

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

1. วัสดุ

1.1 วัสดุพืช

1.1.1 ต้นลอมกอกกิ่งปักชำ อายุ 2 ปี จำนวน 12 ต้น

1.1.2 ต้นลอมกอกกิ่งปักชำ กิ่งตอน และเพาะเมล็ด อายุ 3 ปี จำนวน 48 ต้น

1.1.3 ต้นลอมกอกกิ่งปักชำอายุ 5 ปี จำนวน 12 ต้น

1.2 วัสดุสารเคมี

1.2.1 พาโคลบิวทราโซล

1.2.2 สารเคมีกำจัดศัตรูพืช ประกอบด้วย คาร์บาริล เบนเลท

1.2.3 ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 สูตร 13-13-21

1.2.4 สารเคมีวิเคราะห์ธาตุอาหาร

1.2.4.1 กรดซัลฟูริก (sulfuric acid)

1.2.4.2 กรดซาลิไซลิก (salicylic acid)

1.2.4.3 โซเดียมไทโอซัลเฟต (sodium thiosulfate)

1.2.4.4 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide)

1.2.4.5 กรดบอริก (boric acid)

1.2.4.6 เมธิลเรด (methyl red)

1.2.4.7 บรอมโมครีซอลกรีน (bromocresol green)

1.2.4.8 เอทานอล (ethanol)

1.2.4.9 กรดเปอร์คลอริก (perchloric)

1.2.4.10 กลูโคส (glucose)

1.2.4.11 แอนโทน (anthrone)

1.2.4.12 ตัวเร่งปฏิกิริยา (catalyst tablet)

1.2.4.13 น้ำมันก๊าด

1.3 วัสดุอื่น ประกอบด้วย

1.3.1 กรรไกรตัดกิ่ง

1.3.2 เวอร์เนีย

- 1.3.3 ไม้บรรทัด
- 1.3.4 ไม้เมตร
- 1.3.5 ชะแลง
- 1.3.6 ถุงอบตัวอย่างพีช
- 1.3.7 กระดาษกรองเบอร์ 542
- 1.3.8 ปากกาถาวร
- 1.3.9 หลอดทดลอง
- 1.3.10 หลอดก้านไนโตรเจน
- 1.3.11 กระบอกตวง
- 1.3.12 ขวดลูกขมพู
- 1.3.13 ขวดปรับปริมาตร
- 1.3.14 บีกเกอร์
- 1.3.15 ไมโครปิเปต
- 1.3.16 เมกเนติบาร์
- 1.3.17 ซาแลนพรางแสง 50 %
- 1.3.18 ถุงพลาสติกสีดำขนาดปริมาตรดิน 20, 30, 40 และ 90 ลิตร
- 1.3.19 กระดาษขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 16 นิ้ว
- 1.3.20 กะบะขนาดปริมาตรดิน 900 ลิตร

2. อุปกรณ์

- 2.1 อุปกรณ์วัดการเจริญเติบโต
 - 2.1.1 เครื่องชั่งน้ำหนักไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง
 - 2.1.2 เครื่องวัดพื้นที่ใบ
 - 2.1.3 ตู้อบ
- 2.2 อุปกรณ์ทางสรีรวิทยา
 - 2.2.1 เครื่องวัดดัชนีพื้นที่ใบ
 - 2.2.2 เครื่องวัดค่าชักนำปากใบ
 - 2.2.3 เครื่องวัดปริมาณคลอโรฟิลล์
 - 2.2.4 เครื่องวัดคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์
 - 2.2.5 เครื่องวัดศักย์ของน้ำในใบ

2.3 อุปกรณ์วิเคราะห์ธาตุอาหาร

2.3.1 เครื่องกลั่นไนโตรเจน

2.3.2 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง

2.3.3 เตาเผา

3. วิธีการทดลอง

แบ่งการศึกษาออกเป็น 3 การทดลองดังนี้

3.1 การศึกษาผลของขนาดภาชนะปลูกต่อการเจริญของต้นลองกอง

3.1.1 การเตรียมต้นลองกอง

นำต้นลองกองกิ่งปักชำอายุ 2 ปี จำนวน 12 ต้น มาปลูกในถุงพลาสติกสีดำขนาดต่าง กันปลูกในดินระหว่างดินผสม : ทราย : แกลบ : หน้ำดิน อัตราส่วน 1: 1 : 1 : 2 ทำการดูแลรักษาด้วยการให้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 ต้นละ 5 กรัมทุกเดือน และฉีดคาร์บาริลความเข้มข้น 2 กรัม/ลิตร เมื่อแตกยอดอ่อน วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 4 ทรีตเมนต์ ๆ ละ 4 ซ้ำ ดังนี้

ทรีตเมนต์ที่ 1 ถุงพลาสติกสีดำขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 45 ซม. มีปริมาตรดิน 20 ลิตร

ทรีตเมนต์ที่ 2 ถุงพลาสติกสีดำขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 ซม. มีปริมาตรดิน 30 ลิตร

ทรีตเมนต์ที่ 3 ถุงพลาสติกสีดำขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 60 ซม. มีปริมาตรดิน 60 ลิตร

ทรีตเมนต์ที่ 4 ถุงพลาสติกสีดำขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 75 ซม. มีปริมาตรดิน 90 ลิตร

3.1.2 การประเมินผล

3.1.2.1 วัดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นครั้งแรกก่อนทดลองและครั้งสุดท้ายครบ 12 เดือน โดยวัดจากบริเวณที่ทำเครื่องหมายไว้จากพื้นดิน 5 เซนติเมตร

3.1.2.2 วัดความสูงครั้งแรกก่อนทดลองและครั้งสุดท้ายครบเมื่อ 12 เดือน โดยวัดจากโคนต้นจนถึงปลายยอด

3.1.2.3 นับจำนวนกิ่ง จำนวนใบย่อย และใบประกอบ ครั้งแรกก่อนทดลองและวัดครั้งสุดท้ายเมื่อครบ 12 เดือน

3.1.2.4 พื้นที่ใบรวม เก็บเกี่ยวครั้งสุดท้ายเมื่อครบ 12 เดือน นำใบลองกองที่สุ่มตัวอย่างไว้ไปหาพื้นที่ใบโดยใช้เครื่องวัดพื้นที่ใบแล้วนำค่าที่ได้มาคำนวณหาพื้นที่ใบทั้งหมด

3.1.2.5 น้ำหนักสดใบ ลำต้น ยอด (ลำต้น+ใบ) และราก ทำการวัดเมื่อครบ 12 เดือน โดยการล้างรากแล้วแยกชิ้นส่วนพืชออกเป็นส่วนๆ นำไปชั่งหาน้ำหนักสด

3.1.2.6 น้ำหนักแห้งใบ ลำต้น ยอด (ลำต้น+ใบ) และราก ทำการวัดเมื่อครบ 12 เดือน เก็บเกี่ยวต้นทุกทรีตเมนต์มาทำการล้างรากแล้วแยกชิ้นส่วนที่ซอกเป็นส่วนๆ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นระยะเวลา 3 วัน หลังจากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักแห้งแล้วนำไปหาความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งกับปริมาตรดิน และนำค่าน้ำหนักแห้งที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

3.1.2.7 ความยาวราก นำรากลองกองแต่ละทรีตเมนต์มาทำการแยกรากขนาดใหญ่และขนาดเล็กออกจากกัน รากขนาดใหญ่นำไปวัดความยาวโดยใช้ไม้บรรทัด ส่วนรากขนาดเล็ก ทำการวัดด้วยการสุ่มตัวอย่างรากขนาดเล็กแล้วนำไปชั่งน้ำหนักสดตัวอย่าง หลังจากนั้นนำไปหาความยาวรากโดยใช้เครื่องวัดความยาวราก จากนั้นนำค่าความยาวรากมาคำนวณหาความยาวรากทั้งหมด

3.1.3 โครงสร้างทรงพุ่ม ทำการวัดก่อนการเก็บเกี่ยวต้นลองกอง โดยใช้เครื่องมือวัดโครงสร้างทรงพุ่ม วัดค่าแสงเหนือทรงพุ่ม 1 ครั้ง และวัดค่าแสงเหนือพื้นดิน 10 เซนติเมตร ทางทิศเหนือ ได้ตะวันออก และตะวันตก ทิศละ 1 ครั้ง 2 ซ้ำ/ต้น จากนั้นนำค่าที่ได้มาคำนวณด้วยโปรแกรม LAI 2000 เพื่อหาพื้นที่ใบ ดัชนีพื้นที่ใบ และการกระจายแสงในทรงพุ่ม

3.2 ผลของการตัดแต่งรากต่อการเจริญของต้นลองกอง

3.2.1 การเตรียมต้นลองกอง

นำต้นลองกองกิ่งปักชำ ต่อกิ่ง และเพาะเมล็ด อายุ 3 ปี หลังจากวันปลูก จำนวน 48 ต้น นำมาปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 16 นิ้ว ปริมาตรดิน 20 ลิตร ใช้ดินจากการผสมระหว่างดินผสม : ทราวย : แกลบ : หน้าดิน อัตราส่วน 1 : 1 : 1 : 2 ทำการดูแลรักษาด้วยการให้น้ำสูตร 15-15-15 ต้นละ 5 กรัม ทุกเดือน และฉีดคาร์บาไรลความเข้มข้น 2 กรัม/ลิตร เมื่อแตกยอดอ่อน วางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียลมี 2 ปัจจัย คือ ชนิดของกิ่งพันธุ์และระดับของการตัดแต่งราก มี 12 ทรีตเมนต์ ๆ ละ 4 ซ้ำ จัดทรีตเมนต์แบบ CRD ดังนี้

ทรีตเมนต์ที่ 1 ไม่ตัดแต่งรากกิ่งปักชำ

ทรีตเมนต์ที่ 2 ไม่ตัดแต่งรากต่อกิ่ง

ทรีตเมนต์ที่ 3 ไม่ตัดแต่งรากเพาะเมล็ด

ทรีตเมนต์ที่ 4 ตัดแต่งรากกิ่งปักชำ 12 % ของพื้นที่หน้าตัดกระถาง

ทรีตเมนต์ที่ 5 ตัดแต่งรากต่อกิ่ง 12 % ของพื้นที่หน้าตัดกระถาง

ทรีตเมนต์ที่ 6 ตัดแต่งรากเพาะเมล็ด 12 % ของพื้นที่หน้าตัดกระถาง

ทรีตเมนต์ที่ 7 ตัดแต่งรากกิ่งปักชำ 25 % ของพื้นที่หน้าตัดกระถาง

ทรีตเมนต์ที่ 8 ตัดแต่งรากต่อกิ่ง 25 % ของพื้นที่หน้าตัดกระถาง

ทรีตเมนต์ที่ 9 ตัดแต่งรากเพาะเมล็ด 25 % ของพื้นที่หน้าตัดกระถาง

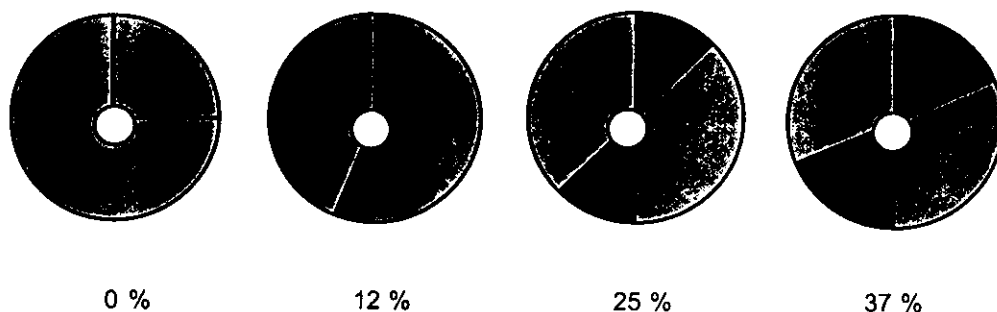
ทริตเมนต์ที่ 10 ตัดแต่งรากกิ่งปักชำ 37 % ของพื้นที่หน้าตัดกระถาง

ทริตเมนต์ที่ 11 ตัดแต่งรากตอกิ่ง 37 % ของพื้นที่หน้าตัดกระถาง

ทริตเมนต์ที่ 12 ตัดแต่งรากเพาะเมล็ด 37 % ของพื้นที่หน้าตัดกระถาง

3.2.2 วิธีการตัดแต่งราก

ตัดแต่งรากโดยแบ่งตัดตามพื้นที่หน้าตัดกระถาง ให้สมมาตรโดยตัดห่างจากลำต้น 5 เซนติเมตร พื้นที่สีดำคือพื้นที่ตัดแต่งรากตามทริตเมนต์ (ภาพที่ 1)



ภาพที่ 1 วิธีการตัดแต่งรากลองกอง

3.2.3 การประเมินผล

3.2.3.1 วัดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นที่เพิ่มขึ้นทุกเดือนหลังตัดแต่งราก 3, 6 และ 9 เดือน ที่ลำต้นเหนือพื้นดิน 5 เซนติเมตร

3.2.3.2 วัดความสูงที่เพิ่มขึ้นทุกเดือนหลังการตัดแต่งราก 3, 6 และ 9 เดือนจากพื้นดินจนถึงปลายยอด

3.2.3.3 นับ จำนวนกิ่ง จำนวนใบประกอบที่เพิ่มขึ้นทุกเดือนหลังจากตัดแต่งราก 3, 6 และ 9 เดือน

3.2.3.4 วัดพื้นที่ใบ โดยวัดความยาวใบประกอบหลังจากตัดแต่งราก 3, 6 และ 9 เดือน จากนั้นนำมาคำนวณพื้นที่ใบตามวิธีการของมวงคล และคณะ (2541)

$$Y = 46.417 e^{0.0783x}$$

โดยกำหนดให้ Y = พื้นที่ใบ

X = ความยาวใบประกอบ

3.2.3.5 วัดอัตราการเจริญเติบโตของรากในช่วงระยะเวลา 3, 6 และ 9 เดือน นำน้ำหนักรากใหม่หลังตัดแต่งรากหลัง 3, 6 และ 9 เดือน นำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์เปรียบเทียบผลทางสถิติ (การเจริญเติบโตของรากที่ระดับ 0% ไม่มีข้อมูลเนื่องจากไม่ได้ทำการตัดแต่งราก)

3.2.3.6 วัดค่าชักนำปากใบหลังจากการตัดแต่งราก ทุก 2 วัน โดยใช้เครื่องวัดค่าชักนำปากใบวัดในช่วงเวลา 11.00 – 13.00 นาฬิกา

3.3 ผลของการให้สารพาโคลบิวทราโซลต่อการเจริญของต้นลองกอง

3.3.1 การเตรียมต้นกล้าลองกอง

โดยใช้ต้นลองกองกิ่งปักชำอายุ 5 ปี จำนวน 12 ต้น ปลูกในกระบะขนาด 1.2x1.5x1.5 เมตร ปริมาตรดิน 900 ลิตร ดินที่ปลูกเป็นหน้าดินปนทรายและทำการดูแลรักษาด้วยการให้น้ำปุ๋ยสูตร 15-15-15 ทุกเดือน ต้นละ 25 กรัม ปุ๋ยสูตร 13-13-21 ต้นละ 250 กรัม และให้น้ำทางใบสูตร 10-52-17 ความเข้มข้น 2.5 กรัม/ลิตร สัปดาห์ละ 1 ครั้ง ก่อนให้สารพาโคลบิวทราโซล 1 เดือน โดยคลุมโคนต้นลองกองเพื่อลดน้ำให้ลองกองได้รับสภาพแล้งช่วงก่อนถึงฤดูกาลออกดอก 1 เดือนทำให้ลองกองอยู่ในสภาวะเครียด จากนั้นทำการวัดค่าชักนำปากใบด้วยเครื่องมือวัดค่าชักนำปากใบ และวัดค่าศักย์ของน้ำในใบเครื่องวัดศักย์ของน้ำในใบ เพื่อช่วยบ่งชี้สภาวะเครียดของต้นลองกอง จนกระทั่งได้ค่าศักย์ของน้ำในใบลองกองประมาณ -3.5 MPa (Sdoodee and Singhabumrung, 1996) จึงฉีดพ่นพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 750, 1,000 และ 1,500 ppm ปริมาณ 3 ลิตรต่อต้น หลังจากฉีดสารพาโคลบิวทราโซล 2 สัปดาห์ ฉีดสารพาโคลบิวทราโซลซ้ำอีกครั้ง และฉีดคาร์บาริลความเข้มข้น 2 กรัม/ลิตร เมื่อแตกยอดอ่อน วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) มี 4 ทรีตเมนต์ๆ ละ 3 ซ้ำ ดังนี้

ทรีตเมนต์ที่ 1 ไม่ได้รับสารพาโคลบิวทราโซล

ทรีตเมนต์ที่ 2 ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 750 ppm

ทรีตเมนต์ที่ 3 ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 1,000 ppm

ทรีตเมนต์ที่ 4 ได้รับสารพาโคลบิวทราโซลความเข้มข้น 1,500 ppm

3.3.2 การประเมินผล

3.3.2.1 วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นทุกๆ เดือน โคนต้นเหนือพื้นดิน 5 เซนติเมตร

3.3.2.2 วัดความยาวยอด วัดความยาวยอดหลังจากแตกยอดใหม่จำนวนต้นละ 10 ยอด

หลังจากให้สารพาโคลบิวทราโซล 20 และ 28 สัปดาห์

3.3.2.3 วัดความยาวข้อของกิ่งที่แตกใหม่ โดยสุ่มเลือกกษัตริ์ที่แตกใหม่ที่ข้อถัดจากวงเต็มที่

ต้นละ 10 ยอด หลังจากให้สาร 20 และ 28 สัปดาห์

3.3.2.4 วัดความยาวใบประกอบของยอดที่แตกใหม่ โดยสุ่มยอดที่แตกใหม่ต้นละ 10 ยอด วัดความยาวใบประกอบในช่วงใบเพศลาตหลังจากให้สารพาโคลบิวทราโซล 20 และ 28 สัปดาห์ โดยนับความยาวใบประกอบจากยอดลงมาข้อแรกเป็นตำแหน่งที่หนึ่ง และวัดจำนวน 3 ข้อใบ

3.3.2.5 พื้นที่ใบประกอบใหม่ โดยนำความยาวใบประกอบของยอดที่แตกใหม่ในข้อ

3.3.2.4 มาคำนวณหาพื้นที่ใบตามวิธีของมุงคล และคณะ (2541)

3.3.2.6 เจริญเติบโตของราก ทำการเปิดหน้าดินขนาดกว้าง 20 X 20 ตารางเซนติเมตร ลึก 1 - 2 เซนติเมตร ห่างจากโคนต้น 10 เซนติเมตร ใช้กระสอบปิดแล้วกลบดินตามรอยที่เปิดไว้เพื่อบังแสงแดด ทำการวัดการเจริญเติบโตของรากทุก 2 เดือน (วิธีวัดรากบนตารางมาตรฐานและนับจุดตัด) นำค่าที่ได้มาคำนวณความยาวรากโดยใช้สูตรของ Newman (1966)

$$L = 11 / 14 \times N \times X$$

โดยกำหนดให้ L = ความยาวราก

N = จำนวนจุดตัดที่นับได้จากตารางมาตรฐาน

X = ขนาดช่องของตารางมาตรฐาน (ในการทดลองใช้ขนาด 1 เซนติเมตร)

3.3.2.7 วัดศักย์ของน้ำในใบ (leaf water potential) โดยใช้เครื่องวัดศักย์ของน้ำในใบ เลือกใบเพศลาตที่อยู่ในช่วงอายุเดียวกันมาวัดจำนวน 2 ใบ/ต้น วัดในช่วงเวลา 11.00 - 12.00 นาฬิกา ทุก 2 สัปดาห์หลังจากให้สารพาโคลบิวทราโซล

3.3.2.8 วัดค่าชักนำปากใบ (stomatal conductance) โดยใช้เครื่องวัดการชักนำปากใบ โดยเลือกวัดใบเพศลาตที่อยู่ในช่วงอายุเดียวกันจำนวน 2 ใบ/ต้น วัดในช่วงเวลา 11.00 - 12.00 นาฬิกา ทุก 2 สัปดาห์หลังจากให้สารพาโคลบิวทราโซล

3.3.2.9 วัดปริมาณคลอโรฟิลล์ (chlorophyll content) โดยใช้เครื่อง SPAD - 502 เลือกวัดใบเพศลาตของยอดที่แตกใหม่ โดยวัดไม่ให้โดนเส้นกลางใบ จำนวน 5 ใบ/ต้น นำค่าที่อ่านจากเครื่องไปคำนวณเพื่อหาปริมาณคลอโรฟิลล์ดังสมการ (สุภาณี ชนะวีรวรรณ, 2543)

$$Y = 0.2062X - 2.6787$$

โดยที่ค่า Y = ค่าปริมาณคลอโรฟิลล์

X = ค่าที่อ่านได้จากเครื่อง SPAD - 502

3.3.2.10 วัดคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์ (chlorophyll efficiency) โดยใช้เครื่องคลอโรฟิลล์มิเตอร์ เลือกวัดใบเพศลาตที่อยู่ในช่วงอายุเดียวกัน จำนวน 2 ใบ/ต้น ในช่วงเวลา 11.00 - 12.00 นาฬิกา ทุก 2 สัปดาห์หลังจากให้สารพาโคลบิวทราโซล

3.3.2.11 วัดโครงสร้างทรงพุ่ม โดยใช้เครื่องมือวัดโครงสร้างทรงพุ่ม ทำการวัดค่าแสงเหนือทรงพุ่ม 1 ครั้ง และวัดค่าแสงเหนือพื้นดิน 10 เซนติเมตร ทางทิศเหนือ ได้ ตะวันออก และตะวันตก ทิศละ 1 ครั้ง 2 ซ้ำ/ต้น จากนั้นนำค่าที่ได้ไปคำนวณด้วยโปรแกรม LAI 2000 เพื่อหาพื้นที่ใบ ดัชนีพื้นที่ใบ และการกระจายแสงในทรงพุ่ม

3.3.2.12 วิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหาร โดยวัดปริมาณธาตุคาร์โบไฮเดรตในใบลองกอง โดยวิธีของ Clegg antrhorone Method และปริมาณธาตุไนโตรเจนโดยวิธีของ Kjeldahl (ภาคผนวก)