

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ทำการศึกษาการเสียบยอดกาแฟอาราบิกาสายพันธุ์คาติมอร์ ศึกษาการเจริญเติบโตหลังการเสียบยอด และทดสอบชนิดของปุ๋ยอินทรีย์ที่เหมาะสมกับการปลูกกาแฟอาราบิกาในระยะเวลา 1 ปี สถานที่ทำการวิจัย ณ สาขาไม้ผล คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่ และบ้านฝ้างหมื่น ตำบลป่าเมี่ยง อำเภอดอยสะเก็ด จังหวัดเชียงใหม่ มีระดับความสูงประมาณ 800 เมตร จากระดับน้ำทะเลปานกลาง ซึ่งได้แบ่งการทดลองออกเป็น 4 การทดลอง ดังต่อไปนี้

การทดลองที่ 1 ศึกษาเปอร์เซ็นต์การเสียบติดและอัตราการรอดชีวิต ของกาแฟอาราบิกา

ในการทดลองใช้ต้นตอกาแฟอาราบิกาจากการเพาะเมล็ด อายุ 8 เดือน และนำยอดพันธุ์ดี อายุ 5-6 ปี มีลักษณะยอดสมบูรณ์ แข็งแรง ให้ผลผลิตสูง และปราศจากโรค จากสวนเกษตรกรตำบลป่าเมี่ยง โดยมีการวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) ประกอบด้วย 2 สิ่งทดลอง 5 ซ้ำๆ ละ 100 ต้นโดยแบ่งเป็นสิ่งทดลองได้ดังนี้

สิ่งทดลองที่ 1 เสียบยอดกาแฟอาราบิกาแบบกิ่งอ่อน

สิ่งทดลองที่ 2 เสียบยอดกาแฟอาราบิกาแบบกิ่งแก่

1. วิธีการทดลอง

การเสียบยอดทั้ง 2 แบบมีวิธีการที่คล้ายกันแตกต่างกันที่กิ่งพันธุ์ที่นำมาเสียบยอด คือ กิ่งอ่อน (กิ่งสีเขียว) และกิ่งแก่ (กิ่งสีน้ำตาล) มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 เซนติเมตร โดยการนำยอดพันธุ์ดีที่มีความสมบูรณ์มาเสียบบนต้นตอ วิธีเสียบยอดแบบเสียบลิ้ม ทำการตัดยอดต้นตอให้มีความสูงที่เท่ากันคือ 15 เซนติเมตร โดยผ่าต้นตอให้ลึก 2.5-3 เซนติเมตร นำยอดพันธุ์ดีตามสิ่งทดลองมาเชื่อมเป็นรูปลิ้มความยาวเท่ากับรอยแผลของต้นตอ โดยเหลือใบไว้ 2 ใบ เสียบกิ่งพันธุ์ดีให้แนบเนื้อเยื่อเจริญของต้นตอและกิ่งพันธุ์ดีสัมผัสกัน จากนั้นพันด้วยพลาสติกที่รอยแผลให้แน่น นำไปใส่ในถุงพลาสติกขนาดใหญ่ รัดปากถุงด้วยเชือกให้แน่นเพื่อลดการคายน้ำและควบคุมความชื้น

2. การเก็บข้อมูล

2.1 เปอร์เซนต์การเสียบยอดติดและอัตราการรอดตายของยอดพันธุ์ทั้ง 2 แบบ

2.2 อัตราการแตกยอดในช่วงระยะเวลาต่างๆ หลังจากเสียบยอด

การทดลองที่ 2 เปรียบเทียบการเจริญเติบโตของต้นกาแฟอาราบิกา จากการเสียบยอดและเพาะเมล็ด

โดยนำต้นที่ได้จากการเสียบยอดด้วยกิ่งอ่อน กิ่งแก่ ที่ได้จากการทดลองที่ 1 และต้นที่ได้จากการเพาะเมล็ดอายุ 10 เดือน ปลูกลงในสภาพที่มีร่มเงา ในเดือน มิถุนายน 2557 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design : CRD) ประกอบด้วย 3 สิ่งทดลอง จำนวน 5 ซ้ำๆ ละ 3 ต้น โดยแบ่งเป็นสิ่งทดลองต่างๆ ได้ดังนี้

สิ่งทดลองที่ 1 ต้นกล้ากาแฟที่เสียบยอดแบบกิ่งอ่อน

สิ่งทดลองที่ 2 ต้นกล้ากาแฟที่เสียบยอดแบบกิ่งแก่

สิ่งทดลองที่ 3 ต้นกล้าจากการเพาะเมล็ด

1. วิธีการทดลอง

ทำการปลูกล้ากาแฟอาราบิกาที่หมู่บ้านฝิ่งหมื่น ตำบลป่าเมี่ยง จังหวัดเชียงใหม่ ภายใต้สภาพร่มเงาของต้นไม้ใหญ่ ซึ่งมีแสงแดดส่องถึงประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยมีระยะห่างระหว่างต้น (1.5x2) เมตร ขุดหลุมขนาด กว้างxยาวxลึก เท่ากับ (30x30x30) เซนติเมตร จำนวน 3 แถวๆ ละ 15 ต้น รองกันหลุมด้วยมูลวัวอินทรีย์ 1 กิโลกรัมต่อหลุม ซึ่งได้มาจากมูลวัวอินทรีย์ที่ผ่านการตรวจสอบและไม่พบสารเคมีปนเปื้อน จากนั้นปลูกล้าต้นกาแฟอาราบิกา โดยให้แนวรัศมีของตาใบหันไปในทิศเดียวกัน และใส่มูลวัวอินทรีย์ 1 กิโลกรัมต่อต้น ทุกๆ 3 เดือน จนสิ้นสุดการทดลองเป็นระยะเวลา 1 ปี การทดลองนี้ปลูกตามธรรมชาติตามลักษณะการปลูกล้ากาแฟอาราบิกาในพื้นที่ดังกล่าว

2. การเก็บข้อมูล

1. ความสูงต้น (เซนติเมตร)
2. ความกว้างทรงพุ่ม (เซนติเมตร)
3. จำนวนใบต่อต้น (ใบ)
4. จำนวนกิ่งต่อต้น (กิ่ง)
5. เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น (โดยวัดเหนือจากพื้นดิน 15 เซนติเมตร)
6. ปริมาณคลอโรฟิลล์ โดยสุ่มวัด 3 ใบต่อต้น
7. ช่วงเวลาการออกดอก ติดผล และเก็บเกี่ยวผลผลิต (ช่วงเดือนต่างๆ)

การทดลองที่ 3 การศึกษาชนิดและอัตราการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ที่เหมาะสม ต่อการเจริญเติบโตของกาแฟอาราบิกา

โดยนำต้นกล้าที่ได้จากการเพาะเมล็ดลงปลูกในสภาพที่มีร่มเงาบ้านฝั่งหมิ่น ตำบลป่าเมี่ยง จังหวัดเชียงใหม่ ในเดือน มิถุนายน พ.ศ. 2557 วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) ประกอบด้วย 10 สิ่งทดลอง จำนวน 5 ซ้ำๆ ละ 3 ต้น โดยแบ่งเป็นสิ่งทดลองได้ดังนี้

- สิ่งทดลองที่ 1 ปุ๋ยมูลวัว 1 กิโลกรัมต่อต้น
- สิ่งทดลองที่ 2 ปุ๋ยมูลวัว 2 กิโลกรัมต่อต้น
- สิ่งทดลองที่ 3 ปุ๋ยมูลวัว 3 กิโลกรัมต่อต้น
- สิ่งทดลองที่ 4 ปุ๋ยแฉะ 1 กิโลกรัมต่อต้น
- สิ่งทดลองที่ 5 ปุ๋ยแฉะ 2 กิโลกรัมต่อต้น
- สิ่งทดลองที่ 6 ปุ๋ยแฉะ 3 กิโลกรัมต่อต้น
- สิ่งทดลองที่ 7 ปุ๋ยมูลไส้เดือน 100 กรัมต่อต้น
- สิ่งทดลองที่ 8 ปุ๋ยมูลไส้เดือน 200 กรัมต่อต้น
- สิ่งทดลองที่ 9 ปุ๋ยมูลไส้เดือน 300 กรัมต่อต้น
- สิ่งทดลองที่ 10 ไม่ใส่ปุ๋ย (Control)

1. วิธีการทดลอง

ทำการปลูกกาแฟอาราบิกาแปลงเดียวกันกับการทดลองที่ 2 โดยมีระยะห่างระหว่างต้น (1.5x2) เมตร ขุดหลุมขนาด กว้างxยาวx ลึก เท่ากับ (30x30x30) เซนติเมตร รองก้นหลุมด้วยปุ๋ยมูลวัวอินทรีย์ที่ผ่านการตรวจสอบและไม่พบสารเคมีปนเปื้อน ปุ๋ยแฉะ จากบริษัท Natural Agriculture และปุ๋ยมูลไส้เดือนจากศูนย์วิจัยและพัฒนาเกษตรธรรมชาติ ทำการปลูกโดยให้แนวรัศมีของตาใบหันไปในทิศเดียวกัน ทำการใส่ปุ๋ย 4 ครั้ง โดยแบ่งใส่ทุกๆ 3 เดือน จนสิ้นสุดการทดลองเป็นระยะเวลา 1 ปี การทดลองนี้ปลูกตามธรรมชาติตามลักษณะการปลูกกาแฟอาราบิกาในพื้นที่ดังกล่าว ทำการวัดค่าคลอโรฟิลล์ (Chlorophyll) ด้วยเครื่อง SPAD-502 และบันทึกข้อมูล

2. การเก็บข้อมูล

- 2.1 ความสูงต้น (เซนติเมตร)
- 2.2 ความกว้างทรงพุ่ม (เซนติเมตร)
- 2.3 จำนวนของใบต่อต้น (ใบ)
- 2.4 จำนวนกิ่งต่อต้น (กิ่ง)

2.5 เส้นผ่าศูนย์กลางลำต้น (โดยวัดเหนือจากพื้นดิน 15 เซนติเมตร)

2.6 ปริมาณคลอโรฟิลล์ (SPAD) โดยสุ่มวัด 5 ใบต่อดัน

การทดลองที่ 4 ศึกษาลักษณะปากใบ และการเปิด-ปิดปากใบกาแฟอาราบิก้า ที่ปลูกภายใต้ร่มเงาและกลางแจ้ง

โดยเก็บใบกาแฟอาราบิก้าจากแปลงทดลองในเดือนกันยายน 2559 วางแผนการทดลองแบบ สุ่มสมบูรณ์ (CRD) จำนวน 5 ต้นๆ ละ 3 ซ้ำ โดยศึกษาลักษณะปากใบ จำนวนปากใบ ความกว้างและความยาวของปากใบ และช่วงเวลาการเปิด-ปิดปากใบกาแฟอาราบิก้า

1. วิธีการทดลอง

การศึกษาลักษณะของปากใบโดยนำใบอ่อน (ถัดจากยอดลงมาใบที่ 3-5) ความกว้างใบไม่น้อยกว่า 5 เซนติเมตร มาแช่ด้วยสารรักษาสภาพ FAA (ประกอบด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ 70 เปอร์เซ็นต์ 850 มิลลิลิตร สารฟอร์มาลีน 40 เปอร์เซ็นต์ 100 มิลลิลิตร และกรดกลูตาซีอะซีติก 50 มิลลิลิตร) นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปล้างด้วย Alcohol 50 เปอร์เซ็นต์ ซับด้วยกระดาษให้แห้ง และทำการลอกเนื้อเยื่อโดยฉีกเนื้อเยื่อได้ท้องใบโดยใช้มีดผ่าให้ได้แผ่นเนื้อเยื่อที่บางที่สุด นำเนื้อเยื่อที่ได้วางลงบนแผ่นสไลด์ปิดด้วย cover glasses นำไปส่องใต้กล้องจุลทรรศน์ทำการถ่ายรูปบันทึกผล

การวัดขนาด Stomata โดยใช้โปรแกรม ImageJ2 ในการวัดความกว้างและความยาวของ Stomata โดยใช้โปรแกรม ImageJ2 เปิดภาพถ่ายที่เราได้บันทึกเลือก strange line บนแถบเครื่องมือ จากนั้นทำการลากเส้นทับไปยังสเกลที่กำหนด ในรูป Stomata (สเกลบาร์มีขนาด 20 ไมโครเมตร) เมื่อทราบค่าแล้วให้กด analyze->set scale บนแถบเครื่องมือ ทำการ set scale จากนั้นกดปุ่มใช้ strange line ลากวัดความกว้างและความยาว Stomata ที่ต้องการ เลือก Ctrl+M

การศึกษาช่วงเวลาในการเปิด-ปิดปากใบกาแฟอาราบิก้าโดยแบ่งเป็น 6 เวลา ดังนี้ 06.00, 09.00, 12.00, 15.00, 18.00 น. และเวลากลางคืน (19.00- 05.00 น.) โดยทำการเก็บใบอ่อน มีขนาดใบมากกว่า 5 เซนติเมตร มาแช่ลงในสาร FAA เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 1 ชั่วโมง จากนั้นทำการล้างใบกาแฟด้วยแอลกอฮอล์ 50 เปอร์เซ็นต์ รอให้ใบแห้ง ใช้มีดลอกท้องใบกาแฟให้บางที่สุด จากนั้นทำการย้อมสีด้วย Aniline blue นาน 5 นาที จากนั้นนำชิ้นส่วนไปวางบนสไลด์ ทำการปิดด้วย Cover glass นำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40x และทำการบันทึกภาพ

2. การเก็บข้อมูล

- 2.1 จำนวนปากใบต่อหน่วยพื้นที่ microscopic field
- 2.2 ความกว้างและความยาวของปากใบต่อหน่วยพื้นที่ (ไมโครเมตร; μm)
- 2.3 ลักษณะการเปิด-ปิดของปากใบกาแฟอาราบิกา

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SAS (Statistical Analysis System) 9.0