

การประเมินปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์รวมในใบลองกอง ภายใต้สภาวะเครียดน้ำโดยใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์

พรทิพย์ แก้วคง¹ และ สายัณห์ สดุดี²

Abstract

Kaewkong, P. and Sdoodee, S.

Evaluation of nitrogen status and total chlorophyll in longkong (*Aglaia dookkoo* Griff.) leaves under water stress using a chlorophyll meter

Songklanakar J. Sci. Technol., 2005, 27(4) : 731-741

A chlorophyll meter (SPAD-502) was used to assess nitrogen status and total chlorophyll in longkong leaves, leaves from twelve of 10-year-old trees grown in the experimental plot at Prince of Songkla University, Songkhla province. The relationship between SPAD-502 meter reading and nitrogen status and total chlorophyll content analyzed in the laboratory was evaluated during 8 months (May-December 2003). It was found that the trend of the relationships in each month was similar. There was no significant difference among regression linears of all months. The data of 8 months showed that SPAD-reading and nitrogen content, and SPAD-reading and total chlorophyll content were related in a positive manner. They were $Y = 0.19X + 10.10$, $r = 0.76^{**}$ ($n = 240$), and $Y = 0.43X - 7.89$, $r = 0.79^{**}$ ($n = 400$), respectively. The SPAD-502 was then used to assess total nitrogen and total chlorophyll content during imposed water stress. Fifteen 4-year-old plants were grown in pots (each pot containing 50 kg soil volume). The experiment was arranged in a completely randomized design with 3 treatments: (1) daily watering (2) once watering on day 7 (3) no watering with 5 replications during 14 days of the experimental period. Measurements showed a continuous decrease of SPAD-reading in the treatment of no watering. On day 14, a significant difference of SPAD-

Department of Plant Science, Faculty of Natural Resources, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla 90112 Thailand.

¹วท.ม.(พืชศาสตร์), ผู้ช่วยวิจัย ²Ph.D.(Crop Physiology) รองศาสตราจารย์ ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

Corresponding e-mail: sayan.s@psu.ac.th

รับต้นฉบับ 25 พฤศจิกายน 2547 รับลงพิมพ์ 25 มกราคม 2548

reading values between the treatment of daily watering and no watering was found. Then, the values of nitrogen content and total chlorophyll were assessed by using the linear regression equations. From the result, it is suggested that the measurement by chlorophyll meter is a rapid technique for the evaluation of total chlorophyll and nitrogen status in longkong leaves during water stress.

Key words : longkong, chlorophyll meter, water stress, nitrogen, chlorophyll

บทคัดย่อ

พรทิพย์ แก้วคง และ สายัณห์ สดุดี

การประเมินปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์รวมในใบลองกองภายใต้สภาวะเครียดน้ำโดยใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์

ว. สงขลานครินทร์ วทท. 2548 27(4) : 731-741

การใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์เพื่อประเมินปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์รวมของใบลองกอง โดยใช้ใบจากต้นลองกอง อายุ 10 ปี จำนวน 12 ต้น ๓ แปลงปลูก ภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา โดยหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์กับปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์รวมที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ ทำการเก็บข้อมูลดังกล่าวเป็นระยะเวลา 8 เดือน (พฤษภาคม-ธันวาคม พ.ศ.2546) พบว่ามีความสัมพันธ์กันในทุกเดือนที่ทำการศึกษา โดยสมการความสัมพันธ์ของแต่ละเดือนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อนำข้อมูลจากทั้งแปดเดือนมาหาความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์กับปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์รวม พบว่ามีความสัมพันธ์กัน โดยมีสมการเชิงเส้นตรงเป็น $Y = 0.19X + 10.10$, $r = 0.76^{**}$, $n = 240$, และ $Y = 0.43X - 7.89$, $r = 0.79^{**}$, $n = 400$ ตามลำดับ เมื่อใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์ประเมินปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์รวมในช่วงสภาวะเครียดน้ำ โดยใช้ต้นลองกองอายุ 4 ปี ที่ปลูกในกระถางที่บรรจุดิน 50 กก. โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด มี 3 วิธีการทดลอง คือ 1) ให้น้ำทุกวัน 2) ให้น้ำ 1 ครั้งใน 7 วัน 3) งดการให้น้ำ ทำการทดลองเป็นเวลา 14 วัน พบว่าสภาวะเครียดน้ำมีผลทำให้ค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์ลดลงเรื่อยๆ ในวิธีการทดลองที่งดการให้น้ำ โดยในวันที่ 14 ของการทดลองค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์ของวิธีการทดลองที่ให้น้ำทุกวันแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการที่งดการให้น้ำ แล้วจากนั้นประเมินความแตกต่างของปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์รวมโดยใช้การคำนวณจากสมการเชิงเส้นตรงกับค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์ ผลจากการศึกษานี้แนะนำให้ทำการวัดด้วยเครื่องมือคลอโรฟิลล์มิเตอร์เป็นเทคนิคการวัดที่ทำได้เร็ว ซึ่งสามารถใช้ในการประเมินปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์รวมของใบลองกองในช่วงสภาวะเครียดน้ำได้

ในการปลูกพืช มักมีการวิเคราะห์ดินและพืช เพื่อใช้เป็นแนวทางในการจัดการธาตุอาหารให้แก่พืชได้อย่างเหมาะสม ซึ่งวิธีนี้จะช่วยให้พืชเจริญเติบโตได้ดี ผลผลิตมีคุณภาพ เพราะพืชได้รับธาตุอาหารอย่างเหมาะสมเพียงพอ รวมทั้งยังช่วยประหยัดค่าใช้จ่าย เพราะสามารถจัดการธาตุอาหารพืชได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น ธาตุอาหารนับเป็นปัจจัยสำคัญในการเร่งการเจริญเติบโตของพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งไนโตรเจนซึ่งเป็นธาตุอาหารพืชที่สำคัญ

พืชต้องการธาตุอาหารนี้ไปสร้างโปรตีนเพื่อสร้างความเจริญของลำต้นและใบ สร้างสีเขียวให้แก่พืช เป็นส่วนประกอบสำคัญของคลอโรฟิลล์ในพืช (ยงยุทธ, 2543) ดังนั้นไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์ในใบจึงเป็นตัวบ่งชี้ถึงสภาพความสมบูรณ์ของพืชได้ สภาวะเครียดน้ำมีผลต่อสรีรวิทยาของไม้ผลด้านต่างๆ เช่น ทำให้ปากใบปิดหรือแรงดันของปากใบเพิ่มขึ้น (Shivashankar *et al.*, 1991) ชัดขวางการเคลื่อนที่ของ CO_2 เข้าสู่ใบ ทำให้ความสามารถ

ในการดูธาตุไนโตรเจนรวมทั้งธาตุอื่นๆ ลดลง มีผลทำให้คลอโรฟิลล์ในใบลดลง (Castrillo and Calcagno, 1989) ดังนั้นวิธีการหนึ่งที่ใช้เป็นตัวบอกระดับสภาวะเครียดน้ำของไม้ผล คือ การวัดปริมาณไนโตรเจนหรือคลอโรฟิลล์ในใบพืช วิธีการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในใบพืชมีอยู่หลายวิธีด้วยกัน เช่น วิธีของ Kjeldahl ส่วนวิธีที่ใช้วิเคราะห์คลอโรฟิลล์ เช่น วิธีการ colorimeter โดยใช้เครื่องวัดการส่องผ่านของแสง (ศรีสม, 2544) แต่วิธีการนี้ต้องทำในห้องปฏิบัติการและมีการทำลายใบพืชด้วย (Singha and Townsend, 1989) สำหรับคลอโรฟิลล์มิเตอร์ เช่น SPAD-501 or SPAD-502 Minolta Co., Ltd., Japan เป็นอุปกรณ์หนึ่งที่สามารถใช้ประเมินปริมาณคลอโรฟิลล์และไนโตรเจนได้โดยไม่ต้องทำลายใบพืช (non-destructive method) เป็นวิธีการที่สะดวกและวัดผลได้รวดเร็ว (Azia and Stewart, 2001)

ได้มีการศึกษาการใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์ในการประเมินปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์ในพืชหลายชนิดด้วยกัน ดังการทดลองของ Li และคณะ (1998) ซึ่งได้ทำการศึกษาค่าคลอโรฟิลล์มิเตอร์วัดปริมาณของคลอโรฟิลล์และไนโตรเจนของใบ grapefruit พบว่าปริมาณไนโตรเจนและค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์มีความสัมพันธ์กันสูง Azia และ Stewart (2001) ได้ทำการศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณคลอโรฟิลล์ที่วัดจากน้ำคั้นของใบกับค่าที่วัดได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์ของใบแตงเทศ (muskmelon) พบว่าค่าที่ได้จากน้ำคั้นและค่าคลอโรฟิลล์มิเตอร์มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง Shi และ Byrne (1995) ทำการศึกษาอัตราการเกิดอาการใบด่างเหลือง (chlorosis) กับค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์ของต้นตอของพืช ปรากฏว่าอัตราการเกิดอาการใบด่างเหลืองกับค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญ โดยเมื่อค่าคลอโรฟิลล์มิเตอร์ที่วัดได้มีค่าต่ำอัตราการเกิดอาการใบด่างเหลืองจะสูง Sibley และคณะ (1996) ได้ทำการศึกษาระดับไนโตรเจนในใบด้วยคลอโรฟิลล์มิเตอร์ (SPAD-502) และการสกัดคลอโรฟิลล์ในใบสำหรับคัดเลือกพันธุ์ของ red maple พบว่าค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดไม่มีความแตกต่างกัน Neilsen และคณะ (1995) ได้ทำการศึกษาระดับไนโตรเจนในใบของแอปเปิลจำนวน

4 พันธุ์ โดยปลูกในแปลงที่ให้ปุ๋ยไนโตรเจน 3 ระดับ ร่วมกับการให้ปุ๋ยแคลเซียมไนเตรทโดยวิธีการให้ทางระบบน้ำ เมื่อทำการวัดผลด้วยคลอโรฟิลล์มิเตอร์ ปรากฏว่าการเปลี่ยนแปลงของปริมาณไนโตรเจนมีความสัมพันธ์กับค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์ นอกจากนี้ Kodani และคณะ (2002) ได้ใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์ในการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ในทรงพุ่มของ *Fagus crenata* Czapar และคณะ (2002) ได้ใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์วัดปริมาณไนโตรเจนในใบข้าวโพดที่มีการปลูก hairy vetch ซึ่งเป็นพืชคลุมดินอีกด้วย ดังนั้นการหาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์และไนโตรเจนกับค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์ จึงน่าจะเป็นประโยชน์ในลองกอง เพื่อศึกษาถึงความสัมพันธ์ที่จะใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์แทนการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

ในการใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์เพื่อประเมินปริมาณไนโตรเจนหรือคลอโรฟิลล์ของพืชแต่ละชนิด ต้องมีการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่ได้จากการวัดด้วยคลอโรฟิลล์มิเตอร์กับปริมาณไนโตรเจนหรือปริมาณคลอโรฟิลล์รวมของใบพืชชนิดนั้นๆ ก่อนว่ามีความสัมพันธ์กันหรือไม่ในการทดลองครั้งนี้ จึงใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์ประเมินปริมาณคลอโรฟิลล์และไนโตรเจนในลองกอง ซึ่งเป็นไม้ผลเขตร้อนที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยทำการศึกษเกี่ยวกับความสัมพันธ์ของค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์กับปริมาณคลอโรฟิลล์และไนโตรเจนในใบจากการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์และไนโตรเจนในช่วงสภาวะเครียดน้ำของลองกองโดยไม่ทำลายใบพืช เพื่อเป็นประโยชน์ในการประยุกต์ใช้เกี่ยวกับการจัดการธาตุไนโตรเจนให้เหมาะสมตามความต้องการของพืช

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษานี้ แบ่งเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

1. ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์จากการวิเคราะห์กับค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์ในแต่ละเดือน

ใช้ใบที่สมบูรณ์และมีการขยายของแผ่นใบเต็มที่ (fully expanding leaf) จากต้นลองกอง อายุ 10 ปี

จำนวน 12 ต้น ที่ปลูกบริเวณแปลงของภาควิชาพืชศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา โดยทำการศึกษาข้อมูลเดือนละหนึ่งครั้ง เป็นระยะเวลา 8 เดือน ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม ถึง ธันวาคม พ.ศ. 2546 โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 2 การศึกษาย่อย ดังนี้

1.1 ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณไนโตรเจนที่ได้จากการวิเคราะห์กับค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์โดยมีวิธีการดังนี้

สุ่มเลือกใบลองกองมาทำความสะอาด แล้วทำการวัดด้วยคลอโรฟิลล์มิเตอร์ (SPAD-502 Minolta Co., Ltd., Japan) โดยหนีบแผ่นใบที่สมบูรณ์และมีการขยายของแผ่นใบเต็มที่ วัดใบละ 6 จุด แล้วหาค่าเฉลี่ยโดยใช้ใบลองกองจำนวน 30 ตัวอย่างต่อหนึ่งเดือน แต่เนื่องจากการวัดค่าปริมาณไนโตรเจนในใบพืชต้องใช้ใบพืช 10 ใบต่อหนึ่งตัวอย่าง ดังนั้นต้องใช้ใบที่วัดด้วยเครื่องมือคลอโรฟิลล์มิเตอร์จำนวน 300 ใบ จากนั้นเก็บใบที่หนีบด้วยคลอโรฟิลล์มิเตอร์แล้ว ไปอบที่อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง บดใบตัวอย่างแห้งให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น (blender) เก็บใบที่บดละเอียดแล้วไว้ในถุงซิปล เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณของไนโตรเจนด้วยวิธีการของ Kjeldahl (จำป็น, 2545) และนำค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์และค่าปริมาณไนโตรเจนที่ได้จากการวิเคราะห์มาหาความสัมพันธ์และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของสมการเชิงเส้นตรงระหว่างค่าทั้งสองของแต่ละเดือน และวิเคราะห์ความแตกต่างของความชันของสมการเชิงเส้นตรงแต่ละเดือนโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่ใช้วิเคราะห์สถิติ SPSS จากนั้นนำปริมาณไนโตรเจนของทุกเดือนมาหาสมการความสัมพันธ์และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์กับค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์

1.2 ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ได้จากการวิเคราะห์กับค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์มีวิธีการดังนี้

สุ่มเลือกใบลองกองมาทำความสะอาด ทำการวัดด้วยคลอโรฟิลล์มิเตอร์ โดยหนีบแผ่นใบที่สมบูรณ์และมีการขยายแผ่นใบเต็มที่ วัดใบละ 6 จุด แล้วหาค่าเฉลี่ยใช้จำนวนตัวอย่าง 50 ตัวอย่างต่อหนึ่งเดือน ตัวอย่างละ 1 ใบ เก็บใบที่หนีบด้วยคลอโรฟิลล์มิเตอร์ทำความสะอาด

แล้วนำไปสกัดคลอโรฟิลล์ ด้วยสารไดเมทิลซัลไฟด์ (DMSO) นำสารละลายที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณคลอโรฟิลล์รวมโดยการพิจารณาจากค่าการดูดซับแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ช่วงคลื่น 645 และ 663 นาโนเมตร นำค่าที่อ่านได้ไปคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์รวม (วิรัตน์, 2541) โดยใช้สมการ ปริมาณคลอโรฟิลล์รวม = $20.2D_{645} + 8.02D_{663}$ โดย D_{645} = ค่าการดูดแสงที่ความยาวคลื่น 645 นาโนเมตร และ D_{663} = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 663 นาโนเมตร นำค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์และปริมาณคลอโรฟิลล์รวมจากการวิเคราะห์ไปวิเคราะห์ความสัมพันธ์และสร้างสมการเชิงเส้นตรงของแต่ละเดือน และวิเคราะห์ความแตกต่างของความชันของสมการเชิงเส้นตรงของแต่ละเดือนโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่ใช้วิเคราะห์สถิติ SPSS จากนั้นนำปริมาณคลอโรฟิลล์ของทุกเดือนมาหาความสัมพันธ์และสร้างสมการคาดคะเนปริมาณที่วิเคราะห์ได้รวมกับค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์

2. ศึกษาการใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์ประเมินปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์ในช่วงสภาวะเครียดน้ำของลองกอง

โดยใช้ต้นลองกองอายุ 4 ปี ที่ปลูกในกระถางที่บรรจุดิน 50 กก. ที่ตั้งอยู่ภายในโรงเรือนที่มีหลังคาเป็นพลาสติกใส ทำการศึกษาระยะเวลา 14 วัน ในเดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2547 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design; CRD) ทำ 5 ซ้ำ มี 3 วิธีการทดลองดังนี้คือ 1) ให้น้ำทุกวัน 2) ให้น้ำ 1 ครั้ง ที่ 7 วัน 3) งดการให้น้ำ

บันทึกการเปลี่ยนแปลงค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์ ทำการตัดป้ายเครื่องหมายที่ใบลองกอง โดยเลือกใบเพสลาดของลองกองที่มีความสมบูรณ์ต้นละ 2 ใบ ทำการบันทึกการเปลี่ยนแปลงค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์ วัดใบละ 6 ตำแหน่ง แล้วหาค่าเฉลี่ยของแต่ละใบ โดยพยายามให้ระยะวัดอยู่ห่างจากเส้นกลางใบและจุดที่วัดเป็นจุดเดิมทุกครั้ง วัดค่าอย่างต่อเนื่องวันเว้นวันในช่วงของการทดลอง นำค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์มาคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์รวม โดยใช้สมการเชิงเส้นตรงจากเดือนกรกฎาคมของการศึกษาที่ 1.1

และ 1.2 ตามลำดับ วัดปริมาณแสงเหนือทรงฟุ่ม (Photosynthetic Photon Flux or PPF) โดยใช้เครื่องวัดแสง (Light meter) ใช้ Quantum sensor รุ่น Li-190SA ต่อกับ Li-250 Light meter ของ Licor, Inc., USA วัดความเข้มแสงภายในและภายนอกโรงเรือน วัดศักยภาพของน้ำในใบโดยใช้เครื่องมือ Pressure chamber ของ PMS, USA โดยเลือกใช้ใบเปสลาดของพืช ตัดใบแล้วนำมาวัดแล้วบันทึกค่า ทำการวัดศักยภาพของน้ำในใบทุก 3 วัน ในช่วง 8.00 น. - 16.00 น. ตันละ 2 ใบ วัดค่าการซึมน้ำปากใบโดยเครื่องวัดการซึมน้ำปากใบ (Porometer) รุ่น AP4 ของ Delta-T, UK ใช้ใบเปสลาดของต้นพืช ทำความสะอาดแล้ววัดค่าการซึมน้ำปากใบทุก 3 วัน ในช่วง 8.00 น. - 16.00 น. วัดความชื้นในดิน โดยเครื่องวัดความชื้นในดิน (Theta probe, Delta-T, UK) ทำการฝังเครื่องวัดความชื้นในดินไว้ในกระถางของแต่ละวิธีการทดลอง และเก็บข้อมูลโดยใช้เครื่องบันทึกข้อมูล (Data Logger) รุ่น TLOG2 ของ Delta-T, UK ในช่วงเวลาที่ทำการศึกษา

ผลการทดลอง

1. ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์จากการวิเคราะห์กับค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์ในแต่ละเดือน

1.1 ความสัมพันธ์ของปริมาณไนโตรเจนที่ได้จากการวิเคราะห์กับค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์

ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนที่ได้จากการวิเคราะห์กับค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์ ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม ถึง ธันวาคม พ.ศ.2546 มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งในทุกเดือน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูงสุดในเดือนกันยายน เท่ากับ 0.89 และต่ำสุดในเดือนพฤษภาคม เท่ากับ 0.74 (Table 1) การกระจายของค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์สูงสุดในเดือนมิถุนายนเท่ากับ 80.10 และต่ำสุดในเดือนตุลาคม เท่ากับ 44.70 และการกระจายของปริมาณไนโตรเจนมีค่าสูงสุดในเดือนตุลาคม มีค่าเท่ากับ 29.16 กรัม/กก. และต่ำสุดในเดือนมิถุนายน มีค่าเท่ากับ 16.77 กรัม/กก. และเมื่อทำการเปรียบเทียบสมการความสัมพันธ์ พบว่าสมการเชิงเส้นตรงของทุกเดือนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

(Table 1) ซึ่งแสดงว่าสมการเชิงเส้นตรงของทุกเดือนที่ทำการทดลองมีความสัมพันธ์กัน จากการวิเคราะห์ความแตกต่างของความชันของเส้นสมการความสัมพันธ์แต่ละเดือน โดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่ใช้วิเคราะห์สถิติ SPSS และเมื่อนำค่าปริมาณไนโตรเจนที่ได้จากการวิเคราะห์จากทุกเดือนมาหาความสัมพันธ์กับค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์ พบว่าสมการเชิงเส้นตรงที่ได้มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยมีสมการเชิงเส้นตรงเป็น $Y = 0.19X + 10.10$, $r = 0.76^{**}$ (Figure 1)

1.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์จากการวิเคราะห์กับค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์

ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์ที่สกัดโดยใช้ DMSO กับค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์ ตั้งแต่เดือนพฤษภาคม ถึง ธันวาคม พ.ศ.2546 มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งในทุกเดือน โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูงสุดในเดือนกรกฎาคม เท่ากับ 0.92 และต่ำสุดในเดือนพฤษภาคม เท่ากับ 0.88 (Table 2) โดยการกระจายของค่าคลอโรฟิลล์มิเตอร์มีค่าสูงสุดในเดือนกันยายน เท่ากับ 81.5 และต่ำสุดในเดือนธันวาคม เท่ากับ 44.0 การกระจายของปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ได้จากการวิเคราะห์มีค่าสูงสุดในเดือนกันยายน เท่ากับ 38.76 มก./กรัม น้ำหนักสด และต่ำสุดในเดือนกรกฎาคม เท่ากับ 10.09 มก./กรัม น้ำหนักสด เมื่อทำการเปรียบเทียบสมการเชิงเส้นตรง พบว่าสมการเชิงเส้นตรงของทุกเดือนไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ จากการวิเคราะห์ความแตกต่างของความชันของเส้นสมการความสัมพันธ์แต่ละเดือนโดยใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ที่ใช้วิเคราะห์สถิติ SPSS และเมื่อนำค่าปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ได้จากการวิเคราะห์จากทุกเดือนมาหาความสัมพันธ์กับค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์ พบว่าสมการเชิงเส้นตรงที่ได้มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง โดยมีสมการเชิงเส้นตรงเป็น $Y = 0.43X - 7.89$, $r = 0.79^{**}$ (Figure 2)

2. การใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์ประเมินปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์ในช่วงสภาวะเครียดน้ำของลองกอง

จากการวัดปริมาณแสงเหนือทรงฟุ่มภายในโรงเรือนและภายนอกโรงเรือนของลองกองในช่วงของการทดลอง โดยวัดในรอบวันตั้งแต่เวลา 8.00-16.00 น. วัดทุก 2 ชั่วโมง

Table 1. Comparison of regression equations of the relationship between leaf nitrogen concentration and SPAD-reading of longkong measured in each month during May-December 2003 (Y = total chlorophyll, X = SPAD-reading).

| Month | Regression equation | r |
|-----------|---------------------|------|
| May | Y = 0.17X+12.21 | 0.74 |
| June | Y = 0.20X+9.97 | 0.82 |
| July | Y = 0.21X+7.69 | 0.81 |
| August | Y = 0.17X+9.55 | 0.87 |
| September | Y = 0.25X+7.12 | 0.89 |
| October | Y = 0.21X+9.50 | 0.81 |
| November | Y = 0.18X+11.71 | 0.87 |
| December | Y = 0.15X+13.92 | 0.82 |
| F-test | ns | |
| %CV | 7.08 | |

ns = no significant difference at $P \leq 0.05$

ความเข้มแสงจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นจากช่วงเช้า และจะค่อยลดลงเมื่อถึงช่วงเย็น โดยในช่วงกลางวันมีความเข้มแสงสูงสุด (Figure 3A) ซึ่งจะมีความสัมพันธ์กับค่าศักย์ของน้ำในใบและค่าการชักนำปากใบ โดยการเปลี่ยนแปลงค่าศักย์ของน้ำในใบลองกองในรอบวันในช่วงการทดลอง พบ

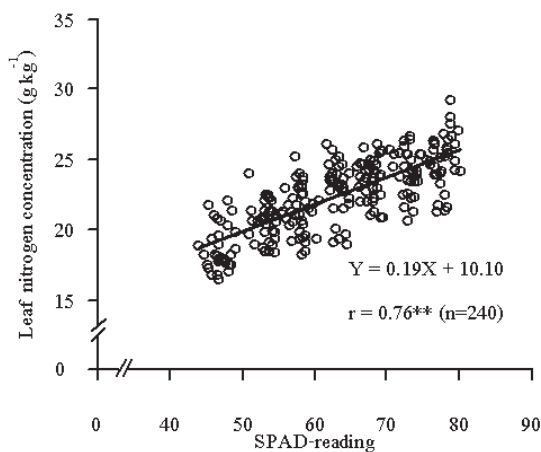


Figure 1. Relationship between leaf nitrogen concentration and SPAD-reading of longkong leaves during May-December 2003.

Table 2. Comparison of regression equations of the relationship between total chlorophyll content and SPAD-reading of longkong measured in each month during May-December 2003 (Y = total chlorophyll, X = SPAD-reading).

| Month | Regression equation | r |
|-----------|---------------------|------|
| May | Y = 0.45X-10.03 | 0.88 |
| June | Y = 0.39X-4.72 | 0.91 |
| July | Y = 0.40X-8.11 | 0.92 |
| August | Y = 0.42X-9.51 | 0.91 |
| September | Y = 0.60X-13.14 | 0.90 |
| October | Y = 0.36X-4.07 | 0.91 |
| November | Y = 0.40X-5.29 | 0.91 |
| December | Y = 0.45X-10.21 | 0.90 |
| F-test | ns | |
| %CV | 5.81 | |

ns = no significant difference at $P \leq 0.05$

ว่าทั้ง 3 วิธีการทดลอง มีค่าศักย์ของน้ำในใบสูงในช่วงเช้า และค่าศักย์ของน้ำในใบจะลดลงจนถึงต่ำสุดในช่วงเที่ยง และจะค่อยๆ เพิ่มขึ้นอีกในช่วงเย็น และค่าศักย์ของน้ำในใบมีค่าต่ำสุดเท่ากับ -4.48 MPa ในวันที่ 14 ของการทดลอง ในวิธีการที่งดการให้น้ำ ซึ่งมีความแตกต่างกันทาง

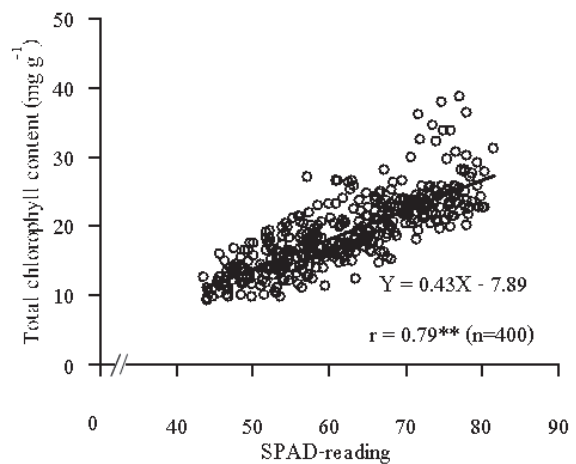


Figure 2. Relationship between total chlorophyll content and SPAD-reading of longkong leaves during May-December 2003.

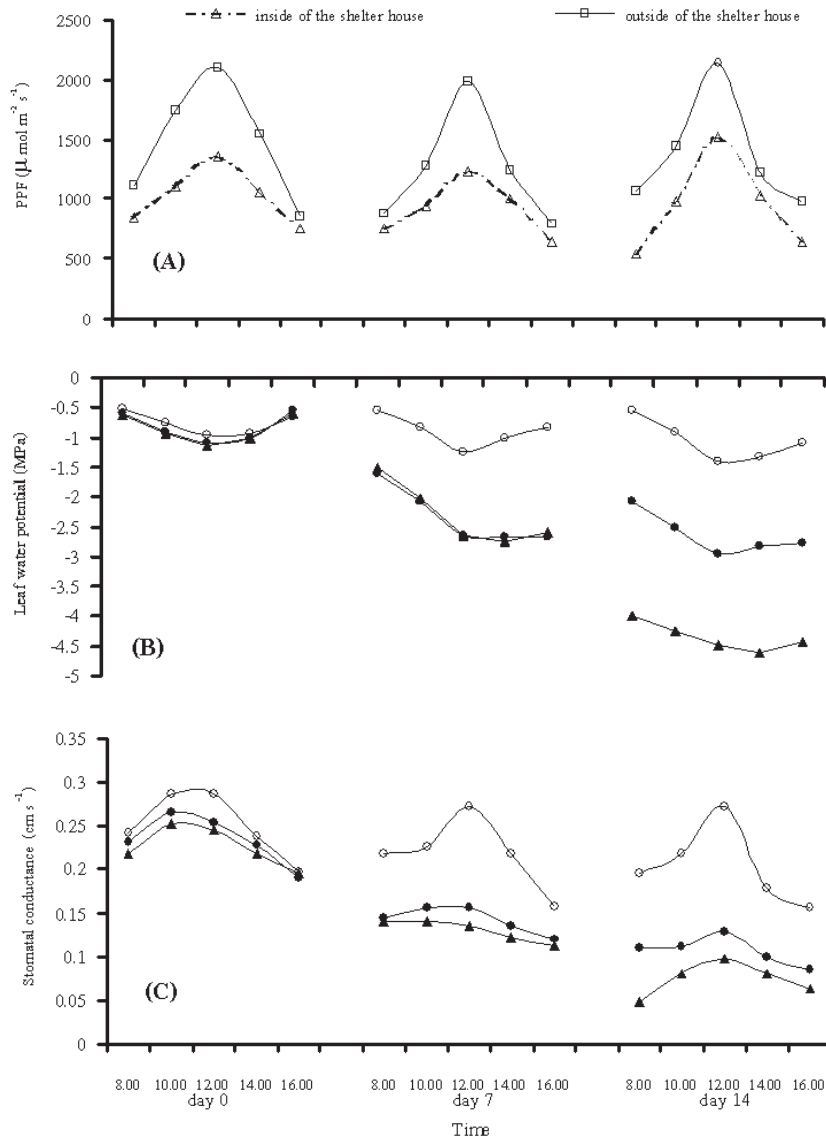


Figure 3. Changes of photosynthetic photon flux or PPF (A), leaf water potential (B), and stomatal conductance (C) of longkong tree in the 3 watering treatments (○ daily watering, ● once watering on day 7 and ▲ no watering) during the experimental period.

สถิติกับวิธีการอื่นๆ (Figure 3B) สำหรับการเปลี่ยนแปลงค่าการชักนำปากใบของลองกองในรอบวัน พบว่าค่าชักนำปากใบจะมีค่าต่ำในช่วงเช้าและจะค่อยเพิ่มสูงขึ้น โดยมีค่าเฉลี่ยสูงสุดในช่วงกลางวัน จากนั้นค่าการชักนำปากใบจะค่อยลดลงจนถึงช่วงเย็น โดยในวันที่เริ่มทำการทดลอง ค่าการชักนำปากใบของทั้ง 3 วิธีการทดลองจะมีค่าใกล้เคียง

กัน ค่าการชักนำปากใบของวิธีการทดลองที่งดการให้น้ำจะมีค่าลดลงต่ำสุดในช่วงเวลา 12.00 น. วันที่ 14 ของการทดลอง มีค่าเท่ากับ 0.097 ซม./วินาที ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการอื่นๆ (Figure 3C)

Figure 4 แสดงการเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์ความชื้นดินในช่วงของการทดลอง พบว่าความชื้นดินของวิธี

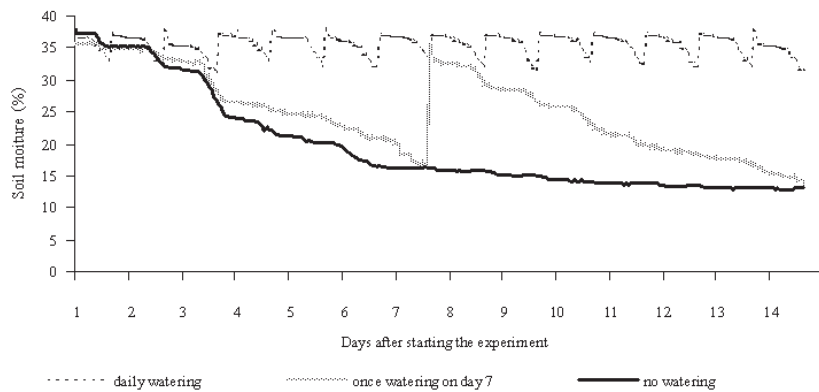


Figure 4. Changes of soil moisture during the experimental period.

การทดลองที่มีการให้น้ำทุกวันจะมีแนวโน้มลดลงหลังจากการให้น้ำในช่วงเย็นจนกระทั่งต่ำสุดในวันต่อมา จากนั้นเปอร์เซ็นต์ความชื้นดินจะเพิ่มขึ้นอีกหลังจากการให้น้ำ ในวิธีการทดลองที่มีการให้น้ำ 1 ครั้งที 7 วัน ความชื้นดินจะค่อยลดลงจากวันที่เริ่มทำการทดลอง จนกระทั่งต่ำสุดในวันที่ 7 และเมื่อทำการให้น้ำค่าความชื้นดินจะสูงขึ้นอีกในวันที่ 8 ของการทดลอง หลังจากนั้นค่าความชื้นดินจะลดต่ำลงอีกครั้งและจะต่ำที่สุดในวันที่ 14 ของการทดลอง ส่วนในวิธีการที่งดการให้น้ำ พบว่าเปอร์เซ็นต์ความชื้นดินมีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ จนกระทั่งต่ำสุดในวันที่ 14 ของการทดลองโดยมีค่าเท่ากับ 13.07%

การเปลี่ยนแปลงค่าคลอโรฟิลล์มิเตอร์ในช่วงสภาวะเครียดน้ำ

ในช่วงการทดลอง พบว่าค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์ของวิธีการทดลองที่งดการให้น้ำ จะค่อยๆ ลดลงและต่ำสุดในวันที่ 14 ของการทดลอง ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติกับวิธีการทดลองที่ให้น้ำทุกวัน (Figure 5) และเมื่อนำค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์มาคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์โดยใช้สมการเชิงเส้นตรงของเดือนกรกฎาคม จาก Table 1 และ Table 2 พบว่าในวันที่ 14 ของการทดลอง วิธีการที่งดการให้น้ำมีปริมาณคลอโรฟิลล์ต่ำสุดเท่ากับ 13.52 มก./กรัม น้ำหนักสด (Figure 6A) และมีปริมาณไนโตรเจนต่ำสุดเท่ากับ 19.04 กรัม/กก. (Figure 6B) สำหรับการเปลี่ยนแปลงปริมาณคลอโรฟิลล์จากการวิเคราะห์ พบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์

ของวิธีการที่งดการให้น้ำมีค่าต่ำสุดในวันที่ 14 ของการทดลองเท่ากับ 13.87 มก./กรัม น้ำหนักสด (Figure 6C) ซึ่งเป็นไปในทิศทางเดียวกันกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนโดยมีค่าต่ำสุดเท่ากับ 17.35 กรัม/กก. (Figure 6D) ซึ่งให้ผลความแตกต่างสอดคล้องกับค่าที่ได้จากการคำนวณด้วยค่าที่วัดได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์

วิจารณ์

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าคลอโรฟิลล์มิเตอร์เป็นเครื่องมือที่สามารถใช้ประเมินปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์รวมในใบพืชโดยอ้อมได้ และเป็นผลดีต่อการประเมินคลอโรฟิลล์กับตัวอย่างพืช โดยที่ไม่ต้องทำลายใบพืช สามารถใช้ได้ง่ายและรวดเร็ว สอดคล้องกับการรายงานของ Schaper และ Chacko (1991) ที่ทดสอบการวัดโดยใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์กับไม้ผลหลายชนิด แต่การเลือกใช้กับพืชแต่ละชนิดจะต้องมีการศึกษาข้อมูลเบื้องต้นเพื่อหาสมการที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างค่าที่ได้จากการวัดด้วยคลอโรฟิลล์มิเตอร์กับปริมาณคลอโรฟิลล์รวมในใบพืช อย่างไรก็ตามการประเมินผลของใบลองกอง โดยทำการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์รวมกับค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์เป็นระยะเวลา 8 เดือน พบว่าค่าความสัมพันธ์ที่ได้มีความสัมพันธ์กันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทั้งปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์รวมในทุกเดือนที่ทำการศึกษา ซึ่งมีความสอดคล้องกับการศึกษาในพืชหลายชนิดด้วยกัน เช่น การศึกษา

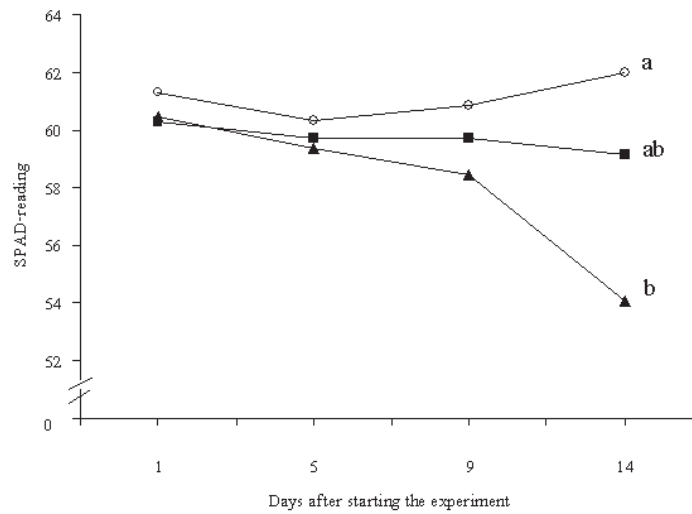


Figure 5. Changes of SPAD-reading of longkong leaves in the 3 watering treatments (O daily watering, ■ once watering on day 7 and ▲ no watering) during the experimental period. (Average values on each line with the same letter are not significantly different by LSD 0.05)

ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณคลอโรฟิลล์กับค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์ของในแตงเทศ (Muskmelon) พบว่าค่าทั้งสองมีความสัมพันธ์กันโดยมีค่า r^2 เท่ากับ 0.84, 0.93, 0.55 และ 0.71 (Azia and Stewart, 2001) เช่นเดียวกับการทดลองของ Marquard และ Tipton (1987) พบว่าค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์มีความสัมพันธ์กับปริมาณคลอโรฟิลล์ที่ได้จากการสกัด ในใบพืชแต่ละชนิด โดยจะให้ค่าสัมพันธ์ที่ต่างกันที่แตกต่างกัน จากการศึกษาของ Li และคณะ (1998) พบว่าฤดูกาลอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อค่า r^2 เนื่องจากในช่วง summer flush ($r^2 = 0.49$) ของ grapefruit จะมีค่า r^2 ของความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณไนโตรเจนกับค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์ต่ำกว่าช่วง spring flush ($r^2 = 0.61$) จากการศึกษาครั้งนี้จึงเป็นไปได้ที่จะใช้เครื่องมือคลอโรฟิลล์มิเตอร์ไปใช้ในการประเมินปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์ของลองกอง ซึ่งเป็นวิธีการที่สะดวก รวดเร็วและไม่ต้องทำลายใบพืชด้วย แต่ในการนำเครื่องมือชนิดนี้มาใช้ควรมีการศึกษาอิทธิพลอื่นๆ ที่มีความเกี่ยวข้องด้วย เช่น อิทธิพลของสภาพปลูกที่อาจมีผลทำให้ค่าที่ได้จากการวัดมีความแปรปรวนไปได้ ดังรายงานของ Campbell และคณะ (1990) ซึ่งพบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบแอปเปิลที่ปลูกในสภาพแปลงปลูก

และในเรือนกระจกมีความแตกต่างกัน เมื่อวัดด้วยคลอโรฟิลล์มิเตอร์ นอกจากนี้ Sibley และคณะ (1996) แนะนำว่าควรมีการทดสอบการวัดในรอบปีเพราะฤดูกาลอาจจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของคลอโรฟิลล์ในใบพืชด้วย ดังนั้นในการประเมินผลต้องพิจารณาปัจจัยเหล่านี้ประกอบด้วย เพื่อช่วยให้การประเมินผลมีความถูกต้อง

การใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์ประเมินปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์ของใบลองกองในช่วงสภาวะเครียดน้ำ พบว่าสภาวะเครียดน้ำมีผลต่อลองกองอย่างเห็นได้ชัด โดยลองกองมีการตอบสนองทางสรีรวิทยา ได้แก่ ค่าศักย์ของน้ำในใบและค่าการชักน้ำปากใบลดลง เนื่องมาจากความชื้นในดินลดลง พืชจึงมีกลไกป้องกันการสูญเสียน้ำในต้นพืชโดยการปิดปากใบเพิ่มขึ้น ทำให้พืชดูดน้ำไปใช้ได้น้อยลง นอกจากนี้สภาวะเครียดน้ำยังส่งผลกระทบต่อพืชในด้านอื่นอีกด้วย เช่น มีผลทำให้การเจริญเติบโตและการสะสมน้ำหนักลดลง (Delfine *et al.*, 2001) การทำงานของเอนไซม์ ribulose biphosphate carboxylase ลดลง (Castrillo and Calcagno, 1989) สภาวะเครียดน้ำยังมีผลต่อการสังเคราะห์แสง การสังเคราะห์โปรตีนและการสร้างคลอโรฟิลล์ของพืชด้วย (เฉลิมพล, 2535) จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์มี

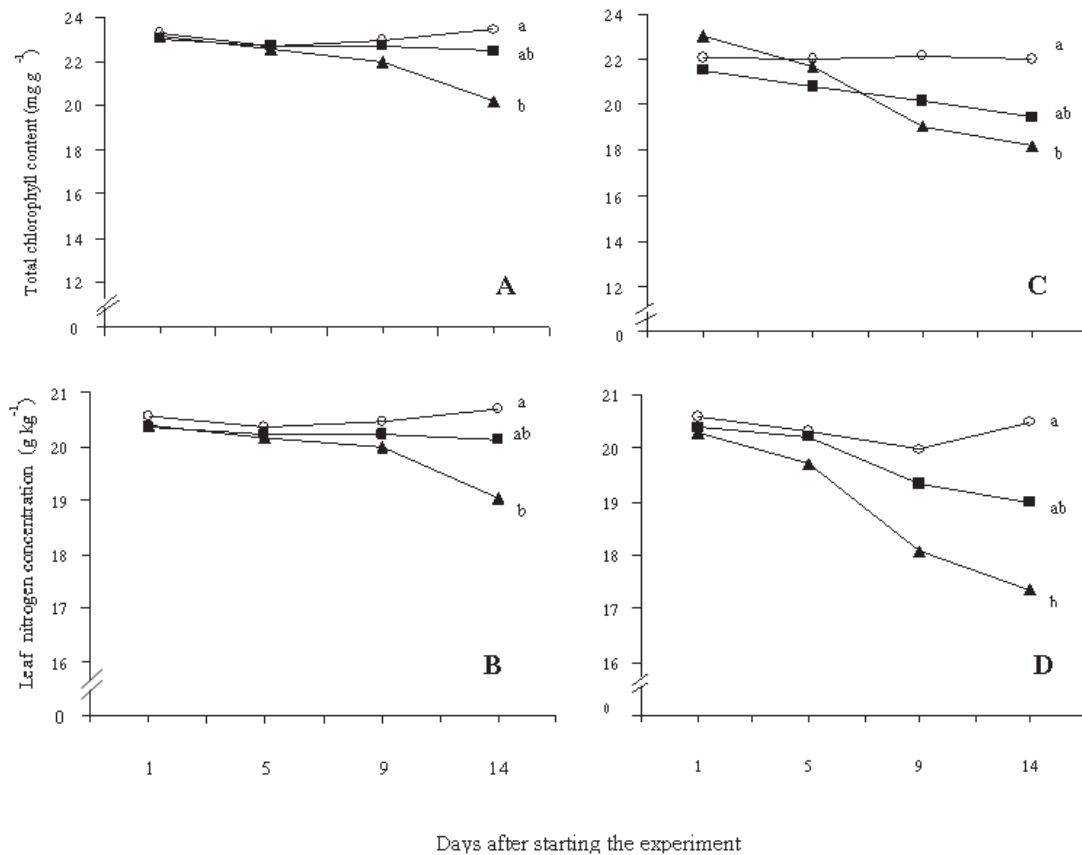


Figure 6. Changes of total chlorophyll content and leaf nitrogen concentration of longkong leaves assessed by SPAD-reading (A and B, respectively) and total chlorophyll content and leaf nitrogen concentration analysed in the laboratory (C and D, respectively) from the leaves in 3 watering treatments (O daily watering, ■ once watering on day 7 and ▲ no watering) during the experimental period. (Average values on each line with the same letter are not significantly different by LSD 0.05)

แนวโน้มลดลงเมื่อพืชเกิดสภาวะเครียดน้ำเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเกิดเนื่องมาจากในช่วงสภาวะเครียดน้ำพืช พืชมีการตอบสนองในด้านต่างๆ ซึ่งส่งผลกระทบต่อการทำงานของคลอโรฟิลล์ของพืชด้วย จากการศึกษาของ Castrillo และ Calcagno (1989) พบว่าสภาวะเครียดน้ำส่งผลให้การทำงานของเอนไซม์ ribulose biphosphate carboxylase ลดลงส่งผลให้ปริมาณโปรตีนและปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบพืชลดลงด้วย เมื่อค่าศักย์ของน้ำในใบลดลงจนกระทั่งถึง -3.0 MPa จะมีผลทำให้เปอร์เซ็นต์ของคลอโรฟิลล์ของมะเขือเทศลดลงถึง 20% หลังจากให้น้ำแก่พืชอีกครั้งพบว่าปริมาณคลอโรฟิลล์จะเพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับค่าศักย์ของ

น้ำในใบและการทำงานของเอนไซม์ ribulose biphosphate carboxylase นอกจากนี้ในช่วงสภาวะเครียดน้ำพืชจะดูดแร่ธาตุอาหารต่างๆ ได้น้อยลง จึงอาจเป็นอีกสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์ซึ่งมีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบลดลง

สรุป

จากการศึกษาการใช้คลอโรฟิลล์มิเตอร์ประเมินปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์รวมของใบลองกอง พบว่าค่าที่อ่านได้จากคลอโรฟิลล์มิเตอร์ของใบลองกองมีความ

สัมพันธ์กับปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์รวมที่ได้จากการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ และสามารถใช้ประเมินปริมาณไนโตรเจนและคลอโรฟิลล์รวมของใบลองกองในช่วงสภาวะเครียดน้ำได้อย่างรวดเร็ว

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

เอกสารอ้างอิง

- จำเป็น อ่อนทอง. 2545. คู่มือการวิเคราะห์ดินและพืช. ภาควิชาธรณีศาสตร์ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา.
- เฉลิมพล แซมเพชร. 2535. สรีรวิทยาการผลิตพืชไร่. ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่.
- ยงยุทธ โอสดสภา. 2543. ธาตุอาหารพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.
- วิรัตน์ ภูวิวัฒน์. 2541. การเปรียบเทียบวิธีการสกัดคลอโรฟิลล์จากใบพืชโดยใช้สาร Dimethyl sulfoxide และ N,N-Dimethyl formamide ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส. ว. เกษตรพระจอมเกล้า 16: 3-7.
- ศรีสม สุวรรณวงศ์. 2544. การวิเคราะห์ธาตุอาหารพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.
- Azia, F. and Stewart, K.A. 2001. Relationships between extractable chlorophyll and SPAD values in muskmelon leaves. J. Plant Nutr. 24: 961-966.
- Castrillo, M. and Calcagno, A.M. 1989. Effects of water stress and rewatering on ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase activity, chlorophyll and protein contents in two cultivars of tomato. J. Hort. Sci. 64: 717-724.
- Campbell, R.J., Mobley, K.N., Marini, R.P. and Pfeiffer, D.G. 1990. Growing conditions alter the relationship between SPAD-501 values and apple leaf chlorophyll. HortScience 25: 330-331.
- Czapar, G.F., Simmons, F.W. and Bullock, D.G. 2002. Delayed control of a hairy vetch (*Vicia villosa* Roth) cover crop in irrigated corn production. Crop Prot. 21: 507-510.
- Delfine, S., Loreto, F. and Alvino, A. 2001. Drought-stress effects on physiology, growth and biomass production of rainfed and irrigated bell pepper plants in the mediterranean region. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 126: 297-304.
- Kodani, E., Awaya, Y., Tanaka, K. and Matsumura, N. 2002. Seasonal patterns of canopy structure, biochemistry and spectral reflectance in a broad-leaved deciduous *Fagus crenata* canopy. For. Ecol. Manage. 167: 233-249.
- Li, Y.C., Alva, A.K., Calvert, D.V. and Zhang, M. 1998. A rapid nondestructive technique to predict leaf nitrogen status of grapefruit tree with various nitrogen fertilization practices. HortTechnology 8: 81-86.
- Marquard, R.D. and Tipton, J.L. 1987. Relationship between extractable chlorophyll and an *in situ* method to estimate leaf greenness. HortScience 22: 1327.
- Nielsen, D., Hogue, E.J., Nielsen, G.H. and Parchomchuk, P. 1995. Using SPAD-502 values to assess the nitrogen status of apple tree. HortScience 30: 508-512.
- Schaper, H. and Chacko, E.K. 1991. Relation between extractable chlorophyll and portable chlorophyll meter readings in leaves of eight tropical and subtropical fruit-tree species. J. Plant Physiol. 138: 674-677.
- Shi, Y. and Byrne, D.H. 1995. Tolerance of prunus rootstock to potassium carbonate-induced chlorosis. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 120: 283-285.
- Shivashankar, S., Kasturi Bai, K.V. and Rajagopal, V. 1991. Leaf water potential, stomatal resistance and activities of enzymes during the development of moisture stress in the coconut palm. Trop. Agric. 68: 106-110.
- Sibley, J.L., Eakes, D.J., Gillium, C.H., Keever, G.T., Donizor, Jr., W.A. and Himerlrick, D.G. 1996. Foliar SPAD-502 meter values, nitrogen leaves and extractable chlorophyll for red maple selection. HortScience 31: 468-470.
- Singha, S. and Townsend, E.C. 1989. Relationship between chromaticity values and chlorophyll concentration in apple, grape and peach leaves. HortScience 24: 1034.