บทที่ 4

การศึกษาข้อมูลเบื้องต้นของดอกกาแฟอราบีก้า และการผสมพันธุ์กาแฟ

4.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาความพร้อมผสมของเกสรตัวเมียของดอกกาแฟอราบีก้า 3 สายพันธุ์

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

1. petridish และแท่งแก้วรูปสามเหลี่ยม
2. test tube และตะแกรงใส่หลอดทดลอง
3. forceps
4. beaker ขนาด 50, 100 ml.
5. water bath และ hot plate
6. สไลด์ และ cover glass
7. ตะกร้าใส่ดอกกาแฟจากแปลง
8. ยาทาเล็บสีขาว และปากกาเขียนแก้ว
9. loop และเข็มเขี่ยเชื้อ
10. ตู้ทำความเย็น (refrigerator)
11. ดอกตูมกาแฟอราบีก้าครบทั้ง 4 ระยะตามขนาดของทั้ง 3 สายพันธุ์ (Progeny 86, Yellow Catuai และ Yellow Catimor)
12. สารเคมี ได้แก่ glycerol, NaOH 1 N, potassium dicromate ($K_2Cr_2O_7$), 0.2% aniline blue ใน 2% $K_3PO_4 \cdot 3H_2O$
13. กล้อง Fluorescence Olympus BH-REL โดยใช้ dicharoic mirrors U, exciter filter. UGI barrier filter B-420, mercury lamp HBO 100w. และฟิล์มโกดัก 200 บันทึกภาพ

วิธีการทดลอง

ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการผลิตเมล็ดพันธุ์ผัก ภาควิชาพืชสวน และห้องปฏิบัติการโรคพืช ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เมื่อเดือนเมษายน-พฤษภาคม 2536 ใช้ดอกกาแฟอราบีก้า 3 สายพันธุ์ ได้แก่ Progeny 86 Yellow Catuai และ Yellow Catimor

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยแบ่งระยะดอกตูม candle stage (Carvalho และ Monaco, 1969) กลีบดอกเปลี่ยนเป็นสีขาว และอับละอองเกสรตัวผู้ (anther) ที่อยู่ภายในดอกยังไม่ปริแตกออกจากกันแบ่งได้ 4 ระยะคือ

ระยะที่ 1 (S_1) ขนาดความยาวของดอกไม่เกิน 1 ซม. (วัดจากโคนดอกถึงปลายกลีบดอก ประมาณ 5-6 วันก่อนดอกบาน)

ระยะที่ 2 (S_2) ขนาดความยาวของดอกระหว่าง 1-1.5 ซม. (ประมาณ 3-4 วันก่อนดอกบาน)

ระยะที่ 3 (S_3) ขนาดความยาวของดอกระหว่าง 1.6-2 ซม. (ประมาณ 2-3 วันก่อนดอกบาน)

ระยะที่ 4 (S_4) ขนาดความยาวของดอกมากกว่า 2 ซม. (ประมาณ 1-2 วันก่อนดอกบาน)

ทำการสุ่มดอกกาแฟระยะละ 10 ดอก (10 ซ้ำ) ต่อพันธุ์ สำหรับผสมกับละอองเกสรตัวผู้พันธุ์เดียวกัน ในที่นี้จะใช้ละอองเกสรตัวผู้จากพันธุ์ Yellow Catimor ที่เก็บสดจากต้นมาผสมกับดอกกาแฟแต่ละระยะทั้ง 3 สายพันธุ์ และสุ่มอีก 10 ดอก (10 ซ้ำ) สำหรับเป็นชุดเปรียบเทียบ (control) จึงไม่ผสม จากนั้นทำการศึกษาการงอกของละอองเกสรตัวผู้ (pollen tube) ในก้านชูเกสรตัวเมีย (Style) ด้วยวิธี Fluorescence microscopy ซึ่งมีขั้นตอนการปฏิบัติดังนี้

ก. การเตรียม RH 98% สำหรับ pollen tube growth

- ต้ม saturated potassium dicromate ($K_2Cr_2O_7$) ที่อุณหภูมิ 25°ซ.

- เท saturated solution ที่ยังร้อนอยู่ใส่ใน petridish ประมาณครึ่งหนึ่งของจาน ปิดฝาทิ้งไว้ให้เย็น

ข. การผสมเกสร

- คัดดอกแต่ละระยะ ๆ ละ 10 ดอกของทั้ง 3 พันธุ์ ดึงเกสรตัวผู้และกลีบดอกออกให้เหลือแต่เกสรตัวเมีย (ดังภาพที่ 6) และนำ pollen จากพันธุ์ Yellow Catimor มาแตะบนยอดเกสรตัวเมียหลาย ๆ ครั้ง ให้แน่ใจว่ามี pollen ตกบนยอดเกสรตัวเมียมากเกินพอ

- วางดอกทั้งที่ผสมและไม่ผสม (Control) ทั้งหมดเรียงบน slide แผ่นละ 5 ดอก แล้วนำ slide ไปวางใน petridish ที่บรรจุ saturated potassium dicromate และมีแท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมรองรับ slide อีกที (ดังภาพที่ 8) ปิดฝา petridish ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชม.

ค. การทำให้อ่อนนุ่ม

- เมื่อทิ้งไว้ครบ 24 ชม. แล้ว แยกเกสรตัวเมียแต่ละพันธุ์ในแต่ละระยะใส่ลงในหลอดทดลองที่มี 1 N. NaOH บรรจุอยู่ โดยให้ท่วมเกสรในหลอด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

- นำหลอดทดลองไปต้มใน water bath ที่อุณหภูมิ 60°ซ.เป็นเวลา 30 นาที จึงนำขึ้นมาตั้งที่อุณหภูมิห้อง

ง. การย้อมสี

- นำหลอดทดลองที่ผ่านการต้มแล้ว เทสารละลาย NaOH ออกจากหลอดให้หมด เหลือแต่เกสรตัวเมีย (pistil)

- เติม 0.2% aniline blue ใน 2% $K_3PO_4 \cdot 3H_2O$ ลงในหลอดแทนให้ท่วมดอก

- นำไปเก็บไว้ในห้องเย็นเป็นเวลา 24 ชม.

จ. การทำสไลด์

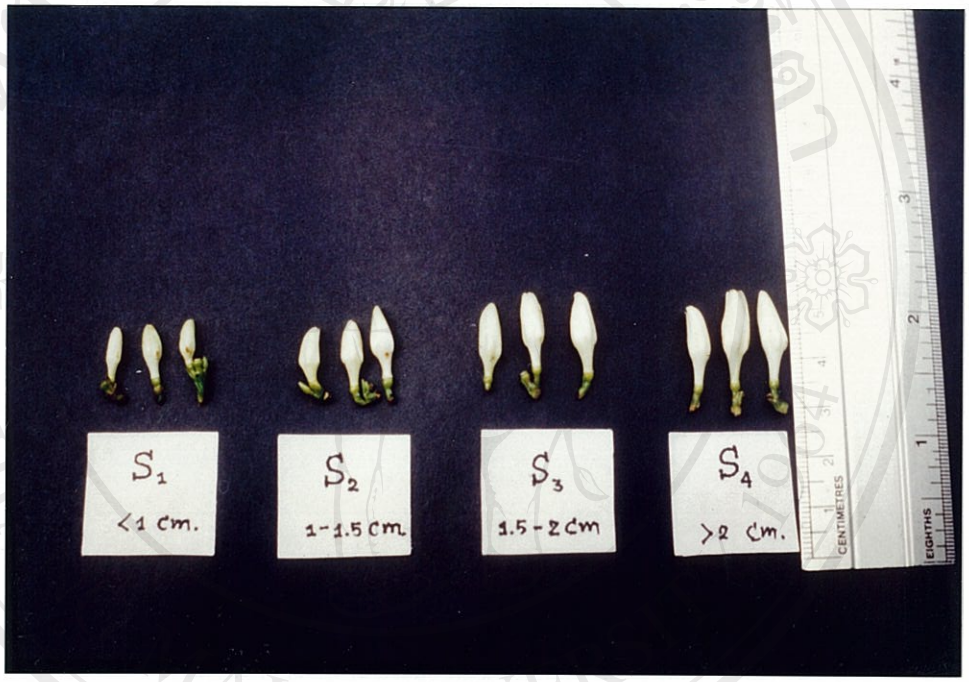
- นำส่วนของ pistil ออกวางบนสไลด์ทำทั้งดอกที่ผสมและไม่ผสม (Control) ดังภาพที่ 7 แล้วหยด glycerol 1 หยด ปิดด้วย cover glass แล้ว squash ปิดรอบ cover glass ด้วยยาทาเล็บสีขาว

การบันทึกข้อมูล

นำสไลด์ที่เตรียมไว้ไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ใช้แสง Fluorescence ด้วยความเข้มแสง 100 w. โดยเปิดเครื่องกำเนิดแสงเป็นเวลา 15 นาทีก่อน ตรวจสอบจำนวน pollen และความยาวของ style ที่ pollen tube สามารถงอกผ่านไปได้ โดยใช้ขนาดเลนส์วัตถุ 10x เท่า

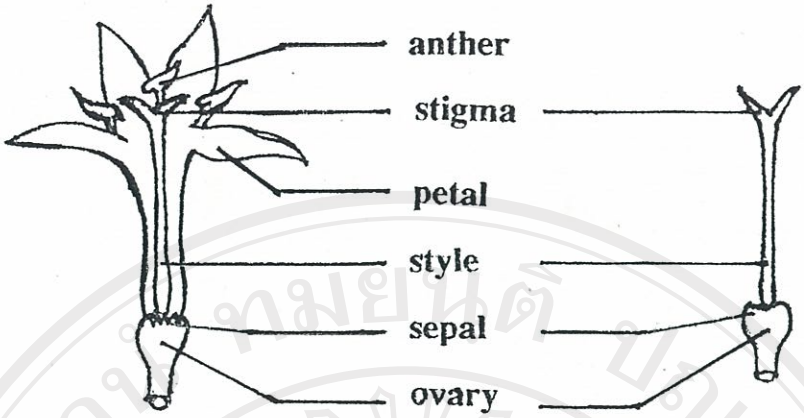
การบันทึกข้อมูลจะบันทึกจำนวน pollen บน stigma เป็น -, +, ++ และ +++ หมายถึงไม่พบ pollen บน stigma, พบ pollen จำนวนน้อยกว่า 5, พบ pollen จำนวนระหว่าง 5-20 และพบ pollen มากกว่า 20 ขึ้นไป ตามลำดับ และบันทึกความยาวของ style ที่ pollen tube สามารถแทงผ่านเข้าไปได้ เป็น % ของความยาว style ได้แก่ 0, 25, 50, 75 และ 100 หมายถึง ไม่มีการงอก pollen tube, pollen tube งอกได้ยาว 1/4 ของความยาว style, pollen tube งอกได้ยาว 1/2 ของความยาว style, pollen tube งอกได้ยาว 3/4 ของความยาว style และ pollen tube งอกได้ยาวตลอดความยาว style จนถึงบริเวณรังไข่ ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



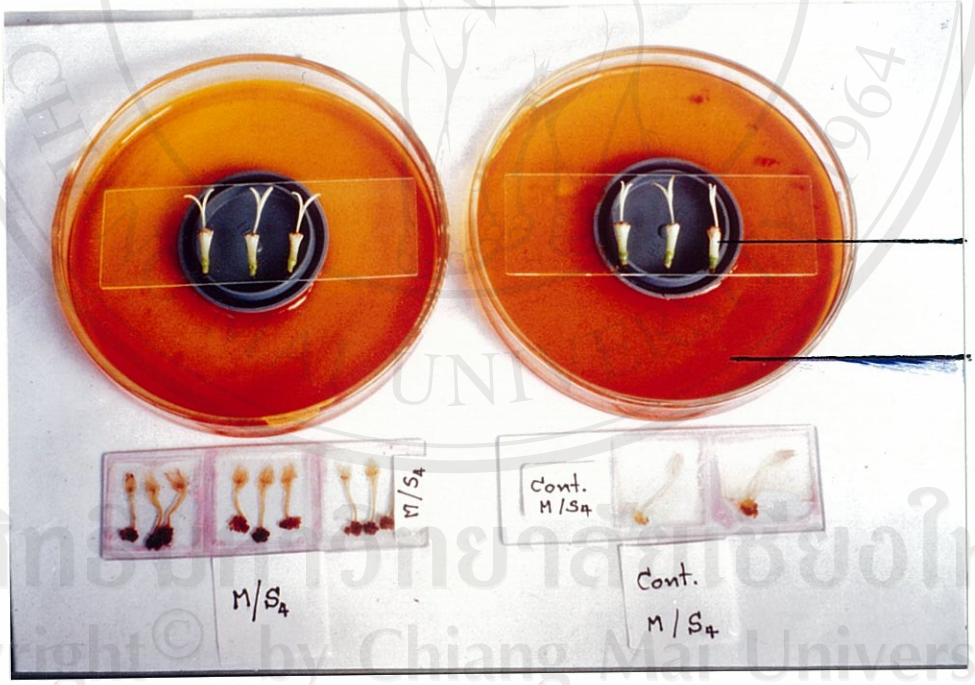
ภาพที่ 6 ดอกกาแฟทั้ง 4 ระยะ ที่ใช้ในการทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



คอกปกติ คอกที่ดึง anther และกลีบคอกออก

ภาพที่ 7 เปรียบเทียบคอกปกติและคอกที่เตรียมผสมเกสร



คอกกาแฟ

sat. $K_2Cr_2O_7$

ภาพที่ 8 การเลี้ยงคอกกาแฟใน petridish และวางตำแหน่งคอกบนสไลด์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลการทดลอง

จากการนำสไลด์ไปส่องดูด้วยกล้อง Fluorescence เพื่อสังเกตจำนวน pollen บนยอด stigma และการงอก pollen tube จากแนวเรืองแสงสีเหลืองเขียวของ callose plug ภายใน style ได้ผลการทดลองดังนี้

1 จำนวน pollen บนยอด stigma และการงอก pollen tube ภายใน style ของดอกที่ไม่ได้รับการผสม

จากการสังเกตจำนวน pollen บนยอด stigma พบว่าทุกสายพันธุ์ (Progeny 86, Yellow Catuai และ Yellow Catimor) และทุกระยะของดอก (ระยะที่ 1 ถึง 4) ไม่พบ pollen บนยอด stigma เลย และไม่พบแนวเรืองแสงของ callose plug ภายในท่อ style ด้วย (ภาพที่ 9) แสดง ให้เห็นว่า ไม่มีการงอก pollen tube ภายใน style

2 จำนวน pollen บนยอด stigma และการงอก pollen tube ภายใน style ของดอกที่ได้รับการผสม

2.1 จำนวน pollen บนยอด stigma

จากการสังเกตจำนวน pollen บนยอด stigma พบว่า ทุกสายพันธุ์และทุกระยะของดอกมี pollen ติดบนยอด stigma จำนวนมาก ตั้งแต่ 5-20% จนถึงมากกว่า 20% (++ และ +++ ตามลำดับ) ดังตารางที่ 2

2.2 การงอก pollen tube ภายใน style

จากการสังเกตแนวแสงสีเหลืองเขียวของ callose plug ภายใน style พบว่า ในทุกสายพันธุ์และทุกระยะของดอก พบแนวแสงดังกล่าวผ่านภายในท่อ style มากมาย แสดงให้เห็นว่า style ของทุกระยะดอกและทุกสายพันธุ์ ยอมให้ pollen งอก pollen tube ผ่านภายในท่อได้

แต่เมื่อสังเกตความยาวของ pollen tube ภายใน style (ตารางที่ 2) พบว่า ดอกกาแฟในระยะที่ 1 ของทุกสายพันธุ์ จะปรากฏแนวเรืองแสงของ callose plug ให้เห็นชัดเจนได้ประมาณ 3/4 ของความยาว style เท่านั้น (75%) ดังภาพที่ 10

ส่วนดอกกาแฟในระยะที่ 2 ถึง 4 ของทุกสายพันธุ์ จะปรากฏแนวเรืองแสงของ callose plug แทงผ่านตลอดความยาว style จนถึงรังไข่ (ภาพที่ 11)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. การงอก pollen tube ภายใน style ของดอกกาแฟที่ไม่ได้รับการผสม

จากการนำสไลด์ไปส่องดูด้วยกล้อง Fluorescence เพื่อสังเกตการงอกของ pollen tube จากแนวเรืองแสงสีเหลืองเขียวของ callose และ callose plug ภายในท่อ style พบว่า ในดอกกาแฟที่ไม่ได้รับการผสมทุกระยะของดอกและทุกสายพันธุ์ไม่พบ pollen บนยอด stigma เลย และไม่มีแนวสีเหลืองเขียวของ callose plug ภายในท่อ style ด้วย แสดงว่า ไม่มีการงอก pollen tube ภายใน style แต่ในการทดลองจะพบแนวเรืองแสงสีเหลืองเรียงเป็นระยะสม่ำเสมอเรียงขนานกับแนวผนังของ style (ภาพที่ 9) ซึ่งอาจเป็นส่วนของท่อน้ำท่ออาหารที่อยู่ภายใน style และสามารถย้อมติดสี aniline ได้เช่นกัน แต่ต่างกับลักษณะของสาร callose และ callose plug ที่ Kho and Baer (1968) ได้อธิบายไว้ว่า เป็นแนวเรืองแสงเป็นระยะ ๆ ไม่สม่ำเสมอ โค้งหรือขดอยู่ภายในผนังท่อของ style ดังภาพที่ 10 และ 11

2. จำนวน pollen และการงอก pollen tube ภายใน style ของดอกกาแฟที่ได้รับการผสม

เมื่อนำลักษณะดังกล่าวนี้ (ข้อ 1) ไปเปรียบเทียบกับลักษณะของ callose plug จากสไลด์ของดอกกาแฟที่ได้รับการผสม จะพบ pollen จำนวนมากบนยอด stigma และพบแนวเส้นประของ callose plug ภายในท่อ style ในทุกระยะของดอกกาแฟทั้ง 3 สายพันธุ์ หมายความว่า pollen สามารถงอก pollen tube แทงผ่านภายในท่อ style ได้ (ตารางที่ 2) แต่เฉพาะดอกกาแฟในระยะที่ 2 ถึง 4 (S_2 ถึง S_4) ของทุกสายพันธุ์เท่านั้นที่ pollen tube สามารถแทงผ่านตลอดจนถึงรังไข่และผสมกับไข่ได้ (ภาพที่ 11) ในขณะที่ดอกกาแฟในระยะที่ 1 (S_1) นั้นลักษณะเส้นประเรืองแสงของcallose plug จะปรากฏให้เห็นชัดได้ประมาณ 3/4 ของความยาว style จากยอดเท่านั้น ส่วนที่เหลือตรงบริเวณเหนือรังไข่จะปรากฏให้เห็นไม่ชัดเจน (ภาพที่ 10) และไม่สม่ำเสมอในแต่ละซ้ำด้วย จึงเป็นการแสดงถึงการงอกของ pollen tube ที่ไม่สมบูรณ์อาจจะเนื่องจากเป็นระยะที่ดอกกาแฟยังอ่อนอยู่ การพัฒนาของดอกยังไม่เต็มที่ ซึ่งทำให้มีโอกาสผสมติดได้น้อยกว่าระยะอื่น จากรายงานของ Shivanna and Sastri (1981) พบว่าการที่ยอด stigma ของดอกที่ยังอ่อนอยู่สามารถรับการงอกของ pollen แต่ท่อ pollen tube ไม่สามารถผ่าน style ตลอดจนถึงรังไข่ได้นั้นมักจะเกี่ยวข้องกับความแน่นของเนื้อเยื่อภายใน style และปริมาณสารโปรตีนบางอย่างที่อยู่บริเวณยอด stigma ซึ่งมีความจำเป็นต่อการงอก pollen tube ในทางปฏิบัติในแปลงผสมพันธุ์กาแฟ ดอกที่ถูกทำหมันในระยะที่ 1 นี้มักพบว่าก้าน style จะแห้งและหลุดร่วงไปหลังจากการผสมแล้ว 2 สัปดาห์ (ขณะทำการถอดถุง)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อย่างไรก็ตาม การศึกษาครั้งนี้เป็นเพียงการหาความพร้อมผสมของดอกกาแฟอราบีก้า แต่ละระยะ โดยการผสมพันธุ์ในห้องปฏิบัติการภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากการผสมเท่านั้น เพื่อใช้ประกอบการพิจารณาหาระยะของดอกที่เหมาะสมในการทำหมันในแปลงปฏิบัติงานผสมพันธุ์กาแฟอราบีก้า ซึ่งในการปฏิบัติงานในแปลงจริงอาจได้ผลคลาดเคลื่อนจากการศึกษาในห้องปฏิบัติงานบ้าง เนื่องจากมีปัจจัยของสภาพแวดล้อมเข้ามาเกี่ยวข้องด้วย

สรุปผลการทดลอง

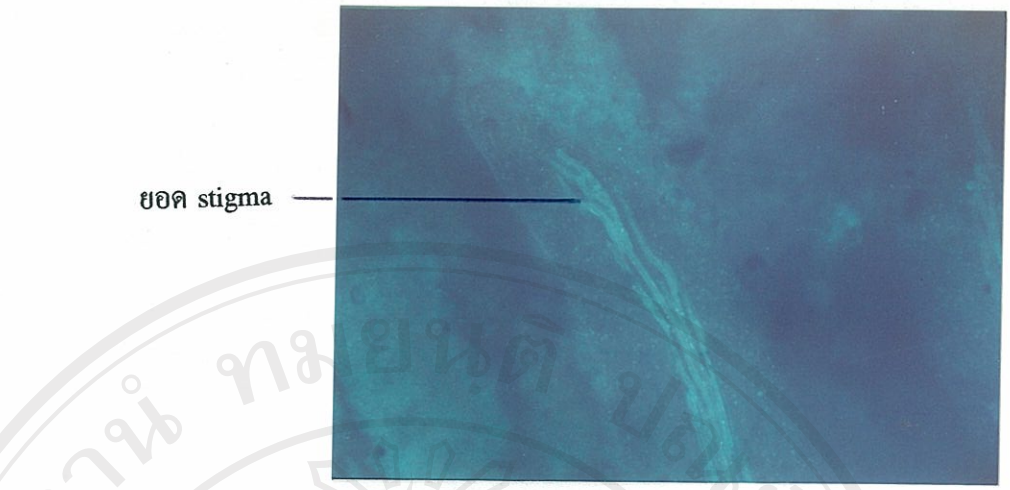
จากการศึกษาพบว่า ระยะของดอกกาแฟทั้ง 3 สายพันธุ์ (Progeny 86, Y. Catuai และ Y. Catimor) ที่มีความพร้อมสำหรับการผสมพันธุ์และทำหมันดอกได้ ควรจะเป็นตั้งแต่ระยะที่ 2 (S_2) คือมีขนาดความยาวของดอกตั้งแต่ 1 ซม. เป็นต้นไป (ประมาณ 3-4 วัน ก่อนดอกบาน) ในขณะที่ดอกกาแฟในระยะที่ 1 (S_1) ซึ่งมีขนาดความยาวของดอกไม่เกิน 1 ซม. (ประมาณ 5-6 วัน ก่อนดอกบาน) ไม่เหมาะสมต่อการทำหมันดอกและผสมพันธุ์ เนื่องจากการพัฒนาของดอกยังไม่สมบูรณ์เพียงพอ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

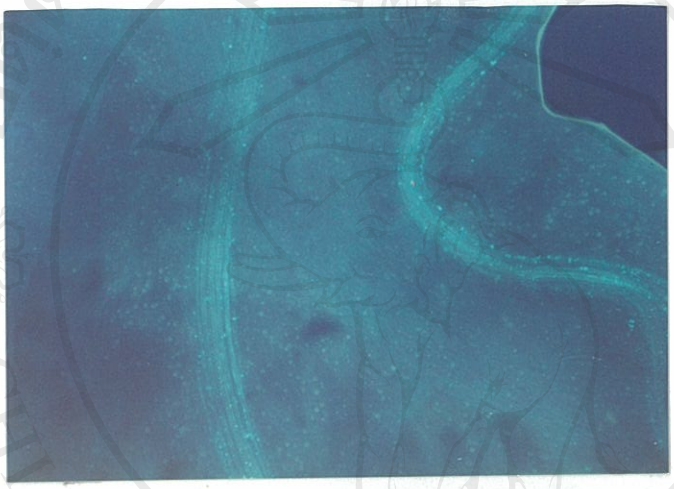
ตารางที่ 2 จำนวน pollen บน stigma ที่ได้รับการผสมเกสรและเปอร์เซนต์ความยาวของ style ที่ pollen tube งอกผ่านเข้าไปได้ในแต่ละระยะของดอกกาแฟอราบีก้า 3 สายพันธุ์

พันธุ์	ระยะดอก	จำนวนซ้ำ 1		2		3		4		5		6		7		8		9		10		Mode
		No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	
P. 86 (P)	S1	+++	100	++	75	++	75	++	75	++	75	+++	75	+++	75	+++	50	++	75	+++	75	75
	S2	+++	100	+++	100	+++	100	+++	100	+++	100	+++	75	+++	100	+++	100	+++	100	+++	100	100
	S3	++	100	+++	75	+++	100	+++	100	+++	100	++	100	+++	100	+++	100	+++	100	+++	100	100
	S4	+++	100	++	75	++	100	+++	100	+++	100	+++	100	++	100	++	100	+++	100	+++	100	100
Y. Catuai (T)	S1	++	75	+++	100	++	75	++	75	+++	75	++	50	++	75	++	50	+++	75	+++	75	75
	S2	+++	100	++	100	++	75	+++	100	+++	100	++	50	+++	100	++	100	+++	100	+++	100	100
	S3	+++	100	+++	75	+++	100	+++	100	+++	100	++	75	++	50	+++	100	++	100	+++	100	100
	S4	+++	100	+++	100	+++	100	+++	100	+++	100	++	75	+++	100	+++	100	+++	100	+++	100	100
Y. Catimor (M)	S1	++	75	+++	50	+++	50	+++	75	+++	75	++	75	++	100	++	75	++	75	+++	75	75
	S2	+++	100	+++	100	++	100	++	100	+++	100	++	75	++	100	++	50	+++	100	+++	100	100
	S3	+++	100	+++	100	+++	100	+++	100	+++	100	++	50	++	75	++	100	+++	100	+++	100	100
	S4	+++	100	+++	100	+++	100	+++	100	+++	100	+++	100	+++	100	+++	100	+++	100	+++	100	100

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



9A



9.B

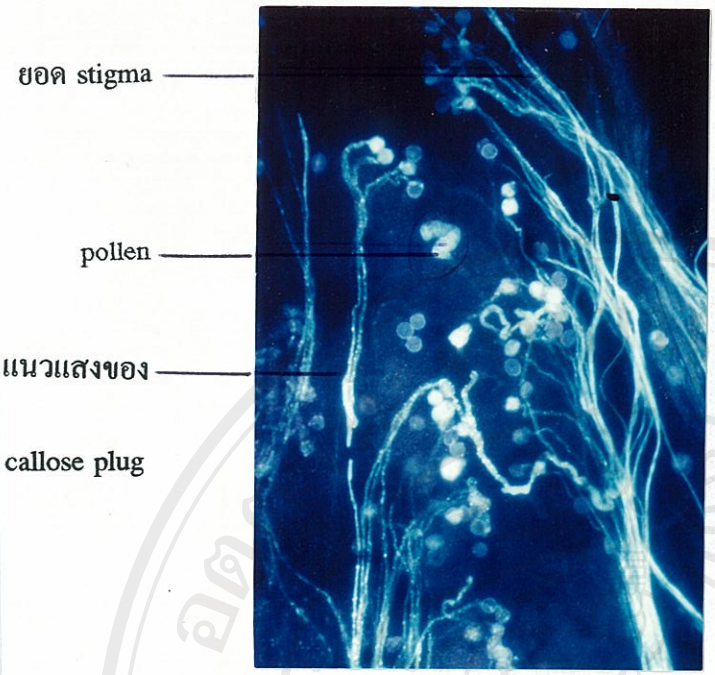
9.C

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 9 บริเวณยอด (A) บริเวณกลาง (B) และบริเวณรังไข่ (C) ใน style ของดอกกาแฟอราบีก้า (Y. Catimor) ที่ไม่ได้รับการผสมเกสร จะไม่พบแนวแสงของ callose plug ภายในท่อ style (กำลังขยาย 10x เท่า)

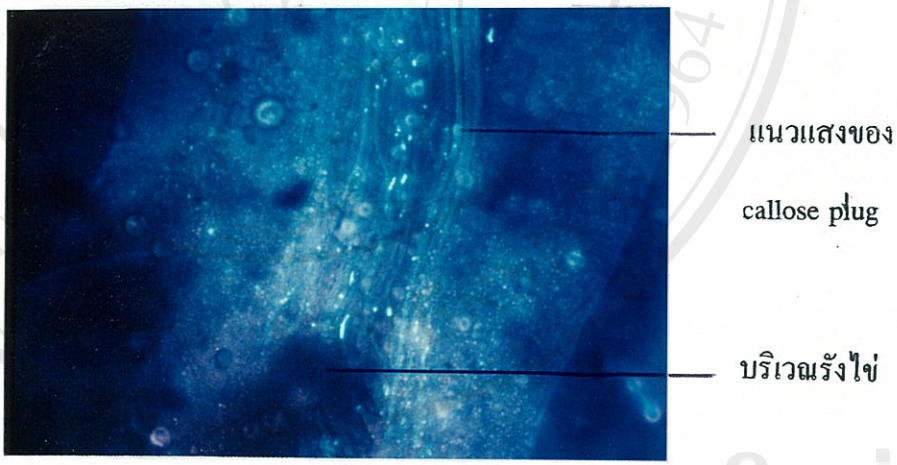
ภาพที่ 10 แนวแสงสีเหลืองของ callose plug ภายในท่อ style ของดอกกาแฟอราบีก้า (สายพันธุ์ Y. Catimor) ในระยะ S_1 ที่ได้รับการผสมเกสรจากบริเวณปลายยอดผ่านบริเวณกลางท่อ style และเริ่มจางหายไปตรงบริเวณเหนือรังไข่ (3/4 ของ style) แสดงถึงการงอกที่ไม่สมบูรณ์ของ pollen (กำลังขยาย 10x เท่า)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



11.A

11.B



11.C

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 11 แนวแสงของ callose plug ภายในท่อ style ของดอกกาแฟ (Y. Catimor) ในระยะ S_4 ที่ได้รับการผสมเกสรจากบริเวณปลายยอด (A) ผ่านบริเวณกลางท่อของ style (B) เข้าสู่บริเวณรังไข่ (C) แสดงถึงการงอกของ pollen tube เป็นไปอย่างสมบูรณ์เข้าผสมกับไข่ในรังไข่ได้ (กำลังขยาย 10x เท่า)

4.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาความพร้อมผสมของเกสรตัวผู้ของดอกกาแฟอราบีก้า 3 สายพันธุ์

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. กล้อง stereomicroscope
2. กล้องจุลทรรศน์ (microscope)
3. petridish กระดาษกรองรองก้นจาน petridish และแท่งแก้วรูปสามเหลี่ยม
4. สไลด์, dropper และน้ำกลั่น
5. forceps, เข็มเขี่ยเชื้อ และมีดผ่าตัด
6. ถาดใส่ petridish
7. ตะกร้าพลาสติกใส่ดอกกาแฟจากแปลง
8. อาหารเหลวเลี้ยง pollen ของ Brewbaker Beyong (1963)

วิธีการทดลอง

ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการโรคพืช ศูนย์วิจัยเพื่อเพิ่มผลผลิตทางเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เมื่อเดือนเมษายน 2538 ดอกกาแฟอราบีก้า 3 สายพันธุ์ ได้แก่ Progeny 86, Yellow Catuai และ Yellow Catimor ในระยะดอกตูม 4 ระยะเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 และสุ่มดอกมาระยะละ 10 ดอก (10 ซ้ำ) ต่อพันธุ์ เพื่อแยกอับละอองเกสรตัวผู้ (anther) มาศึกษาความพร้อมผสมของละอองเกสร (pollen) แยกเป็น 2 การทดลองย่อย คือ

1 ศึกษาลักษณะการแตกของ anther

นำ anther ของทุกระยะดอกและทุกสายพันธุ์มาส่องดูด้วยกล้อง stereomicroscope เพื่อสังเกตรูปร่างและลักษณะการแตกของ anther พร้อมกับบันทึกภาพภายใต้กล้อง กำลังขยาย 20x10x3.3x เท่า

2 ทดสอบความมีชีวิตของ pollen

โดยสุ่ม pollen ทุกระยะของดอก และทุกสายพันธุ์มาเลี้ยงในหยดอาหารเหลวของ Brewbaker and Beyong (1963) ที่หยดลงบนสไลด์แผ่นละ 2 หยด (เลี้ยง pollen 1 หยด ต่อ 1 ซ้ำ) แล้วนำสไลด์ไปไว้ในจาน petridish ที่ภายในรองพื้นด้วยกระดาษกรองชุ่มน้ำเพื่อให้ความชื้นแก่ pollen ที่กำลังเจริญในหยดอาหาร และมีแท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมรองรับสไลด์อีกที ปิดฝา petridish แล้วนำไปไว้ในที่เย็น (18-20°ซ.) เป็นเวลา 24 ชม. จึงนำสไลด์ออกมาตรวจนับความงอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100x เท่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สูตรอาหารเลี้ยง pollen เพื่อทดสอบความงอก pollen tube (Brewbaker and Beyong, 1963) ประกอบด้วย:

1. Sucrose	10%
2. H_3BO_3	100 ppm
3. $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	300 ppm
4. $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	200 ppm
5. KNO_3	100 ppm

การบันทึกข้อมูล

1. จากการนำ anther ของทุกระยะดอกและทุกสายพันธุ์มาส่องดูด้วยกล้อง stereo-microscope กำลังขยาย 20x10x3.3x เท่า การบันทึกข้อมูลจะบันทึกลักษณะรูปร่างของ anther และสังเกตการแตกของ anther ทุกระยะของดอก

2. จากหยดอาหารเลี้ยง pollen แต่ละระยะของดอก (1 หยด ต่อ 1 ซ้ำการทดลอง) นำมาส่องดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 100x เท่า ทำการสุ่มนับจำนวน pollen ที่สามารถงอกท่อ pollen tube ได้ โดยสุ่มนับหยดละ 10 ตำแหน่ง แล้วนำค่าที่นับได้มาคำนวณเป็น % ความงอกเฉลี่ยเทียบกับจำนวน pollen ที่เห็นทั้งหมด

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ลักษณะรูปร่างและการแตกของ anther

ลักษณะของ anther ภายใต้กล้อง stereomicroscope เป็นรูปแท่งยาวคล้ายรูปกระสวย มีรอยตะเข็บตรงบริเวณด้านข้าง 2 ข้าง ซึ่งในระยะที่ anther ได้พัฒนาจนสุกแก่เต็มที่ รอยตะเข็บนี้จะปริและแตกออก เพื่อปลดปล่อย pollen ที่อยู่ภายในออกมาผสมกับเกสรตัวเมีย ซึ่งมักจะเป็นระยะที่ดอกบานแล้วด้วย ดังภาพที่ 13.D เป็น anther ของดอกกาแฟที่บานแล้ว จะเกิดรอยปริแตกตามรอยตะเข็บด้านข้างทั้ง 2 ด้าน พร้อม ๆ กับบริเวณกลางลำตัวของ anther ยุบตัวลงและบิดเป็นเกลียว

จากการตรวจดูการแตกตามรอยตะเข็บของ anther ของดอกกาแฟ 4 ระยะทั้ง 3 สายพันธุ์ ภายใต้กล้อง stereomicroscope พบว่า anther ของดอกกาแฟทุกระยะและทุกสายพันธุ์ไม่มีการแตกตามรอยตะเข็บทั้งหมด จึงไม่พบการปลดปล่อย pollen ตามตะเข็บของ anther เลย anther ของดอกทั้ง 4 ระยะจึงมีลักษณะรูปร่างเหมือนกันหมด แต่แตกต่างกันตรงขนาดเท่านั้น (ภาพที่ 12.A 12.B 12.C และ 12.D) แต่เมื่อทิ้ง anther ไว้ในห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 1 คืน จะพบว่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

anther ของดอกระยะ S_1 ถึง S_3 ของทั้ง 3 สายพันธุ์ จะเหี่ยวและเริ่มแห้งโดยไม่มีการแตกตามรอยตะเข็บ ในขณะที่ anther ในระยะ S_4 ของทั้ง 3 สายพันธุ์มีการแตกตามรอยตะเข็บด้านข้างและมี pollen กระจายออกมาเต็มกระดาษที่รองรับ ตรงตามรายงานของ Van der Vossen (1985) กล่าวว่า anther ของดอกกาแฟอราบีก้าจะแตกในตอนเช้าตรู่หลังจากดอกบานแล้วชั่วครู่เดียว และจะเข้าผสมกับเกสรตัวเมียในดอกเดียวกัน ขณะเดียวกันก็ยังสามารถปลิวไปผสมกับเกสรตัวเมียในต้นอื่นได้ด้วย จึงเกิดโอกาสผสมข้าม 10-20% โดยลักษณะการแตกของ anther จะมีทั้งเริ่มแตกจากด้านปลายก่อน (ภาพที่ 13.A) แตกจากด้านโคนของ anther ก่อน (ภาพที่ 13.B) และแตกจากบริเวณกึ่งกลาง anther ก่อน (ภาพที่ 13.C)

2. ความมีชีวิตของ pollen

จากการนำสไลด์ของหยดอาหารที่เลี้ยง pollen ไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อตรวจนับ % ความงอกของ pollen tube พบว่า pollen ของดอกในระยะ S_1 ถึง S_3 ของทั้ง 3 สายพันธุ์ ไม่มีการงอก pollen tube เลย (ภาพที่ 14.A) มีเพียง pollen ของ ดอกระยะ S_4 ของทั้ง 3 สายพันธุ์เท่านั้นที่แสดงความมีชีวิต (ภาพที่ 14.B 14.C และ 14.D) โดยสายพันธุ์ Progeny 86 มี % ความงอกเฉลี่ย 88.71% และมีความยาวของ pollen tube ประมาณ 5 เท่าของขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง pollen ในขณะที่พันธุ์ Yellow Catuai มี % ความงอกเฉลี่ย 65.18% และมีความยาวของ pollen tube สั้นที่สุด คือ ประมาณเท่ากับขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง pollen ส่วนสายพันธุ์ Yellow Catimor มี % ความงอกเฉลี่ย 74.67% และมีความยาวของ pollen tube ยาวที่สุด คือ ยาวประมาณ 6-8 เท่าของขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง pollen (ตารางที่ 3) โดยขนาดของ pollen ของทั้ง 3 สายพันธุ์จะเท่ากันคือประมาณ 40.5 μm ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการทดลองในประเทศเคนยา Walyaro and Van der Vossen (1977) ได้แนะนำการเก็บ pollen สดเพื่อใช้ในงานผสมพันธุ์ โดยเก็บดอกกาแฟสดในตอนเช้าตรู่ของวันที่ดอกบาน ซึ่ง anther จะยังไม่แตก (อยู่ในระยะ S_4) แล้วนำไปผึ่งบนกระดาษภายในห้องปฏิบัติการ ทิ้งไว้ไม่นาน anther จะแตกออกให้ pollen กระจายเต็มกระดาษที่รองรับ ให้ใช้พู่กันค่อย ๆ กวาดลงขวด แล้วนำไปใช้ผสมพันธุ์ในแปลงได้

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาดอกกาแฟอราบีก้า 3 สายพันธุ์ (Progeny 86 Y. Catuai และ Y. Catimor) พบว่า ดอกกาแฟในระยะที่ 4 (S_4) ซึ่งมีขนาดความยาวของดอกมากกว่า 2 ซม. (ประมาณ 1-2 วันก่อนดอกบาน) จะเป็นระยะที่ pollen มีความพร้อมผสมสูงสุด โดยศึกษาจากความสุกแก่ของ anther พร้อมที่จะแตกให้ pollen ออกมา และให้ pollen ที่มีความมีชีวิตสูงสุด (มี % ความงอก pollen tube สูงสุด) ในขณะที่ดอกกาแฟในระยะที่ 1 ถึง 3 (S_1 ถึง S_3) มี anther ที่ยังพัฒนาไม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เต็มที่ (ไม่แตกให้ pollen) และ pollen ที่อยู่ภายในยังอยู่ในระยะพัฒนาจึงไม่สามารถงอก pollen tube ได้ นอกจากนั้นยังพบว่า pollen ของพันธุ์ Yellow Catuai มีการพัฒนาช้ากว่าสายพันธุ์อื่นในระยะดอกเดียวกัน (S_4)

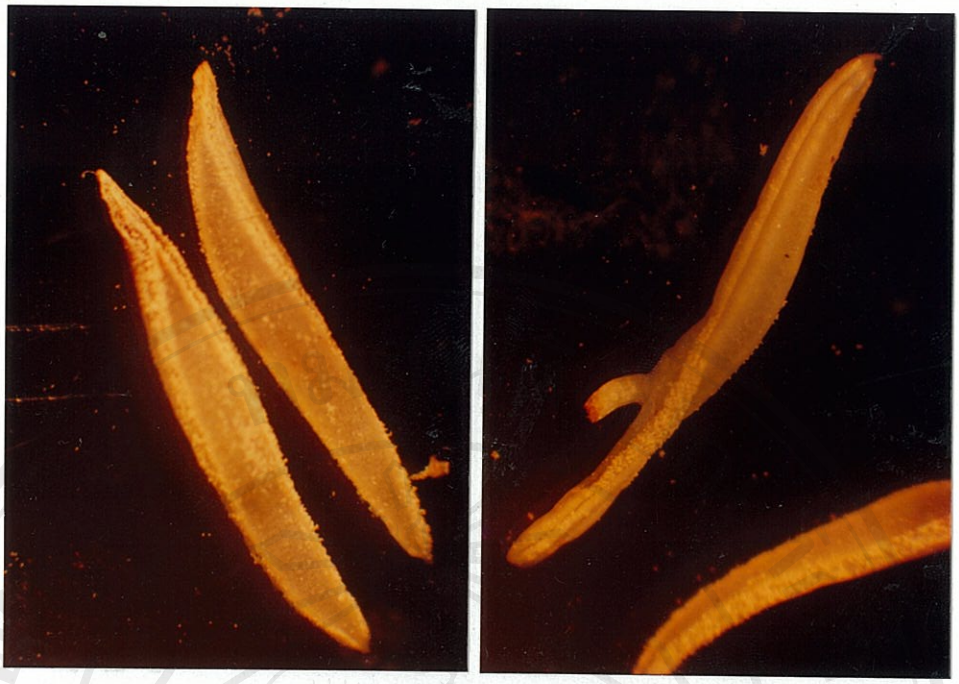
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

12.A 12.B

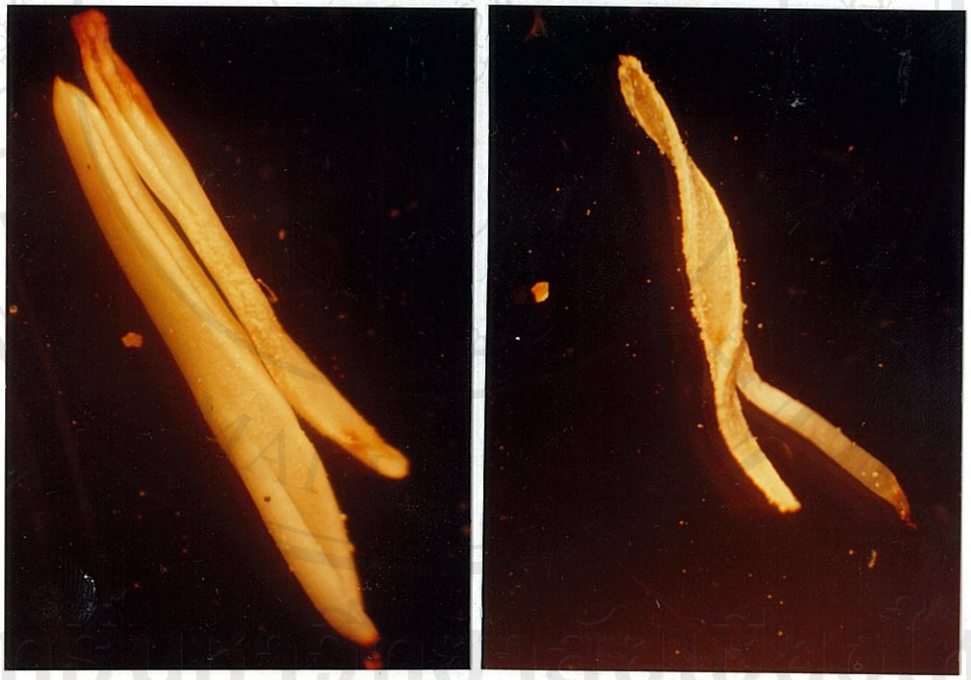
12.C 12.D

ภาพที่ 12 ลักษณะรูปร่าง anther ของดอกกาแฟอราบีก้าระยะที่ 1 (A), ระยะที่ 2 (B), ระยะที่ 3 (C) และระยะที่ 4 (D) (กำลังขยาย 20x10x3.3x เท่า)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



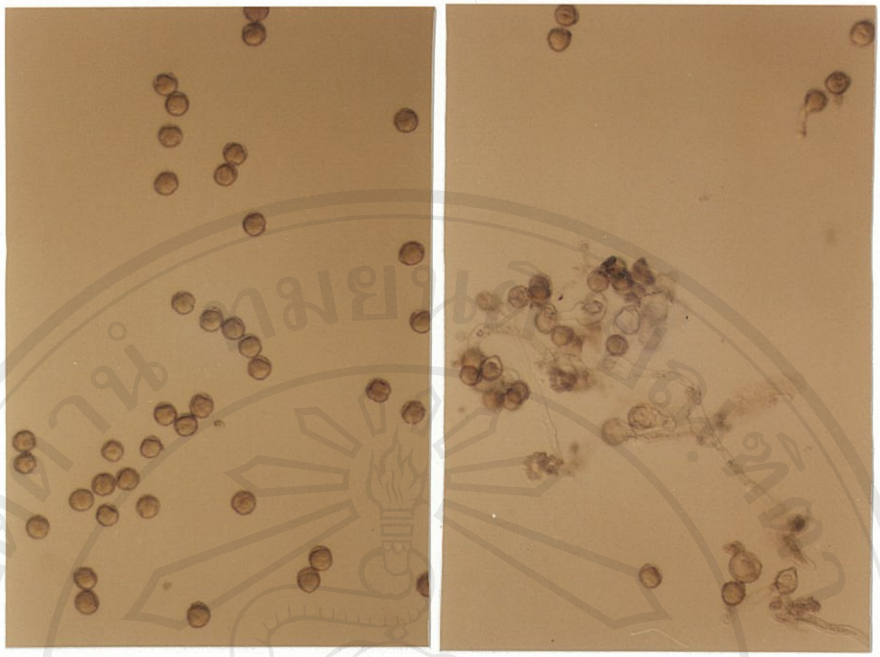
13.A 13.B



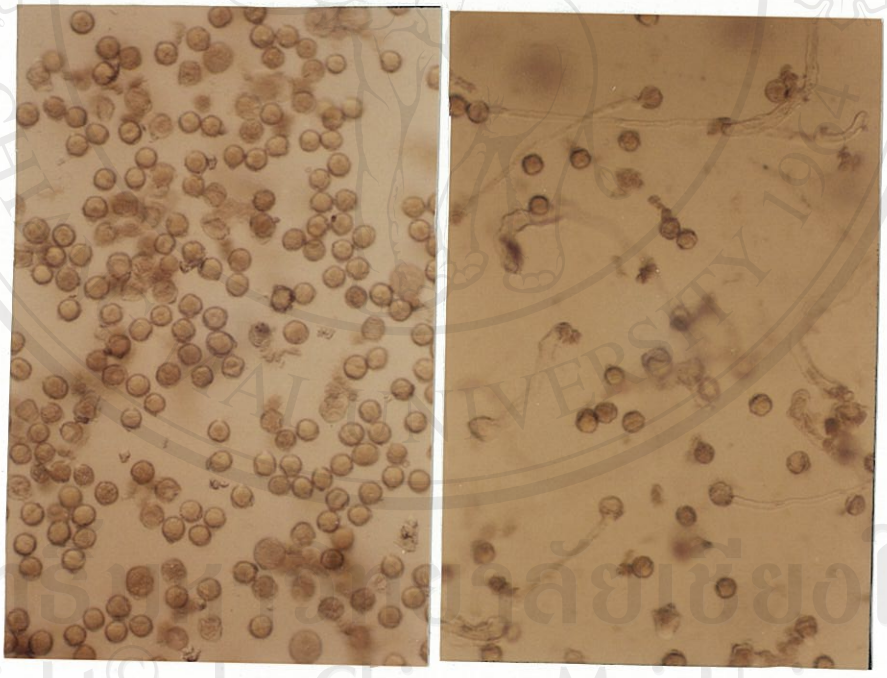
13.C 13.D

ภาพที่ 13 ลักษณะการแตกตามรอยตะเข็บของ anther ดอกกาแฟอราบีก้า (กำลังขยาย 20x10x 3.3x เท่า) A = แตกจากด้านปลาย B = แตกจากด้านโคน C = แตกจากบริเวณกึ่งกลาง D = การแตกของ anther ระยะดอกบาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



14.A 14.B



14.C 14.D

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 14 การงอก pollen tube ของดอกกาแฟอราบีก้าในหยดอาหาร

A = pollen ของดอกในระยะ S_1-S_3 ไม่มีการงอก pollen tube

B, C และ D = การงอก pollen tube ของดอกระยะ S_4 ของพันธุ์ Progeny 86, Y. Catuai และ Y. Catimor ตามลำดับ (กำลังขยาย 100x เท่า)

ตารางที่ 3 เปอร์เซนต์ความงอก ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง และความยาวท่อของ pollen ในระยะ S_4 ของดอกกาแฟอราบีก้า 3 สายพันธุ์

Replication	% ความงอก		
	Progeny 86	Yellow Catuai	Yellow Catimor
R_1	89.50	62.20	83.30
R_2	83.40	52.80	87.20
R_3	75.20	76.80	78.60
R_4	80.50	60.00	62.50
R_5	78.80	70.60	60.10
R_6	88.50	58.40	93.30
R_7	84.80	56.40	55.50
R_8	86.60	75.50	72.80
R_9	98.80	60.60	68.10
R_{10}	85.00	68.50	85.30
% ความงอกเฉลี่ย	88.71	65.18	74.67
ขนาด ∅ pollen (μm)	40.50	40.50	40.50
ความยาว pollen tube (ประมาณ)	4-5 เท่าของ ∅ pollen	เท่ากับ ∅ pollen	6-8 เท่าของ ∅ pollen

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาการเก็บรักษา pollen ของกาแฟอราบีก้า 3 สายพันธุ์

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

1. กล้องจุลทรรศน์
2. โถดูดความชื้น (desiccator) ภายในบรรจุ silica gel
3. silica gel
4. petridish, กระดาษกรอง, แท่งแก้ว
5. สไลด์ และ dropper
6. ถาดใส่ petridish
7. ขวดบรรจุ pollen ขนาด 10 ลบ.ซม.
8. อาหารเหลวเลี้ยง pollen (Brewbaker and Beyong, 1963)

วิธีการทดลอง

ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการผลิตเมล็ดพันธุ์ผัก ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เมื่อเดือนเมษายน-สิงหาคม 2536 ใช้ดอกกาแฟอราบีก้า 3 สายพันธุ์ ได้แก่ Progeny 86 Yellow Catuai และ Yellow Catimor เริ่มเก็บดอกกาแฟในตอนเช้าของวันที่ดอกจะเริ่มบาน ในระยะดอกตูม หรือ "candle stage" (Carvalho and Monaco, 1969) ระยะที่ 4 มีขนาดดอกตั้งแต่ 2 ซม. ขึ้นไป และ anther ที่อยู่ภายในดอกยังไม่แตกออกจากกัน ระยะนี้ละอองเกสร (pollen) จะมีความพร้อมผสมมากที่สุด (การทดลองที่ 2) นำดอกกาแฟที่เก็บมาได้ไปผึ่งบนกระดาษในห้องปฏิบัติการ ดอกกาแฟจะทยอยบาน และ anther จะเริ่มแตกออกจากกันให้ pollen จำนวนมากกระจายเต็มกระดาษ (Walyaro and Van der Vossen, 1977) จากนั้นกวาด pollen บนกระดาษแบ่งใส่ขวดสำหรับเก็บ pollen ขนาด 10 ลบ.ซม. ปิดฝาจุกให้แน่นป้องกันการปนเปื้อน แบ่งใส่สายพันธุ์ละ 3 ขวด เพื่อนำไปเก็บรักษาใน 3 สภาพ ได้แก่

สภาพที่ 1 เปิดฝาจุกขวดและเก็บไว้ในโถดูดความชื้น (desiccator) ที่ภายในบรรจุผลึก silica gel เก็บภายใต้อุณหภูมิห้อง (25-28°ซ.)

สภาพที่ 2 เปิดฝาจุกขวดเก็บไว้ในขวดที่บรรจุผลึก silica gel แล้วนำไปเก็บไว้ในห้องเย็นหรือแช่เย็น (refrigerator) อุณหภูมิ 4-6°ซ.

สภาพที่ 3 เปิดฝาจุกขวดเก็บไว้ในขวดที่บรรจุผลึก silica gel แล้วนำไปเก็บไว้ในช่องแช่แข็งของตู้เย็น (freezer) อุณหภูมิประมาณ -10°ซ.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สุ่ม pollen มาทดสอบความงอก (pollen germination) ทุกครั้งเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 0, 1, 3, 6, 10, 15, 21, 28, 36, 45, 55, 66, 78, 91, 105 และ 120 วัน ตามลำดับ โดยวิธีประยุกต์จาก hanging drop method in a Van Tieghem Cell (Walyaro and Van der Vossen, 1977) คือสุ่ม pollen มาเลี้ยงในหยดอาหารบนสไลด์ แผ่นละ 2 หยด (สไลด์ 1 แผ่น ต่อ 1 พันธุ์) แล้วนำสไลด์ไปไว้ในจาน petridish ที่ภายในรองพื้นด้วยกระดาษกรองชุ่มน้ำเพื่อให้ความชื้นแก่ pollen ที่กำลังเจริญในหยดอาหาร และมีแท่งแก้วรูปสามเหลี่ยมรองรับสไลด์อีกที ปิดฝา petridish แล้วนำจาน petridish ที่บรรจุสไลด์นี้ เก็บไว้ในที่เย็น (18-20° ซ.) เป็นเวลา 24 ชม. จึงนำสไลด์ออกมาทำการตรวจนับความงอกภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100x เท่า สูตรอาหารเลี้ยง pollen เพื่อทดสอบความงอก pollen tube (Brewbaker and Beyong, 1963) ประกอบด้วย

1. Sucrose	10%
2. H_3BO_3	100 ppm
3. $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	300 ppm
4. $MgSO_4 \cdot 7H_2O$	200 ppm
5. KNO_3	100 ppm

การบันทึกข้อมูล

จากหยดอาหาร 2 หยดต่อสไลด์ต่อพันธุ์ ทำการสุ่มนับจำนวน pollen ที่สามารถงอกท่อ (pollen tube) ได้ ต่อจำนวน pollen ที่เห็นทั้งหมด หยดละ 10 ตำแหน่ง (พันธุ์ละ 20 ตำแหน่ง) แล้วนำค่าที่นับได้มาคำนวณค่า % ความงอกเฉลี่ย การบันทึกความงอกของ pollen จะเป็น -, +, ++, +++ และ ++++ หมายถึง ไม่งอกท่อเลย มีความงอกเฉลี่ยต่ำกว่า 5% มีความงอกเฉลี่ย 5-20% มีความงอกเฉลี่ย 20-50% และมีความงอกเฉลี่ยมากกว่า 50% ตามลำดับ

ผลการทดลอง

จากตารางที่ 4 แสดง % ความงอก pollen tube ของ pollen ในดอกกาแฟ 3 สายพันธุ์ (Progeny 86, Y. Catuai และ Y. Catimor) ที่เก็บรักษาภายใต้สภาพอุณหภูมิแตกต่างกัน 3 สภาพ เป็นระยะเวลาติดต่อกันนาน 120 วัน ได้ผลการทดลองดังนี้

การเก็บรักษา pollen ในสภาพอุณหภูมิห้อง (25-28°ซ.) ร่วมกับความชื้นต่ำ พบว่า เมื่อเริ่มเก็บรักษา (0 วัน) ความมีชีวิตของ pollen ในทั้ง 3 สายพันธุ์มีความใกล้เคียงกัน คือ มีความงอกเฉลี่ยมากกว่า 50% จากนั้นพันธุ์ Progeny 86 เริ่มมีความงอกเฉลี่ยของ pollen ลดลงเป็น 20-50%, 5-20%, ต่ำกว่า 5% และไม่มีความงอก เมื่อเก็บรักษานาน 3-6 วัน, 10-21 วัน, 28-36 วัน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

และมากกว่า 45 วัน ตามลำดับ ในขณะที่พันธุ์ Yellow Catuai เริ่มมีความงอกเฉลี่ยของ pollen ลดลงเป็น 20-50%, 5-20%, ต่ำกว่า 5% และไม่มีความงอก เมื่อเก็บรักษานาน 3-6 วัน, 10 วัน, 21-28 วัน และมากกว่า 36 วัน ตามลำดับ ส่วนพันธุ์ Yellow Catimor เริ่มมีความงอกเฉลี่ยของ pollen ลดลงเป็น 20-50%, 5-20%, ต่ำกว่า 5% และไม่มีความงอก เมื่อเก็บรักษานาน 1-6 วัน, 10 วัน, 15-28 วัน และมากกว่า 36 วัน ตามลำดับ

การเก็บรักษา pollen ในสภาพห้องเย็น (4-6°ซ.) ร่วมกับความชื้นต่ำ พบว่า เมื่อเก็บรักษาได้นาน 6 วันแรก ความมีชีวิตของ pollen ในทั้ง 3 สายพันธุ์มีความใกล้เคียงกัน คือ มีความงอกเฉลี่ยมากกว่า 50% จากนั้นพันธุ์ Progeny 86 เริ่มมีความงอกเฉลี่ยของ pollen ลดลงเป็น 20-50%, 5-20% ต่ำกว่า 5% และไม่มีความงอก เมื่อเก็บรักษานาน 28-36 วัน, 45 วัน, 55-78 วัน และมากกว่า 91 วัน ตามลำดับ ในขณะที่พันธุ์ Yellow Catuai เริ่มมีความงอกเฉลี่ยของ pollen ลดลงเป็น 20-50%, 5-20% ต่ำกว่า 5% และไม่มีความงอก เมื่อเก็บรักษานาน 15-28 วัน, 36-45 วัน, 55-78 วัน และมากกว่า 91 วัน ตามลำดับ ส่วนพันธุ์ Yellow Catimor เริ่มมีความงอกเฉลี่ยของ pollen ลดลงเป็น 20-50%, 5-20% ต่ำกว่า 5% และไม่มีความงอก เมื่อเก็บรักษานาน 10 วัน, 15 วัน, 21-45 วัน และมากกว่า 55 วัน ตามลำดับ

และในการเก็บรักษา pollen ในสภาพแช่แข็ง (-10°ซ.) ร่วมกับความชื้นต่ำ พบว่า เมื่อเก็บรักษา pollen ไว้นาน 28 วันแรก พันธุ์ Progeny 86 และพันธุ์ Yellow Catuai ยังมีความงอกมากกว่า 50% จากนั้น พันธุ์ Progeny 86 จะมีความงอกลดลงอยู่ระหว่าง 20-50%, 5-20% และต่ำกว่า 5% เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 36-45 วัน, 55-78 วัน และมากกว่า 91 วัน ตามลำดับ ในขณะที่พันธุ์ Yellow Catuai มีความงอกลดลงอยู่ระหว่าง 20-50%, 5-20% และต่ำกว่า 5% เมื่อเก็บรักษานาน 36 วัน, 45-55 วัน และมากกว่า 66 วัน ตามลำดับ ส่วนพันธุ์ Yellow Catimor จะยังคงมีความงอกมากกว่า 50% เมื่อเก็บรักษาไว้นาน 21 วันแรก จากนั้นจะมีความงอกลดลงอยู่ระหว่าง 20-50%, 5-20% และต่ำกว่า 5% หลังจากเก็บรักษานาน 28 วัน, 36 วัน และมากกว่า 45 วัน ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองพบว่าการเก็บรักษา pollen สดในสภาพอุณหภูมิห้อง (25-28°ซ.) ภายใต้สภาพความชื้นต่ำ จะเก็บรักษาความมีชีวิตของ pollen ทั้ง 3 สายพันธุ์ (Progeny 86, Y. Catuai และ Y. Catimor) ได้นานถึง 36, 28 และ 28 วัน ตามลำดับ (ความงอกต่ำกว่า 5%) แสดงว่าการปฏิบัติงานในแปลงผสมพันธุ์ระหว่างกาแฟ 3 สายพันธุ์นี้ เราสามารถเก็บ pollen ไว้รอการผสมโดยเก็บภายใต้สภาพความชื้นต่ำ และอุณหภูมิ ปกติ (25-28°ซ.) ได้นานประมาณ 1 เดือน โดยที่ pollen ยังคงความมีชีวิตอยู่ แต่จะลดลงตามลำดับตามระยะเวลาที่เก็บรักษาเพิ่มขึ้น

เมื่อเก็บรักษา pollen ในสภาพอุณหภูมิเย็น (4-6°ซ.) และความชื้นต่ำจะยังสามารถรักษาความมีชีวิตของ pollen ทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้นานถึง 78, 78 และ 45 วัน ตามลำดับ ซึ่งตรงกับรายงานของ Sybenga (1960) กล่าวว่า การเก็บรักษา pollen ในสภาพความชื้นต่ำภายใต้อุณหภูมิ 0-5°ซ. จะสามารถรักษาความมีชีวิตของ pollen ได้นาน 1-2 เดือน (Carvalho and Monaco, 1969)

ในขณะเดียวกัน ผลการทดลองเก็บรักษา pollen ในสภาพอุณหภูมิแช่แข็ง (-10°ซ.) และความชื้นต่ำ นั้นจะสามารถรักษาความมีชีวิตของ pollen ทั้ง 3 สายพันธุ์ ได้มากกว่า 4 เดือน (โดยมีความงอกต่ำกว่า 5%) ซึ่งจากรายงานการศึกษาของ Walyaro and Van der Vossen (1977) กล่าวว่าการเก็บรักษา pollen ภายใต้สภาพสูญญากาศ (vacuum) และอุณหภูมิ -18°ซ. จะรักษาความมีชีวิตของ pollen ไว้นานมากกว่า 2 ปี

อย่างไรก็ตาม เพื่อความมั่นใจในความมีชีวิตของ pollen ที่เก็บรักษา ความมีชีวิตของ pollen ควรจะอยู่ในระดับที่มากกว่า 5% (++) เป็นต้นไป ดังนั้น จึงควรเก็บ pollen ไม่เกิน 10, 36 และ 55 วัน ตามลำดับ ในการเก็บรักษาในสภาพความชื้นต่ำร่วมกับอุณหภูมิ 25-28°ซ., 4-6°ซ. และ -10°ซ. และเพื่อการนำไปใช้ประโยชน์ในแปลงผสมพันธุ์กาแฟมากยิ่งขึ้น จึงควรทำการศึกษาความแข็งแรงของ pollen และทดสอบความสามารถผสมติดในแปลงปฏิบัติงานจริงควบคู่กับระยะเวลาการเก็บรักษา pollen ด้วย (มณีฉัตร นิกรพันธุ์, 2538, ติดต่อเป็นการส่วนตัว)

และจากการทดลองเก็บรักษา pollen ใน 3 สภาพของดอกกาแฟทั้ง 3 สายพันธุ์ดังกล่าว พบว่า เมื่อระยะเวลาของการเก็บรักษามากขึ้น พันธุ์ Progeny 86 มีเปอร์เซนต์ความงอก pollen tube ลดลงช้ากว่าพันธุ์ Yellow Catuai และพันธุ์ Yellow Catimor ตามลำดับ ดังนั้น จากการเก็บรักษา pollen ทั้ง 3 สภาพดังกล่าวนั้น พันธุ์ Progeny 86 มีแนวโน้มเก็บรักษาได้นานที่สุด รองลงมาคือพันธุ์ Yellow Catuai และพันธุ์ Yellow Catimor ตามลำดับ

สรุปผลการทดลอง

1. การเก็บรักษา pollen ในสภาพอุณหภูมิปกติ (25-28°ซ.) และความชื้นต่ำ สามารถรักษาความมีชีวิตของ pollen ของพันธุ์ Progeny 86 ได้นาน 36 วัน ในขณะที่พันธุ์ Yellow Catuai และพันธุ์ Yellow Catimor เก็บรักษาได้นาน 28 วัน และเพื่อความมั่นใจในความมีชีวิตของ pollen (มีความงอกเฉลี่ยของ pollen มากกว่า 5%) ไม่ควรเก็บไว้นานเกิน 10 วัน

2. การเก็บรักษา pollen ในสภาพเย็น (4-6°ซ.) และความชื้นต่ำ สามารถรักษาความมีชีวิตของ pollen ของพันธุ์ Progeny 86 และพันธุ์ Yellow Catuai ได้นาน 78 วัน ในขณะที่พันธุ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Yellow Catimor เก็บรักษาได้นาน 45 วัน และเพื่อความมั่นใจในความมีชีวิตของ pollen (มีความงอกเฉลี่ยของ pollen มากกว่า 5%) ไม่ควรเก็บไว้นานเกิน 36 วัน

3. การเก็บรักษา pollen ในสภาพแช่เย็น (-10°ซ.) และความชื้นต่ำ สามารถรักษาความมีชีวิตของ pollen ทั้ง 3 สายพันธุ์ได้นานมากกว่า 4 เดือน และเพื่อความมั่นใจในวามมีชีวิตของ pollen (มีความงอกเฉลี่ยของ pollen มากกว่า 5%) ไม่ควรเก็บไว้นานเกิน 55 วัน

4. เมื่อเปรียบเทียบความมีชีวิตของ pollen ของแต่ละสายพันธุ์ จากการเก็บรักษาทั้ง 3 สภาพดังกล่าว พบว่า พันธุ์ Progeny 86 มีแนวโน้มเก็บรักษา pollen ได้นานที่สุด รองลงมา คือ พันธุ์ Yellow Catuai และ พันธุ์ Yellow Catimor ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4 เปอร์เซนต์ความงอก pollen tube ของดอกกาแฟอราบีก้า 3 สายพันธุ์ เมื่อเก็บรักษา pollen ภายใต้ 3 สภาพเป็นระยะเวลานาน 120 วัน

จำนวนวันที่เก็บรักษา	พันธุ์	จำนวน pollen ที่งอกท่อ		
		อุณหภูมิห้อง (25-28°ซ.)	แช่เย็น (4-6°ซ.)	แช่เข็ง (-10°ซ.)
0	P	++++	-	-
	T	++++	-	-
	M	++++	-	-
1	P	++++	++++	++++
	T	++++	++++	++++
	M	+++	++++	++++
3	P	+++	++++	++++
	T	+++	++++	++++
	M	+++	++++	++++
6	P	+++	++++	++++
	T	+++	++++	++++
	M	+++	++++	++++
10	P	++	++++	++++
	T	++	++++	++++
	M	++	+++	++++
15	P	++	++++	++++
	T	+	+++	++++
	M	+	++	++++
21	P	++	++++	++++
	T	+	+++	++++
	M	+	+	++++
28	P	+	+++	++++
	T	+	+++	++++
	M	+	+	+++

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

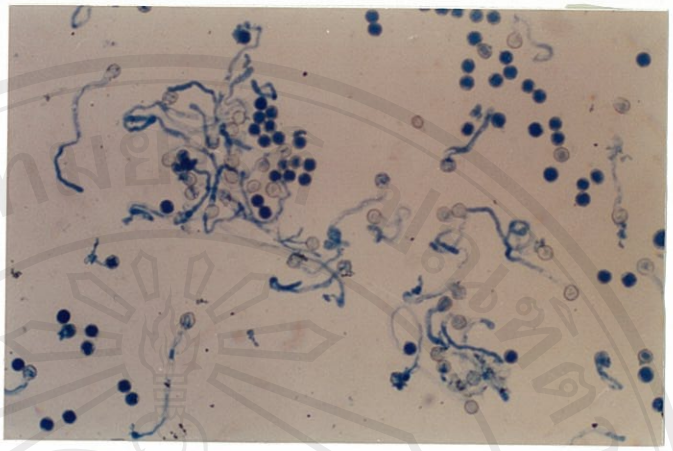
ตารางที่ 4 (ต่อ)

จำนวนวันที่เก็บรักษา	พันธุ์	จำนวน pollen ที่งอกท่อ		
		อุณหภูมิห้อง (25-28°ซ.)	แช่เย็น (4-6°ซ.)	แช่เข็ง (-10°ซ.)
36	P	+	+++	+++
	T	-	++	+++
	M	-	+	++
45	P	-	++	+++
	T	-	++	++
	M	-	+	+
55	P	-	+	++
	T	-	+	++
	M	-	-	+
66	P	-	+	++
	T	-	+	+
	M	-	-	+
78	P	-	+	++
	T	-	+	+
	M	-	-	+
91	P	-	-	+
	T	-	-	+
	M	-	-	+
105	P	-	-	+
	T	-	-	+
	M	-	-	+
120	P	-	-	+
	T	-	-	+
	M	-	-	+

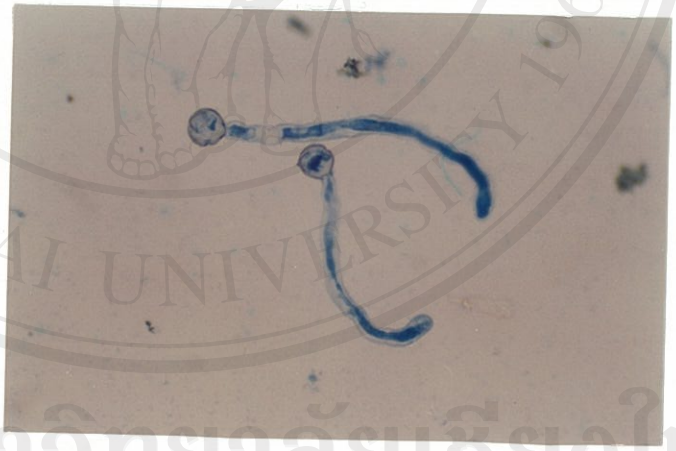
หมายเหตุ : P = พันธุ์ Progeny 86, T = พันธุ์ Yellow Catuai และ M = พันธุ์ Yellow Catimor

: เครื่องหมาย -, +, ++, +++ และ ++++ หมายถึง pollen ไม่งอกท่อเลย, มีความงอกเฉลี่ยน้อยกว่า 5%, อยู่ระหว่าง 5-20%, อยู่ระหว่าง 20-50%, และมากกว่า 50% ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved



15.A



15.B

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 15 pollen ที่เลี้ยงในหยดอาหาร ที่อุณหภูมิ (18-20°ซ.) เป็นเวลา 24 ชม.

A = การงอก pollen tube กำลังขยาย 4x เท่า

B = ภาพขยายการงอก pollen tube กำลังขยาย 10x เท่า

4.4 การทดลองที่ 4 การผสมพันธุ์และการติดผลของกาแฟอราบีก้า 3 สายพันธุ์

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์

1. ขวดบรรจุ pollen ขนาด 25 มล.
2. forcep พู่กันและไม้บรรทัด
3. ถุงกระดาษขนาดประมาณ 15x20 นิ้ว และคลิบหนีบกระดาษ
4. แอลกอฮอล์ 70%
5. ป้ายกระดาษ
6. กล่องพลาสติก ขนาด 25 มล. และผ้ามุ้งสีขาว

วิธีการทดลอง

ทำการทดลองในแปลงทดลอง สถานีทดลองเกษตรที่สูงขุนช่างเคี่ยน ดอยสุเทพ-ปุย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เมื่อเดือนเมษายน 2536

ก. การเตรียมดอกกาแฟของพันธุ์แม่

เตรียมดอกกาแฟทั้ง 3 สายพันธุ์ (Progeny 86 Y. Catuai และ Y. Catimor) โดยเลือกดอกตูมในระยะที่ 3 และ 4 (ขนาดดอก 1.5 ซม. ขึ้นไป) หรือระยะก่อนดอกบาน 1 หรือ 2 วัน ซึ่งเป็นระยะที่เกสรตัวเมียมีความพร้อมผสม และป้องกันการผสมตัวเองภายในดอก (ตามภาพที่ 16.A และ 16.B) ทำหมันดอก (emasculation) โดยเริ่มจากนำ forcep จุ่มในแอลกอฮอล์ 70% ก่อน (ภาพที่ 17.A) ทุกครั้งเมื่อเปลี่ยนไปทำหมันดอกต่างพันธุ์ ทิ้งไว้ให้แห้งสักครู่ จากนั้นจึงใช้ forcep ตัดและหนีบส่วนของชั้นกลีบดอกทั้งหมด (ซึ่งภายในมีส่วนของ anther เกาะติดอยู่กับกลีบดอก) ออกไป เหลือส่วนของ pistil และรังไข่ติดอยู่กับช่อดอก (ภาพที่ 17.B และ 17.C) และปลิดดอกเล็ก ๆ หรือตาดอกที่ติดอยู่บนกิ่งเดียวกันออกให้หมด แล้วคลุมกิ่งด้วยถุงกระดาษและติดคลิบหนีบ กระดาษ เพื่อป้องกันการผสมจาก pollen ที่ปลิวมากับอากาศ (ภาพที่ 18.A, 18.B และ 18.C)

ข. การเตรียมละอองเกสร (pollen) ของพันธุ์พ่อ

เก็บ pollen ของดอกกาแฟอราบีก้า 3 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ Progeny 86 พันธุ์ Yellow Catuai และพันธุ์ Yellow Catimor โดยเลือกดอกตูมในระยะที่ 4 (ขนาดดอกมากกว่า 2 ซม.) หรือในระยะก่อนดอกบาน 1 วัน ดังภาพที่ 19 ปลิดดอกตูมเล็ก ๆ ตามข้อและปลิดใบบางส่วนออกบ้าง แล้วคลุมกิ่งด้วยถุงกระดาษ (ภาพที่ 20.A, 20.B และ 20.C) จำนวนพันธุ์ละ 10 กิ่ง ในวันรุ่ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ขึ้นหลังจากดอกบานแล้ว anther ของดอกจะแตกออกปล่อย pollen สีน้ำตาลอ่อนกระจายอยู่ภายในถุงกระดาษที่คลุม (ภาพที่ 21.A และ 21.B) ใช้พู่กันค่อย ๆ กวาด pollen ใส่กล่องพลาสติกและกรอง pollen ด้วยผ้ามุ้งก่อนบรรจุขวดขนาด 25 มล. เพื่อนำไปผสมเกสรกับดอกกาแฟในแปลงต่อไป

ค. การผสมเกสร

หลังจากการเตรียม pollen ของพันธุ์พ่อ ในวันที่ดอกกาแฟบานเสร็จเรียบร้อยแล้ว ก็ทำการผสมเกสรด้วยวิธี Hand pollination โดยเปิดถุงคลุมกิ่งพันธุ์แม่ออกทีละน้อย เพื่อป้องกันการผสมจาก pollen ที่ฟุ้งกระจายอยู่ในอากาศ แล้วใช้ปลายพู่กันแตะ pollen พันธุ์พ่อ ที่บรรจุอยู่ในขวดขนาด 25 มล. ป้ายลงบนยอดเกสรตัวเมีย (stigma) ทีละดอกจนครบหมดทุกดอกบนกิ่ง โดยการป้ายอาจพยายามป้ายให้ pollen ติดตรงบริเวณระหว่างแฉกของ stigma ซึ่งมักจะมีเมือกใส ๆ เคลือบอยู่เพื่อให้มั่นใจว่ามี pollen ติดบนยอด stigma แน่นอน (ภาพที่ 22.A และ 22.B) จากนั้นจึงคลุมกิ่งไว้ตามเดิมพร้อมกับแขวนป้ายบอกชื่อสายพันธุ์พ่อและแม่ที่ทำการผสม และเมื่อเปลี่ยนพันธุ์ผสมควรจุ่มพู่กันในแอลกอฮอล์ 70% เพื่อทำลาย pollen ที่ติดมากับพู่กัน หรือเปลี่ยนพู่กันอันใหม่ทุกครั้ง

การคลุมถุงหลังการผสม จะทิ้งไว้นานประมาณ 2 สัปดาห์จึงเปิดถุงคลุมออกได้ เพื่อความปลอดภัยจากการผสมข้าม จากนั้นจึงติดตามการติดผลทุกเดือน จากเดือนที่ 1 หลังการผสมจนถึงเดือนที่ 8 ซึ่งเป็นเดือนที่ผลเริ่มสุกแก่พร้อมให้เก็บผลในเดือนถัดไป (เดือนที่ 9) และนำไปศึกษาต่อ

การจับคู่ผสมเกสร เป็นไปดังนี้

คู่ที่ 1 Progeny 86 (P) x Yellow Catuai (T)

คู่ที่ 2 Yellow Catuai (T) x Progeny 86 (P)

คู่ที่ 3 Yellow Catuai (T) x Yellow Catimor (M)

และ คู่ที่ 4 Yellow Catimor (M) x Yellow Catuai (T)

การบันทึกข้อมูล

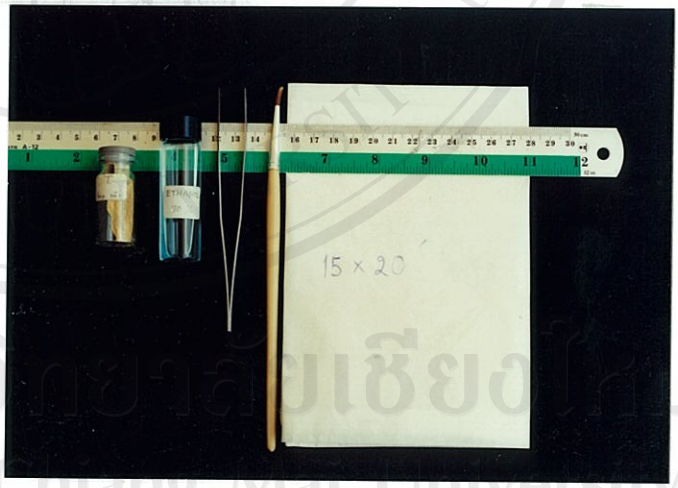
1. บันทึกจำนวนดอกที่ผสมในแต่ละคู่ผสม

2. บันทึกจำนวนผลทุกเดือนหลังการผสม ตั้งแต่เดือนที่ 1 (พฤษภาคม 2536) ถึงเดือนที่ 8 (ธันวาคม 2536) ของแต่ละคู่ผสม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

16.A

16.B



16.C

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 16 อุปกรณ์ทำหมันดอกและผสมเกสร

A = ดอกกาแฟในระยะที่ 3 (ขนาดความยาวของดอก 1.5-2.0 ซม.)

B = ดอกกาแฟในระยะที่ 4 (ขนาดความยาวของดอกมากกว่า 2 ซม.)

C = อุปกรณ์ : ขวด pollen, แอลกอฮอล์ 70%, forcep, พู่กัน, ไม้บรรทัด, และถุงกระดาษขนาดประมาณ 15x20 นิ้ว

17.A

17.B

17.C

ภาพที่ 17 วิธีการทำหมันดอกกาแฟ

A = จุ่ม forcep ในขวดแอลกอฮอล์ 70% เพื่อฆ่าเชื้อโรค และทำลาย pollen ที่ติดมา

B = ใช้ forcep ตัดส่วนของชั้นกลีบดอกทั้งหมดออกจากดอก

C = ใช้ forcep หนีบและดึงส่วนของชั้นกลีบดอกออกไป เหลือส่วนของ pistil และรังไข่ติดอยู่กับช่อดอก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

18.A

18.B

18.C

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 18 วิธีการเตรียมดอกของพันธุ์แม่เพื่อผสมเกสร

A = ดอกที่ได้รับการทำหมันหมดทั้งกิ่ง B = การคลุมกิ่งด้วยถุงกระดาษหลังจากการทำหมันดอกหมดทั้งกิ่งแล้ว C = การปิดปากถุงที่คลุมกิ่งด้วยคลิบหนีบ เพื่อป้องกันการผสมจาก pollen ที่ปลิวอยู่ในอากาศ

ภาพที่ 19 ดอกตูมในระยะที่ 4 (ขนาดความยาวของดอกมากกว่า 2 ซม.) หรือก่อนดอกบาน 1-2 วัน ของกาแฟอราบีก้า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

20.A

20.C

20.B

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 20 การเตรียมละอองเกสร (pollen) ของพันธุ์พ่อ

A = เลือกคลุมกิ่งที่มีดอกตูมในระยะที่ 4 (ขนาดความยาวของดอกมากกว่า 2 ซม.)

B = คลุมถุงแล้ว ปิดปากถุงคลุมด้วยคลิบหนีบ

C = ต้นพันธุ์พ่อที่ถูกคลุมกิ่ง เพื่อเก็บละอองเกสร

21.A

21.B

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 21 ดอกกาแฟบานภายในถุงกระดาษเพื่อเก็บ pollen

A = anther ของดอกบาน เมื่อแตกแล้วจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และบิดเป็นเกลียว

B = ผง pollen สีน้ำตาลอ่อนที่อยู่ภายในถุง

22.A

22.B

22.C

ภาพที่ 22 การผสมเกสรและการติดผล

A = ใช้ปลายพู่กันแตะ pollen ที่บรรจุอยู่ในขวดขนาด 25 มล.

B = การป้าย pollen ลงบนยอด stigma ตรงบริเวณแฉกของ stigma

C = การติดผลหลังการผสม 2 สัปดาห์ จะเหลือแต่ส่วนของรังไข่ติดอยู่กับช่อดอก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลการทดลอง

จากตารางที่ 5 แสดงจำนวนดอกที่ทำการผสมเกสร, % การผสมติด, จำนวนติดผล และ % ผลร่วง จากการผสมเกสรของกาแฟอราบีก้า 3 สายพันธุ์ ได้ผลการทดลองดังนี้

1 จำนวนดอกที่ผสมและเปอร์เซนต์การผสมติด

จากจำนวนดอกที่ทำการผสมในทั้ง 3 สายพันธุ์ (Progeny 86, Yellow Catuai และ Yellow Catimor) เท่ากับ 1803, 2250 และ 1153 ตามลำดับ หลังจากการผสมในเดือนที่ 1 พบว่า พันธุ์ Progeny 86 มีจำนวนติดผลเท่ากับ 1514 ผลคิดเป็นเปอร์เซนต์ผสมติดเท่ากับ 83.97% ส่วนพันธุ์ Yellow Catuai มีจำนวนติดผลเท่ากับ 1698 ผลคิดเป็นเปอร์เซนต์ผสมติดเท่ากับ 75.47% และพันธุ์ Yellow Catimor มีจำนวนติดผลเท่ากับ 917 ผลคิดเป็นเปอร์เซนต์ผสมติดเท่ากับ 79.53%

2 การติดผลและเปอร์เซนต์ผลร่วง

จำนวนการติดผลหลังจากเดือนที่ 1 จนถึงเดือนที่ 8 ของทั้ง 3 สายพันธุ์มีแนวโน้มลดลง แต่น้อยมาก จากการพิจารณาค่าเปอร์เซนต์ผลร่วงในแต่ละเดือนของทุกสายพันธุ์ พบว่า จะแบ่งได้เป็น 2 ช่วงคือ ช่วงเดือนที่ 2 ถึงเดือนที่ 3 มีเปอร์เซนต์ผลร่วงค่อนข้างสูง ส่วนในช่วงเดือนที่ 4 ถึงเดือนที่ 8 มีเปอร์เซนต์ผลร่วงค่อนข้างต่ำ กล่าวคือ พันธุ์ Progeny 86 มีเปอร์เซนต์ผลร่วงในเดือนที่ 2 และเดือนที่ 3 เท่ากับ 6.41 และ 5.58% ตามลำดับ จากนั้นในเดือนที่ 4 ถึงเดือนที่ 8 มีเปอร์เซนต์ผลร่วงเท่ากับ 1.12, 0.38, 0.76, 0.77 และ 0.85% ตามลำดับ และมีเปอร์เซนต์ผลร่วงรวมเมื่อเดือนที่ 8 เท่ากับ 14.99%

ส่วนพันธุ์ Yellow Catuai มีเปอร์เซนต์ผลร่วงในเดือนที่ 2 และเดือนที่ 3 เท่ากับ 2.42 และ 10.26% ตามลำดับ จากนั้นในเดือนที่ 4 ถึงเดือนที่ 8 มีเปอร์เซนต์ผลร่วงเท่ากับ 1.01, 0.41, 0.89, 0.55 และ 1.66% ตามลำดับ และมีเปอร์เซนต์ผลร่วงรวมเมื่อเดือนที่ 8 เท่ากับ 16.31%

และพันธุ์ Yellow Catimor มีเปอร์เซนต์ผลร่วงในเดือนที่ 2 และเดือนที่ 3 เท่ากับ 6.54 และ 1.28% ตามลำดับ จากนั้นในเดือนที่ 4 ถึงเดือนที่ 8 มีเปอร์เซนต์ผลร่วงเท่ากับ 0.47, 0.83, 0.36, 0.56 และ 1.00% ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิจารณ์ผลการทดลอง

1 การผสมติด และการร่วงของดอกกาแฟอราบีก้า

จากผลการทดลอง พบว่า พันธุ์ Progeny 86, Yellow Catuai และ Yellow Catimor มีเปอร์เซนต์การผสมติดเท่ากับ 83.97, 75.47 และ 79.53% ตามลำดับ เมื่อคิดเป็นเปอร์เซนต์ดอกร่วงจะเท่ากับ 16.03, 24.53 และ 20.46% ตามลำดับ ทั้งนี้ สาเหตุของดอกร่วงอาจเกิดจาก 1)

ขณะที่ทำหมันดอก อาจทำให้ส่วนของpistil ได้รับการกระทบกระเทือนหรือช้ำ จนทำให้ดอกกาแฟดังกล่าวไม่สามารถพัฒนาต่อไปได้ จึงเหี่ยวหรือหลุดร่วงไปหลังการผสม หรือ 2) ความไม่สมบูรณ์ในส่วน gametes (pollens หรือ eggs) ของดอกที่ได้รับการผสมเอง ทำให้การผสมหรือการพัฒนาของรังไข่เกิดความล้มเหลว ดอกจึงเหี่ยวและหลุดร่วงไปในที่สุด

2 การติดผล และการร่วงของผลกาแฟอราบีก้า

จากผลการทดลอง พบว่า พันธุ์ Progeny 86, Yellow Catuai และ Yellow Catimor มีเปอร์เซนต์ผลร่วงเท่ากับ 14.99, 16.31 และ 10.69% ตามลำดับ ทั้งนี้สาเหตุของผลร่วงอาจเกิดจาก 1) ขั้วผลได้รับการกระทบกระเทือนขณะทำหมันดอก ขณะผสม หรือขณะคลุมถุงกิ่ง แต่ไม่รุนแรงมากนัก จึงสามารถพัฒนาผ่านพ้นระยะดอกไปได้ แต่ไม่สามารถผ่านพ้นระยะผลไปได้ ขั้วผลซึ่งอ่อนแออยู่ก่อนแล้วไม่สามารถรับน้ำหนักของผลได้ จึงหลุดร่วงไป หรือ 2) ความไม่สมบูรณ์ในส่วน gametes (pollens หรือ eggs) ของดอกที่ได้รับการผสม แต่ยังสามารถพัฒนาผ่านพ้นช่วงระยะดอกได้ แต่ไม่สามารถพัฒนาจนครบกระบวนการได้ จึงหลุดร่วงไปในที่สุด หรือ 3) ได้รับการกระทบกระเทือนจากสภาพแวดล้อมของแปลงปลูก เช่น ลมหรือฝน เป็นต้น เพราะการติดผลของกาแฟ นอกจากจะขึ้นกับระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการผสมแล้ว ยังขึ้นกับสภาพแวดล้อมที่ทำการผสมด้วย เช่น อุณหภูมิ ความชื้น เป็นต้น (Walyaro and Van der Vossen, 1976)

อย่างไรก็ตาม จากการทดลองพบว่า เปอร์เซนต์ผลร่วง (จากการผสมเกสรโดยคน) ของทั้ง 3 สายพันธุ์ จะอยู่ระหว่าง 10-16%

สรุปผลการทดลอง

1. การทำหมันดอก (emasculation) อย่างระมัดระวังไม่ให้ส่วนของ pistil และก้านของดอกได้รับความกระทบกระเทือน มีความสำคัญนอกเหนือจากระยะเวลาและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการผสมเกสร ซึ่งจะมีผลต่อเปอร์เซนต์การผสมติดของดอกกาแฟอราบีก้าทั้ง 3 สายพันธุ์ที่ทำการทดลองได้

2. หลังจากการผสมติดแล้ว กาแฟอราบีก้าจะมีการติดผลที่ค่อนข้างสม่ำเสมอตั้งแต่เดือนแรกของการติดผลจนถึงเก็บผล โดยทั้ง 3 สายพันธุ์จะมีเปอร์เซนต์การร่วงของผล (ที่เกิดจากการผสมเกสรโดยคน) ค่อนข้างต่ำ คือประมาณ 10-16%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 5 จำนวนดอกที่ผสม, % ผสมติด, จำนวนติดผล และ % ผลร่วง จากการผสมเกสรของกาแฟอราบีก้า 3 สายพันธุ์

เดือน	ต้น Progeny 86		ต้น Y. Catuai		ต้น Y. Catimor	
	จำนวนติดผล	% ผลร่วง	จำนวนติดผล	% ผลร่วง	จำนวนติดผล	% ผลร่วง
เดือนที่ 1 (พค.)	1,514		1,698		917	
เดือนที่ 2 (มิย.)	1,417	6.41	1,657	2.42	857	6.54
เดือนที่ 3 (กค.)	1,338	5.58	1,487	10.26	846	1.28
เดือนที่ 4 (สค.)	1,323	1.12	1,472	1.01	842	0.47
เดือนที่ 5 (กย.)	1,318	0.38	1,466	0.41	835	0.83
เดือนที่ 6 (ตค.)	1,308	0.76	1,453	0.89	832	0.36
เดือนที่ 7 (พย.)	1,298	0.77	1,445	0.55	832	0.56
เดือนที่ 8 (ธค.)	1,287	0.85	1,421	1.66	819	1.00
รวม		14.99		16.31		10.69
จำนวนดอกที่ผสม	1,803		2,250		1,153	
% ผสมติด	83.97		75.47		79.53	

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved