บทที่ 2

วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการศึกษา

2.1 พืชที่ใช้ในการทดลอง

ใช้ท่อนพันธุ์หม่อน 5 พันธุ์ ได้แก่ น้อย บุรีรัมย์ 60 ตาก คุณไพ และใหญ่บุรีรัมย์ ซึ่งได้พันธุ์มาจากแปลงรวบรวมและบำรุงรักษาเชื้อพันธุกรรมหม่อน ศูนย์วิจัยหม่อนไหมศรีสะเกษ สถาบันวิจัยหม่อนไหม กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

ประวัติของพันธุ์หม่อนที่ใช้เป็นพืชทดลอง (วิชาการเกษตร, 2535) มีคุณลักษณะดังนี้

1. หม่อนน้อย เป็นหม่อนพันธุ์พื้นเมืองดั้งเดิมที่เกษตรกรปลูกเป็นส่วนมาก ผิวลำต้นมีสีนวล ทรงต้นผอมสูง กิ่งมีขนาดใหญ่ ใบรูปใบโพธิ์ หนาเป็นมัน ขอบใบเรียบ อาจมีใบเว้าแบบตื้นๆ บ้าง เพศผู้ ปริมาณขนบนใบน้อย เป็นพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตดี ใบเหมาะสมกับการเลี้ยงไหม มีคุณค่าทางอาหารสูง ให้ผลผลิต 1,200-1,500 กก/ไร่/ปี ขยายพันธุ์ได้ด้วยการปักชำในแปลงปลูกโดยตรง สถาบันวิจัยหม่อนไหม ได้นำมาปลูกและปรับปรุงพันธุ์ และเป็นพันธุ์แนะนำของกรมวิชาการเกษตร ตั้งแต่ปี 2530 ไม่ทนทานต่อโรคแมลงที่สำคัญคือ โรครากเน่า โรคราแป้ง โรคใบด่าง โรคแบคทีเรียลไบรท์ และแมลงที่หม่อนน้อยไม่ต้านทานเลยคือ เพลี้ยแป้ง เพลี้ยไฟ และแมลงหวี่ขาว สามารถมีชีวิตรอดอยู่ได้ในสภาวะแล้งของปี แต่ใบร่วง เมื่อได้รับน้ำจะแตกตา ยอด และใบได้ดี

2. หม่อนคุณไพ เป็นพันธุ์พื้นเมือง เพศเมีย ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ มีลำกิ่งขนาดใหญ่ ไม่ค่อยมีกิ่งแขนง ขอบใบส่วนมากไม่เว้า แต่จะมองเห็นขอบใบเป็นคลื่น ถ้ามองด้านข้างใบ ให้ผลผลิตใบสูง ถ้ามีการดูแลรักษาดีโดยเฉพาะถ้าปลูกในเขตจังหวัดเพชรบูรณ์

ซึ่งสภาพแวดล้อมค่อนข้างดี หม่อนคุณไพจะให้ผลผลิต ประมาณ 1,000-1,300 กก/ไร่/ปี และต้านทานต่อโรครากเน่าในบางพื้นที่ เป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกกันมากเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เนื่องจากมีการเจริญเติบโตของกิ่ง และยอด รวดเร็ว แม้ว่าใบจะบางกว่าหม่อนน้อย แต่ในหลายๆ พื้นที่ของภาคเหนือจะมีการปลูกพันธุ์นี้อย่างกว้างขวาง ทนทานต่อสภาวะที่ไม่มีการให้น้ำชลประทาน ได้ดีกว่าพันธุ์พื้นเมืองอีกหลายพันธุ์

3. <u>หม่อนใหญ่บุรีรัมย์</u> ลำกิ่งขนาดใหญ่ ขอบใบเรียบไม่มีเว้าให้ผลผลิต 1,200-1,500 กก/ไร่/ปี เป็นพันธุ์หม่อนเพศผู้ มีความต้านทานต่อโรครากเน่า ในบางพื้นที่ เช่น ในเขตอำเภอพุทไธสง จังหวัดบุรีรัมย์, จังหวัดอุบลราชธานี เป็นต้น สามารถขยายพันธุ์ด้วยท่อนพันธุ์ได้ง่าย ทนทานต่อสภาพแล้งได้ดี พอสมควร

4. <u>หม่อนตาก</u> เป็นพันธุ์พื้นเมือง เพศผู้ มีลำกิ่งขนาดใหญ่ปานกลาง ขอบใบเรียบ ไม่เว้า ใบหนาปานกลาง เป็นพันธุ์ที่เกษตรกรปลูกมานาน มีการแตกกิ่งแขนง และแตกใบอ่อนได้ดี มีใบอ่อนมาก ให้ผลผลิตใบ 1,200-1,400 กก/ไร่/ปี ทนทานต่อการขาดน้ำได้ปานกลาง แต่ใบร่วงง่าย

5. <u>หม่อนบุรีรัมย์ 60</u> เป็นพันธุ์ลูกผสม ที่กรมวิชาการเกษตร รับรองพันธุ์เมื่อปี 2530 เกิดจากการผสมระหว่าง หม่อนจีนเบอร์ 44 กับ หม่อนน้อย เป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์พื้นเมืองทุกๆ พันธุ์ คือ ผลผลิต 3,500 - 4,000 กก/ไร่/ปี ใบใหญ่หนา ทรงพุ่มแผ่กว้างถึงขนาดใหญ่ ข้อถี่ เหมาะที่จะปลูกในเขตที่มีการให้น้ำได้ ถ้าหากขาดน้ำช่วงระยะเวลาหนึ่ง ใบจะเหลือง และทิ้งใบในระยะเวลาอันสั้น

<u>อุปกรณ์และวัสดุที่ใช้ในการปลูกหม่อน</u>

1. ทราย
2. ถุงพลาสติกชนิดหนาสีดำ ขนาด 16.5x29.0 เซ็นติเมตร
3. สารอาหารที่ใช้ในการปลูกพืช ตามสูตรของ Hoagland (1938)

2.2 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการศึกษาทางนิเวศสรีรวิทยา

ก. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณโพรลีน

1. ใบหม่อน
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดละเอียด
3. mortar และ pestle
4. 3% sulfosalicylic acid
5. 6 M orthophosphoric acid
6. glacial acetic acid
7. acid ninhydrin
8. amberite
9. toluene
10. กระดาษกรองเบอร์ 1
11. หลอดทดลองขนาดต่างๆ พร้อมตะแกรงวางหลอด
12. micropipette
13. ice bath
14. beaker ขนาด 1000 cm^3
15. เตาไฟฟ้า
16. เครื่องกวนสารในหลอดทดลอง
17. spectrophotometer
18. water bath
19. centrifuge
20. หลอดทดลองที่ใช้กับเครื่อง spectrophotometer
21. หลอดทดลองที่ใช้สำหรับเครื่องเหวี่ยง
22. กรวยกรอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการศึกษาวัดปริมาณคลอโรฟิลล์

1. 80% acetone
2. ขวดทดลอง สำหรับแช่ตัวอย่างใบพืช
3. หลอดทดลองที่ใช้กับเครื่อง spectrophotometer
4. spectrophotometer
5. cork boror ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.13 เซ็นติเมตร

ค. อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ศึกษาการวัดปริมาณ insoluble protein (ISP)

1. หลอดทดลองชนิดก้นแหลม
2. centrifuge
3. ice bath
4. micropipette
5. water bath
6. spectrophotometer
7. สารเคมีต่าง ๆ ได้แก่
   - chloroform
   - methanol absolute
   - copper sulfate reagents (copper sulfate 1 เปอร์เซ็นต์, sodium potassium tartrate 2 เปอร์เซ็นต์, sodium carbonate 2 เปอร์เซ็นต์
   - folin & ciocalteu's phenol reagents
   - 1M Tris (hydroxymethyl) methylamine

ง. อุปกรณ์และสภาพแวดล้อมในการศึกษาอัตราการเจริญเติบโตในห้องควบคุมสภาพแวดล้อม

1. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดละเอียด ทศนิยม 3 ตำแหน่ง
2. ตู้อบ (hot air oven)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. ขวดแก้วใส่ตัวอย่างใบ และ ราก

4. ไม้บรรทัด

5. กรรไกรตัดกิ่งพืช

6. planimeter

7. ห้องควบคุมสภาวะแวดล้อมพืช อุณหภูมิประมาณ 30-32 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 55-65 เปอร์เซ็นต์ ความเข้มแสงประมาณ 150 μmole $m^{-1}s^{-1}$ (PAR) ช่วงแสง 12 ชั่วโมง

จ. เครื่องมือและอุปกรณ์ในการศึกษาปริมาณน้ำสัมพัทธ์ในใบพืช (RWC, WSD)

1. petri dish ขนาด 40 x 10 มิลลิเมตร

2. กล่องพลาสติก ชนิดใส ขนาด 19x38x10 เซ็นติเมตร

3. กระบอกฉีดน้ำชนิดฝอยละเอียด

4. อุปกรณ์ให้แสง

5. hot air oven

6. เครื่องชั่งไฟฟ้าชนิดละเอียด

7. ขวดแก้วสำหรับใส่ใบพืชเพื่อชั่งน้ำหนัก

8. ห้องควบคุมอุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส

2.3 สถานที่ทำการทดลอง

ศูนย์วิจัยหม่อนไหมศรีสะเกษ และห้องปฏิบัติการและห้องควบคุมสภาวะแวดล้อมพืช ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.4 วิธีดำเนินการทดลอง

การศึกษาการตอบสนองของหม่อนพันธุ์ต่างๆ ต่อสภาวะขาดน้ำ นั้นจะดำเนินการศึกษาทดลองเป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1 ให้พืชอยู่ในสภาวะขาดน้ำ ในระยะเวลาต่างกัน แล้วศึกษาวิเคราะห์ ด้านต่างๆ คือ

1. การตอบสนองทางด้านสัณฐานวิทยา ได้แก่ การวิเคราะห์การเจริญเติบโต

2. การตอบสนองทางด้านนิเวศสรีรวิทยา ได้แก่ การสะสมปริมาณโพรลีนในใบ ปริมาณคลอโรฟิลล์ insoluble protein และ ปริมาณน้ำในใบ

ขั้นตอนที่ 2 การทำ rewatering โดยให้พืชได้รับน้ำอีกครั้งหลังจากขาดน้ำไปแล้วในระยะเวลาหนึ่ง แล้วศึกษาวิเคราะห์การตอบสนอง เช่นเดียวกับ ขั้นตอนที่ 1

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวนซ้ำสำหรับการวิเคราะห์ โพรลีน คลอโรฟิลล์ ปริมาณน้ำในใบ (RWC และ WSD) และ insoluble protein ใช้ 4 ซ้ำ สำหรับการวิเคราะห์การเจริญเติบโตใช้ 6 ซ้ำ ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาทั้งหมด จะนำไปใช้ในการอภิปรายผล เพื่อแสดงให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างการตอบสนองด้านต่างๆ ที่เกิดขึ้นกับหม่อนแต่ละพันธุ์ที่อยู่ในสภาวะขาดน้ำ การศึกษาดังกล่าวมีขั้นตอนรายละเอียดดังนี้

2.4.1. การเตรียมท่อนพันธุ์และปลูกหม่อน

ตัดแต่งหม่อน ในแปลงรวบรวมและบำรุงรักษาเชื้อพันธุกรรมหม่อน ที่ศูนย์วิจัยหม่อนไหมศรีสะเกษ สถาบันวิจัยหม่อนไหม กรมวิชาการเกษตร เมื่อกิ่งพันธุ์เจริญเติบโต มีอายุประมาณ 120 วัน จึงตัดท่อนพันธุ์ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง ประมาณ 8-10 มิลลิเมตร ความยาวประมาณ 12-15 เซ็นติเมตร หรือมี 3-4 ตา

นำท่อนพันธุ์มาปักชำในถุงเพาะชำที่ใช้ทรายเป็นวัสดุปลูก โดยปลูกไว้ในห้องควบคุมสภาวะแวดล้อมพืช (phytotron) ภาควิชาพฤกษศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่อุณหภูมิระหว่าง 30-32 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 55-66 เปอร์เซ็นต์ความเข้มแสงประมาณ 150 μ mole $m^{-1}s^{-1}$ (PAR) ช่วงแสง 12 ชั่วโมง ควบคุมการให้น้ำปริมาณเท่ากัน โดยให้น้ำน้อยที่สุดที่พืชจะเจริญได้ในระยะ 60 วันแรก หลังจากนั้นควบคุมให้หม่อนอยู่ในสภาวะขาดน้ำโดยการให้น้ำครั้งเดียวทุกๆ treatment ในปริมาณเท่าๆ กัน ยกเว้น control ที่มีการให้น้ำตามปกติ ก่อนการ

วิเคราะห์ทางชีวเคมีและวิเคราะห์การเจริญเติบโตทุกระยะเวลา 0, 4, 8 และ 12 วัน

2.4.2. ตำแหน่งของใบที่ใช้เพื่อการวิเคราะห์

2.4.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณโพรลีน คลอโรฟีลล์ insoluble protein และปริมาณน้ำในใบ (RWC และ WSD) ใช้ใบที่ 2-3 นับจากใบยอดที่แผ่เต็มที่ การวิเคราะห์ทั้ง 4 นี้ จะใช้ใบพืชจากใบเดียวกันมาวิเคราะห์

2.4.2.2 การวิเคราะห์การเจริญเติบโต จะใช้ทุกๆ ใบ และจำนวนรากทั้งหมด

2.5 <u>การวิเคราะห์ปริมาณโพรลีน</u>

ใช้วิธีการ acid-ninhydrin (ดัดแปลงวิธีการของ Bates และคณะ 1973) ดังนี้

2.5.1 ชั่งใบหม่อนหนัก 0.1 กรัม บดให้ละเอียด แล้วเติม 3% sulfosalicylic acid 12.5 cm^3

2.5.2 กรองด้วยกระดาษกรอง เบอร์ 1 แล้วดูดสารละลายที่ได้จำนวน 2 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองขนาด 30 cm^3

2.5.3 เติม amberite 0.15 กรัม คนสารด้วยเครื่อง vortex นาน 1 นาที เพื่อให้ amberite ดูดซับ กรดอะมิโนตัวอื่นๆ เช่น ornithine lysine hydroxylysine

2.5.4 เติม 2 cm^3 glacial acetic acid และ 2 cm^3 acid-ninhydrin จำนวน 2 cm^3 แล้วนำไปต้มใน water bath ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

2.5.5 หยุดปฏิกิริยาทันทีโดยนำหลอดทดลองแช่ใน ice bath นาน 5-10 นาที

2.5.6 ดูดสารละลายมา 4 cm^3 ใส่ในหลอดทดลองขนาด 50 cm^3 เติม toluene 4 cm^3 คนสารด้วยเครื่อง vortex นาน 1 นาที จนได้สารแยกชั้น ตั้งทิ้งไว้ 1-2 นาที

2.5.7 ดูดสารละลายที่มีสีเหนือผิวของ toluene 2.5 cm^3 ใส่หลอดก้นแหลม นำไป centrifuge ที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที แล้วดูดสารละลายที่อยู่ชั้นบน 2 cm^3 ใส่ใน spectrophotometer cell

2.5.8 นำไปวัดค่า absorbance ที่ความยาวคลื่นแสง 520 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยใช้ toluene เป็น blank

2.5.9 หาปริมาณโพรลีนโดยใช้ standard curve และคำนวน โดยใช้สูตร

$$\mu mol\ proline\ g^{-1}fw = \frac{(\mu g\ proline\ cm^{-3} \times cm^{-3}\ toluene)}{115.5\ \mu g\ mole\text{-}1} \times \frac{2}{(g.fw\ sample)}$$

2.6 <u>การวิเคราะห์ปริมาณ insoluble protein (ISP)</u>

2.6.1 ชั่งใบหม่อนหนัก 0.1 กรัม บดละเอียด แล้วเติม Tris buffer 4 cm^3

2.6.2 centrifuge ที่ความเร็ว 3,000 รอบ/นาที นาน 10 นาที

2.6.3 รินสารละลายส่วนบนทิ้ง นำส่วนที่ตกตะกอนมาล้างส่วนที่เป็นสีเขียวออกให้หมด โดยเติม 2 cm^3 ของ 1:1 (v/v) of chloroform and methanol แล้ว centrifuge นาน 10 นาที ที่ความเร็วรอบเท่าเดิม ก่อนที่จะรินสารละลายส่วนบนทิ้ง

2.6.4 ดำเนินการซ้ำตามข้อ 4.3 อีกประมาณ 1-2 ครั้ง หรือจนกว่าสีเขียวจะหมดไป

2.6.5 รินสารละลายส่วนบนทิ้ง แล้วเติม absolute methanol จำนวน 2 cm^3 centrifuge 10 นาที เพื่อล้างคลอโรฟิลล์ บางส่วนที่ผิวยังหลงเหลืออยู่ให้หมด

2.6.6 รินสารละลายส่วนบนทิ้งไป แล้วเติม 1N NaOH จำนวน 1 cm^3 นำไปต้มใน water bath ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะทำละลายหมด และเห็นสารละลายเป็นใสๆ สีเหลืองอ่อนๆ จึงดูดมา 1 cm^3

2.6.7 เติม copper sulfate reagent 5 cm^3 ทิ้งไว้ 10 นาที

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.6.8 เติม folin & ciocalteu's phenol reagent จำนวน 0.5 cm^3 ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จะเกิดสารละลายสีน้ำเงิน

2.6.9 วัดปริมาณ insoluble protein ดัดแปลงใช้วิธีของ Lowry และคณะ (1951) โดยนำสารละลายสีน้ำเงินที่ได้ไปวัดค่า absorbance ที่ความยาวคลื่นแสง 520 nm ด้วยเครื่อง spectrophotometer ใช้น้ำกลั่นเป็น blank นำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับ standard curve เพื่อหาค่าของ insoluble protein โดยมีหน่วยเป็น mg/g.fw

2.7 <u>การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ (chl)</u>

ใช้วิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Arnon (1949) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

2.7.1 ตัดใบหม่อนด้วย cork borer ที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.13 เซ็นติเมตร จำนวน 5 ชิ้น (5.016 ตารางเซ็นติเมตร) แช่ในสารละลาย acetone 80% ปริมาตร 5 cm^3 ปิดด้วยฝาจุกเกลียว

2.7.2 เก็บไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง นาน 16 ชั่วโมง

2.7.3 นำสารละลายที่ได้วัดค่า absorbance ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่นแสง 645 และ 663 nm.

2.7.4 คำนวนปริมาณ chl โดยใช้สูตร ซึ่งรวบรวมโดย Arnon (1949) และตรวจสอบโดย Bruinsma (1961) ดังนี้

$$\text{chl a} = 12.72\ A663 - 2.58\ A645$$

$$\text{chl b} = 22.87\ A645 - 4.67\ A663$$

$$\text{chl (a+b)} = 20.20\ A645 + 8.02\ A663$$

2.8 <u>การวัดปริมาณน้ำในใบ</u> (water saturation deficit, WSD และ relative water content, RWC) ดัดแปลงใช้วิธีการของ Weatherley & Slatyer (1957) Turner (1981) และ Kramer (1983) ดังนี้

2.8.1 เจาะใบหม่อนด้วย cork borer ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.13

เซ็นติเมตร จำนวน 5 ชิ้น (พื้นที่ใบ = 5.016 ตารางเซ็นติเมตร) ใส่ในขวดแก้วสำหรับชั่งน้ำหนัก และชั่งน้ำหนักสด (FW)

2.8.2 วางใบหม่อนบนผิวน้ำกลั่น ใน petri dish ขนาด 40 x 10 มิลลิเมตร ที่มีน้ำกลั่น ปริมาตร 3 cm^3

2.8.3 บรรจุ petri dish ตามข้อ 6.2 ลงในกล่องพลาสติคใสที่สามารถเก็บรักษาความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศในกล่องได้สูงตลอด 6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสงจากหลอด fluorescent (หลอด daylight) มีความเข้มแสงประมาณ 30 μmole $m^{-1}s^{-1}$ (PAR)

2.8.4 เมื่อครบ 6 ชั่วโมง นำแผ่นใบออกและซับผิวใบด้วยกระดาษกรองก่อนจะใส่ลงในขวดสำหรับชั่ง แล้วชั่งน้ำหนักโดยเร็วเพื่อหาค่าการอิ่มตัวของน้ำ (Turgid weight, TW)

2.8.5 นำใบไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง แล้วชั่งหาน้ำหนักแห้ง (DW)

2.8.6 คำนวณ ค่า WSD และ RWC จากสูตรดังนี้

$$WSD\ (\%) = \frac{TW - FW}{TW - DW} \times 100$$

$$RWC\ (\%) = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100$$

2.9 <u>การวิเคราะห์การเจริญเติบโต</u>

ใช้วิธีการของ Evans (1982) โดยวัดค่า Relative growth rate (RGR) Net assimilation rate (NAR) Leaf area ratio (LAR) Root/Shoot ratio Leaf number (Ln) ความกว้างของใบ ความยาวของใบ พื้นที่ใบ และ Harvest index (HI) โดยดำเนินการควบคู่กับการวิเคราะห์ในข้อ 5 และ 6 ดังนี้

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.9.1 วัดการเจริญเติบโตของส่วนยอด ประกอบด้วย การวัดความยาวของกิ่ง นับจำนวนกิ่งต่อต้น จำนวนใบต่อกิ่ง (ตามระบบการวัดของสถาบันวิจัยหม่อนไหม กรมวิชาการเกษตร) เพื่อศึกษาองค์ประกอบของผลผลิต

2.9.2 วัดขนาดและพื้นที่ของใบ โดยวัดขนาดความกว้าง ยาว ของใบทุกใบ และวัดพื้นที่ใบด้วย planimeter

2.9.3 การวิเคราะห์ root:shoot ratio ดัดแปลงใช้วิธีการ ของ Evans (1982) โดยนำส่วนยอด (ใบและกิ่ง) และราก ใส่ในขวดแก้วนำไปใส่ตู้อบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และย้ายมาที่ตู้อบอุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นชั่งน้ำหนักแห้งด้วยเครื่องชั่งชนิดละเอียด

2.9.4 นำข้อมูล 2.9.1, 2.9.2 และ 2.9.3 ไปวิเคราะห์ด้านองค์ประกอบของผลผลิต ดังนี้

2.9.4.1 จำนวนใบต่อต้น

2.9.4.2 ความกว้างของใบ

2.9.4.3 ความยาวของใบ

2.9.4.4 พื้นที่ใบ

2.9.4.5 จำนวนกิ่ง และใบต่อต้น

2.9.4.6 ความยาวปล้อง

2.9.5 ข้อมูล 2.9.2 และ 2.9.3 นำไปคำนวณหาค่า RGR, NAR, LAR, root/shoot ratio และ HI ซึ่งมีสูตรคำนวณดังนี้

2.9.5.1 หาค่า RGR ใช้สูตรของ Evans (1982)

$$RGR = \frac{\log_{e_2} W - \log_{e_1} W}{{}_2T - {}_1T}$$

2.9.5.2 หาค่า NAR หรือ Unit leaf rate (ULR) ใช้สูตรของ William อ้างถึงใน Hunt (1982)

$$NAR = \frac{{}_2W - {}_1W}{{}_2T - {}_1T} \cdot \frac{\log_e {}_2L_A - \log_e {}_1L_A}{{}_2L_A - {}_1L_A}$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักแห้งใบ (กรัม) ในช่วงเวลาที่ 1

W_2 = น้ำหนักแห้งใบ (กรัม) ในช่วงเวลาที่ 2

L_{a1} = พื้นที่ใบทั้งหมดของพืชในช่วงเวลาที่ 1(ตร.ซม.)

L_{a2} = พื้นที่ใบทั้งหมดของพืชในช่วงเวลาที่ 2(ตร.ซม.)

T_1 = ช่วงเวลาที่ 1

T_2 = ช่วงเวลาที่ 2

2.9.5.3 Leaf Area Ratio (LAR) ใช้สูตร

$$LAR = \frac{A}{W} = \frac{A_1 + A_2}{W_1 + W_2}$$

เมื่อ A = อัตราส่วนของพื้นที่ใบ

W = น้ำหนักแห้งของพืชทั้งต้น

และ $A = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของใบ}}{\text{น้ำหนักแห้งของพืชทั้งต้น}}$

$W = \frac{\text{พื้นที่ใบ}}{\text{น้ำหนักแห้งของใบ}}$

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.9.5.4 หาค่า HI ใช้สูตร ซึ่งเสนอโดย เฉลิมพล แซมเพชร (2535)

$$HI = \frac{\text{Economic yield}}{\text{Biological yield}} = \frac{\text{น้ำหนักผลผลิต}}{\text{น้ำหนักแห้งทั้งหมด}}$$

2.10 ศึกษาการฟื้นตัวกลับสู่สภาวะปกติ (rewatering)

ศึกษาการฟื้นตัวกลับสู่สภาวะปกติหลังจากขาดน้ำได้ 4 และ 8 วัน โดยให้น้ำในปริมาณเท่ากับ control ต่อไปอีกเป็นระยะเวลา 4 และ 8 วัน แล้วนำมาวิเคราะห์ตามข้อ 2.5, 2.6, 2.7 และ 2.8

2.11 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

โดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ของ treatment ในแต่ละชุดทดลอง เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT (DUNCAN MULTIPLE RANGE TEST) การวิเคราะห์ใช้โปรแกรมสำเร็จรูป DOA STAT และ IRRISTAT บนเครื่องไมโครคอมพิวเตอร์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย