

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

พันธุ์พืชทดลอง

ในการทดลองนี้ใช้ต้นไผ่สตรอเบอร์รี่พันธุ์พระราชทานเบอร์ 70 นำมาตัดแต่งส่วนของใบและราก ให้เหลือใบ 2-3 ใบและความยาวรากประมาณ 5 เซนติเมตร นำไปปลูกเลี้ยงในกระถางพลาสติกขนาด 4 นิ้ว เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์เพื่อให้ต้นไผ่แข็งแรงก่อนที่จะนำลงปลูกในกระถางดินเผาขนาด 12 นิ้ว หรือปลูกลงแปลงตามแต่ละการทดลอง

เครื่องมือและอุปกรณ์

1. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ใช้วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายในการวิเคราะห์หาปริมาณโพรงและคลอโรฟิลล์ โดยการวัดปริมาณโพรงอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์อ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร
2. เครื่องมือวัดความชื้นในดิน (tensiometer) ของบริษัท Soilmoisture equipment crop รุ่น 2725A ใช้วัดปริมาณความชื้นในดิน เครื่องมือประกอบด้วยส่วนประกอบ 3 ส่วนคือ ส่วนหัววัดเป็นวัสดุพูนทำจากเซรามิก ท่อกลวงสำหรับบรรจุน้ำที่ต่อเข้ากับเครื่องวัด และเครื่องวัดแบบสูญญากาศ วิธีการใช้จะบรรจุน้ำจนเต็มเพื่อให้อากาศออกจากท่อจนหมด จากนั้นฝังส่วนหัววัดลงในดินทิ้งไว้ 10-15 นาที ปลายหัววัดซึ่งมีลักษณะเป็นรูพูนมีการเคลื่อนที่ของน้ำระหว่างดินและหัววัด ค่าที่อ่านได้มีหน่วยเป็นเซนติบาร์
3. เครื่องวัดการระเหยน้ำ (atmometer) ใช้บันทึกปริมาณการระเหยน้ำ โดยเปรียบเทียบปริมาณการระเหยน้ำจากกระดาดทรงกับพื้นที่ปลูก โดยเติมน้ำในกระเปาะแก้ว แล้ววางคว่ำลงบนกระดาดทรงที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 เซนติเมตร นำไปแขวนบริเวณแปลงทดลอง บันทึกปริมาณน้ำที่ระเหยออกไปจากกระเปาะแก้วในแต่ละวัน แล้วนำค่าที่ได้เปรียบเทียบกับปริมาณการระเหยน้ำจากกระถาง โดยสมการ

$$Y = \frac{729.66 X}{7.07}$$

X = ปริมาณน้ำที่ระเหยออกจากเครื่องวัดการระเหยน้ำ

Y = ปริมาณน้ำที่ระเหยออกจากกระถาง 100 เปอร์เซ็นต์

4. เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบทศนิยมสองตำแหน่งและสี่ตำแหน่ง
5. เครื่องมือวัดพื้นที่ใบ (leaf area meter) รุ่น Li-3100 ของบริษัท LI-COR ใช้วัดพื้นที่ใบ โดยนำตัวอย่างใบมาวางบนสายพานผ่านเครื่องวัด ก่อนทำการวัดต้องปรับมาตรฐานของเครื่องโดยใช้แผ่นเหล็กที่มีพื้นที่ที่แน่นอน มีหน่วยเป็นตารางเซนติเมตร
6. เครื่องมือวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (digital refractometer) ของบริษัท Atago รุ่น PR-101 ใช้วัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ โดยใช้น้ำคั้นจากผลสดแล้วอ่านค่าที่ได้จากเครื่อง มีหน่วยเป็นองศาบริกซ์
7. เครื่องต้มน้ำ (water bath)
8. เครื่องผสมสาร (vortex mixer) ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยผสมสารสกัดจากใบและ toluene ให้เข้ากันเพื่อนำสารที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง
9. เครื่องเหวี่ยง (centrifuge)
10. ตู้อบ (oven)
11. เวอร์เนียคาลิเปอร์ (vernier caliper)
12. เทอร์โมมิเตอร์ (thermometer)
13. โกร่งบดตัวอย่างพืช
14. volumetric flask ขนาด 50 200 และ 1,000 มิลลิลิตร
15. บีกเกอร์ขนาด 50 100 200 และ 500 มิลลิลิตร
16. auto pipet pump
17. ปิเปตขนาด 1 2 5 และ 10 มิลลิลิตร
18. กรวยกรอง (funnel)
19. กระจบอกลงขนาด 10 25 และ 100 มิลลิลิตร
20. หลอดทดลองขนาดเล็ก กลาง ใหญ่
21. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1
22. อุปกรณ์อื่นๆ เช่น แท่งแก้ว ขาดั่ง กระดาษฟลอยด์
23. กล้องถ่ายรูปและฟิล์มบันทึกภาพ

สารเคมี

1. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณโพรลีน ได้แก่ proline, sulfosalicylic acid, ninhydrin, glacial acetic acid, toluene, orthophosphoric acid และน้ำกลั่น
2. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ ได้แก่ อะซิโตน 80 เปอร์เซ็นต์
3. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซี ได้แก่ oxalic acid, ascorbic acid และ 2,6-dichlorophenol indophenol
4. สารเคมีที่ใช้วิเคราะห์ปริมาณกรด ได้แก่ โซเดียมไฮดรอกไซด์ ethanol และ phenolphthalein

การวางแผนการทดลอง

การทดลองที่ 1 ผลของสภาวะเครียดจากการขาดน้ำต่อสตรอเบอร์รี่

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) มี 5 กรรมวิธีๆ ละ 10 ซ้ำๆ ละ 2 ต้น โดยเปรียบเทียบในช่วงระยะพัฒนาการ 2 ระยะคือ ระยะออกดอกและระยะติดผล โดยให้น้ำปกติกับการงดน้ำทันที 10 วัน และงดน้ำทีละน้อย แบ่งเป็น 5 กรรมวิธีดังนี้

กรรมวิธีที่ 1 ให้น้ำปกติ

กรรมวิธีที่ 2 งดน้ำทันทีเป็นระยะเวลา 10 วันในระยะออกดอก

กรรมวิธีที่ 3 งดน้ำทันทีเป็นระยะเวลา 10 วันในระยะติดผล

กรรมวิธีที่ 4 งดน้ำทีละน้อยในระยะออกดอกที่ระดับ 100 75 50 25 และ 0 เปอร์เซ็นต์ของการระเหยน้ำจากดิน ในแต่ละระดับนาน 2 วัน

กรรมวิธีที่ 5 งดน้ำทีละน้อยในระยะติดผลที่ระดับ 100 75 50 25 และ 0 เปอร์เซ็นต์ของการระเหยน้ำจากดิน ในแต่ละระดับนาน 2 วัน

ปลูกต้นสตรอเบอร์รี่ในกระถางดินเผาขนาด 12 นิ้ว ที่ใส่วัสดุผสมระหว่างดิน : ทราย : แกลบดิบ : ปุ๋ยคอก อัตราส่วน 2 : 1 : 1 : 1 รองก้นหลุมด้วยปุ๋ยซุเปอร์ฟอสเฟตในแต่ละกระถางๆ ละครึ่งช้อนชาเพื่อให้ดินแข็งแรงและตั้งตัวได้เร็วขึ้น คลุมดินด้วยฟางข้าว และจัดวางกระถางไว้ในสภาพกลางแจ้งให้ได้รับแสงเต็มที่ภายใต้หลังคาพลาสติกป้องกันฝน ในระยะแรกให้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 พร้อมทั้งฉีดพ่นปุ๋ยสูตร 46-0-0 ทุกสัปดาห์ เมื่อต้นอยู่ในระยะออกดอกติดผลให้ปุ๋ยสูตร 6-24-24 และฉีดสารเคมีป้องกันกำจัดโรคแมลงทุกสัปดาห์ มีการให้น้ำอย่างเพียงพอทุกวันในระยะก่อนการทดลอง ก่อนเริ่มกรรมวิธีทดลองหนึ่งวันมีการให้น้ำแต่ละกระถางปริมาตร

1,000 มิลลิลิตร เพื่อให้ดินมีความชื้นใกล้เคียงกัน เริ่มทดลองเมื่อต้นมีอายุ 40 วันหลังจากย้ายปลูกในกระถาง โดยต้นเริ่มมีการบานของดอกแรกจากจำนวนต้นประมาณครึ่งหนึ่งของต้นที่ใช้ในการทดลอง หรือระยะติดผล คือเมื่อผลแรกมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร ซึ่งต้นมีอายุได้ 58 วัน ตลอดระยะเวลาการทดลองมีการวัดปริมาณการระเหยน้ำด้วยเครื่องวัดการระเหยน้ำ (atmometer) แล้วคำนวณปริมาณการให้น้ำ ในกรรมวิธีที่มีการทดลองให้น้ำลดลงจะคำนวณลดลงตามสัดส่วน จนกระทั่งครบตามระยะเวลาที่กำหนดจึงให้น้ำอย่างเพียงพอจนถึงระยะเก็บเกี่ยวผลผลิต

การทดลองที่ 2 ผลของสภาวะเครียดจากน้ำท่วมขังต่อสตรอเบอร์รี่

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) มี 3 กรรมวิธีๆ ละ 10 ซ้ำๆ ละ 2 ต้น โดยให้น้ำปกติกับให้น้ำท่วมขังนาน 10 วันในช่วงระยะพัฒนาการ 2 ระยะคือ ระยะออกดอกและระยะติดผล

กรรมวิธีที่ 1 ให้น้ำปกติ

กรรมวิธีที่ 2 ให้น้ำท่วมขังเป็นระยะเวลา 10 วันในระยะออกดอก

กรรมวิธีที่ 3 ให้น้ำท่วมขังเป็นระยะเวลา 10 วันในระยะติดผล

ปลูกต้นสตรอเบอร์รี่ในกระถางดินเผาขนาด 12 นิ้ว ที่ใส่วัสดุผสมระหว่างดิน : ทราย : แกลบดิบ : ปุ๋ยคอก อัตราส่วน 2 : 1 : 1 : 1 รองก้นหลุมด้วยปุ๋ยซูเปอร์ฟอสเฟตกระถางละครึ่งช้อนชา เพื่อให้ต้นแข็งแรงและตั้งตัวได้เร็วขึ้น คลุมดินด้วยฟางข้าว จัดวางกระถางไว้ในสภาพกลางแจ้งให้ได้รับแสงเต็มที่ภายใต้หลังคาพลาสติกป้องกันฝน ในระยะแรกให้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 พร้อมทั้งฉีดพ่นปุ๋ยสูตร 46-0-0 ทุกสัปดาห์ เมื่อต้นอยู่ในระยะออกดอกติดผลให้ปุ๋ยสูตร 6-24-24 และมีจุลินทรีย์ป้องกันกำจัดโรคแมลงทุกสัปดาห์

การให้น้ำจะให้เพียงพอทุกวันในระยะก่อนการทดลอง ก่อนเริ่มกรรมวิธีทดลองหนึ่งวันจะมีการให้น้ำแต่ละกระถางปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร เพื่อให้ดินมีความชื้นใกล้เคียงกัน เริ่มทดลองเมื่อต้นมีอายุ 40 วันหลังจากย้ายปลูกในกระถาง โดยต้นเริ่มมีการบานของดอกแรกจากจำนวนต้นประมาณครึ่งหนึ่งของต้นที่ใช้ในการทดลอง หรือระยะติดผล คือเมื่อผลแรกมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร ซึ่งต้นมีอายุได้ 58 วัน โดยนำกระถางแช่ลงในน้ำที่ใส่ไว้จนถึงพลาสติกให้ท่วมในระดับเดียวกับดินในกระถาง (ภาพที่ 1) มีการเติมน้ำในถังทุกวันตลอดการทดลอง เมื่อทดลองครบกำหนดระยะเวลาแล้วนำกระถางออกไปวางไว้เช่นเดิมและให้น้ำอย่างเพียงพอจนถึงระยะเก็บเกี่ยวผลผลิต



ภาพที่ 1 การชักนำให้ต้นสตรอเบอร์รี่อยู่ในสภาพน้ำท่วมขัง

การทดลองที่ 3 ผลของสภาวะเครียดจากน้ำต่อสตรอเบอร์รี่ในสภาพแปลง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) มี 5 กรรมวิธีๆ ละ 10 ซ้ำๆ ละ 2 ต้น โดยทำการเปรียบเทียบการให้น้ำปกติกับการงดน้ำทันที 10 วัน และการให้น้ำท่วมขังนาน 10 วัน ในระยะพัฒนาการ 2 ระยะคือ ระยะออกดอกและระยะติดผลซึ่งทำการทดลองในสภาพแปลงปลูก

กรรมวิธีที่ 1 ให้น้ำปกติ

กรรมวิธีที่ 2 งดน้ำทันทีเป็นระยะเวลา 10 วันในระยะออกดอก

กรรมวิธีที่ 3 งดน้ำทันทีเป็นระยะเวลา 10 วันในระยะติดผล

กรรมวิธีที่ 4 ให้น้ำท่วมขังแปลงปลูกเป็นระยะเวลา 10 วันในระยะออกดอก

กรรมวิธีที่ 5 ให้น้ำท่วมขังแปลงปลูกเป็นระยะเวลา 10 วันในระยะติดผล

เตรียมแปลงทดลองขนาด 1 x 3 เมตร ผสมปุ๋ยคอกและแกลบคิบอย่างละ 5 กิโลกรัมต่อแปลงคลุกเคล้าให้เข้ากัน บริเวณโดยรอบแปลงมีการปูด้วยพลาสติกป้องกันไม่ให้น้ำไหลซึมออกด้านข้าง ปลูกต้นลงในแปลงให้มีระยะห่างระหว่างต้นและแถวเท่ากับ 25 x 50 เซนติเมตร (ภาพที่ 2) รองกันหลุมด้วยปุ๋ยขุบเปอร์ฟอสเฟตหลุมละครึ่งช้อนชาเพื่อให้ต้นตั้งตัวได้เร็วขึ้นและคลุมดิน

ด้วยฟางข้าว ให้น้ำทั้งทางใบและทางราก โดยในระยะแรกให้ปุ๋ยสูตร 15-15-15 พร้อมทั้งฉีดพ่น ปุ๋ยสูตร 46-0-0 ทุกสัปดาห์ เมื่อดันอยู่ในระยะออกดอกหรือติดผลจึงให้ปุ๋ยสูตร 6-24-24 และฉีดพ่น ด้วยสารเคมีป้องกันกำจัดโรคแมลง ให้น้ำกับดินอย่างเพียงพอ และก่อนเริ่มกรรมวิธีทดลอง หนึ่งวันให้น้ำโดยใช้บัวรดน้ำในแต่ละแปลงปริมาณ 20 ลิตร ให้ทั่วทั้งแปลงเพื่อปรับความชื้นให้ ใกล้เคียงกัน เริ่มทดลองเมื่อดันมีอายุ 40 วันหลังจากย้ายปลูกในกระถาง โดยต้นเริ่มมีการบานของ ดอกแรกจากจำนวนต้นประมาณครึ่งหนึ่งของต้นที่ใช้ในการทดลอง หรือระยะติดผล ก็เมื่อ ผลแรกมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 เซนติเมตร ซึ่งต้นมีอายุได้ 58 วัน ในกรรมวิธีที่ให้น้ำท่วมยังมีการให้น้ำระบบหยดเพื่อให้ดินและตลอดการทดลอง



ภาพที่ 2 แปลงปลูกต้นศรอกเบอร์รี่

การบันทึกข้อมูล

1. การเจริญเติบโตของต้นสตรอเบอรี่

- 1.1 นับจำนวนหน่อและใบของแต่ละต้น
 1.2 พื้นที่ใบ วัดด้วยเครื่องวัดพื้นที่ใบ มีหน่วยเป็นตารางเซนติเมตร โดยนำใบที่โตเต็มที่มาวัด จำนวน 10 ใบต่อต้น

- 1.3 ดัชนีพื้นที่ใบ (leaf area index; LAI) สามารถคำนวณได้จากสมการ

$$LAI = \frac{\text{พื้นที่ใบ}}{\text{พื้นที่ปลูก}}$$

- 1.4 ความยาวและความกว้างของใบที่โตเต็มที่ โดยวัดความยาวใบจากส่วนฐานใบถึงปลายใบ และวัดความกว้างใบจากส่วนที่กว้างที่สุดของใบประกอบด้านหนึ่งถึงอีกด้านหนึ่ง

- 1.5 ความสูงและความกว้างของทรงพุ่ม โดยวัดความสูงจากพื้นดินถึงปลายใบซึ่งเป็นส่วนที่สูงที่สุดของต้น และวัดความกว้างจากส่วนที่กว้างที่สุดของทรงพุ่ม

- 1.6 ความยาวราก วัดความยาวรากตั้งแต่ส่วนของลำต้นถึงปลายรากที่ยาวที่สุด

- 1.7 น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของใบและราก เก็บข้อมูลหลังจากเก็บเกี่ยวนำมาแยกต้นสตรอเบอรี่เป็นส่วนที่อยู่เหนือดินและส่วนที่อยู่ใต้ดิน แล้วชั่งน้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งโดยนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง

- 1.8 สัดส่วนของน้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดินต่อราก (shoot : root dry weight ratio)

$$\text{สัดส่วนของน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดินต่อราก} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของส่วนเหนือดิน (กรัม)}}{\text{น้ำหนักแห้งของราก (กรัม)}}$$

- 1.9 เปอร์เซ็นต์การติดผล บันทึกจำนวนดอกและจำนวนผลที่ติด แล้วนำไปคำนวณตามสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์การติดผล} = \frac{\text{จำนวนดอก} \times 100}{\text{จำนวนผล}}$$

- 1.10 ปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบสด วิเคราะห์ตามวิธีของ Arnold (1949) โดยนำใบสดน้ำหนัก 0.5 กรัม มาหั่นให้เป็นชิ้นเล็กๆ แล้วนำไปบดในโกร่ง ด้วยอะซิโตน 80 เปอร์เซ็นต์ นาน 1-2 นาที นำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และล้างให้ทั่วด้วยอะซิโตน แล้วปรับปริมาตรสารละลายให้เป็น 25 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 645 และ 663 นาโนเมตร นำไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์รวม

$$\text{total chlorophyll} = \frac{[20.2 D(645) + 8.02 D(663)]V \times 100}{1,000 \times W}$$

เมื่อ $D(645)$ = ค่า optical density ที่วัดได้โดยใช้ความยาวคลื่น 645 นาโนเมตร

$D(663)$ = ค่า optical density ที่วัดได้โดยใช้ความยาวคลื่น 663 นาโนเมตร

W = น้ำหนักใบสด (กรัม)

V = ปริมาตรอะซิโตนที่คลอโรฟิลล์ละลายอยู่ (มิลลิลิตร)

2. คุณภาพผลผลิต

2.1 จำนวนผลต่อต้น โดยนับผลสตอเบอร์รี่ที่ได้จากต้นในแต่ละกรรมวิธี แล้วนำมาเฉลี่ยเป็นจำนวนผลต่อต้น

2.2 น้ำหนักผล โดยนำผลสตอเบอร์รี่ เด็ดก้านและกลีบเลี้ยงออก แล้วนำมาชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง

2.3 ปริมาตรผล โดยการแทนที่ด้วยปริมาตรในกระบอกตวง

2.4 ขนาดผล โดยวัดความยาว ความกว้าง และความหนาของผลด้วยเวอร์เนียคาลิเปอร์ โดยความยาววัดจากฐานถึงปลายผล ความกว้างจากส่วนที่กว้างที่สุดของผล และความหนาผลในตำแหน่งเดียวกับความกว้างแต่เป็นส่วนที่ตั้งฉากกัน

2.5 ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TA) วิเคราะห์ โดยใช้น้ำคั้นของผล 1 มิลลิลิตร กับน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน หยดด้วย phenolphthalein ประมาณ 2-3 หยด แล้วไทเทรตด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน คำนวณปริมาณกรดในรูปกรดซิตริกจากสมการ

$$Z = \frac{V \times N \times \text{Meq. Wt.} \times 100}{Y}$$

เมื่อ Z = เปอร์เซ็นต์กรดซิตริก

V = ปริมาณของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้

N = ความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์

Meq. wt. = milliequivalents ของกรดซิตริก (0.06404)

Y = ปริมาณน้ำคั้น (มิลลิลิตร)

2.6 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (total soluble solid; TSS) วัดด้วยเครื่องมือวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (digital refractometer) มีหน่วยเป็นองศาบริกซ์

2.7 สัดส่วนของ TSS : TA

2.8 ปริมาณวิตามินซีโดยนำน้ำคั้นปริมาณ 1 มิลลิลิตร ผสมกับกรดออกซาลิก 9 มิลลิลิตร แล้วนำไปไทเทรตกับ 2,6-dichlorophenol indophenol กำหนดปริมาณวิตามินซีจากสมการ

$$\text{ปริมาณวิตามินซี} = \frac{1000 \times X}{30.5 \times Y}$$

เมื่อ X = ปริมาณ 2,6-dichlorophenol indophenol ที่ใช้ (มิลลิลิตร)

Y = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

3. การวิเคราะห์ปริมาณโพรลีน

ศึกษาปริมาณโพรลีนในใบสดตามวิธีของ Bates *et al.* (1973) โดยนำใบสดน้ำหนัก 0.5 กรัมมาบดด้วย sulfosalicylic acid 3 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วนำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นนำมาทำปฏิกิริยากับกรด ninhydrin และกรดอะซิติก อย่างละ 1 มิลลิลิตร ต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง และหยุดปฏิกิริยาโดยนำหลอดทดลองมาแช่ในน้ำเย็น 0 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จึงเติมด้วย toluene ปริมาตร 4 มิลลิลิตร แล้วเขย่าด้วยเครื่อง vortex นาน 15-20 วินาที สารละลายจะแยกเป็น 2 ชั้น นำชั้นบนมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร นำค่าที่ได้มาคำนวณตามสูตร ดังนี้

$$\text{proline } (\mu\text{mole/g fresh weight}) = \frac{A \times B \times 5}{C \times 115.5}$$

เมื่อ A = ปริมาณโพรลีนจากกราฟมาตรฐาน ($\mu\text{g/ml}$) สมการ $Y = 0.0373X$

โดย X = ปริมาณโพรลีน

Y = ค่าการดูดกลืนแสง

B = ปริมาณ toluene 4 มิลลิลิตร

C = น้ำหนักใบสด 0.5 กรัม

4. ปริมาณความชื้นในดิน

บันทึกข้อมูลการเปลี่ยนแปลงของความชื้นในดินด้วยเครื่อง tensiometer ตลอดการทดลองที่ระดับความลึก 15 เซนติเมตรจากผิวดิน ค่าที่อ่านได้เป็นค่าแรงดึงของน้ำ (soil water suction) มีหน่วยเป็นเซนติบาร์ ค่า 0-20 เซนติบาร์ หมายถึง มีความชื้นในดินมากเกินไปถึงระดับ field capacity ส่วนค่า 20-60 เซนติบาร์หมายถึง มีความชื้นในระดับที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของพืช และค่ามากกว่า 60 เซนติบาร์ขึ้นไป หมายถึง มีความชื้นในดินน้อยมาก

5. การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม Statistical Package for the Social Science for Window (SPSS/FW) release 6.0 และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Difference Test (LSD)

สถานที่ทำการวิจัย

1. แปลงทดลองภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
2. ห้องปฏิบัติการ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
3. ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย

เดือนตุลาคม พ.ศ. 2543 ถึงตุลาคม พ.ศ. 2544