บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

1. พืชทดลอง กิ่งมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์ที่เสียบบนต้นตอมะม่วงแก้วอายุ 10 เดือน ตัดแต่งกิ่งให้มีลำต้นเดี่ยวสูงประมาณ 50 ซม. ปลูกในกระถางพลาสติกขนาด 28 ลิตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 30 ซม. ใช้ทรายละเอียดเป็นวัสดุปลูกโดยให้ธาตุอาหารพืชในรูปสารละลาย ซึ่งมีองค์ประกอบและความเข้มข้นดังต่อไปนี้

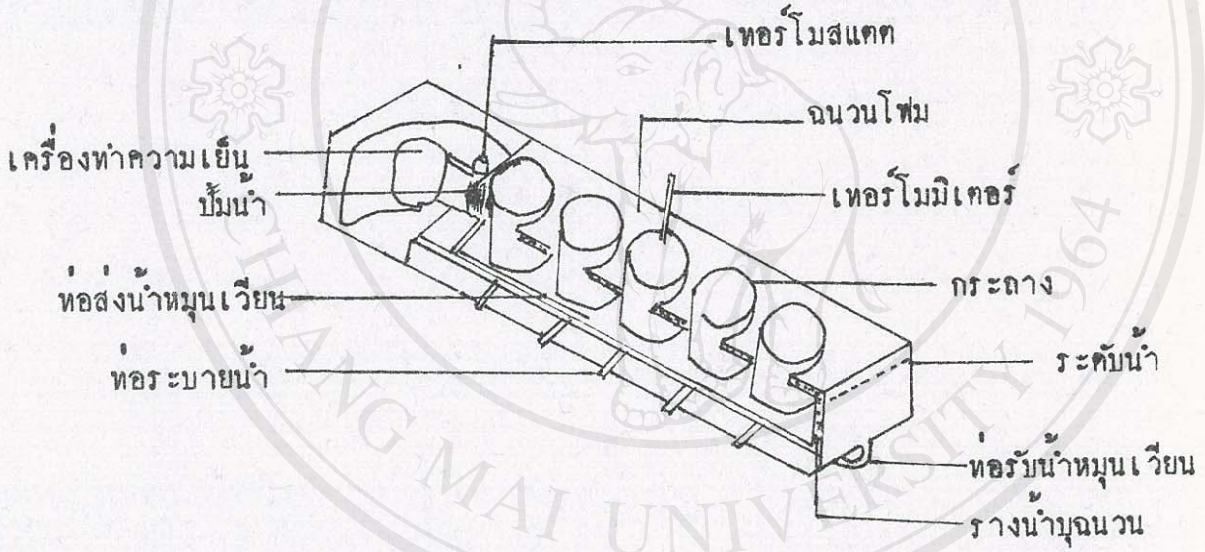
Cation	meq/l	Anion	meq/l
Mg^{++}	4	NO_3^-	5
K^+	6	$H_2PO_4^-$	4
Ca^{++}	5	$SO_4^=$	6
รวม	15		15

สำหรับธาตุอาหารรองให้ตามคำแนะนำของ Hoagland and Arnon (1952) โดยปรับ pH ให้อยู่ในระดับ 6.5 รดด้วยน้ำละลายอาหารในช่วงเวลาเช้า ส่วนช่วงเวลาเย็นรดด้วยน้ำทุก ๆ วัน

2. เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา

2.1 เครื่องควบคุมอุณหภูมิรากใช้ควบคุมอุณหภูมิระหว่างการศึกษาทดลองมีระบบการไหลเวียนของน้ำในรางน้ำที่แช่กระถางปลูก ปรับอุณหภูมิด้วยเครื่องทำความเย็นที่ควบคุมโดยเทอร์โมสเตต (ภาพที่ 1) การปรับอุณหภูมิทำโดยอ่านค่าของอุณหภูมิจากเทอร์โมมิเตอร์ที่ปักลงในกระถางปลูกลึกประมาณ 10 เซนติเมตรจากนั้นปรับเทอร์โมสเตตเพื่อควบคุมอุณหภูมิที่ระดับ 15° ซ และ 20° ซ สำหรับอุณหภูมิรากสภาพปกติใช้วิธีแช่กระถางปลูกพืชในรางน้ำที่ไม่มีเครื่องควบคุมอุณหภูมิ อุณหภูมิจะผันแปรไปตามสภาพแวดล้อม (ตารางที่ 2)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 1 ระบบการควบคุมอุณหภูมิของรากที่ปลูกในกระถางของเครื่องควบคุมอุณหภูมิราก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เครื่องควบคุมอุณหภูมิรากประกอบด้วยเครื่องทำน้ำเย็น ปั๊มน้ำ เทอร์โมสแตต และรางน้ำสำหรับแช่กระถาง ขนาดรางน้ำกว้าง 0.50 เมตร ยาว 5.00 เมตร และสูง 0.40 เมตร คิดเป็นปริมาตร 1 ลูกบาศก์เมตร ทำด้วยโลหะกันสนิมมี 2 ชั้นระหว่างชั้นภายในบุด้วยโฟมเพื่อทำหน้าที่เป็นฉนวนกันความร้อน ด้านข้างของรางน้ำมีท่อที่สามารถเชื่อมต่อกับกระถางปลูกพืชที่แช่ในรางน้ำที่เกิดจากการให้น้ำ และสารอาหารในแต่ละครั้งออกจากกระถางเมื่อมีมากเกินพอ ใช้กระถาง 2 ชั้นเพื่อป้องกันปัญหาการระบายน้ำรวมถึงการซึมของน้ำจากภายนอกด้วย ส่วนด้านบนของรางน้ำปิดด้วยฉนวนกันความร้อน เจาะช่องสำหรับสอดกระถางปลูกพืชซึ่งมีระยะห่างเท่ากันจำนวน 5 ช่อง แล้วป้องกันด้วยแผ่นพลาสติกอีกชั้นหนึ่งเพื่อกันความร้อนและน้ำจากภายนอกที่จะมีผลทำให้อุณหภูมิภายในรางน้ำเปลี่ยนแปลง

2.2 เครื่องวัดพื้นที่ใบ เครื่องวัดพื้นที่ใบ Model AAM-7 ประกอบด้วย 2 ส่วนคือส่วนที่มีแหล่งกำเนิดแสงสว่างเพื่อรองรับใบพืชที่ต้องการจะวัดและส่วนของตัวเครื่องแปลงสัญญาณไฟฟ้าจากส่วนแรกเป็นค่าพื้นที่ที่วัดได้ โดยเปิดปุ่มการทำงานของเครื่องวัดพื้นที่ใบให้ทำงาน 15 นาทีก่อนการวัด หลังจากนำแผ่นทึบแสงมาตรฐานที่พื้นที่ 100 ตารางเซนติเมตรวางทาบบนสายพานเครื่องเคลื่อนเข้าไปภายใน ขณะเดียวกันปรับปุ่มให้อ่านค่าได้ 99.80 ตารางเซนติเมตร + 1 เปอร์เซ็นต์เมื่อปรับเครื่อง แล้วนำตัวอย่างใบพืชที่ต้องการจะวัดนำมาวัดหาพื้นที่ในค่าที่อ่านได้มีหน่วยเป็นตารางเซนติเมตร

2.3 เวอร์เนียคาริเปอร์

2.4 เครื่องชั่งไฟฟ้า

2.5 ตู้อบ

2.6 อุปกรณ์ไตเตรต

2.7 เครื่องมือวัดเปอร์เซ็นต์ความหวาน (Hand refractometer)

2.8 เครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer)

2.9 แผ่นสีมาตรฐานของ The Royal Horticultural Society, London

2.10 ข้อมูลอุตุนิยมวิทยาในช่วงขณะดำเนินการศึกษาทดลองระหว่างเดือนกรกฎาคม 2534 ถึงมิถุนายน 2535 (ตารางที่ 3)แสดงให้เห็นถึงอุณหภูมิของอากาศสูงสุด ต่ำสุด และค่าเฉลี่ยอุณหภูมิดินที่ระดับ 10 ซม. เปอร์เซ็นต์ความชื้นสัมพัทธ์และปริมาณน้ำฝน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 2 ข้อมูลของอุณหภูมิรากสภาพปกติในช่วงดำเนินการทดลอง (กรกฎาคม 2534 – มิถุนายน 2535)

เดือน	อุณหภูมิราก (°ซ)		
	สูงสุด	ต่ำสุด	เฉลี่ย
กรกฎาคม 2534	30.1	28.5	29.3
สิงหาคม	27.9	26.2	27.1
กันยายน	28.6	28.4	28.5
ตุลาคม	28.9	28.3	28.6
พฤศจิกายน	25.4	24.3	24.9
ธันวาคม	22.4	19.9	21.2
มกราคม 2535	21.3	17.3	19.3
กุมภาพันธ์	22.0	18.8	20.4
มีนาคม	24.6	21.2	22.9
เมษายน	28.1	26.3	27.2
พฤษภาคม	32.5	29.0	30.8
มิถุนายน	30.6	28.2	29.4
เฉลี่ย	26.9	24.7	25.8

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3 ข้อมูลอุตุนิยมวิทยาในช่วงที่ดำเนินการศึกษาทดลอง (กรกฎาคม 2534-มิถุนายน 2535)

อุณหภูมิอากาศ (°ซ)				อุณหภูมิดิน ที่ระดับ 10 ซม. (°ซ)	ความชื้นสัมพัทธ์ (%)	ปริมาณฝน (มม.)
เดือน	สูงสุด	ต่ำสุด	เฉลี่ย			
กรกฎาคม 2534	32.4	23.5	27.3	29.4	76.4	123.8
สิงหาคม	31.7	23.1	26.8	29.0	82.0	336.1
กันยายน	32.4	23.4	27.2	29.7	80.9	179.4
ตุลาคม	32.0	22.1	26.3	29.2	79.8	54.4
พฤศจิกายน	30.2	18.0	23.2	26.4	71.9	34.1
ธันวาคม	29.0	15.2	21.1	23.8	69.4	26.9
มกราคม 2535	28.7	12.7	20.7	22.6	43.0	0
กุมภาพันธ์	30.6	13.3	22.0	22.4	70.0	12.83
มีนาคม	35.7	17.6	26.7	24.8	60.0	0
เมษายน	38.3	22.2	30.3	27.9	55.0	15.5
พฤษภาคม	37.4	23.9	30.7	29.4	53.0	2.6
มิถุนายน	34.8	24.4	29.6	29.9	63.0	2.9

ข้อมูลจากศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 2 ต้นมะม่วงที่ใช้ในการศึกษาด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิราก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์มี 5 ซ้ำ แต่ละซ้ำใช้ต้นมะม่วง 1 ต้น โดยทำการศึกษาอุณหภูมิราก 3 ระดับ ดังนี้

ระดับที่ 1 อุณหภูมิราก 15 ° ซ

ระดับที่ 2 อุณหภูมิราก 20 ° ซ

ระดับที่ 3 อุณหภูมิรากปกติ (เฉลี่ย 25.8 ° ซ)

วิธีการศึกษา

เริ่มศึกษาทดลองที่เรือนเพาะชำของ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ระหว่างเดือนกรกฎาคม 2534 ถึง มิถุนายน 2535 โดยทำการบันทึกข้อมูลดังนี้

1. บันทึกการเจริญเติบโตของต้นมะม่วง

1.1 ความสูงของทรงต้น วัดความสูงจากหลักที่กำหนดไว้บนผิวดินในกระถางจนถึงส่วนปลายสูงสุดของยอด ความสูงของต้นมีหน่วยเป็นเซนติเมตร

1.2 ความกว้างของทรงพุ่ม วัดส่วนที่กว้างที่สุดของทรงพุ่มเป็น 2 แนว ตั้งฉากกันแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย ความกว้างของทรงพุ่มมีหน่วยเป็นเซนติเมตร

1.3 เส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้น วัดส่วนของลำต้นในแนวระดับที่สูงจากรอยต่อขึ้นมา 5 เซนติเมตรแล้วทำเครื่องหมายเพื่อใช้ในการวัดครั้งต่อ ๆ ไป โดยใช้เวอร์เนียคาริเปอร์ เส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้นมีหน่วยเป็นเซนติเมตร

ข้อมูลความสูงของทรงต้น ความกว้างของทรงพุ่มและเส้นผ่าศูนย์กลางของลำต้นแต่ละครั้งที่วัดได้นำมาเฉลี่ยเป็นข้อมูลแต่ละระดับอุณหภูมิราก ทำการบันทึกเดือนละครั้ง จำนวน 12 ครั้ง นำมาหาอัตราการเจริญเติบโตตามสูตรที่แนะนำโดย Shabana et al (1981) คือ

$$R = \frac{(Xt - Xo) \times 100}{Xo}$$

R = อัตราการเจริญเติบโตเป็นร้อยละ

Xt = ค่าการวัดครั้งหลัง

Xo = ค่าการวัดครั้งแรก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.4 น้ำหนักแห้ง เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองบันทึกน้ำหนักแห้งของราก ลำต้น กิ่ง และใบ รวมกิ่งใบทั้งหมดที่ร่วงหล่น การหาน้ำหนักแห้งโดยใช้ตู้อบที่อุณหภูมิ 80° ซ เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง

2. ศึกษาการเจริญเติบโตของยอด

2.1 ชนิดของช่อที่ผลิ เมื่อช่อเจริญเติบโตเต็มที่เก็บข้อมูลชนิดของช่อคือช่อดอก หรือช่อใบ

2.2 เปอร์เซ็นต์การผลิช่อใบและช่อดอก โดยตรวจนับและผูกป้ายไว้ทุก ๆ ครั้งที่ผลิใบใหม่ และยอดมีความยาว 2 เซนติเมตร

2.3 จำนวนครั้งที่ผลิช่อ ตรวจนับและผูกป้ายทุก ๆ ครั้งที่มีการผลิช่อขณะมีความยาว 2 เซนติเมตร

2.4 จำนวนใบต่อยอดใหม่ ตรวจนับเมื่อใบมีสีเขียว

2.5 ความยาวของยอดใหม่ เมื่อใบมีอายุ 60 วันหลังผลิช่อ วัดจากฐานรอยต่อระหว่างช่อใหม่และช่อเก่าจนถึงปลายสุดของกิ่ง

2.6 เส้นผ่าศูนย์กลางของยอดใหม่ ตรวจนับเมื่อใบมีสีเขียว วัดตรงจุดที่อยู่เหนือฐานรอยต่อของช่อใหม่และช่อเก่าขึ้นมา 2 เซนติเมตร

2.7 ขนาดของพื้นที่ใบในช่อที่ผลิใหม่ คัดเลือกใบระหว่างข้อที่ 3 ถึง 5 โดยนับจากฐานขึ้นไปในช่อที่ผลิใหม่เมื่อใบมีสีเขียว ด้วยการทาบใบบนกระดาษทิบแล้วนำมาวัดพื้นที่ใบโดยใช้เครื่องมือวัดพื้นที่ใบ Model AAM-7

2.8 ความกว้างและความยาวของใบที่ผลิใหม่ คัดเลือกใบระหว่างข้อที่ 3 ถึง 5 นับจากฐานขึ้นไปในช่อที่ผลิใหม่ โดยวัดส่วนที่กว้างและยาวที่สุดของใบ วัดทุกวันจนกว่าความกว้างและความยาวของใบคงที่

2.9 การเปลี่ยนสีของใบที่ผลิใหม่ นับจำนวนวันที่มีการเปลี่ยนสีของใบเป็นสีเขียวอ่อน โดยการเทียบสีกับแผ่นสีมาตรฐานของ The Royal Horticultural Society, London

3. วิเคราะห์ผลผลิต

3.1 อัตราส่วนของเพศดอก นับจำนวนดอกเพศผู้และดอกสมบูรณ์เพศเมื่อช่อดอกบาน 80 เปอร์เซ็นต์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2 เปอร์เซ็นต์การติดผล นับจำนวนผลในแต่ละช่อ 3 ครั้งคือ เมื่อผลมีขนาดเท่าหัวไม้ขีดไฟ ผลมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 ซม. และเมื่อผลแก่โดยคิดจากดอกสมบูรณ์เพศทั้งหมดในช่อดอก

3.3 คุณภาพผลผลิต เมื่อผลแก่เต็มที่มีอายุประมาณ 110 วัน หลังจากดอกบาน 80 เปอร์เซ็นต์ (อนุชาและคณะ 2534) นำผลมะม่วงมาบันทึกข้อมูลทางกายภาพและเคมีดังนี้

3.3.1 น้ำหนักของผล โดยการชั่งน้ำหนักของผล น้ำหนักผลมีหน่วยเป็นกรัม

3.3.2 ขนาดของผลโดยวัดความกว้างคือ ส่วนที่กว้างที่สุดของผลและความสูงคือ ส่วนระหว่างรอยต่อของขั้วผลจนถึงปลายผล ขนาดผลมีหน่วยเป็นเซนติเมตร

3.3.3 ปริมาณกรดรวม (Titratible acidity;TA) วัดโดยใช้น้ำที่คั้นได้จากผลมะม่วงจำนวน 5 มิลลิเมตร แล้วนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น 25 มิลลิเมตร ไตเตรตด้วย NaOH 0.1 N โดยมี Phenolphthalene 1 % เป็นตัวบ่งชี้ (Indicator) คิด TA ในรูปของกรดซิตริก คำนวณออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์โดยใช้สูตร

$$TA = \frac{\text{ปริมาณ NaOH x ความเข้มข้นของ NaOH x mol. Wt. ของกรดซิตริก x 100}}{\text{ปริมาณน้ำคั้นที่ใช้}}$$

3.3.4 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (Total Soluble Solids; TSS) วัดโดยใช้ Hand refractometer จากน้ำคั้นที่ได้จากผลมะม่วง มีหน่วยเป็นองศา-บริกซ์

3.4 วิเคราะห์ธาตุอาหารในใบ ใช้ใบแก่ ต้นละ 10 ใบ เมื่อสิ้นสุดการทดลอง วิเคราะห์หาปริมาณธาตุอาหารมีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ ดังนี้

3.4.1 ไนโตรเจนรวม โดยวิธี Macro-Kjeldahl method

3.4.2 ฟอสฟอรัส โดยใช้ Spectrophotometer วัด Absorbance ที่ 470 นาโนเมตร

3.4.3 โปแตสเซียม โดยใช้ Flame Photometer

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.5 วิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีของใบ โดยวิธีของ Whitham et al (1971) ดังนี้

นำใบมะม่วงที่แก่มาหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ คลุกเคล้าให้เข้ากัน แล้วสุ่มตัวอย่างมา 1 กรัม นำไปบดกับทรายขาวบริสุทธิ์ในโกร่ง เติมอะซิโตน 80 % ประมาณ 10 มิลลิลิตร และนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman เบอร์ 1) บนกระบอกตวง พร้อมทั้งล้างเศษที่ติดในโกร่งบดด้วยอะซิโตน 80 % 2-3 ครั้ง จนไม่มีรงควัตถุติดอยู่กับกากและปรับปริมาตรครั้งสุดท้ายโดยการเติมอะซิโตน 80 % ให้ครบ 20 มิลลิลิตรพอดี และนำไปวัดค่าดูดกลืนแสง (Optical density) ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ช่วงคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร โดยใช้อะซิโตน 80 % เป็น Blank นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ โดยมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมของคลอโรฟิลล์ต่อกรัมน้ำหนักใบ

$$\text{คลอโรฟิลล์เอ} = (12.7\ D663 - 2.69\ D645)\ V/1000 \times W$$

$$\text{คลอโรฟิลล์บี} = (22.9\ D645 - 4.68\ D663)\ V/1000 \times W$$

D = ค่าการดูดกลืนแสง
V = ปริมาตรของสารละลายรงควัตถุ (20 มล.)
W = น้ำหนักของใบ (1 กรัม)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved