

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการที่ใช้ในการทดลอง

1. พืชทดลอง

ต้นกล้ากาแฟราบิก้า ที่มีอายุประมาณ 1 ปี 3 พันธุ์ พันธุ์ละ 168 ต้น ได้แก่

1. พันธุ์ เรด แคททูร่า เป็นพันธุ์ที่กลายพันธุ์จากพันธุ์ เบอร์บอน ได้นำมาส่งเสริมให้มีการปลูกบนพื้นที่สูงหลายพื้นที่ในภาคเหนือ ตั้งแต่ ปี พ.ศ. 2512 ปรากฏว่าให้ผลผลิตเป็นที่น่าพอใจ (พงษ์ศักดิ์ และคณะ, 2531) มีลักษณะต้นเตี้ย เนื่องจากมีข้อสั้น ใบกว้างสีเขียว มีสารกาแฟที่เล็กและมีคุณภาพการบริโภคที่ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับพันธุ์ที่ปลูกในภาคเหนือ แต่อ่อนแอต่อโรคราสนิมและมีการติดผลมากเกินไป (Over bearing) รวมทั้งแสดงอาการกิ่งแห้งตายง่าย (Op de laak, 1986)

2. พันธุ์ เฮลโล่ คาทอย เป็นพันธุ์ที่ได้จากการผสมระหว่าง พันธุ์ มอนโต โนโว และ พันธุ์ เฮลโล่ แคททูร่า มีลักษณะคล้าย พันธุ์ แคททูร่า แต่มีความแข็งแรง และให้ผลผลิตสูงกว่า ซึ่งนักปรับปรุงพันธุ์พืช อ้างว่า พันธุ์ คาทอย มีทรงต้นดีกว่า พันธุ์ แคททูร่า ในสภาพปลูกที่มีการจัดการไม่ดีในประเทศบราซิล ไม่แสดงผลของความเครียดให้เห็น ยังคงมีการเจริญเติบโตและมีทรงต้นที่ดี แม้ว่าให้ผลผลิตไปแล้วสามถึงสี่ปีหรือกระทบกับสภาวะเครียดเนื่องจากการขาดน้ำที่ค่อนข้างจะรุนแรง (Op de laak, 1988)

3. พันธุ์ คาทิมอร์ 1662 เป็นพันธุ์ผสมระหว่าง พันธุ์ เรด แคททูร่า และ พันธุ์ ไฮบริโด เดอ ทริมอร์ (Hybrido de Trimor ; Op de laak, 1986) ซึ่งมีรายงานว่า เป็นพันธุ์ที่ต้านทานโรคราสนิมและให้ผลผลิตสูง ในการทดลองปลูกที่สถานีทดลองและฝึกอบรมการเกษตรที่สูงขุนช่างเคี่ยน (Aksorn, 1988) ปัจจุบันได้นำไปส่งเสริมให้มีการปลูก ในพื้นที่สูงหลายพื้นที่ในภาคเหนือ

2. สภาพการทดลอง

ทำการปลูกพืชทดลองในโรงเรือนพลาสติกที่มีขนาด กว้าง 2.5 ม. ยาว 12 ม. สูง 2.5 ม. อุณหภูมิตอนกลางวันของโรงเรือนอยู่ในช่วง 30–35 °C. ทำการรักษาระดับน้ำในดินของแปลงปลูก โดยนำดินมาอบในห้องปฏิบัติการเพื่อหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นในดินทุก ๆ 3 วัน และนำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟแสดงลักษณะของความชื้นในดิน (Soil moisture characteristic curve) ของเปอร์เซ็นต์ความชื้นในดินแต่ละระดับ โดยให้ปริมาณน้ำตามที่ได้จากกราฟดังกล่าวแล้ว (ภาพผนวกที่ 1) โดยระดับน้ำในดินที่ 100 %, 75 %, 50 % และ 25 % AWC จำนวนการให้น้ำจากเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของน้ำในดินที่ 16.0 %, 13.75 %, 11.5 % และ 9.25 % W/W ตามลำดับ โดยถือว่าที่ระดับ Field capacity (F.C.) และ Permanent wilting point (PWP) มีเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของน้ำเท่ากับ 16.0 % และ 7.0 % W/W ตามลำดับ

วางแผนการทดลองแบบสปลิตพล็อต (Split plot) โดยเมนพล็อต (main plots) เป็นระดับของน้ำในดินและซับพล็อต (sub plots) เป็นพันธุ์ ส่วนการจัดเมนพล็อตเป็นแบบการสุ่มตลอด (Completely random design)

โดยมีสภาพการทดลอง คือ

T1 = สภาพอุณหภูมิสูงและระดับน้ำในดินสูงมาก (ประมาณ 100 % AVAILABLE WATER CAPACITY หรือ AWC)

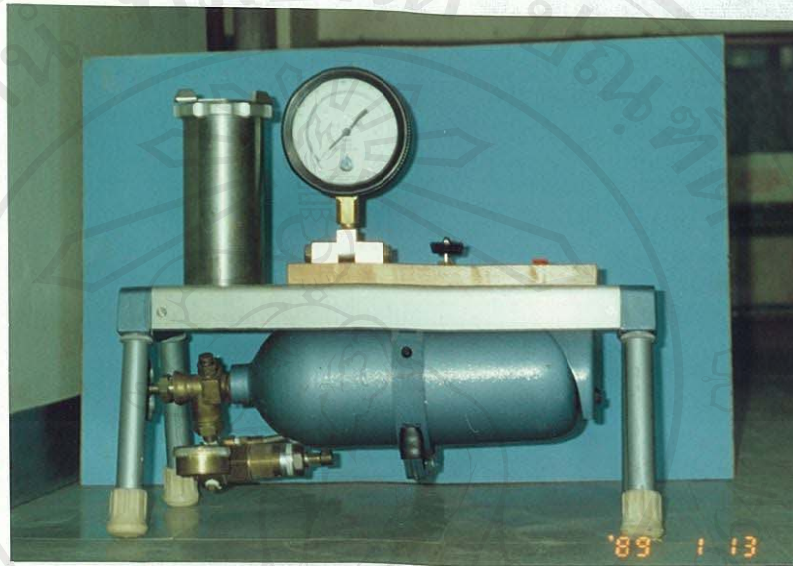
T2 = สภาพอุณหภูมิสูงและระดับน้ำในดินสูง (ประมาณ 75 % AWC)

T3 = สภาพอุณหภูมิสูงและระดับน้ำในดินปานกลาง (ประมาณ 50 % AWC)

T4 = สภาพอุณหภูมิสูงและระดับน้ำในดินต่ำ (ประมาณ 25 % AWC)

3. เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา

1) Automatic Porometer (MK3 Delta - T Devices)



ใช้วัดค่าความต้านทานของปากใบ (Stomatal resistance) และ อุณหภูมิของใบกาแฟ Automatic porometer มีส่วนประกอบที่สำคัญ 2 ส่วน คือ ส่วนที่ใช้จับกับใบ (Clamp) และส่วนตัวเครื่องควบคุม ก่อนที่จะนำ Porometer ไปใช้ในการวัดจะต้องมีการวัดจำนวนค่า Count จาก Calibration plate ซึ่งประกอบด้วยช่องพรุน ขนาดต่าง ๆ กัน 6 ขนาด เรียงกระจายอยู่เต็มพื้นที่เท่ากัน ซึ่งจะมีค่าความต้านทาน (Resistance) ต่างกัน ที่อุณหภูมิ 20 °ซ. ค่า Resistance ของ Calibration plate มีดังนี้คือ

จำนวนช่อง	1	2	3	4	5	6
Resistance (s/cm)	22.5	10.9	6.5	2.9	1.3	0.4

ในกรณีที่อุณหภูมิสูงกว่า 20 °ซ. จะใช้ค่า Resistance ที่รับค่าตามอุณหภูมิดังนี้

จำนวนช่อง	1	2	3	4	5	6
Resistance ที่ 25 °ซ.	21.825	10.573	6.305	2.813	2.261	0.388
Resistance ที่ 30 °ซ.	21.15	10.246	6.11	2.726	1.222	0.376

จากนั้นหาสมการเส้นตรง $y = a + bx$ ของ Calibration graph ระหว่างค่า Resistance ของช่องพรุน กับค่า Count โดยใช้ โปรแกรมคอมพิวเตอร์ LOTUS (รายละเอียดในภาคผนวก)

เมื่อทำการวัดค่า Count จากใบพืชซึ่งอาศัยหลักการตรวจวัดระยะเวลาที่ใช้สำหรับการระเหยของน้ำภายในใบผ่านปากใบออกมายังอากาศแห้งใน Clamp จนความชื้นในอากาศแห้งนั้นเพิ่มถึงจุดที่กำหนดโดยการใช้ Clamp จับที่ใบพืช ระยะเวลาที่ใช้จะเป็นสัดส่วนผกผันกับขนาดของรูปากใบ ค่า Resistance สามารถหาได้โดยการป้อนค่า Count เข้าไปในโปรแกรม Lotus จะแปรออกมาเป็นค่าความต้านทานของปากใบ (Stomatal resistance, r_s) และคำนวณค่าการเปิดของปากใบ (Stomatal conductance, g_s) โดยใช้สมการ

$$\text{Stomatal conductance} = \frac{1}{\text{Stomatal resistance}} \text{ cm/s}$$

2. Pressure bomb



ใช้วัดค่าศักย์ของน้ำภายในใบหรือ Leaf water potential (ψ) Pressure bomb ประกอบด้วย ส่วน Chamber ที่ทนแรงอัดของอากาศได้ดี หน้าปัดบอกค่าความดันมีหน่วยเป็นบาร์ (bar) และถังก๊าซไนโตรเจน วิธีการคือ ตัดใบกาแพ่ที่ต้องการหาค่าศักย์ของน้ำภายในใบ ใส่ลงใน Pressure chamber ที่ปิดฝาสนิทโดยให้ก้านใบโผล่ออกจากฝาของ Chamber หลังจากนั้นปล่อยก๊าซไนโตรเจน (ภายใต้ความดันที่ทราบโดยอ่านจากหน้าปัดบอกความดัน) เข้าไปใน Chamber อย่างช้า ๆ เมื่อความดันของก๊าซที่ปล่อยเข้าไปมากพอจนทำให้น้ำ (sap) ของใบพืชไหลกลับมาจากรอยตัดที่ก้านใบ จนสามารถมองเห็นได้ชัดเจน ปริมาณความดัน ณ จุดนั้น ถือเป็นจุดของ Water potential ของใบพืช มีหน่วยเป็น บาร์ (bar)

3. Photometer Li - cor, inc ; LI - 188 B

ใช้วัดความเข้มของแสง ที่ตกกระทบบนระนาบผิวใบ ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ ตัวเครื่องและส่วนวัดแสง (Quantum sensor) ซึ่งเป็นส่วนที่ใช้รับแสงตกกระทบ ในการวัดจะนำไปวัดที่ตำแหน่งที่ระนาบพื้นผิวใบที่รับแสง ค่าที่อ่านได้เป็น Photon flux density มีหน่วยเป็น $\mu\text{E}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$

4. Assmann's psychrometer

ใช้วัดความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ (Relative humidity) ประกอบด้วยเทอร์โมมิเตอร์ของกระเปาะแห้ง และกระเปาะเปียก วิธีการ คือ แขน Assmann's psychrometer ในแนวระดับที่ความสูงประมาณ 1 เมตร จากพื้นดินไว้สักครู่ จากนั้นอ่านค่าอุณหภูมิของกระเปาะแห้งและกระเปาะเปียก แล้วนำผลต่างระหว่างอุณหภูมิของกระเปาะทั้งสองมาเปรียบเทียบกับตารางมาตรฐาน (Aspiration psychrometer's table) ก็จะทราบค่าความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศในขณะนั้น มีหน่วยเป็น เปอร์เซ็นต์ (%)

5. Freezing microtome

เป็นเครื่องมือที่ใช้ตัดใบพืชเป็น Section ขนาดต่าง ๆ ตามต้องการเพื่อใช้ในการดูภาพตัดขวางของใบ วิธีการคือ นำใบกาแฟที่ตัดเป็นชิ้นขนาด 0.5 x 1.0 ซม. มายึดติดแน่นใน Paraffin หลังจากนั้นปรับขนาดความหนาของ Section ที่ต้องการจะตัดแล้วใช้มือหมุนให้ใบมีดทำงาน ใบมีดจะตัดใบกาแฟได้ขนาดตามต้องการ แล้วนำ Section ที่ได้วางบน Slide แล้วนำไปตรวจสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ และถ่ายภาพ

6. Soil extractor apparatus membrane

ใช้หา Soil moisture characteristic เครื่องมือประกอบด้วย 3 ส่วนคือหม้อโลหะที่มีฝาปิด งานที่มีลักษณะรู (Plate) และหน้าปิดบอกความดันอากาศ วิธีทดลอง โดยเจาะดินที่ระดับความลึกที่ต้องการด้วย Soil auger ห่อด้วยกระดาษกรองแล้วทำให้อิ่มตัวด้วยน้ำประมาณ 12 ชั่วโมง แล้วนำไปวางบน plate ใน Soil extractor apparatus membrane ปรับความดันภายในที่ 0.1, 0.3, 0.5, 1.0, 3.0, 10 และ 15.0 บาร์ ตามลำดับ ทุก ๆ ระดับความดันซึ่งน้ำหนักของตัวอย่างดินทุกครั้งหลังจากที่น้ำได้ระบายออกหมดแล้ว และนำดินไปอบแห้งในตูอบดิน เพื่อหาปริมาณน้ำในดินต่อน้ำหนักแห้ง จากนั้นเขียนกราฟระหว่างเปอร์เซ็นต์ความชื้น โดยน้ำหนักของดินกับความดันที่ใช้ และจะหา Available water capacity (AWC) ได้เมื่อทราบ Soil moisture content (% weight by weight)

7. ตู้อบดิน (Soil oven)

ใช้อบดินเพื่อหาน้ำหนักแห้ง โดยปรับที่อุณหภูมิ 80 °ซ. ใช้เวลา 24 ชั่วโมง

8. Soil auger และ Soil core

ใช้เจาะดินที่ระดับความลึกที่ต้องการ เพื่อนำไปหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นในดิน ในที่นี้ใช้เจาะดินถึงระดับความลึก 15 ซม.

9. กล้องจุลทรรศน์ชนิดถ่ายภาพได้

ใช้ถ่ายภาพจากสไลด์ของชิ้นส่วนของพืช สามารถถ่ายภาพได้เมื่อใช้กำลังขยายของกล้องจุลทรรศน์ต่าง ๆ กัน

10. เครื่องมือวัดพื้นที่ใบ (Leaf area meter)

ใช้วัดพื้นที่ใบกาแพทั้ง 3 พันธุ์ โดยเด็ดใบกาแพทุกใบให้หมดต้น นำแต่ละใบมาผ่านเข้าเครื่องมือวัดพื้นที่ใบ แล้วอ่านค่าที่ปรากฏบนหน้าปัดมีหน่วยเป็น ตารางเซนติเมตร และตารางมิลลิเมตร (cm^2 และ mm^2)

11. ตู้อบตัวอย่างพืช ขนาดบรรจุ 2 ม³

ใช้อบตัวอย่างพืชที่ได้ผ่านการวัดพื้นที่ใบ, การชั่งน้ำหนักสดของส่วนใบ, ลำต้น และรากโดยใช้อุณหภูมิ 80 °ซ. เป็นเวลา 48 ชม. หลังจากนั้น จึงนำไปชั่งน้ำหนักแห้ง

12. เครื่องชั่งน้ำหนัก

ใช้ชั่งน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของตัวอย่างพืช รวมทั้งน้ำหนักดินที่ต้องการหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นในดิน ในการควบคุมปริมาณความชื้นในดินแต่ละระดับ

13. เครื่องเหวี่ยงเพื่อแยกชั้นของสารละลาย

เป็นเครื่องมือใช้ในวิธีการสกัดหาปริมาณโปรตีน และคลอโรฟิลล์ เพื่อใช้ในขั้นตอนการแยกชั้นของ สารละลายระหว่างคลอโรฟอร์ม และชั้นผสมของน้ำกับ เมทานอล ในความเร็วรอบ 2,000 รอบ ต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นจึงนำชั้นของสารละลายแต่ละชั้นนำไปหาปริมาณคลอโรฟิลล์และ โปรตีนตามลำดับ

14. เครื่องมือวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

เป็นเครื่องมือใช้ในวิธีการหาปริมาณโปรตีน และคลอโรฟิลล์โดยวัดค่าดูดกลืนแสงของชั้นสารละลายคลอโรฟอร์ม ที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร (nm.) ในขั้นตอนสุดท้ายของวิธีการหาปริมาณคลอโรฟิลล์โดยมีคลอโรฟอร์มบริสุทธิ์เป็นตัวเปรียบเทียบ (Blank) และหาปริมาณโปรตีนที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร (nm.) ในขั้นตอนสุดท้ายของวิธีการเช่นกัน โดยมี โทลูอีนเป็นตัวเปรียบเทียบ (Blank)

15. อุปกรณ์และเครื่องแก้วสำหรับหาปริมาณคลอโรฟิลล์และ โปรตีน

เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ในการหาปริมาณคลอโรฟิลล์ และ โปรตีนตามวิธีการของ Faber และ Aspinall (1981) ได้แก่ เครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป เช่น

1. หลอดทดลอง ขนาดเล็ก และ ขนาดกลาง
2. บีเปต ขนาด 1 มล. 10 มล.
3. บีกเกอร์ ขนาด 50 มล., 100 มล., 200 มล., 500 มล.
4. กระบอกตวงขนาด 10 มล., 50 มล., 100 มล.
5. หลอดพลาสติกสำหรับเครื่องเหวี่ยงเพื่อแยกชั้นของสารละลายขนาด 50 มล. เป็นต้น

16. สารเคมี

สารเคมีที่ใช้สำหรับสกัดโปรตีน และคลอโรฟิลล์ในใบกาแฟตามวิธีของ Faber and Aspinall (1981) มีดังนี้

1. Methanol
2. Chloroform
3. Sulphur-free Toluene
4. Glacial Acetic Acid
5. 6 - Orthophosphoric Acid
6. Ninhydrin
7. Chromatographically pure L-Proline
8. Distilled Water

4. วิธีการที่ใช้ในการทดลอง

1. การศึกษาลักษณะและสีพื้นฐานวิทยาของปากใบกาแฟแต่ละพันธุ์ภายใต้สภาวะเครียดของการขาดน้ำและอุณหภูมิสูง

1.1 จำนวนและการกระจายของปากใบ

อุปกรณ์และวิธีการ

ในการตรวจนับจำนวน และการกระจายของปากใบกาแฟไม่สามารถกระทำได้โดยตรง เนื่องจากข้อจำกัดของกล้องจุลทรรศน์ที่ต้องอาศัยระบบแสงส่องผ่านวัสดุที่ใช้ตรวจสอบ ต้องทำภาพพิมพ์ของใบด้วยวัสดุโปร่งใส ซึ่งในการทดลองนี้ใช้น้ำยาทาเล็บชนิดใสทาลงบนผิวใบที่ตำแหน่งต่างๆ ของใบ เมื่อน้ำยาทาเล็บแห้งดีแล้ว จึงลอกเอาแผ่นน้ำยาทาเล็บนั้นมาวางบนสไลด์ แล้วจึงนำไปตรวจนับจำนวนปากใบต่อหน่วยพื้นที่ในการตรวจสอบปากใบใช้ภาพพิมพ์ 2 แผ่นต่อหนึ่งใบและใช้ 2 ใบต่อหนึ่งพันธุ์ ทั้งนี้ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบจำนวนและการกระจายของปากใบของใบในและใบนอกทรงพุ่มด้วย

1.2 การศึกษาสัณฐานวิทยาของใบ

อุปกรณ์และวิธีการ

เพื่อศึกษาถึง โครงสร้างของใบกาแพทั้ง 3 พันธุ์ คือ เรด แคททูร่า, เยลโล่ คาทุย, คาทิมอร์ 1662, ทั้งใบกาแพที่อยู่ภายในและภายนอกทรงพุ่ม ของกาแพทั้ง 3 พันธุ์ดังกล่าว ที่อยู่ภายใต้สภาวะเครียดของการขาดน้ำและอุณหภูมิสูงระยะสั้นและระยะยาว โดยนำใบคู่ที่ 4 และ 5 ซึ่งเป็นคูใบที่มีรายงานว่ามีอัตราการสังเคราะห์แสงสูงสุด (Kumar และ Tieszen, 1976) โดยตัดใบเป็นชิ้นขนาด 0.5x1.0 ซม. แล้วนำมาตัดตามขวางด้วยเครื่อง freezing microtome ให้ได้ชิ้นส่วนของใบขนาดความหนาประมาณ 200 μ นำชิ้นส่วนที่ได้วางบนสไลด์แล้วตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ และถ่ายภาพ

2. พฤติกรรมการตอบสนองของปากใบกาแพอราบิก้าต่อสภาวะเครียดของการขาดน้ำและอุณหภูมิสูง

การทดลองนี้ ได้ทำการวัดค่าความต้านทานของปากใบ อุณหภูมิใบ อุณหภูมิอากาศ ค่าศักย์ของน้ำในใบ ค่าความชื้นสัมพัทธ์ และปริมาณแสง โดยใช้อุปกรณ์ดังต่อไปนี้

1. เครื่องมือวัดค่าความสามารถในการเปิดของปากใบ (Automatic Porometer MK-3 Delta-T Devices)
2. เครื่องมือวัดค่าศักย์ของน้ำภายในใบ (Pressure Bomb)
3. เครื่องมือวัดปริมาณแสง (Photometer Li-Cor : Inc ; Li-188 B)
4. เครื่องมือวัดความชื้นสัมพัทธ์ (Assmann's Psychrometer)
5. เครื่องมือบันทึกความชื้นและอุณหภูมิตลอดทั้งวัน (Thermohygrograph)

ทำการทดลองกับต้นกล้ากาแพอราบิก้าทั้ง 3 พันธุ์ที่มีอายุประมาณ 1 ปี ปลูก ในโรงพลาสติกที่มีอุณหภูมิสูง ทำการวัดค่าต่าง ๆ ที่กล่าวมาแล้วข้างต้น โดยวัดทุก ๆ 15 วัน ซึ่งในการเก็บข้อมูลแต่ละครั้งจะทำการวัดตั้งแต่ 08.00 น. ต่อจากนั้นก็วัดทุก ๆ 2 ชั่วโมง คือ 10.00 น. 12.00 น. 14.00 น. 16.00 น. จนกระทั่งพระอาทิตย์ตกดิน และแต่ละครั้งจะบันทึกค่าเหล่านี้ โดยทำในเวลาใกล้เคียงกัน

3. การศึกษาปริมาณโปรตีนของใบกาแฟรามีที่ภายใต้สภาวะเครียดของการขาดน้ำและอุณหภูมิสูง

อุปกรณ์และวิธีการ

โดยใช้ใบคั่วที่ 4 และคั่วที่ 5 ของกาแฟ ที่ปลูกภายใต้สภาวะเครียดของอุณหภูมิสูงและการขาดน้ำในโรงเรือนพลาสติก ทำการวัดปริมาณโปรตีน ตามวิธีของ Faber and Aspinall (1981) ซึ่งใช้เนื้อเยื่อสดที่มีน้ำหนักประมาณ 0.5 กรัม เติมน้ำละลายผลระหว่าง เมธานอล คลอโรฟอร์มและน้ำ อัตราส่วน 12:5:3 (โดยปริมาตร) ทำการแยกชั้นของสารละลายโดยเครื่องมือแยกชั้นของสารละลายที่มีความเร็วรอบ 2,000 รอบต่อนาที นำส่วนที่แยกได้ในชั้นบนเติมน้ำละลายกรดอะซิติกและสารไทลูอินให้ผสมกันแล้วทิ้งไว้ให้เย็นอีก 30 นาที ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องต่อจากนั้นเติมน้ำละลายไทลูอินให้ผสมกันแล้วทิ้งไว้ให้เย็นอีก 30 นาที จึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องมือวัดการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร โดยใช้ไทลูอินเป็นตัวปรับค่าที่ศูนย์ (Blank) แล้วจึงนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเทียบกับแผนภูมิมาตรฐาน เพื่อเทียบหาปริมาณโปรตีนที่มีในใบกาแฟแต่ละสายพันธุ์ ภายใต้สภาวะเครียดต่อไป

4. การวิเคราะห์การเจริญเติบโตของกาแฟรามีที่แต่ละพันธุ์ ภายใต้สภาวะเครียดของการขาดน้ำและอุณหภูมิสูง

อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการศึกษาเกี่ยวกับกาแฟสายพันธุ์ เรด แคททูรา เฮลโล่คาทุย และ คาทิมอร์ 1662 ที่ปลูกในโรงเรือนพลาสติก ทำการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของการเจริญเติบโตกับสภาวะเครียดของสภาพแวดล้อม โดยทำการวัดค่าต่าง ๆ ดังนี้

- ก. น้ำหนักสดของลำต้น ใบ แต่ละพันธุ์
- ข. น้ำหนักแห้งของกาแฟส่วนเหนือดิน
- ค. พื้นที่ใบทั้งหมดของกาแฟแต่ละพันธุ์

ทำการเก็บข้อมูลทุก ๆ 1 เดือน ทำการทดลองประมาณ 6 เดือน โดยทุก ๆ ครั้งที่ทำ การเก็บข้อมูลจะทำการชั่งน้ำหนักสดของกาแฟทั้งต้น (เฉพาะส่วนเหนือดิน) แล้วนำมาแยกชิ้นเป็น ส่วนๆ คือ ลำต้น และใบ หลังจากนั้นทำการแยกใบมาทำการวัดพื้นที่ใบ โดยเครื่องมือวัดพื้นที่ใบ ที่ ศูนย์วิจัยและเพิ่มผลผลิตทางเกษตร แล้วจึงนำใบ ไปอบแห้ง โดยใช้ตู้อบตัวอย่างพืชจนแห้งสนิทที่ห้อง ปฏิบัติการภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ แล้วชั่งน้ำหนักแห้งจาก ลำต้น และใบ แต่ละส่วน อีกครั้งหลังจากนั้นจึงนำข้อมูลที่ได้มา เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญเติบโตกับสภาวะ เครียดของการขาดน้ำและอุณหภูมิสูงต่อไป

5. ปริมาณคลอโรฟิลล์ของ ใบกาแฟอาราบิก้าแต่ละสายพันธุ์ภายใต้สภาวะเครียดของการขาด น้ำและอุณหภูมิสูง

อุปกรณ์และวิธีการ

นำเนื้อเยื่อสด 0.5 กรัม เติมน้ำละลายผสมระหว่าง เมธานอล คลอโรฟอร์ม และ น้ำ อัตราส่วน 12:5:3 (โดยปริมาตร) 5 มล. บดให้ละเอียด แล้วเติมน้ำละลายดังกล่าว 5 มล. อีก 2 ครั้ง เพื่อล้างส่วนผสมสีในหลอดที่ใช้สำหรับเครื่องแยกชั้นของสารละลายแล้วเติมน้ำ กลั่น และคลอโรฟอร์ม อีกอย่างละ 5 มล. นำไปเหวี่ยงเพื่อแยกชั้นของสารละลาย โดยเครื่องแยก ชั้นของสารละลาย ที่มีความเร็วรอบ 2,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายส่วน ล่างเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C. แล้วแบ่งมา 1 มล. เพื่อเติมคลอโรฟอร์มอีก 19 มล. แล้วนำไปวัดค่า การดูดกลืนแสง ค่าที่ได้นำไปคำนวณโดยอาศัยสมการที่กำหนด เพื่อหาปริมาณคลอโรฟิลล์ดังนี้

$$\text{Chlorophyll} = 0.01272 A_{663} - 0.002582 A_{645}$$

$$\text{Chlorophyll b} = 0.02288 A_{645} - 0.004671 A_{663}$$

(A = Optical density)

5. สถานที่ในการดำเนินการวิจัยและรวบรวมข้อมูล

1. โรงเรือนพลาสติก ที่แปลงทดลองภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. ห้องปฏิบัติการภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. ห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยและเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
4. ห้องปฏิบัติการภาควิชาปฐพีศาสตร์และอนุรักษศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved