บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ลองกอง (*Aglaia dookkoo* Griff.) เป็นไม้ผลเมืองร้อนอีกชนิดหนึ่งที่มีรสชาติหวาน หอม เป็นที่ชื่นชอบของผู้ที่มีโอกาสได้บริโภคอย่างกว้างขวาง มีราคาค่อนข้างดีเมื่อเทียบกับผลไม้ชนิดอื่นๆ ของประเทศไทย ผลผลิตส่วนใหญ่ใช้บริโภคภายในประเทศซึ่งยังไม่เพียงพอต่อความต้องการ เกษตรกรจึงเริ่มสนใจปลูกลองกองเพิ่มขึ้น ซึ่งจะเห็นได้จากมีพื้นที่ปลูกที่เพิ่มมากขึ้นโดยปี 2538 มีพื้นที่ปลูกลองกองรวมทั้งประเทศจากข้อมูลของกองแผนงานกรมส่งเสริมการเกษตร ประมาณ 160,789 ไร่ (เคหการเกษตร, 2541) แต่จากข้อมูลของกรมส่งเสริมการเกษตรในปี 2545 มีพื้นที่ปลูกรวมทั้งประเทศเป็น 232,844 ไร่ ราคาผลผลิตเฉลี่ยกิโลกรัมละ 44 บาท ปริมาณผลผลิตเฉลี่ย 1,085.83 กิโลกรัมต่อไร่ และมีปริมาณผลผลิตรวมถึง 142,254.86 ตัน (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2545) ปัจจุบันเริ่มมีการสนใจผลิตลองกองเพื่อการส่งออก แต่ในการส่งออกมีข้อจำกัดหลายประการที่เป็นเงื่อนไขให้ส่งออกไม่ได้ เช่น คุณภาพของผลผลิตทั้งภายในและภายนอก (ไสว, 2542) สำหรับไม้ผลนั้นการจัดการธาตุอาหารพืชมีความสำคัญอย่างยิ่งในการผลิตพืชให้ได้คุณภาพ ทั้ง สี สันและรสชาติรวมทั้งการให้ได้ผลผลิตที่คุ้มค่า (เปรมปรี, 2544) การปลูกพืชมักมีการวิเคราะห์ดินและพืชเพื่อใช้เป็นแนวทางในการจัดการธาตุอาหารให้แก่พืชได้อย่างเหมาะสม ซึ่งวิธีนี้จะช่วยให้พืชเจริญเติบโตได้ดีผลผลิตมีคุณภาพเพราะพืชได้รับธาตุอาหารอย่างเพียงพอ รวมทั้งยังช่วยประหยัดค่าใช้จ่ายเพราะสามารถจัดการธาตุอาหารพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น ธาตุอาหารนับเป็นปัจจัยสำคัญในการเร่งการเจริญเติบโตของพืช โดยเฉพาะไนโตรเจนซึ่งเป็นธาตุอาหารพืชที่สำคัญ พืชต้องการธาตุอาหารนี้ไปสร้างโปรตีนเพื่อสร้างความเจริญของลำต้นและใบ สร้างสีเขียวให้แก่พืชเป็นส่วนประกอบสำคัญของคลอโรฟิลล์ในพืช (เฉลิมพล, 2535) ดังนั้นไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์ในใบจึงเป็นตัวบ่งชี้ถึงสภาพความสมบูรณ์ของพืชได้ ในสภาวะเครียดน้ำมีผลต่อสรีรวิทยาของไม้ผลด้านต่างๆ เช่น ทำให้ปากใบปิดเพิ่มขึ้น (Shivashankar *et al.*, 1989) ทำให้ขัดขวางการเคลื่อนที่ของ CO_2 เข้าสู่ใบ ทำให้ความสามารถในการดูดธาตุไนโตรเจนรวมทั้งธาตุอื่น ๆ ลดลง มีผลทำให้คลอโรฟิลล์ในใบลดลง ดังนั้นวิธีการหนึ่งที่ใช้เป็นตัวบอกสภาวะเครียดน้ำของไม้ผล คือ การวัดปริมาณไนโตรเจนหรือคลอโรฟิลล์ในใบพืช วิธีการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์ในใบมีอยู่หลายวิธีด้วยกัน วิธีที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด

ในพืชได้แก่ วิธีของเคลดาล โดยใช้เครื่องมือ distillatory ในการกลั่นแล้วนำมาคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด นอกจากนี้ยังมีวิธีการทำให้เกิดสี (colorimetry) แล้ววัดด้วยเครื่องวัดการส่องผ่านของแสง สำหรับการหาปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบพืชที่นิยมใช้คือ วิธีการ colorimeter โดยใช้เครื่องวัดการส่องผ่านของแสงวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบพืช (ศรีสม, 2544) แต่วิธีการเหล่านี้ต้องทำในห้องปฏิบัติการและมีการทำลายใบพืชด้วย (Singha and Townsend, 1998) การใช้เครื่องมือคลอโรฟิลล์มิเตอร์ (SPAD-501 or SPAD-502 Minolta Co., Ltd., Japan) เป็นอุปกรณ์หนึ่งที่สามารถใช้ประเมินปริมาณคลอโรฟิลล์และไนโตรเจนได้โดยไม่ต้องทำลายใบพืช (non-destructive method) เป็นวิธีการที่สะดวกและวัดผลได้รวดเร็ว (Azia and Stewart, 2001) จากการศึกษาการใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์ประเมินปริมาณไนโตรเจนในพืชหลายชนิด ซึ่งส่วนใหญ่เป็นพืชเขตหนาว จะเห็นได้ว่าคลอโรฟิลล์มิเตอร์เป็นเครื่องมือที่มีประสิทธิภาพ สำหรับใช้ในการประเมินปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์ในใบพืช ดังนั้นในศึกษาครั้งนี้จึงนำเครื่องมือคลอโรฟิลล์มิเตอร์ มาศึกษาการประเมินปริมาณคลอโรฟิลล์และไนโตรเจนในใบลองกอง ซึ่งเป็นไม้ผลเขตร้อนที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยทำการศึกษาเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของค่าที่อ่านได้จากเครื่องมือคลอโรฟิลล์มิเตอร์กับปริมาณคลอโรฟิลล์และไนโตรเจนในใบ การเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์และไนโตรเจนในช่วงสภาวะเครียดน้ำของลองกองโดยไม่ทำลายใบพืช เพื่อเป็นประโยชน์ในการจัดการธาตุไนโตรเจนให้เหมาะสมตามความต้องการของพืช

การตรวจเอกสาร

1. ลักษณะทั่วไปของลองกอง

ลองกอง มีชื่อสามัญว่า Longkong ชื่อวิทยาศาสตร์ *Aglaia dookkoo* Griff. อยู่ในวงศ์ Meliaceae (เปรมปรี, 2541) เป็นพืชตระกูลเดียวกับมะฮอกกานี กระท้อน คอแลน และสะเดา (สถาบันวิจัยพืชสวน, 2537) ถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบหมู่เกาะชวา หมู่เกาะมลายู อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ และภาคใต้ของประเทศไทย (เปรมปรี, 2541) เป็นไม้ผลขนาดกลาง สูงประมาณ 15-30 เมตรมีเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นประมาณ 30-40 เซนติเมตร เปลือกลำต้นบาง สีน้ำตาลอมเขียวมีร่องรอยเป็นริ้วเล็กๆ เป็นรอยแตกอยู่บริเวณเปลือกอยู่ทั่วไป ที่เปลือกเมื่อเฉือนออกจะเป็นยางสีขาวไหลออกมา ไม้เนื้อแข็ง ทรงพุ่มต้นที่ได้จากการปลูกด้วยเมล็ดจะเป็นทรงกรวยแหลม ส่วนต้นที่ปลูกจากกิ่งตอนหรือวิธีการขยายพันธุ์วิธีอื่นๆ ที่ไม่ใช่เมล็ดและมีการจัดไว้กิ่งข้างอย่างถูกต้องแล้วจะมีทรงพุ่มแผ่กว้างมีการแตกกิ่งแขนงมาก ลำต้นที่ปลูกจากการใช้เมล็ดจะเริ่มให้ผลผลิตได้เมื่ออายุประมาณ 7-8 ปี ส่วนลองกองที่ขยายพันธุ์ด้วยวิธีการอื่นๆ เช่น วิธีการเสียบยอดจะให้ผลผลิตได้เมื่ออายุประมาณ

4-5 ปี (มงคล และคณะ, 2540) ใบจัดอยู่ในประเภทใบรวม (compound leaves) มีใบย่อยแตกออกจากก้านใบเป็นคู่อยู่ตรงกันข้าม ดอกออกจากตาดอกตามลำต้นและกิ่งใหญ่เป็นส่วนตาดอกอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม ช่อดอกเป็นแบบ spike ผลติดเป็นพวงสลับกันแน่นกับก้านผล มีทั้งผลกลมและผลรีซึ่งเกิดจากผลเบียดกันแน่นมาก ขนาดผลเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-3 เซนติเมตร ภายในผลแบ่งออกเป็นกลีบๆ ได้ 4-5 กลีบ สีเนื้อขาวใสและขาวขุ่น มีทั้งรสหวานหอมและอมเปรี้ยวเล็กน้อย (วิมัย, 2532)

2. สภาพภูมิอากาศและพื้นที่ที่เหมาะสมในการปลูกลองกอง

ลองกองเป็นไม้ผลเมืองร้อนที่เจริญเติบโตได้ในสภาพร้อนชื้น ความชื้นในอากาศค่อนข้างสูง มีฝนตกชุก ปริมาณฝนกระจายตัวสม่ำเสมอตลอดปี ดินที่เหมาะสมในการปลูกคือ ดินร่วนปนทราย ดินร่วนที่มีอินทรียวัตถุสูง สามารถระบายน้ำได้ดี ทำให้เหมาะต่อการเจริญเติบโตของรากลองกอง ซึ่งส่วนใหญ่จะพบมากในระดับความลึก 0-5 เซนติเมตร จากผิวดิน ความชื้นที่เหมาะสมอยู่ในระดับ 70-80 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 20-30 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนในรอบปี 2,000-3,000 มิลลิเมตร โดยมีฝนตกประมาณ 150-200 วัน ดังนั้นจึงสามารถเจริญเติบโตได้ดีในแถบภาคใต้ตอนล่างของประเทศไทย (เปรมปรี, 2541) การสร้างสวนลองกองให้มีสภาพแวดล้อมการปลูกที่เหมาะสมต้องลงทุนในเรื่องระบบน้ำการปรับความชื้นในบรรยากาศ และการสร้างร่มเงา ตลอดจนต้องปรับปรุงบำรุงดินให้เป็นดินดี มีอินทรียวัตถุสูง มีสภาพร่วนซุย มีการระบายน้ำและอากาศดี (อภิชัย, 2541) โดยทั่วไปลองกองจะแทงช่อดอกหลังจากผ่านช่วงแล้งไปแล้วระยะหนึ่ง เมื่อการเจริญเติบโตทางด้านกิ่งและใบลดลง รวมทั้งสะสมอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต และมีการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยา (เปรมปรี, 2541) ใช้เวลาในการออกดอกประมาณ 1-2 เดือน และการเจริญเติบโตของผลหลังจากดอกบานถึงระยะเวลาเก็บเกี่ยวผลจะใช้เวลาประมาณ 180-200 วัน (อภิชัย, 2541) การออกดอกของลองกองตามฤดูกาลปกติในภาคใต้อยู่ในช่วงประมาณเดือนกุมภาพันธ์และมีนาคมระยะดอกบานอยู่ในช่วงเดือนพฤษภาคม ระยะติดผลจนถึงผลแก่ประมาณต้นเดือนกันยายน (มงคล และคณะ, 2544)

3. การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในพืช

ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารที่มีความสำคัญต่อการเจริญของพืชมาก รากพืชดูดไนโตรเจนจากดินมาใช้ในรูปของไนเตรท และแอมโมเนียมไอออน สำหรับยูเรียแม้พืชจะดูดไปใช้ได้แต่สารนี้อยู่ในธรรมชาติน้อย พืชดูดใช้มากในกรณีที่ใส่ปุ๋ยยูเรียสังเคราะห์เท่านั้น พืชชั้นต่ำบางชนิดสามารถ

ตรึงไนโตรเจนจากอากาศได้ จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ที่มีบทบาทสำคัญในการเกษตร คือ ไรโซเบียม (Rhizobium) เนื่องจากสามารถตรึงไนโตรเจนได้เมื่ออยู่ร่วมกับรากพืชตระกูลถั่ว (ยงยุทธ, 2543) ไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของ โปรตีน กรดอะมิโน กรดนิวคลีอิก คลอโรฟิลล์ พอร์ไฟริน โคเอนไซม์ ฮอร์โมนบางชนิด และสารประกอบอื่นๆ ไนโตรเจนในพืชประมาณ 70 เปอร์เซ็นต์อยู่ในคลอโรพลาสต์ (สัมพันธ์, 2526) ในดินไนโตรเจนจะสูญเสียง่ายโดยถูกชะล้าง (leaching) ในรูปเกลือไนเตรทหรือเกิดการระเหย (volatilization) ในรูปแอมโมเนีย เนื่องจากไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารหลักที่พืชต้องการในปริมาณมาก เมื่อพืชขาดไนโตรเจนจะเกิดอาการใบด่าง (chlorosis) คือ ใบจะมีสีเหลืองเนื่องจากขาดคลอโรฟิลล์ โดยปรากฏในใบแก่ที่อยู่ส่วนล่างก่อน ไนโตรเจนเป็นธาตุที่เคลื่อนที่ในโฟลเอ็มได้ดีใบอ่อนในระยะแรกจะยังคงมีธาตุนี้อยู่โดยได้รับจากใบแก่ที่อยู่ด้านล่าง ถ้าไนโตรเจนมีอยู่น้อยมาก ใบด้านล่างที่เหลืองจะหลุดร่วงจากต้นและค่อยๆ ลุกลามไปยังใบอ่อนที่อยู่ด้านบน ทำให้ใบอ่อนมีสีเขียวซีดและเหลือง หลังจากนั้นการเจริญของส่วนยอดจะหยุด ชะงัก ลำต้นแคระแกร็น ส่วนรากจะแผ่กระจายมากและพืชจะตายในที่สุด (ยงยุทธ, 2543) สำหรับพืชที่ได้รับไนโตรเจนมากเกินไป พืชจะมีอาการทางวัฒนภาค (vegetative growth) ใบมีสีเขียวเข้มมาก มีการขยายเพิ่มขนาดและปริมาณของเซลล์ทำให้ใบมีขนาดใหญ่ ปริมาณของใบมาก การออกดอกและผลจะช้าลง ในมันฝรั่งที่ได้รับไนโตรเจนมากเกินไปทำให้เกิดการสร้างใบมาก ในขณะที่รากเจริญน้อยและการสร้างลำต้นใต้ดินที่สะสมอาหารลดลงด้วย เป็นผลดีสำหรับพืชพวกผักที่ทำให้มีการเจริญของใบดี (สมบุญ, 2538) จะเห็นได้ว่าการที่พืชขาดหรือได้รับไนโตรเจนมากเกินไปก็จะส่งผลกระทบต่อพืชได้ ดังนั้นจึงต้องมีการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนในพืชเพื่อที่จะสามารถจัดการปริมาณไนโตรเจนให้อยู่ในปริมาณที่เหมาะสมกับพืช จากการศึกษา พบว่าความเข้มข้นของไนโตรเจน ในใบลองกองในระยะต่างๆ ของการเจริญอยู่ระหว่าง 20.10-26.10 กรัม/กก. (บุญส่งและจำเป็น, 2545)

การวิเคราะห์ธาตุอาหารพืช (plant analysis) คือ การวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารในส่วนต่างๆ ของพืช โดยทั่วไปจะหมายถึงการวิเคราะห์ปริมาณในห้องปฏิบัติการด้วยเครื่องมือต่างๆ ในการวิเคราะห์ปริมาณนั้นเมื่อนำผลการวิเคราะห์ปริมาณธาตุอาหารที่มีอยู่ในพืชมาเปรียบเทียบกับค่ามาตรฐาน (critical nutrient concentration) ก็จะสามารถบอกได้ว่าปริมาณธาตุอาหารของพืชอยู่ในระดับที่เพียงพอกับความต้องการของพืชหรือไม่ (ศรีสม, 2544) การวิเคราะห์ใบเป็นวิธีการที่ช่วยทำให้การแนะนำการใช้ปุ๋ยกับไม้ผลทำได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ต้องมีการเก็บตัวอย่างใบที่เหมาะสมมาวิเคราะห์ธาตุอาหารพืช สำหรับลองกอง พบว่าควรใช้ใบย่อยคู่กลางจากใบประกอบตำแหน่งที่ 2 จากใบที่มีอายุ 3-6 เดือน ในช่วงหลังเก็บเกี่ยวผลผลิตแล้ว และควรเก็บใบจากกิ่งที่อยู่ในระดับล่าง

ของทรงพุ่ม จากต้นลองกองจำนวน 25-35 ต้น เพื่อนำมารวมกันเป็นตัวแทนสำหรับวิเคราะห์ธาตุอาหารพืช (จำเป็น และคณะ, 2547)

การวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดในพืชโดยวิธีเคลดาล (Kjeldahl method) เป็นวิธีการที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนของพืช วิธีการนี้เป็นการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (total nitrogen) ในเนื้อเยื่อพืช ดังนั้นตัวอย่างพืชที่นำมาใช้ ในการวิเคราะห์ต้องย่อยสลายด้วยกรดก่อน เพื่อเปลี่ยนสารประกอบชนิดต่างๆ ในพืชให้มาอยู่ในรูปของสารอินทรีย์ไนโตรเจนที่สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยการกลั่น (distillation) การวิเคราะห์ไนโตรเจนทั้งหมดด้วยวิธีของเคลดาลมีหลักการ ดังนี้

การย่อยสลายด้วยกรดซัลฟิวริกจะทำให้สารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนและไนเตรท-ไนโตรเจนเปลี่ยนรูปเป็นแอมโมเนียมซัลเฟต หรือแอมโมเนียมไฮโดรเจนซัลเฟต การย่อยสลายจะเกิดขึ้นได้เร็วขึ้นถ้าใส่คะตะลิสต์ เช่น ซีลีเนียม ขณะที่กลั่นแอมโมเนียมซัลเฟตหรือแอมโมเนียมไฮโดรเจนซัลเฟตในสภาพที่เป็นเบสมากๆ (โดยการเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์) แอมโมเนียมซัลเฟตหรือแอมโมเนียมไฮโดรเจนซัลเฟตจะเปลี่ยนรูปเป็นก๊าซแอมโมเนียม ซึ่งทำปฏิกิริยากับกรดบอริกซึ่งเป็นกรดอ่อนได้แอมโมเนียมบอเรต เมื่อไทเตรทด้วยกรดซัลฟิวริกมาตรฐาน โดยมีบรอมคลีซอลกรีน และเมธิลเรด เป็นแอซิด-เบสอินดิเคเตอร์ ซึ่งจะมีสีม่วงแดงในสภาพที่เป็นกรดและเป็นสีเขียวในสภาพที่เป็นเบส ที่จุดยุติของการไทเทรตจำนวนสมมูลของกรดมาตรฐานที่ใช้ในการไทเทรตจะเท่ากับจำนวนสมมูลของแอมโมเนียมที่ได้จากการกลั่น ดังนั้นจะสามารถทราบปริมาณของไนโตรเจนทั้งหมดในตัวอย่างพืชได้ (ศรีสม, 2544)

การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในพืชโดยวิธีของเคลดาล เป็นวิธีการที่ต้องทำในห้องปฏิบัติการ มีหลายขั้นตอน ต้องใช้เวลานานและค่าใช้จ่ายสูง (Li *et al.*, 1998) ในการประเมินปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์ในใบพืชนอกจากวิธีการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการแล้ว อีกวิธีการหนึ่งที่สามารถหาปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์ได้ คือ การใช้เครื่องมือคลอโรฟิลล์มิเตอร์ประเมินปริมาณไนโตรเจนในใบพืชสามารถใช้ได้ง่ายและรวดเร็ว ในการวัดใบพืชที่มีสีเขียวสามารถบอกปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบพืช สามารถบอกความสัมพันธ์ของปริมาณคลอโรฟิลล์และปริมาณไนโตรเจนในใบพืชได้ เนื่องจากไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบของคลอโรฟิลล์ (Murdock *et al.*, n.y.)

4. คลอโรฟิลล์และการวิเคราะห์คลอโรฟิลล์

คลอโรฟิลล์ (chlorophyll) เป็นรงควัตถุสีเขียวที่พบมากในพืช ทำหน้าที่สำคัญในการดูดแสงและกระตุ้นปฏิกิริยาแสงในกระบวนการสังเคราะห์แสง คลอโรฟิลล์มีหลายชนิดได้แก่

คลอโรฟิลล์ เอ บี ซี และดี เป็นต้น แต่ละชนิดจะมีโครงสร้างและคุณสมบัติแตกต่างกัน ทำให้ความสามารถในการดูดแสงช่วงคลื่นต่างๆ ของคลอโรฟิลล์แต่ละชนิดแตกต่างกันด้วย คลอโรฟิลล์เอดูดแสงได้ดีที่สุดที่ความยาวช่วงคลื่นซึ่งเป็นศูนย์กลางปฏิกิริยาที่ 680 และ 760 นาโนเมตร สำหรับคลอโรฟิลล์บี สามารถดูดแสงได้ดีในหลายความยาวคลื่น 480 640 และ 650 นาโนเมตร ส่วนคลอโรฟิลล์ซีดูดแสงที่มีความยาวช่วงคลื่น 645 นาโนเมตรได้ดีที่สุด คลอโรฟิลล์มีโครงสร้างซึ่งประกอบด้วยส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) ทำหน้าที่ดูดพลังงานแสง ส่วนนี้มีโครงสร้างเป็น ไพโรลแบบวงแหวน 4 วง โดยมีแมกนีเซียมไอออน (Mg^{2+}) เป็นศูนย์กลาง และมีส่วนหางเป็นไฮโดรคาร์บอน ช่วยยึดรงควัตถุกับระบบแสง (สมบุญ, 2538) การขาดธาตุอาหารมีผลต่อการสังเคราะห์แสงทั้งทางตรงและทางอ้อม แมกนีเซียมและไนโตรเจนเป็นธาตุที่สำคัญในองค์ประกอบของคลอโรฟิลล์ การขาดสารเหล่านี้มีผลทำให้ พืชเกิดอาการใบเหลืองซีด เรียกว่า คลอโรซีส เนื่องจากใบขาดคลอโรฟิลล์ (ยงยุทธ, 2543)

สำหรับการวิเคราะห์คลอโรฟิลล์จากเนื้อเยื่อพืชโดยทั่วไปจะใช้สารเคมีชนิดต่างๆ เช่น อะซีโตน (acetone) เมธานอล (methanol) เอธานอล (ethanol) ไพริดีน (pyridine) หรืออะซีโตนผสมกับเอธิลอะซีเตท (ethyl acetate) เป็นสารสกัด (Vernon and Seely, 1966 อ้างโดย วิรัตน์, 2541) นอกจากนี้ Hiscox and Israelstam (1979) ได้พัฒนาวิธีการสกัดคลอโรฟิลล์จากเนื้อเยื่อพืช โดยใช้สารไดเมทิลซัลโฟไซด์ (Dimethyl sulfoxide; DMSO) ซึ่งสามารถทำได้ง่ายและรวดเร็ว โดยนำเนื้อเยื่อจุ่มลงในสาร DMSO และใช้อุณหภูมิในการสกัดที่ 65 องศาเซลเซียส สำหรับการใช้สารเคมีชนิดต่างๆ ในการสกัดคลอโรฟิลล์ในเนื้อเยื่อพืชนั้นต้องมีการใช้เนื้อเยื่อใบพืชมาใช้ในการสกัด แต่การใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์ในการประเมินปริมาณคลอโรฟิลล์เป็นวิธีการที่สามารถทำได้ง่าย รวดเร็วและไม่ต้องทำลายใบพืชด้วย

5. คลอโรฟิลล์มิเตอร์

คลอโรฟิลล์มิเตอร์ (Minolta chlorophyll meter : SPAD-502) เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการประเมินปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์ในพืช มีขนาดเล็กกะทัดรัด น้ำหนักเบา ใช้งานได้ง่าย รวดเร็วและเป็นวิธีการที่ไม่ต้องทำลายใบพืช (Anonymous, 1986; Chang and Robison, 2003; Ladha *et al*., 1998; Azia and Stewart, 2001; Li *et al.*, 1998) เครื่องมือชนิดนี้ถูกพัฒนาขึ้นในญี่ปุ่นเพื่อใช้ในการประเมินปริมาณไนโตรเจนและความต้องการปุ๋ยไนโตรเจนของข้าว (Chubachi *et al.*, 1986 อ้างโดย Chang and Robison, 2003) ต่อมาได้มีการศึกษาการใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์ในการประเมินปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์ในพืชหลายชนิดด้วยกัน เช่น ข้าว (Yang *et al*., 2003; Ladha *et al*., 1998; Hussain *et al*., 2000) ข้าวสาลี (Lopez-Bellido *et al*., 2003) ข้าวโพด (Chapman

and Barreto, 1997) ฝ้าย (Feibo *et al*., 1998) แอปเปิ้ล (Neilsen *et al*., 1995) Grapefruit (Li *et al*., 1998) Red Maple (Sibley *et al*., 1996) เงาะและลองกอง (สุภาณี และสายัณห์, 2545) คลอโรฟิลล์มิเตอร์สามารถให้ผลได้เร็วกว่าการวิเคราะห์เนื้อเยื่อพืช แต่ละตัวอย่างสามารถทำได้หลายซ้ำและสามารถทำซ้ำได้ถ้าหากผลมีปัญหา คลอโรฟิลล์มิเตอร์สามารถวัดได้หลายเวลา เมื่อต้องการวัดปริมาณไนโตรเจนของพืช คลอโรฟิลล์มิเตอร์สามารถใช้ในการจัดการไนโตรเจนในสภาพแปลงได้ดีและลดอันตรายจากการให้ปุ๋ยแก่พืชมากหรือน้อยเกินไป

ภาพที่ 1 แสดงเครื่องมือคลอโรฟิลล์มิเตอร์ (SPAD-502)

6. หลักการทำงานของคลอโรฟิลล์มิเตอร์

ค่าที่ได้จากการวัดด้วยคลอโรฟิลล์มิเตอร์ จะตรงกับปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบพืช โดยค่าจะถูกคำนวณจาก ปริมาณแสงที่ส่องผ่านใบพืช ใน 2 ช่วงความยาวคลื่นแสง ที่คลอโรฟิลล์สามารถดูดซับได้แตกต่างกัน คือ ช่วงแสงสีแดง (Red) มีความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร และช่วงแสงสีแดงไกล (Infared) มีความยาวคลื่น 940 นาโนเมตร LEDs (light-emitting diodes) ซึ่งเป็นตัวให้แสงจะถูกสร้างขึ้นภายในหัววัดของคลอโรฟิลล์มิเตอร์ทั้ง 2 ด้านคือ Emitting window และ Receiving window เมื่อทำการวัดแสงจะถูกปล่อยออกมาจาก Emitting window ผ่านตัวอย่างใบพืชเข้าสู่ Receiving window เมื่อทำการวัด LEDs ซึ่งเป็นตัวให้แสงที่อยู่ในระบบให้แสง (Illuminating system) จะปล่อยแสงสีแดงและแสงสีแดงไกลออกมา แสงจะส่องผ่านตัวอย่างไปใบพืชไปชนกับ

ตัวรับแสง (Receptors) จากนั้นจะถูกแปลงไปเป็นสัญญาณอัตโนมัติโดยตัวแปลงสัญญาณ (Amplifier และA/D converter) แล้วส่งสัญญาณต่อไปยัง Microprocessor ซึ่งจะแปลงสัญญาณอีกครั้งหนึ่งแล้วแสดงผลค่าที่ได้จากการวัดออกมาที่จอแสดงผล (display) และเก็บไว้ในหน่วยความจำ ข้อมูลที่อยู่ในหน่วยความจำสามารถเรียกดูและลบออกได้ตามความต้องการของผู้ใช้ (Anonymous, 1986)

7. การใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์ประเมินปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์ในใบพืช

มีการนำคลอโรฟิลล์มิเตอร์มาใช้ในการประเมินปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์ในพืชหลายชนิดด้วยกัน โดยปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์ที่คำนวณจากคลอโรฟิลล์มิเตอร์จะมีความสัมพันธ์กับปริมาณจากการวิเคราะห์ในพืชหลายชนิดด้วยกัน จากการศึกษาของ Li และคณะ (1998) ซึ่งได้ทำการศึกษาการใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์วัดปริมาณของคลอโรฟิลล์และไนโตรเจนของใบ grapefruit พบว่าปริมาณไนโตรเจนและค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์มีความสัมพันธ์กันสูง Azia และ Stewart (2001) ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณคลอโรฟิลล์ที่วัดจากน้ำคั้นของใบกับค่าที่วัดได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์ของใบแตงเทศ (muskmelon) พบว่า ค่าทีได้จากน้ำคั้นและค่าคลอโรฟิลล์มิเตอร์มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง สุทธิพันธ์ และคณะ (2547) ได้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์กับค่าคลอโรฟิลล์มิเตอร์ในใบของต้นตออ่อนพันธ์ต่างๆ พบว่า ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บีและคลอโรฟิลล์รวมของใบต้นตออ่อนทั้ง 12 พันธุ์ที่ศึกษามีความสัมพันธ์อย่างใกล้ชิดกับค่าที่วัดจากคลอโรฟิลล์มิเตอร์ Shi และ Byrne (1995) ทำการศึกษาอัตราการเกิดอาการใบด่างเหลือง (chlorosis) กับค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์ของต้นตอของพืช ปรากฏว่าอัตราการเกิดใบด่างเหลืองกับค่าที่ได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ โดยเมื่อค่าคลอโรฟิลล์มิเตอร์ที่วัดได้มีค่าต่ำอัตราการเกิดอาการใบด่างเหลืองจะสูง Sibley และคณะ (1996) ได้ทำการศึกษาระดับไนโตรเจนในใบด้วยคลอโรฟิลล์มิเตอร์ รุ่น SPAD-502 และการสกัดคลอโรฟิลล์ในใบสำหรับคัดเลือกพันธุ์ของ red maple พบว่า ค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกัน Neilsen และคณะ (1995) ได้ทำการศึกษาปริมาณไนโตรเจนในใบของแอปเปิลจำนวน 4 พันธุ์ โดยปลูกในแปลงที่ให้ปุ๋ยไนโตรเจน 3 ระดับ ร่วมกับการให้ปุ๋ยแคลเซียมไนเตรทโดยวิธีการให้ทางระบบน้ำ เมื่อทำการวัดผลด้วยคลอโรฟิลล์มิเตอร์ปรากฏว่าการเปลี่ยนแปลงของปริมาณไนโตรเจนมีความสัมพันธ์กับค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์ นอกจากนี้ Kodani และคณะ (2002) ได้ใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์ในการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในทรงพุ่มของ *Pagus crenata* Czapar และคณะ (2002) ได้ใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์ประเมินปริมาณไนโตรเจนในใบข้าวโพดที่มีการปลูก hairy vetch เป็นพืชคลุม

อีกด้วย สำหรับประเทศไทยนั้นการศึกษาการใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์ยังมีอยู่น้อย โดยจากการศึกษาของ สุภาณีและสายัณห์ (2545) ได้ทำการศึกษาการใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์เพื่อประเมินปริมาณคลอโรฟิลล์และไนโตรเจนในใบของลองกองและเงาะ โดยศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์กับปริมาณคลอโรฟิลล์รวมและไนโตรเจนในใบ พบว่า ค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์กับปริมาณคลอโรฟิลล์รวมและไนโตรเจนในใบของเงาะและลองกองมีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง แต่การศึกษาดังกล่าวยังไม่มีการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณคลอโรฟิลล์รวมและไนโตรเจนในช่วงพัฒนาในรอบปี ซึ่ง Sibley และคณะ (1996) ได้แนะนำว่าควรมีการทดสอบการวัดปริมาณไนโตรเจนในรอบปีด้วยเพราะฤดูกาลอาจมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์ในใบพืชด้วย

8. สภาวะเครียดน้ำของพืช

สภาวะเครียดน้ำของพืช หมายถึง พืชมีน้ำในระบบในลำต้นไม่เพียงพอ อาจเกิดขึ้นได้ 2 กรณีด้วยกัน คือ เกิดจากการที่พืชขาดน้ำ (water deficit) หรือเกิดจากการที่พืชได้รับน้ำมากเกินไป (water excess) ถ้าพืชเกิดความเครียดน้ำอันเนื่องมาจากพืชขาดน้ำ หรือมีความแห้งแล้งเกิดขึ้นในพื้นที่ที่พืชขึ้นอยู่เรียกว่า water deficit stress เรียกสั้น ๆ ว่า water stress ความเครียดน้ำจะส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของพืช แต่ผลกระทบที่เกิดขึ้นจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ระดับความรุนแรงและเวลาที่เกิดความเครียดน้ำ การเจริญของเซลล์จะตอบสนองต่อความเครียดน้ำมากที่สุด เมื่อการขาดน้ำรุนแรงขึ้นอีกจะส่งผลกระทบต่อการสังเคราะห์โปรตีน ปฏิกิริยาของเอนไซม์ การสร้างคลอโรฟิลล์ และการแบ่งและการขยายตัวของเซลล์ลดลงเป็นต้น (เฉลิมพล, 2535) จากการศึกษาของ Delfine และคณะ (2001) พบว่า สภาวะเครียดน้ำมีผลทำให้การเจริญเติบโตและการสะสมน้ำหนักลดลง จากการศึกษาของ Castrillo และ Calcagno (1989) พบว่า สภาวะเครียดน้ำส่งผลให้การทำงานของเอนไซม์ ribulose bisphosphate carboxylase (RuBP) ลดลง และยังส่งผลให้ปริมาณโปรตีนและปริมาณคลอโรฟิลล์ของมะเขือเทศลดลงด้วย สำหรับในลองกอง Sdoodee และ Singhabumrung (1996) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการตอบสนองทางสรีรวิทยาเมื่อเกิดสภาวะเครียดน้ำ โดยทำการทดลองกับต้นลองกองอายุ 10 ปี มี 3 วิธีการทดลอง คือ 1) ให้น้ำทุกวัน (ควบคุม) 2) ให้น้ำทุก 3 วัน (เครียดน้ำปานกลาง) และ 3) ให้น้ำทุก 6 วัน (เครียดน้ำมาก) ใช้เวลาในการทดลอง 18 วัน จากการศึกษาพบว่า วิธีทดลองที่มีการให้น้ำทุก 3 วัน และ 6 วัน ทำให้ค่าศักย์ของน้ำในใบลดลง โดยหลังจากครบ 18 วัน ค่าศักย์ของน้ำในใบของวิธีการทดลอง

ที่ให้น้ำทุก 3 วัน และ 6 วัน มีค่า -2.8 และ -3.4 MPa ตามลำดับ ส่วนวิธีการที่ให้น้ำทุกวันมีค่าศักย์ของน้ำในใบเท่ากับ -1.5 MPa

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์และไนโตรเจนของใบลองกองในช่วงการเกิดสภาวะเครียดน้ำ โดยวิธีไม่ทำลายใบ ด้วยการใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์
2. เพื่อหาความสัมพันธ์ของค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์กับปริมาณคลอโรฟิลล์และไนโตรเจนในใบของลองกองเพื่อเป็นประโยชน์ในการประเมินธาตุอาหารในใบได้อย่างรวดเร็ว