บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการที่ใช้ในการทดลอง

1. พืชทดลอง

   1.1 ต้นกล้ากาแฟอราบีก้าสายพันธ์คาติมอร์ 1662 ที่มีอายุ 6-8 เดือน ซึ่งปลูกในถุงพลาสติกสีดำ ขนาด 7 x 10 นิ้ว จำนวน 100 ต้น

   1.2 ต้นกาแฟอราบีก้าสายพันธ์คาติมอร์ 1662 ที่มีอายุ 3 ปี ปลูกกลางแจ้ง ระยะปลูก 2 x 2 เมตร ย้ายปลูกใบเดือนพฤษภาคม 2530 จำนวน 110 ต้น

2. สารเคมีที่ใช้ในการทดลองได้แก่

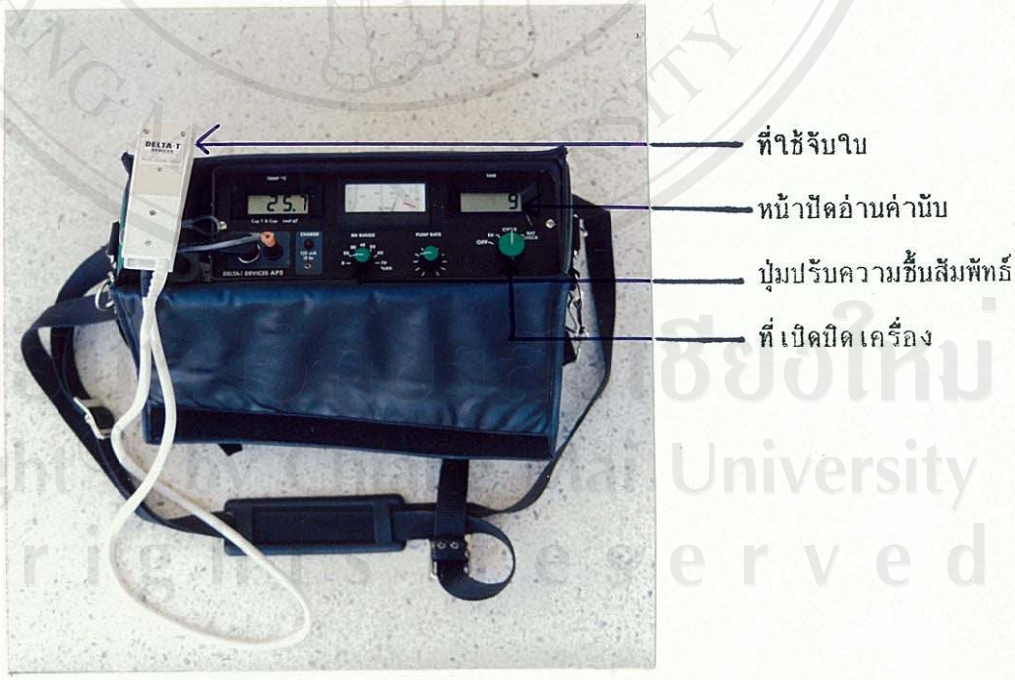
   2.1 Adenine

   2.2 $ZnSO_4$

   2.3 KNO_3

3. เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา

   3.1 Automatic Porometer (MK3 Delta - T Devices) (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 Automatic Porometer

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ใช้วัดค่าความต้านทานของปากใบ (Stomatal resistance) และอุณหภูมิของใบกาแฟ Automatic porometer มีส่วนประกอบที่สำคัญ 2 ส่วนคือ ส่วนที่ใช้จับใบ (Clamp) และส่วนตัวเครื่องควบคุม ก่อนที่จะนำ Porometer ไปใช้ในการวัดจำนวนค่านับ (count) จาก Calibration plate ซึ่งประกอบด้วยช่องพรุน ขนาดต่าง ๆ กันจำนวน 6 ขนาดเรียงกระจายอยู่เต็มพื้นที่เท่ากัน ซึ่งจะมีค่าความต้านทานต่างกัน ที่อุณหภูมิ 20° ซ ค่าความต้านทาน 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

ในกรณีที่อุณหภูมิใบสูงกว่า 20 ° ซ จะใช้ค่า ความต้านทาน ที่ปรับค่าตามอุณหภูมิดังนี้

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	21.150	10.246	6.110	2.726	1.222	0.376

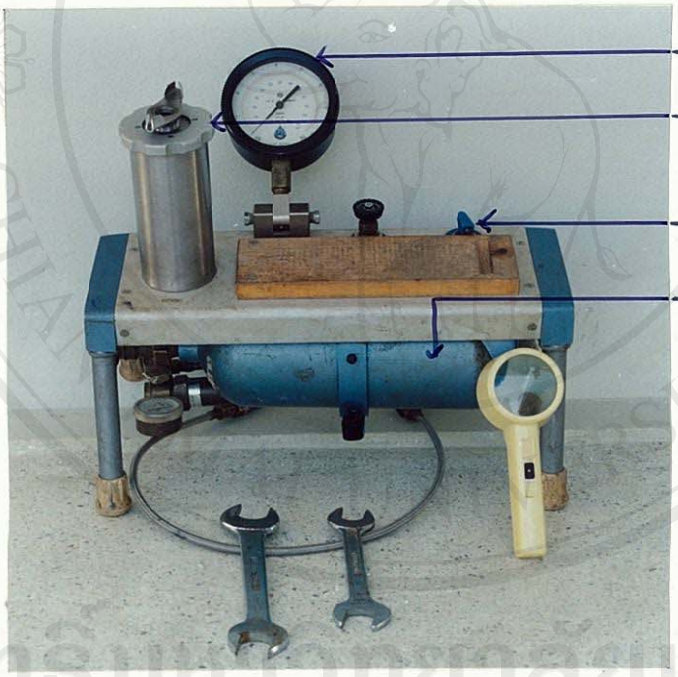
จากนั้นหาสมการเส้นตรง $y = a + bx$ ของ Calibration graph ระหว่างค่าความต้านทาน ของช่องพรุน กับค่านับ โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ LOTUS (รายละเอียดในภาคผนวก)

เมื่อทำการวัดค่านับ จากใบพืชซึ่งอาศัยหลักการตรวจวัดระยะเวลาที่ใช้สำหรับการระเหยของน้ำภายในใบผ่านปากใบออกมายังอากาศแห้งใน ที่ใช้จับใบจนความชื้นในอากาศแห้งนั้นเพิ่มถึงจุดที่กำหนดโดยการใช้ที่ใช้จับใบจับที่ใบพืช ระยะเวลาที่ใช้จะเป็นสัดส่วนผกผันกับขนาดของรูปากใบ ค่าความต้านทาน สามารถหาได้โดยการป้อนค่านับ เข้าไปในโปรแกรม Lotus จะแปรออกมาเป็นค่าความต้านทานของปากใบ และคำนวณค่าการเปิดของปากใบ (Stomatal conductance, g_s) โดยใช้สมการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Stomatal conductance (cm.s^{-1}) = $\frac{1}{\text{Stomatal resistance}}$

3.2. Pressure bomb (ภาพที่ 2)



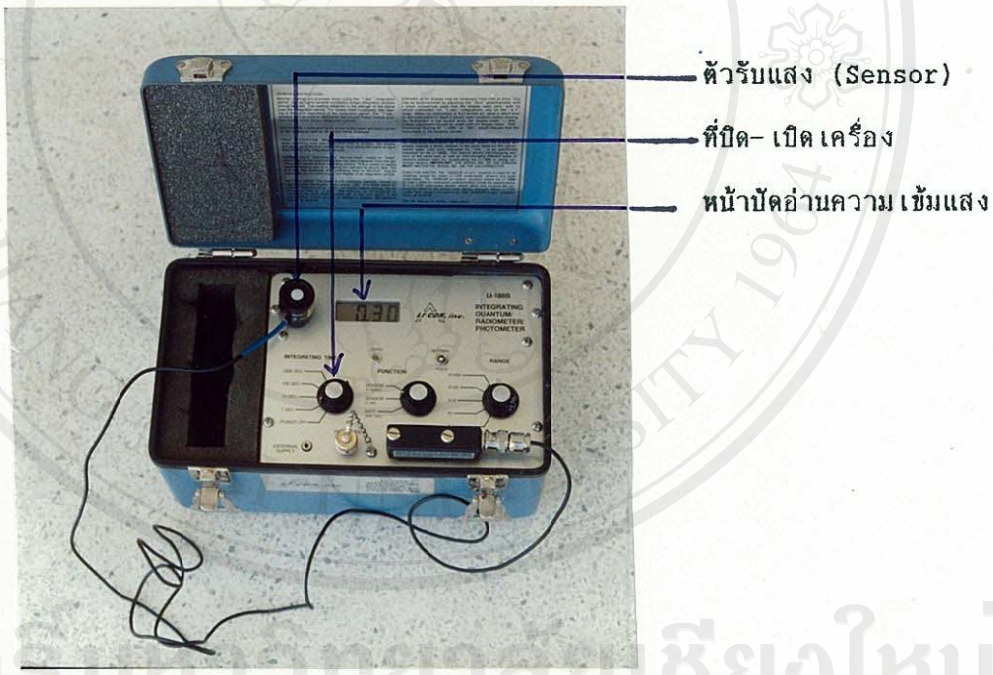
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 2 Pressure bomb

ใช้วัดค่าความต่างศักย์ของน้ำภายในใบหรือ Leaf water potential (Ψ) Pressure bomb ประกอบด้วยส่วนกระบอกที่อัดอากาศ ที่ทนแรงอัดของอากาศได้ดี หน้าปัดบอกค่าความดันมีหน่วยเป็นบาร์ (bar) และถังก๊าซไนโตรเจน วิธีการคือ ตัดใบกาแฟที่ต้องการหาค่าศักย์ของน้ำ

ภายในใบใส่ลงในกระบอกที่อัดอากาศ ที่ปิดฝาสนิท โดยให้ก้านใบโผล่ออกจากฝาของ กระบอกที่อัดอากาศ หลังจากนั้นปล่อยก๊าซไนโตรเจน (ภายใต้ความดันที่ทราบโดยอ่านจากหน้าปัดบอกความดัน) เข้าไปใน กระบอกที่อัดอากาศ อย่างช้า ๆ เมื่อความดันของก๊าซที่ปล่อยเข้าไปมากพอจนทำให้น้ำ (sap) ของใบพืชไหลกลับมาจนถึงรอยตัดที่ก้านใบ จนสามารถมองเห็นได้ชัดเจน ปริมาณความดัน ณ จุดนั้น ถือเป็นจุดของ ค่าศักย์ของน้ำของใบพืช

3.3. Photometer Li - cor, inc ; 188 B (ภาพที่ 3)

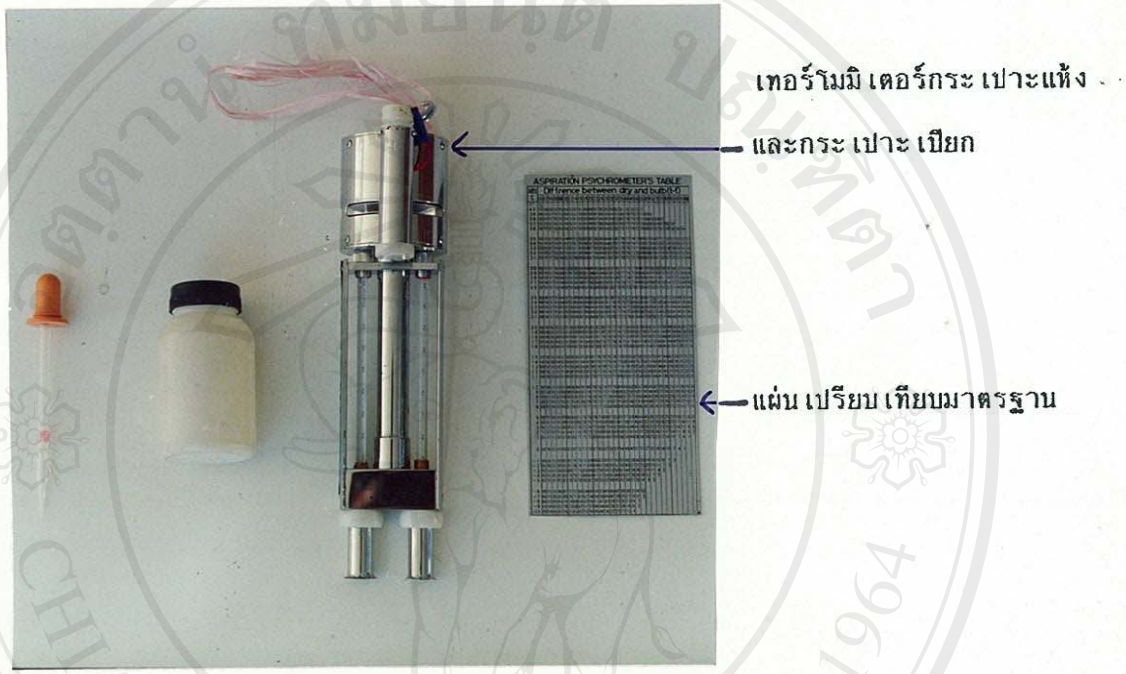


ภาพที่ 3 Photometer Li - Cor , inc ; 188 B

ใช้วัดความเข้มของแสง ที่ตกกระทบบนระนาบผิวใบ ประกอบด้วย 2 ส่วนคือ ตัวเครื่อง และส่วนวัดแสง (Quantum sensor) ซึ่งเป็นส่วนที่ใช้รับแสงตกกระทบ ในการวัดจะนำไปวัดที่ตำแหน่งที่ระนาบพื้นผิวใบที่รับแสง ค่าที่อ่านได้เป็น Photon flux density มีหน่วยเป็น $\mu E.m^{-1}.s^{-1}$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.4. Assmann's psychrometer (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 Assmann's psychrometer

ใช้วัดความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ (Relative humidity) ประกอบด้วย เทอร์โมมิเตอร์ของกระเปาะแห้ง และกระเปาะเปียก วิธีการคือ แขวน Assmann's psychrometer ในแนวระดับที่ความสูงประมาณ 1 เมตร จากพื้นดินไว้สักครู่ จากนั้นอ่านค่าอุณหภูมิของกระเปาะแห้งและกระเปาะเปียก แล้วนำผลต่างระหว่างอุณหภูมิของกระเปาะทั้งสองมาเปรียบเทียบกับตารางมาตรฐาน (Aspiration psychrometer's table) ก็จะทราบค่าความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศ ในขณะนั้น มีหน่วยเป็น เปอร์เซ็นต์ (%)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.5. ตู้อบดิน (Soil oven)

ใช้อบดินเพื่อหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นของดิน โดยปรับใช้ที่อุณหภูมิ 110° ซ เวลานาน 24 ชั่วโมง

3.6. เครื่องชั่งน้ำหนัก

ใช้ชั่งน้ำหนักสดของตัวอย่างพืช สารเคมี รวมทั้งน้ำหนักดินที่ต้องการหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น

3.7. Soil auger และ Soil core

ใช้เจาะดินที่ระดับความลึกที่ต้องการ เพื่อนำไปหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นในดิน ในที่นี้ใช้เจาะดินถึงระดับความลึก 0-15 ซม. และ 16-30 ซม.

3.8. ตลับเทป

ใช้วัดหาความสูงของต้นกาแฟที่เปลี่ยนแปลงไป

3.9. เวอร์เนียคาลิเปอร์

ใช้วัดหาเส้นผ่าศูนย์กลางของต้นกาแฟ โดยวัดที่ตำแหน่งสูงห่างจากระดับผิวดิน 10 ซม.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.10. เครื่องเหวี่ยงเพื่อแยกชั้นของสารละลาย

เป็นเครื่องมือใช้ในการสกัดหาปริมาณโปรลีน และคลอโรฟิลล์ เพื่อใช้ในขั้นตอนการแยกชั้นของ สารละลายระหว่างคลอโรฟอร์ม และชั้นผสมของน้ำกับ เมธานอล ในความเร็ว 2,000 รอบ ต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที หลังจากนั้นจึงนำชั้นของสารละลายแต่ละชั้นไปหาปริมาณคลอโรฟิลล์และโปรลีน

3.11. เครื่องมือวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

เป็นเครื่องมือใช้ในการหาปริมาณโปรลีน และคลอโรฟิลล์โดยวัดค่าดูดกลืนแสงของชั้นสารละลายคลอโรฟอร์ม ที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร (nm.) ในขั้นตอนสุดท้ายของวิธีการหาปริมาณคลอโรฟิลล์โดยมีคลอโรฟอร์มบริสุทธิ์เป็นตัวเปรียบเทียบ (Blank) และหาปริมาณโปรลีนที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ในขั้นตอนสุดท้ายของวิธีการเช่นกันโดยมีโทลูอีนเป็นตัวเปรียบเทียบ

3.12. อุปกรณ์และเครื่องแก้วสำหรับหาปริมาณคลอโรฟิลล์และโปรลีน

เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ในการหาปริมาณคลอโรฟิลล์ และโปรลีนตามวิธีการของ Faber and Aspinall (1981) ได้แก่ เครื่องแก้วที่ใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป เช่น

1) หลอดทดลอง ขนาดเล็ก และ ขนาดกลาง
2) ปิเปต ขนาด 1 มล. 10 มล.
3) บิกเกอร์ ขนาด 50 100 200 และ 500 มล.
4) กระบอกตวง ขนาด 10 50 และ 100 มล.
5) หลอดพลาสติกสำหรับเครื่องเหวี่ยงเพื่อแยกชั้นของสารละลายขนาด 50 มล.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.13. สารเคมี

สารเคมีที่ใช้สำหรับสกัดโปรลีน 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. น้ำกลั่น

4. วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาผลกระทบในระยะสั้นของสารเคมีที่มีผลต่อพฤติกรรมปากใบและค่าศักย์ของน้ำในใบกาแฟอราบีก้า เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารเคมีแต่ละชนิด

การทดลองที่ 2 ศึกษาผลกระทบของสารเคมีที่มีต่อการเจริญเติบโต และสรีรวิทยาของต้นกาแฟอราบีก้า

5. สถานที่ที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยและรวบรวมข้อมูล

1. โรงเรือนพลาสติกข้างเรือนเพาะชำกาแฟ โครงการศูนย์วิจัยและพัฒนากาแฟบนที่สูง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. แปลงทดลองสถานีทดลองเกษตรที่สูงขุนช่างเคี่ยน
3. ห้องปฏิบัติการภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
4. ห้องปฏิบัติการศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved