความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของธาตุอาหารพืชกับปริมาณผลผลิตสัมพัทธ์ และแนวของเส้นขอบเขตข้อมูล (●)

2.2 นำข้อมูลบนเส้นขอบเขตมาสร้างกราฟความสัมพันธ์อีกครั้งหนึ่ง ซึ่งจะได้กราฟดังรูปที่ 5

2.3 สร้างสมการความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของธาตุอาหารพืชกับปริมาณผลผลิตสัมพัทธ์ (รูปที่ 5) ซึ่งสมการที่ได้นี้จะใช้ในการหาช่วงความเข้มข้นมาตรฐาน

2.4 กำหนดระดับธาตุอาหาร ซึ่งแบ่งไว้ 4 ระดับ ตามรายงานของสุมิตรา และวิเชียร (2546) ดังนี้

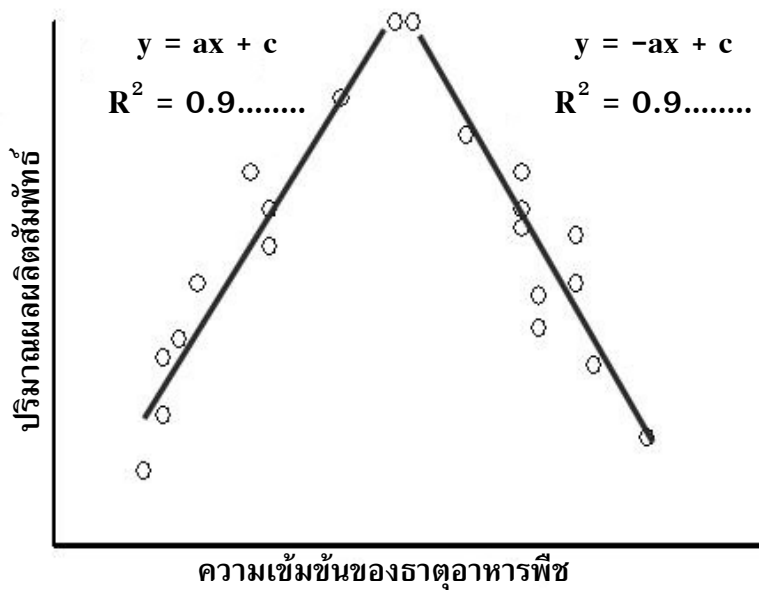
2.4.1 ระดับขาดแคลน (deficient) คือ ระดับที่ลองกองให้ผลผลิตสัมพัทธ์ต่ำกว่า 60%

2.4.2 ระดับต่ำ (low) คือ ระดับที่ลองกองให้ผลผลิตสัมพัทธ์ 60 - 80 %

2.4.3 ระดับเพียงพอ (sufficient) คือ ระดับที่ลองกองให้ผลผลิตสัมพัทธ์ 80 - 100 %

2.4.4 ระดับมากเกินไป (excessive) คือ ระดับที่ลองกองให้ผลผลิตกว่า 100% แต่มีความเข้มข้นของธาตุอาหารสูงกว่าค่าพิสัยบนของความเข้มข้นที่ระดับเพียงพอ

ในการนำเสนอผลการทดลอง จะนำเสนอเส้นขอบเขตและสมการเชิงเส้นที่ได้จากการหาความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของธาตุอาหารเหล็ก แมงกานีส สังกะสี ทองแดง และโบรอน กับปริมาณผลผลิตสัมพัทธ์



รูปที่ 5 เส้นขอบเขตข้อมูลและสมการเชิงเส้น ซึ่งสร้างจากเส้นขอบเขต

2.2 ศึกษาการพ่นปุ๋ยธาตุอาหารจุลภาคแบบรวมต่อการเปลี่ยนแปลงของใบลองกอง

การศึกษานี้ได้ทำการศึกษากับต้นลองกองอายุ 11 ปี ที่สวนของเกษตรกรบ้านนาแสน ต.ทุ่งตำเสา อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา จำนวน 3 ต้น โดยต้นลองกองปลูกในชุดดินรือเสาะ (Fine-silty, Mixed, Isohyperthermic Typic Palehumults) และวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก (randomized completely block design: RCBD) จำนวน 3 บล็อก โดย 1 บล็อก เท่ากับ 1 ต้น (ซ้ำ) แต่ละต้นมี 2 ตำรับการศึกษาคือ

ตำรับที่ 1 ไม่พ่นธาตุอาหารจุลภาค แต่พ่นน้ำกลั่น (ควบคุม)

ตำรับที่ 2 พ่นธาตุอาหารจุลภาคแบบรวม ซึ่งประกอบด้วยแมกนีเซียม 2.4 %, เหล็ก 1.5 %, แมงกานีส 1.5 %, สังกะสี 0.5 %, ทองแดง 0.5 %, โบรอน 0.3 %, โมลิบดีนัม 0.03 % และโคบอลต์ 0.03 % ในอัตรา 60 กรัม ผสมน้ำ 20 ลิตร ร่วมกับสารจับใบ 20 มิลลิลิตร

โดยปุ๋ยธาตุอาหารจุลภาคแบบรวมที่ใช้เป็นปุ๋ยที่จำหน่ายในท้องตลาด สำหรับการพ่นจะแบ่งต้นลองกองออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่ไม่ได้รับการพ่นธาตุอาหารจุลภาค (ตำรับที่ 1) และส่วนที่ได้รับการพ่นธาตุอาหารจุลภาคแบบรวม (ตำรับที่ 2) (รูปที่ 6) โดยจะพ่นธาตุอาหารจุลภาคแบบรวม เมื่อใบอ่อนลองกองอายุ 1 สัปดาห์ (หลังจากแตกยอด) และพ่นติดต่อกัน 3 สัปดาห์ สัปดาห์ละ 1 ครั้ง และศึกษาผลของธาตุอาหารจุลภาคแบบรวมต่อการเปลี่ยนแปลงของใบลองกอง ดังนี้

2.2.1 พื้นที่ใบ ใช้ตัวอย่างใบตำแหน่งใบย่อยที่ 4 และ 5 ของใบประกอบที่ 2 ของยอดเกิดใหม่ (รูปที่ 7) ต่ำรับละ 4 ยอด การวัดพื้นที่ใบแต่ละครั้งจะวัดใบเดิมทุกครั้ง โดยการทาบใบที่ได้สุ่มเลือกไว้ลงบนกระดาษและลากเส้นตามแนวขอบใบ และตัดตามแนวขอบใบ เพื่อนำไปหาพื้นที่ใบ โดยเก็บข้อมูลพื้นที่ใบทุก 7 วัน เป็นระยะเวลา 42 วัน

2.2.2 ปริมาณคลอโรฟิลล์ โดยเก็บตัวอย่างใบสดตำแหน่งใบย่อยที่ 2 และ 3 จากใบประกอบที่ 2 ของยอดเกิดใหม่ ต่ำรับละ 2 ยอด และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ ตามวิธีการของ Hiscox และ Israelstam (1979) อ้างโดย วิรัตน์ (2541) โดยทำความสะอาด ตัวอย่างใบตามข้อ 3.2.1 และวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ ตามข้อที่ 4.2.1 สำหรับการเก็บ ตัวอย่างใบเก็บทุก 7 วัน เป็นระยะเวลา 56 วัน

2.2.3 นำหนักแห้งต่อใบ โดยเก็บตัวอย่างใบสด ตำแหน่งใบย่อยที่ 4 และ 5 ของใบประกอบที่ 2 จำนวน 4 ใบ นำมาทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่น และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และนำมาชั่งหาน้ำหนักแห้งของใบ โดยเก็บตัวอย่างใบทุก 7 วัน เป็นระยะเวลา 56 วัน

2.2.4 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้างในใบ โดยเก็บตัวอย่างใบ ย่อยคูกกลางของใบประกอบที่ 2 นำมาทำความสะอาดและเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ ตาม ข้อ 3.2.2 และวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้าง ซึ่งตัดแปลงจากวิธี Manual Clegg Antrone Method ของ Osborne และ Voogt (1978) ตามข้อ 4.2.2 โดยเก็บ ตัวอย่างใบทุก 7 วัน เป็นระยะเวลา 56 วัน

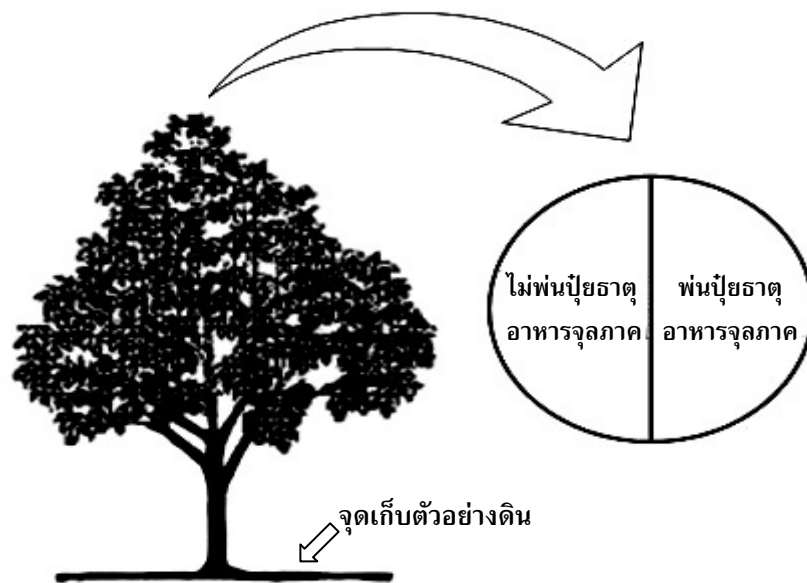
2.2.5 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้างในกิ่งยอด และเปลือกกิ่ง โดยเก็บตัวอย่างกิ่งยอดเมื่ออายุ 49 และ 56 วัน และเก็บตัวอย่างเปลือกกิ่ง เมื่อใบอายุ 42 วัน ซึ่งการเก็บตัวอย่างเปลือกกิ่งจะเจาะเก็บเปลือกจากกิ่งที่ใบได้รับการพ่นและไม่ได้รับการพ่น ต่ำรับ ละประมาณ 20 จุด โดยให้กระจายทั่วทุกกิ่งของแต่ละต่ำรับ นำตัวอย่างที่เก็บมาทำความสะอาด และเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ ตามข้อ 3.2.2 และวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้าง ซึ่งตัดแปลงจากวิธี Manual Clegg Antrone Method ของ Osborne และ Voogt (1978) ตามข้อ 4.2.2

2.2.6 วิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบ โดยใช้ตัวอย่างเดียวกับข้อ 2.2.4 นำมาย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2SO_4-H_2O_2$) เพื่อวิเคราะห์หา ความเข้มข้นของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ตามข้อ 4.2.3.1 และนำตัวอย่างใบจากข้อ 2.2.4 ย่อยด้วยกรดผสมระหว่างกรดไนตริกกับกรดเพอร์คลอริก (HNO_3-HClO_4) เพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของเหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง ตามข้อ 4.2.3.2

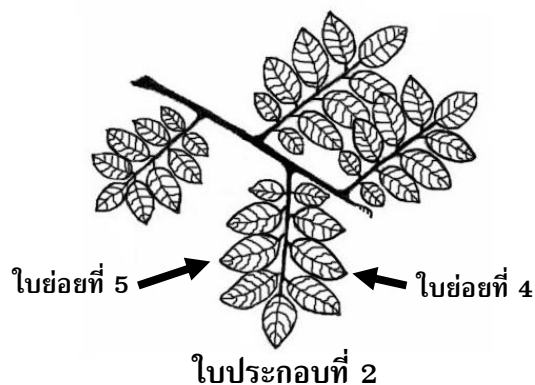
สำหรับตัวอย่างดินเก็บในช่วงหลังเก็บเกี่ยวผลผลิต ปี 2547 (ก่อนการศึกษา) โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดินบริเวณใต้ทรงพุ่ม ที่ระดับความลึก 0 - 15 เซนติเมตร ตันละ 4 จุด และ

นำมารวมเป็นตัวอย่างเดียว นำตัวอย่างดินที่เก็บมาเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ตามข้อ 3.1 เพื่อวิเคราะห์หาค่าปฏิกิริยาดิน ปริมาณอินทรีย์วัตถุ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และปริมาณเหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง ที่สกัดได้ ตามข้อ 4.1.1 - 4.1.4

ก่อนทำการศึกษานี้ได้ใส่ปุ๋ยสูตร 21-0-0 และ 0-0-60 อัตรา 2.2 และ 0.75 กิโลกรัมต่อต้น ตามลำดับ ปริมาณปุ๋ยที่ใส่ดังกล่าวมีปริมาณไนโตรเจน และโพแทสเซียม เท่ากับการใช้ปุ๋ย 15-15-15 อัตรา 3 กิโลกรัมต่อต้น ซึ่งเป็นสูตรปุ๋ยที่เกษตรกรใส่ให้ต้นลองกอง เพื่อเตรียมต้นสำหรับการผลิตในฤดูกาลถัดไป



รูปที่ 6 รูปแบบการพ่น และไม่พ่นธาตุอาหารจุลภาคแบบรวม ของการศึกษาที่ 2.2



รูปที่ 7 ตำแหน่งใบลองกองที่ศึกษาพื้นที่ใบ

2.3 ศึกษาการพ่นทองแดง สังกะสี และแมกนีเซียม ต่อการเปลี่ยนแปลงของใบลองกอง

การศึกษานี้เป็นการศึกษาเพิ่มเติมจากการศึกษาที่ 2.2 เพื่อให้ทราบการเปลี่ยนแปลงของใบลองกองที่เกิดขึ้น มีเหตุมาจากการได้รับทองแดง สังกะสี และแมกนีเซียมที่เพิ่มขึ้นหรือไม่ (โดยการศึกษานี้ได้พ่นแมกนีเซียมซึ่งเป็นธาตุอาหารรองให้กับใบลองกองด้วย เนื่องจากในปุ๋ยธาตุอาหารจุลภาคแบบรวมที่ใช้ในการศึกษาที่ 2.2 มีแมกนีเซียมเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย อีกทั้งแมกนีเซียมยังมีอิทธิพลต่อปริมาณของคลอโรฟิลล์) โดยความเข้มข้นของทองแดง สังกะสี และแมกนีเซียมมีความเข้มข้นเท่ากับสารละลายปุ๋ยธาตุอาหารจุลภาคแบบรวมที่พ่นในการศึกษาที่ 2.2 และการศึกษานี้ได้ทำการศึกษาที่สวนของเกษตรกรบ้านนาแสน ต.ทุ่งตำเสา อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา โดยใช้ต้นลองกองซึ่งมีอายุ 11 ปี จำนวน 4 ต้น ซึ่งปลูกในชุดดินรือเสาะ (Fine-silty, Mixed, Isohyperthermic Typic Palehumults) และวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก จำนวน 4 บล็อก โดย 1 บล็อกเท่ากับ 1 ต้น แต่ละต้นมี 4 ตำรับการศึกษาคือ

ตำรับที่ 1 ไม่พ่นธาตุอาหารจุลภาค แต่พ่นน้ำกลั่น (ควบคุม)

ตำรับที่ 2 พ่นทองแดงความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตำรับที่ 3 พ่นสังกะสีความเข้มข้น 15 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตำรับที่ 4 พ่นแมกนีเซียมความเข้มข้น 72 มิลลิกรัมต่อลิตร

โดยการพ่นปุ๋ยจะแบ่งต้นลองกองออกเป็น 4 ส่วน (รูปที่ 8) แต่ละส่วนจะพ่นปุ๋ยแต่ละตำรับแยกกัน โดยจะพ่นปุ๋ยเมื่อใบอ่อนลองกองอายุ 1 สัปดาห์ (หลังจากแตกยอด) และพ่นติดต่อกัน 3 สัปดาห์ สัปดาห์ละ 1 ครั้ง และศึกษาการตอบสนองของใบ เมื่อได้รับปุ๋ยแต่ละชนิดดังนี้

2.3.1 พื้นที่ใบ ใช้ตัวอย่างใบตำแหน่งใบย่อยที่ 4 และ 5 ของใบประกอบที่ 2 ของยอดเกิดใหม่ (รูปที่ 7) จำนวน 2 ยอด ของแต่ละตำรับ โดยการวัดพื้นที่ใบแต่ละครั้งจะวัดใบเดิมทุกครั้ง โดยการทาบบใบที่ได้สุ่มเลือกไว้ลงบนกระดาษและลากเส้นตามแนวขอบใบ และนำมาตัดตามแนวขอบใบ เพื่อนำไปหาพื้นที่ใบ โดยเก็บข้อมูลพื้นที่ใบเมื่อใบอายุ 1, 4 และ 12 สัปดาห์

2.3.2 ปริมาณคลอโรฟิลล์ โดยเก็บตัวอย่างใบสด ตำแหน่งใบย่อยที่ 2 และ 3 จากใบประกอบที่ 2 ของยอดเกิดใหม่ และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ตามวิธีการของ Hiscox และ Israelstam (1979) อ้างโดย วิรัตน์ (2541) โดยทำความสะอาดตัวอย่างใบตามข้อ 3.2.1 และวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ ตามข้อที่ 4.2.1 สำหรับการเก็บตัวอย่างใบเก็บเมื่อใบอายุ 1, 4 และ 12 สัปดาห์

2.3.3 น้ำหนักแห้งต่อใบ โดยเก็บตัวอย่างใบสด ตำแหน่งใบย่อยที่ 4 และ 5 ของใบประกอบที่ 2 จำนวน 4 ใบ มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่น และอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และนำมาชั่งน้ำหนักแห้งของใบ โดยเก็บตัวอย่างเมื่อใบอายุ 1, 4 และ 12 สัปดาห์

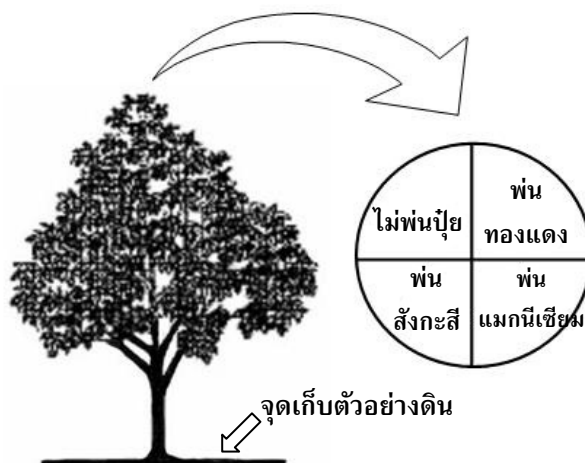
2.3.4 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้างในใบ โดยเก็บตัวอย่างใบย่อยคูกกลางของใบประกอบที่ 2 นำมาทำความสะอาดและเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ ตามข้อ 3.2.2 และวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้าง ซึ่งตัดแปลงจากวิธี Manual Clegg Antrone Method ของ Osborne และ Voogt (1978) ตามข้อ 4.2.2 โดยเก็บตัวอย่างเมื่อใบอายุ 1, 4 และ 12 สัปดาห์

2.3.5 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้างในกิ่งยอด โดยเก็บตัวอย่างเมื่อใบอายุ 1, 4 และ 12 สัปดาห์ นำมาทำความสะอาดและเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ ตามข้อ 3.2.2 และวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้าง ซึ่งตัดแปลงจากวิธี Manual Clegg Antrone Method ของ Osborne และ Voogt (1978) ตามข้อ 4.2.2

2.3.6 วิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบ โดยใช้ตัวอย่างใบเดียวกับข้อ 2.2.4 นำมาย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ($H_2SO_4-H_2O_2$) เพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ตามข้อ 4.2.3.1 และนำตัวอย่างจากข้อ 2.2.4 ย่อยด้วยกรดผสมระหว่างกรดไนตริกและกรดเพอร์คลอริก (HNO_3-HClO_4) เพื่อวิเคราะห์ความเข้มข้นของเหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง ตามข้อ 4.2.3.2

สำหรับการเก็บตัวอย่างดินเก็บครั้งเดียวก่อนการศึกษา โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดินบริเวณใต้ทรงพุ่ม ที่ระดับความลึก 0 - 15 เซนติเมตร ต้นละ 4 จุด และนำมารวมเป็นตัวอย่างเดี่ยว นำตัวอย่างดินที่เก็บมาเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ตามข้อ 3.1 เพื่อวิเคราะห์ค่าปฏิกิริยาดิน ปริมาณอินทรีย์วัตถุ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และปริมาณเหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง ตามข้อ 4.1.1 - 4.1.4

ก่อนทำการศึกษานี้ได้ใส่ปุ๋ยสูตร 21-0-0 และ 0-0-60 อัตรา 2.2 และ 0.75 กิโลกรัมต่อต้น ตามลำดับ ปริมาณปุ๋ยที่ใส่ดังกล่าวมีปริมาณไนโตรเจน และโพแทสเซียม เท่ากับการใช้ปุ๋ย 15-15-15 อัตรา 3 กิโลกรัมต่อต้น ซึ่งเป็นสูตรปุ๋ยที่เกษตรกรใส่ให้ต้นลองกอง เพื่อเตรียมต้นสำหรับการผลิตในฤดูกาลถัดไป



รูปที่ 8 รูปแบบการพ่นทองแดง สังกะสี และแมกนีเซียม ของการศึกษาที่ 2.3

2.4 ศึกษาวิธีการให้ปุ๋ยธาตุอาหารจุลภาคต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้าง และความสมบูรณ์ของต้นลองกอง

การศึกษานี้ได้ทำการศึกษากับต้นลองกองอายุ 11 ปี ที่สวนของเกษตรกรบ้านนาแสน ต.ทุ่งตำเสา อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา ซึ่งต้นลองกองปลูกในชุดดินรือเสาะ (Fine-silty, Mixed, Isohyperthermic Typic Palehumults) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก (RCBD) จำนวน 6 บล็อก (แบ่งตามพื้นที่ปลูก) แต่ละบล็อกมี 3 ตำรับการศึกษ แต่แต่ละตำรับใช้ต้นลองกองจำนวน 6 ต้น (ซ้ำ) รวมใช้ต้นลองกองทั้งหมด 18 ต้น โดยมีตำรับการศึกษ ดังนี้

ตำรับที่ 1 ไม่มีการให้ปุ๋ยธาตุอาหารจุลภาคทั้งทางดินและทางใบ (ควบคุม)

ตำรับที่ 2 ให้ธาตุอาหารจุลภาคทางดิน โดยใช้ปุ๋ยธาตุอาหารจุลภาคแบบรวม ซึ่งประกอบด้วย แมกนีเซียม 2.4 %, เหล็ก 1.5 %, แมงกานีส 1.5 %, สังกะสี 0.5 %, ทองแดง 0.5 %, โบรอน 0.3 %, โมลิบดีนัม 0.03 % และโคบอลต์ 0.03 % ในอัตรา 200 กรัมต่อต้น โดยผสมน้ำ 20 ลิตร ราดบริเวณใต้ทรงพุ่มต้น ในระยะหลังเก็บเกี่ยวผลผลิต (ก่อนต้นลองกองแตกยอดอ่อน)

ตำรับที่ 3 ให้ปุ๋ยธาตุอาหารจุลภาคทางใบ โดยใช้ธาตุอาหารจุลภาคแบบรวม ซึ่งประกอบด้วย แมกนีเซียม 2.4 %, เหล็ก 1.5 %, แมงกานีส 1.5 %, สังกะสี 0.5 %, ทองแดง 0.5 %, โบรอน 0.3 %, โมลิบดีนัม 0.03% และโคบอลต์ 0.03 % ในอัตรา 60 กรัมร่วมกับสารจับใบ ผสมน้ำ 20 ลิตร โดยพ่นธาตุอาหารจุลภาคเมื่อใบอ่อนลองกองอายุ 1 สัปดาห์ (หลังจากแตกยอด) และพ่นติดต่อกัน 3 สัปดาห์ สัปดาห์ละ 1 ครั้ง

โดยปุ๋ยธาตุอาหารจุลภาคแบบรวมที่ใช้เป็นปุ๋ยที่จำหน่ายในท้องตลาด และก่อนทำการศึกษานี้ได้ใส่ปุ๋ยสูตร 21-0-0 และ 0-0-60 อัตรา 2.2 และ 0.75 กิโลกรัมต่อต้นตามลำดับ ปริมาณปุ๋ยที่ใส่ดังกล่าวมีปริมาณไนโตรเจน และโพแทสเซียม เท่ากับการใช้ปุ๋ย 15-15-15 อัตรา 3 กิโลกรัมต่อต้น ซึ่งเป็นสูตรปุ๋ยที่เกษตรกรใส่ให้ต้นลองกอง เพื่อเตรียมต้นสำหรับการผลิตในฤดูกาลถัดไป และการศึกษานี้ได้ศึกษาการตอบสนองของต้นลองกองต่อวิธีการให้ปุ๋ยที่แตกต่างกัน ดังนี้

2.4.1 วิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารในใบ โดยสุ่มเก็บตัวอย่างใบจากใบย่อยคู่กลางของใบประกอบที่ 2 (ใบย่อยที่ 3 ถึง 5) รอบทรงพุ่ม (จำเป็น และคณะ, 2547) ต้นละ 6 - 8 ใบ และนำมารวมเป็นตัวอย่างเดียวกัน โดยเก็บเมื่อใบมีอายุ 4, 12 และ 20 สัปดาห์ และนำมาทำความสะอาดและเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ตามข้อ 3.2.2 โดยวิเคราะห์ความเข้มข้นของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม ตามข้อ 4.2.3.1 และวิเคราะห์ความเข้มข้นของเหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง ตามข้อ 4.2.3.2

2.4.2 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้างในใบ โดยใช้ตัวอย่างเดียวกับข้อ 2.3.1 และวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้าง ซึ่งตัดแปลงจากวิธี Manual Clegg Antrone Method ของ Osborne และ Voogt (1978) ตามข้อ 4.2.2

2.4.3 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้างในเปลือกต้น โดยเก็บตัวอย่างเปลือกต้น เมื่อใบมีอายุ 20 สัปดาห์ โดยเจาะเปลือกลำต้นที่ความสูงประมาณ 50 เซนติเมตรเหนือพื้นดิน 4 จุดรอบต้น นำมาทำความสะอาดและเตรียมตัวอย่างตามข้อ 3.2.2 และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้าง ซึ่งตัดแปลงจากวิธี Manual Clegg Antrone Method ของ Osborne และ Voogt (1978) ตามข้อ 4.2.2

2.4.4 เปอร์เซ็นต์การแตกยอดอ่อน โดยสุ่มยอดลองกองจำนวน 30 ยอดต่อต้น ก่อนการแตกยอดอ่อน ประมาณ 4 สัปดาห์ พร้อมทั้งทำเครื่องหมาย และนับจำนวนยอดที่เกิดขึ้นใหม่เมื่อต้นมีการแตกยอดอ่อนผ่านไปแล้ว 4 สัปดาห์ และนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การแตกยอดอ่อน

2.4.5 จำนวนใบประกอบต่อหนึ่งยอด โดยสุ่มยอดลองกองจำนวน 10 ยอดต่อต้น ก่อนการแตกยอดอ่อน ประมาณ 4 สัปดาห์ พร้อมทั้งทำเครื่องหมาย และนับจำนวนใบประกอบที่เกิดขึ้นใหม่ เมื่อมีการแตกยอดอ่อนผ่านไปแล้ว 4 สัปดาห์

2.4.6 จำนวนใบย่อยต่อหนึ่งใบประกอบ โดยสุ่มยอดลองกองจำนวน 10 ยอดต่อต้น ก่อนการแตกยอดอ่อน ประมาณ 4 สัปดาห์ พร้อมทั้งทำเครื่องหมาย และนับจำนวนใบย่อยต่อ 1 ใบประกอบ ของใบประกอบที่ 1 ถึง 3 เมื่อมีการแตกยอดอ่อนผ่านไปแล้ว 4 สัปดาห์

2.4.7 จำนวนช่อดอกต่อจุดตาดอก โดยสุ่มนับจำนวนจากจุดที่เกิดดอกจำนวน 10 จุดต่อต้น นับจำนวนช่อดอกที่ยึดต่อจุดและบันทึกผล โดยกำหนดให้ช่อดอกต้องยาวกว่า 2.5 เซนติเมตร จึงจะนับเป็นตาดอกที่ยึด

2.4.8 จำนวนช่อดอกต่อต้น โดยการนับจำนวนช่อดอกทั้งต้น โดยกำหนดให้ 1 จุดตาดอก เท่ากับ 1 ช่อดอก และบันทึกผล

2.4.9 การประเมินความสมบูรณ์ต้น ประเมินเมื่อต้นมีการแตกยอดอ่อนผ่านไป แล้ว 4 สัปดาห์ โดยประเมินความสมบูรณ์ต้นพิจารณาจากการกระจายของการแตกยอดอ่อนรอบ ทรงพุ่มต้น ขนาดใบที่เกิดใหม่เมื่อโตเต็มที่ สีเขียวของใบ และสภาพต้นโดยรวมว่ามีความสมบูรณ์หรือไม่ โดยจะพิจารณาในลักษณะของภาพรวมทั้งต้น โดยจะใช้วิธีการให้คะแนนต้นที่ได้ ทำการศึกษา โดยต้นที่มีความสมบูรณ์ คือ มีการแตกยอดอ่อนกระจายทั่วทั้งต้น ใบมีปกติและมีสีเขียวเข้มเป็นมัน และมีสภาพต้นโดยรวมจัดอยู่ในเกณฑ์ดี จะให้คะแนนเท่ากับ 10 และต้นที่มีความสมบูรณ์ต่ำลงมากก็จะให้คะแนนลดหลั่นกันลงมา และต้นที่มีความสมบูรณ์ต่ำจะให้คะแนนเท่ากับ 1 และนำคะแนนที่ได้รวมกันและหาค่าเฉลี่ยของแต่ละตำรับการศึกษา โดยการประเมินความสมบูรณ์ต้นนั้นใช้ผู้ประเมินที่ความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับต้นลองกอง จำนวน 5 คน

สำหรับตัวอย่างดินเก็บ 2 ครั้ง คือ ก่อนและหลังการทดลอง โดยสุ่มเก็บตัวอย่างดินบริเวณใต้ทรงพุ่มที่ระดับความลึก 0 - 15 เซนติเมตร ต้นละ 4 จุด และนำมารวมเป็นตัวอย่างเดียว นำตัวอย่างดินที่เก็บมาเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ตามข้อ 3.1 เพื่อวิเคราะห์ค่าปฏิกิริยาดิน ปริมาณอินทรีย์วัตถุ ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และปริมาณเหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง ที่สกัดได้ ตามข้อ 4.1.1 - 4.1.4

3. การเตรียมตัวอย่าง

3.1 การเตรียมตัวอย่างดิน

นำตัวอย่างดินที่เก็บมากำจัดสิ่งปนเปื้อนที่ติดมา เช่น เศษใบไม้ รากพืช กวาดและหิน เป็นต้น นำมาผึ่งให้แห้งในที่ร่ม ถ้าตัวอย่างดินที่เก็บมาเป็นดินเหนียว หรือดินที่มีแร่ดินเหนียวปะปนอยู่สูง ควรทำดินให้มีขนาดเล็กกลง ซึ่งเมื่อนำตัวอย่างดินไปผึ่งในที่ร่มจะแห้งได้เร็วและบดได้ง่าย จากนั้นนำตัวอย่างดินมาร่อนผ่านตะแกรงที่มีขนาดช่องผ่าน 2 มิลลิเมตร และเก็บใส่ภาชนะรอการวิเคราะห์ต่อไป

3.2 การเตรียมตัวอย่างพืช

3.2.1 การเตรียมตัวอย่างใบสำหรับวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

นำตัวอย่างใบสดตำแหน่งใบย่อยที่ 2 และ 3 จากใบประกอบที่ 2 ของยอดเกิดใหม่ มาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่น ซับให้แห้ง จากนั้นหั่นใบให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ (ไม่ใช่ส่วนของเส้นใบ) และนำไปวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ตามข้อ 4.2.1 ทันที

3.2.2 การเตรียมตัวอย่างใบ กิ่งยอด และเปลือกต้น สำหรับวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารพืช และคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้าง

นำตัวอย่างใบ กิ่งยอด และเปลือกต้น ที่เก็บมาทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่น และนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ และนำตัวอย่างที่อบแห้งแล้วบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 เมช และเก็บใส่ภาชนะเพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

4. การวิเคราะห์ทางเคมี

การวิเคราะห์ทางเคมีของตัวอย่างดินและตัวอย่างพืช ได้ทำการวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการการวิเคราะห์ดินและพืช ภาควิชาธรณีศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

4.1 การวิเคราะห์ตัวอย่างดิน

นำตัวอย่างดินจากข้อ 3.1 มาวิเคราะห์สมบัติดินต่างๆ ตามคู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช (จำเป็น, 2547ข) ดังนี้

4.1.1 ค่าปฏิกิริยาดิน วัดด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ โดยใช้อัตราส่วนระหว่างดินต่อน้ำ เท่ากับ 1 ต่อ 5

4.1.2 ปริมาณอินทรีย์วัตถุ วิเคราะห์ด้วยวิธีวอล์คเคิล-แบลค (Walkley-Black method) โดยชั่งตัวอย่างดินมา 1 กรัม (ทราบน้ำหนักแน่นอน) เติมน้ำละลายโพแทสเซียมไดโครเมต ความเข้มข้น 0.167 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 10 มิลลิลิตร ตั้งไว้ครึ่งชั่วโมง และนำไปไทเทรตด้วยสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้น 1.0 โมลาร์

4.1.3 ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดิน สกัดดินด้วยวิธีเบรย์ทู (Bray II method) และวิเคราะห์ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ด้วยวิธีแอสคอร์บิกโมลิบดีนัมบลู (ascorbic-molybdenum blue method) โดยชั่งตัวอย่างดิน 1 กรัม (ทราบน้ำหนักแน่นอน) เติมน้ำยาสกัดเบรย์ทู 10 มิลลิลิตร เขย่าทันทีนาน 1 นาที กรอง นำสารละลายที่กรองได้มาทำให้เกิดสีน้ำเงินด้วยสารละลายแอสคอร์บิกโมลิบดีนัมบลู นำไปวัดการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่นแสง 820 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

4.1.4 ปริมาณเหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง ที่สกัดได้ สกัดด้วยสารละลายดีทีพีเอ ความเข้มข้น 0.005 โมลาร์ พีเอช 7.3 โดยชั่งตัวอย่างดิน 10 กรัม (ทราบน้ำหนักแน่นอน) เติมน้ำยาสกัดดีทีพีเอ 20 มิลลิลิตร นำไปเขย่านาน 2 ชั่วโมง และทำให้

สารละลายดินตกตะกอนด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง และกรอง นำสารละลายใส่ที่ได้ไปวัดปริมาณเหล็กแมงกานีส สังกะสี และทองแดง ด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์บชันสเปกโทรโฟโตมิเตอร์

4.1.5 ปริมาณโบรอนที่สกัดได้ สกัดด้วยวิธีน้ำร้อน (hot water method) และวิเคราะห์ปริมาณโบรอนที่สกัดได้ด้วยวิธีอะโซมีทีนเอซ (azomethine-H method) โดยชั่งตัวอย่างดินมา 10 กรัม (ทราบน้ำหนักแน่นอน) เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร และนำไปรีฟลักซ์ให้สารละลายตัวอย่างดินเดือด นาน 10 นาที กรอง และนำสารละลายที่กรองได้มาทำให้เกิดสีเหลืองด้วยสารละลายอะโซมีทีนเอซ และนำไปวัดการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Soil and Plant Analysis Council, 1999)

4.2 การวิเคราะห์พืช

4.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

การวิเคราะห์คลอโรฟิลล์ใช้วิธีการของ Hiscox and Israelstam (1979) อ้างโดย วิจารณ์ (2541) โดยชั่งตัวอย่างใบสด จากข้อ 3.2.1 มา 100 มิลลิกรัม เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิกรัม เติมน้ำกลั่น 7 มิลลิลิตร นำไปอุ่นในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส จนสีเขียวของชิ้นส่วนใบจางหายไป และปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร นำสารละลายที่ได้ไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นแสง 645 และ 663 นาโนเมตร (D_{645} และ D_{663} ตามลำดับ) และนำมาคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดตามสมการ

$$\text{คลอโรฟิลล์ทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด)} = 20.2 D_{645} + 8.02 D_{663}$$

วิธีการนี้สามารถเก็บรักษาปริมาณคลอโรฟิลล์ที่สกัดได้นาน 5 วัน โดยไม่สูญเสียปริมาณคลอโรฟิลล์ (วิจารณ์, 2541)

4.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้าง

การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่อยู่ในรูปโครงสร้าง ดัดแปลงจากวิธี Manual Clegg Antrone Method ของ Osborne และ Voogt (1978) โดยชั่งตัวอย่างพืชจากข้อ 3.2.2 มา 0.1 กรัม (ทราบน้ำหนักแน่นอน) และเติมกรดเพอร์คลอริกความเข้มข้น 52 % และน้ำกลั่น ปริมาตร 1.3 และ 1.0 มิลลิลิตร ตามลำดับ และนำมาเขย่านาน 20 นาที กรองและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร และนำสารละลายที่สกัดได้มาทำให้เกิดสีด้วยสารละลายแอนโทรนความเข้มข้น 0.1 % ซึ่งละลายในกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 14 โมลาร์ นำไปอุ่นในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 - 14 นาที (สารละลายจะมีสีเขียวมฟ้า) และนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ เทียบกับสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 10, 20, 40, 100, 200 และ 400 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งทำให้เกิดสีเช่นเดียวกับตัวอย่างพืช

4.2.3 การวิเคราะห์ความเข้มข้นของธาตุอาหารในพืช

การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในพืช จะใช้ตัวอย่างพืชจากข้อ 3.2.2 และนำมาวิเคราะห์ความเข้มข้นธาตุอาหารพืช ตามคู่มือการวิเคราะห์ดินและพืชของจำปาศักดิ์ (2547ข) ดังนี้

4.2.3.1 การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียม โดยการย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ($H_2SO_4-H_2O_2$) โดยชั่งตัวอย่างพืช 0.1 กรัม (ทราบน้ำหนักแน่นอน) เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 1 มิลลิลิตร ตั้งไว้ประมาณ 30 นาที และเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.5 มิลลิลิตร และนำไปย่อยที่อุณหภูมิ 250 องศาเซลเซียส ประมาณ 20 นาที นำตัวอย่างออกจากเตาย่อย ตั้งไว้ให้เย็น และเติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.5 มิลลิลิตร และนำไปย่อยต่ออีก 20 นาที ทำอย่างนี้ 7 ครั้ง โดยครั้งที่ 7 จะย่อยติดต่อกันนาน 2 ชั่วโมง จนได้สารละลายใส (ถ้าสารละลายที่ได้ไม่ใสให้เติมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อีก 0.5 มิลลิลิตร และนำไปย่อยต่ออีก 2 ชั่วโมง) และปรับปริมาตรสารละลายตัวอย่างเป็น 20 มิลลิลิตร เพื่อวิเคราะห์หา

ไนโตรเจน	โดยวิธีการกลั่นหาปริมาณแอมโมเนีย โดยมีกรดบอริกเป็นสารละลายรองรับ
ฟอสฟอรัส	โดยวิธีการทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนสีเหลือง ด้วยสารละลายเยลโรโมลิบโดวานาโดฟอสฟอริกแอซิด (yellow molybdovanadophosphoric acid) และนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์
โพแทสเซียม	โดยวัดปริมาณแสงที่อะตอมปลดปล่อยออกมา ที่ความยาวคลื่น 766.5 นาโนเมตร ด้วยเครื่องแฟลมโฟโตมิเตอร์
แคลเซียม และแมกนีเซียม	โดยวัดการดูดกลืนคลื่นแสงของอะตอมที่ความยาวคลื่น 422 และ 285 นาโนเมตร ตามลำดับ ด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์บชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

4.2.3.2 การวิเคราะห์หาความเข้มข้นของเหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง โดยย่อยด้วยกรดผสมระหว่างกรดไนตริกและกรดเพอร์คลอริก (HNO_3-HClO_4) อัตราส่วน 3 ต่อ 1 โดยชั่งตัวอย่างพืช 0.15-0.20 กรัม (ทราบน้ำหนักที่แน่นอน) เติมกรดผสม 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 30 นาที และนำไปย่อยที่อุณหภูมิ 200 องศาเซลเซียส จนได้สารละลายใส ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร และนำไปวิเคราะห์หาความเข้มข้นของเหล็ก แมงกานีส สังกะสี และทองแดง โดยวัดการดูดกลืนคลื่นแสงของอะตอมที่ความยาวคลื่น 254.8, 279.8, 213.9 และ 324.7 นาโนเมตร ตามลำดับ ด้วยเครื่องอะตอมมิกแอบซอร์บชันสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

4.2.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณโบรอน ด้วยวิธีการเผา และวิเคราะห์ความเข้มข้นโบรอนทั้งหมดด้วยวิธีอะโซมีทีนเอซ (azomethine-H method) โดยชั่งตัวอย่างพืช 0.75 กรัม

(ทราบน้ำหนักแน่นอน) เติมผงแคลเซียมออกไซด์ลงไป 75 มิลลิกรัม คลุกเคล้าให้เข้ากัน นำไปเผาที่อุณหภูมิ 500 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง นำเถ้าที่ได้จากการเผามาละลายด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร กรองและนำสารละลายที่ได้ไปทำให้เกิดสีเหลืองด้วยสารละลายอะโซมิตินเอช และนำไปวัดการดูดกลืนคลีนแสงที่ความยาวคลื่น 410 นาโนเมตร