

วิธีการ

ได้วางแผนการวิจัย โดยแบ่งออกเป็น 2 ส่วนดังนี้

1. วิจัย และพัฒนาเครื่องต้นแบบ

โดยการศึกษา ข้อดีข้อเสียและเทคนิคการวัดแบบต่างๆ ที่มีใช้อยู่โดยเลือกเฉพาะเทคนิคที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้แบบพกพาได้ จากนั้นทำการออกแบบในส่วนของแหล่งกำเนิดแสง 2 ความยาวคลื่นและวัดการดูดกลืนแสง ออกแบบในส่วนของภาคแสดงผล ภาคประมวลผลสัญญาณ และเปรียบเทียบค่าเบื้องต้นและเปรียบเทียบค่าที่ได้ให้สมนัยกับค่าที่ได้จากการวัดในห้องปฏิบัติการจริง แล้วปรับปรุงเครื่องให้ค่าที่อ่านได้ตรงกับค่าที่วัดได้กับปริมาณธาตุอาหารในใบพืช จากนั้นปรับปรุงในส่วนของวงจรให้มีขนาดเล็กและใช้พลังงานต่ำ ดังนั้นเครื่องต้นแบบที่ได้จะเป็นเครื่องมือขนาดเล็กแบบพกพาขนาด 12 x 18 x 6 ซม. ประกอบด้วยกล่องตัวเครื่องที่มีส่วนที่ให้แสงส่องผ่านใบ โดยมีแป้นรองรับ ด้านหน้าตัวเครื่องมีคีย์บอร์ดและหน้าจอแสดงผลการวัด (ดังรูปที่ 3) ใช้พลังงานจากแบตเตอรี่สามารถแสดงค่าปริมาณสารไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์รวม โดยเป็นสัดส่วนกับการดูดกลืนแสงของใบพืชด้วยการทำ Calibration curve โดยใช้ค่าที่ได้จากการนำใบพืชไปวิเคราะห์ธาตุไนโตรเจนโดยตรงในห้องปฏิบัติการและค่าคลอโรฟิลล์รวม โดยการวัดด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer)

2. ทดสอบการวัดผลกับต้นข้าว

2.1 ทดสอบการวัดผลกับต้นข้าวที่มีการให้ปุ๋ยไนโตรเจนต่างกัน 3 ระดับ

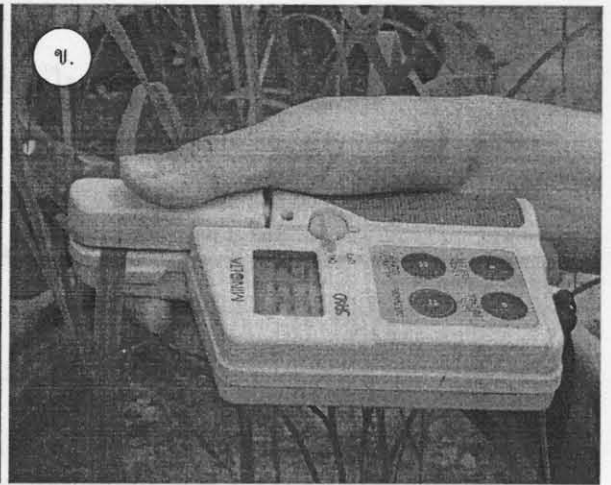
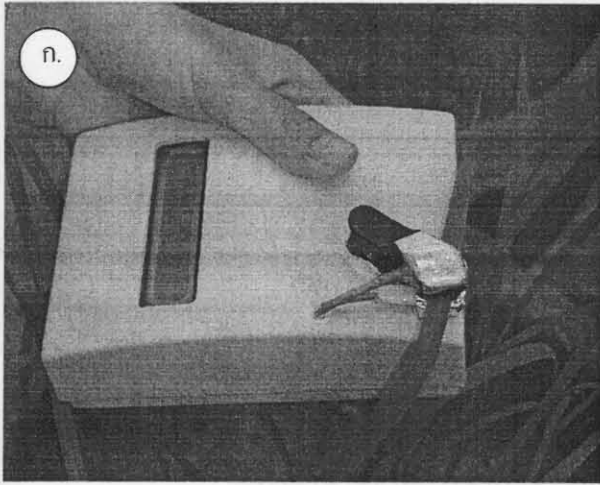
ทำการปลูกข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 ภายในกระถางที่บรรจุดิน 30 กิโลกรัมซึ่งตั้งอยู่ในสภาพโรงเรือนก่อนการปลูกได้นำดินไปวิเคราะห์ pH ธาตุอาหาร NPK ในห้องปฏิบัติการเพื่อทราบธาตุอาหารเบื้องต้นทำการปลูกข้าวโดยวิธีหว่านแล้วถอนแยกเมื่ออายุ 10 วัน ให้เหลือกระถางละ 10 ต้น รักษาระดับให้อยู่เหนือดินกล้า 3 – 5 เซนติเมตรในระยะต้นกล้าและเพิ่มสูงขึ้นเป็น 5-10 เซนติเมตรในระยะข้าวแตกกอให้ปุ๋ยไนโตรเจน (46-0-0) แยกต่างกัน 3 ระดับ เมื่อข้าว เริ่มแตกกอ (27 วัน) โดยแบ่งใส่ 2 ครั้ง วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) มี 3 ทรีตเมนต์ ทรีตเมนต์ ละ 8 ซ้ำ ๆ ละ 1 กระถาง (10 ต้น) รวม 24 กระถาง ดังนี้

1. ไม่ใส่ปุ๋ยไนโตรเจน
2. ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนระดับปานกลาง (10 กรัม / กระถาง)
3. ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนระดับสูง (20 กรัม / กระถาง)

การเก็บข้อมูล

- วัดการตอบสนองทางการเจริญเติบโตของต้นข้าวด้วยการประเมินการแตกกอ
- วัดการเปลี่ยนแปลงค่าของเครื่องต้นแบบคลอโรฟิลล์มิเตอร์ และเครื่อง SPAD-502

ในช่วงข้าวแตกกอ



รูปที่ 3 การใช้เครื่องมือตัดแบบวัดข้อมูล (ก.) เปรียบเทียบ กับเครื่อง SPAD-502 (ข.) ในการประเมินปริมาณคลอโรฟิลล์และปริมาณไนโตรเจนในใบข้าวในกระถางทดลอง

2.1.1 การประเมินปริมาณคลอโรฟิลล์

- สุ่มเลือกใบข้าวที่สมบูรณ์และอยู่ในช่วงที่ขยายแผ่นใบเต็มที่ (young fully expanding leaf) จำนวน 50 ตัวอย่างๆละ 1 ใบ ตามความเข้มของสีเขียว ทำความสะอาด วัดด้วยเครื่องมือตัดแบบและ SPAD-502

- นำใบพืชตัวอย่าง ตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ขนาดกว้าง 1 ซม. ยาว 2 ซม. (โดยหลีกเลี่ยงการใช้เนื้อเยื่อบริเวณเส้นใบและขอบใบ) แล้วใส่หลอดทดลอง

- เติมนสาร Dimethyl sulfoxide (DMSO) ปริมาณ 7 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง แล้วนำไปอุ่นในอ่างปรับอุณหภูมิ ที่ควบคุมอุณหภูมิน้ำ 65 องศาเซลเซียส

- รอจนกระทั่งเนื้อเยื่อพืชเปลี่ยนจากสีเขียว เป็นสีขาวใส

- แยกส่วนของกากพืชออกจากสารละลาย โดยการกรองด้วยกระดาษกรอง

- ปรับปริมาตรสารละลายที่กรองได้ด้วยสาร DMSO ให้เป็น 10 มิลลิลิตร

- นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์ โดยวิธีวัดค่าการดูดซับแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ช่วงคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร

- นำค่าที่อ่านได้ไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ โดยใช้สมการ ดังนี้ ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด = $20.2D_{645} + 8.02D_{663}$ เมื่อ ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมดมีหน่วยเป็น มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสด

- นำค่าที่ได้จากการอ่านของเครื่องมือปรับปรุง ไปหาความสัมพันธ์ กับค่าปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ได้จากการคำนวณ และวิเคราะห์หาความแตกต่างของ ค่าเฉลี่ยของปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ได้จากเครื่องมือทั้ง 2 ชนิด

2.1.2 การประเมินปริมาณไนโตรเจน

- สุ่มเลือกใบข้าวที่สมบูรณ์และอยู่ในช่วงที่ขยายแผ่นใบเต็มที่ (young fully expanding leaf) จำนวน 50 ตัวอย่างละ 10 ใบ ตามความเข้มของสีเขียว (โดยมีการเทียบสีด้วย Royal Horticultural Society's color chart ด้วย) ทำความสะอาด วัสดุด้วยเครื่องมือปรับปรุง
- นำใบไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง บดใบตัวอย่างแห้งให้เป็นผงละเอียด
- นำตัวอย่างแห้งที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในใบพืชโดยวิธีการของ Kjeldahl (ยงยุทธ, 2543)
- นำค่าที่ได้จากการอ่านของเครื่องมือต้นแบบ ไปหาความสัมพันธ์ กับค่าปริมาณไนโตรเจนที่ได้จากการวิเคราะห์ และวิเคราะห์หาความแตกต่างของ ค่าเฉลี่ยของปริมาณไนโตรเจนที่ได้จากเครื่องมือ
- นำค่าที่ได้จากการอ่านของเครื่องมือปรับปรุง ไปหาความสัมพันธ์ กับค่าปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ได้จากวิเคราะห์ และวิเคราะห์หาความแตกต่างของ ค่าเฉลี่ยของปริมาณไนโตรเจนที่ได้จากเครื่องมือ

2.2 ทดสอบการวัดผลกับต้นข้าวในสภาพแปลงนาข้าว

ทำการเก็บข้อมูลเช่นเดียวกับ การทดสอบภายในกระถางทดลอง



รูปที่ 4 การใช้เครื่องต้นแบบวัดใบข้าว เพื่อใช้ประเมินปริมาณคลอโรฟิลล์ และไนโตรเจนในใบข้าวในสภาพแปลง