บทที่ 2

อุปกรณ์และวิธีดำเนินการศึกษา

พืชที่ใช้ในการทดลอง

หม่อนจำนวน 5 พันธุ์ ที่ใช้ในการศึกษาเรื่องนี้ ได้แก่ พันธุ์ บุรีรัมย์ 60 น้อย ใหญ่ บุรีรัมย์ คุณไพ และไผ่ ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์ท่อนพันธุ์จากแปลงรวบรวมและบำรุงรักษาเชื้อพันธุกรรมหม่อน ศูนย์วิจัยหม่อนไหมศรีสะเกษ สถาบันวิจัยหม่อนไหม กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

หม่อนแต่ละพันธุ์มีประวัติย่อ ๆ ดังนี้

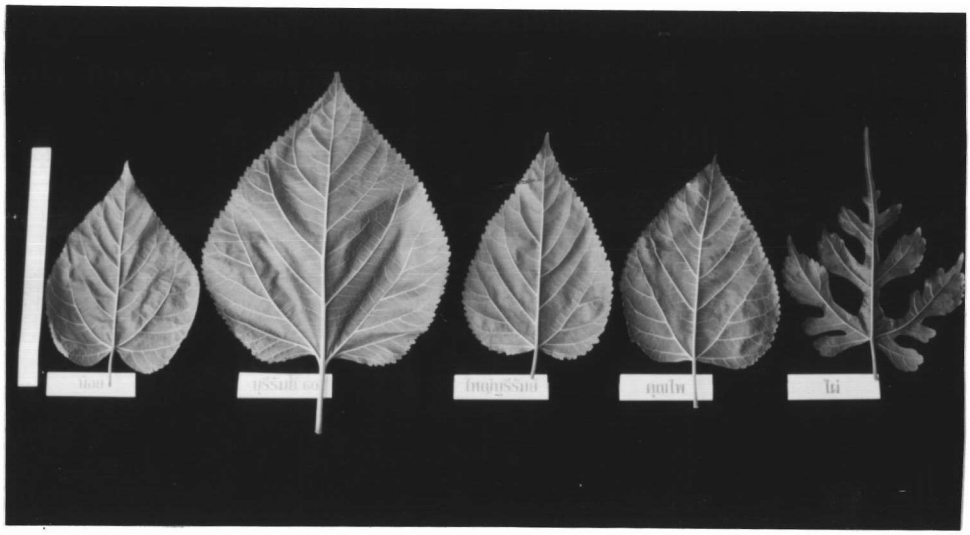
1. บุรีรัมย์ 60 เป็นหม่อนได้จากการผสมระหว่างพันธุ์หม่อนหมายเลข 44 จากสาธารณรัฐประชาชนจีน กับพันธุ์น้อย ผ่านการรับรองพันธุ์จากกรมวิชาการเกษตร ปี 2530 เพศเมีย มีลำกิ่งขนาดใหญ่ ตัดแต่งแล้วแตกกิ่งได้เร็ว กิ่งสีน้ำตาล ขอบใบเรียบไม่มีเว้า ใบใหญ่หนา อ่อนนุ่ม ใบไม่เหี่ยวง่าย (กรมส่งเสริมเกษตร, 2536) ให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์พื้นเมืองทุกพันธุ์ ให้ผลผลิต 3,500-4,000 กก/ไร่/ปี ไม่ต้านทานต่อโรคและแมลงศัตรูทุกชนิด (กรมวิชาการเกษตร, 2536)

2. น้อย เป็นหม่อนพันธุ์พื้นเมืองเพศผู้เกษตรกรนิยมปลูกมาก กิ่งมีขนาดใหญ่ผิวลำต้นมีสีนวล ทรงต้นผอมสูง จำนวนตามาก การติดของตากับกิ่งแบนแนบกิ่ง ใบรูปใบโพธิ์ หนาเป็นมัน ขอบใบเรียบ ฐานใบเป็นรูปหัวใจ ปริมาณขนที่ใบน้อย (หยกแก้ว, 2519) ผลผลิต 1,500-2,000 กก/ไร่/ปี ไม่ทนทานต่อโรคและแมลง โรคที่สำคัญคือ โรครากเน่า โรคราแป้ง โรคใบด่าง โรคแบคทีเรียลไบลท์ แมลงศัตรูคือเพลี้ยแป้ง เพลี้ยไฟและแมลงหวี่ขาว (ประทีป มีศิลป์, 2537)

3. ใหญ่บุรีรัมย์ เป็นหม่อนพันธุ์พื้นเมือง เพศเมีย มีลำกิ่งขนาดใหญ่ ขอบใบเรียบไม่มีเว้า ใบบาง ผลผลิต 1,500 กก/ไร่/ปี ต้านทานต่อโรครากเน่าในบางพื้นที่ เช่น ในเขตอำเภอพุทไธสง จังหวัดบุรีรัมย์ จังหวัดอุบลราชธานี เป็นต้น ขยายพันธุ์ด้วยท่อนพันธุ์ได้ง่าย ทนแล้งได้ดีพอสมควร (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2536)

4. คุณไพ เป็นหม่อนพันธุ์พื้นเมือง เพศเมีย ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ มีลำกิ่งขนาดใหญ่ไม่ค่อยมีกิ่งแขนง ขอบใบส่วนมากไม่เว้าแต่จะมองเห็นขอบใบเป็นคลื่น ให้ผลผลิตสูงถ้ามีการดูแลรักษาดี โดยเฉพาะถ้าปลูกในเขตจังหวัดเพชรบูรณ์ซึ่งสภาพแวดล้อมค่อนข้างดี หม่อนคุณไพจะให้ผลผลิตประมาณ 1,000-1,300 กก/ไร่/ปี และต้านทานต่อโรครากเน่าในบางพื้นที่ เป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกกันมาก เนื่องจาก มีการเจริญเติบโตของกิ่ง และยอดรวดเร็ว แม้ใบจะบางกว่าหม่อนน้อย ในหลายพื้นที่ของภาคเหนือมีการปลูกพันธุ์นี้อย่างกว้างขวาง (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2536)

5. ไผ่ เป็นหม่อนเพศเมีย ลำกิ่งอ่อนโค้ง มีสีน้ำตาลอมเขียว ใบค่อนข้างบาง สากมือ ใบเว้าลึกถึงกลางใบ ฐานใบมีส่วนยื่นชี้ออกมาทั้ง 2 ข้าง ขนที่ใบน้อย ตาถี่ ตาติดแนบกิ่ง (หยกแก้ว, 2519) ผลผลิตต่ำประมาณ 300-1,200 กก/ไร่/ปี ต้านทานโรครากเน่า เหมาะสำหรับปลูกเป็นต้นตอ (กรมวิชาการเกษตร, 2536)



ภาพที่ 2.1 รูปใบของหม่อนทดลอง พันธุ์ น้อย บุรีรัมย์ 60 ใหญ่บุรีรัมย์ คุณไพ และไผ่ (เรียงจากซ้ายไปขวา)

<u>อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาลักษณะสรีรวิทยาและสัณฐานวิทยา</u>

1. อุปกรณ์และสารเคมีสำหรับปักชำกิ่งตัวอย่างเพื่อศึกษาลักษณะสรีรวิทยาและสัณฐานวิทยา
   1) ถุงพลาสติกใสขนาด 5x8 นิ้ว
   2) ถาดพลาสติกเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 นิ้ว
   3) ทราย
   4) กรรไกรตัดแต่งกิ่ง

5) เครื่องชั่งหยาบชนิด 50 กิโลกรัม

6) พลั่ว

7) ที่ร่อนทราย

8) ป้ายผูกตัวอย่าง

9) สารเคมีสำหรับเตรียมสารละลายตามสูตรของ Hoagland (1938) อ้างถึงใน Salisbury and Ross (1992)

10) ยาปราบศัตรูพืช: ยากันเชื้อรา Benlate และยาฆ่าแมลงศัตรูพืช Azodril

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาลักษณะทางสรีรวิทยา

2.1 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์

1) ขวดแก้วมีฝาปิด

2) สารละลาย acetone เข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์

3) อุปกรณ์เจาะแผ่นใบเส้นผ่าศูนย์กลาง 1.13 เซนติเมตร

4) Spectrophotometer

5) กระดาษ label

2.2 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวัดปริมาณ soluble และ insoluble protein

1) หลอดทดลองชนิดก้นแหลม ปริมาตร 15 ลูกบาศก์เซนติเมตร

2) โกร่งบดตัวอย่าง

3) ทรายบดตัวอย่าง

4) เครื่อง centrifuge

5) กระติกน้ำแข็ง

6) กระดาษ label

7) จานแก้ว

8) บีกเกอร์

9) แท่งแก้วคน

10) ไมโครปิเปต

11) spectrophotometer

12) อ่างควบคุมอุณหภูมิ

13) หลอดหยด

14) กระบอกตวง

15) สารเคมีต่าง ๆ

- 5 และ 10% Trichloroacetic acid
- 1 N Sodium hydroxide
- 1 N Folin & Ciocalteu's Phenol Reagent
- Chloroform
- Methanol
- Copper sulphate reagent (0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ของ copper sulfate, 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ของ 2% sodium/potassium tartrate และ 50 ลูกบาศก์เซนติเมตร ของ 2% sodium carbonate)
- Tris buffer pH 7.5 (0.04 M Tris (hydroxymethyl) methylonine 4 ลูกบาศก์-เซนติเมตร, 0.1 M Magnesium sulphate 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร, 0.025 M EDTA (Ethylene Diamine Tetra-acetic Acid) 25 ลูกบาศก์เซนติเมตร)

2.3 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวัดอัตราการสังเคราะห์แสงโดยใช้เครื่อง Infrared Gas Analyzer (IRGA)

1) Infrared Gas Analyzer รุ่น LCA-3 (ADC Hoddeson UK.)
2) Overhead Projector
3) ขาตั้งเหล็ก
4) เครื่องวัดความเข้มแสง รุ่น LI-189 (Licor, USA)
5) นาฬิกาจับเวลา

2.4 อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการวัดการสังเคราะห์แสงโดยใช้ Oxygen electrode

1) Oxygen Electrode รุ่น LD2 (Hansatech Ltd., UK)
2) Control box รุ่น CB1D (Hansatech Ltd., UK)
3) อ่างควบคุมอุณหภูมิแบบหมุนเวียนรุ่นT (Lauda, Drr. Wobser Gmbh & Co. Kg, Germany)
4) เครื่องบันทึกผล (pen recorder) รุ่น 21 mV/volt module 2000 (Linear Instrument Corporation, USA)
5) อุปกรณ์ให้แสงสว่าง รุ่น LS1 (Hansatech Ltd., UK)
6) spacer
7) teflon membrane

8) สารเคมี

- 1.0 M $NaHCO_3$
- 50% KCl

9) ปากคีบ

10) จานแก้ว

11) กระดาษกรอง

12) อุปกรณ์เจาะแผ่นใบขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.57 เซนติเมตร

2.5 ห้องควบคุมสภาวะแวดล้อม

หม่อนที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ส่วนใหญ่จะปลูกในห้องควบคุมสภาวะแวดล้อม ของภาควิชาพฤกษศาสตร์ ซึ่งจะมีการควบคุมปัจจัยทางกายภาพต่าง ๆ ดังนี้

ช่วงเวลาที่ได้รับแสง 12 ชั่วโมง

ความเข้มแสงที่ปลายกิ่ง 100-120 μmol $m^{-2}s^{-1}$

ความชื้นสัมพัทธ์ 60-65 เปอร์เซ็นต์

อุณหภูมิ 25$\pm$3 องศาเซลเซียส

2.6 เรือนกระจกภาควิชาพฤกษศาสตร์

ตัวอย่างพืชทดลองที่ปลูกในเรือนกระจกสามารถควบคุมการให้น้ำ และธาตุอาหาร (Hoagland, 1938 อ้างถึงใน Salisbury and Ross, 1922) ส่วนปัจจัยทางกายภาพอื่น ๆ ไม่ได้ควบคุม

3. อุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา

1) ขวดแก้วใส่ตัวอย่าง

2) ไม้บรรทัด

3) ไม้บรรทัดวัดจำนวนองศา

<u>วิธีดำเนินการศึกษา</u>

1. การศึกษาเปรียบเทียบลักษณะทางสรีรวิทยา

การทดลองของหัวข้อนี้ใช้การวางแผนแบบการทดลองแบบสุ่มตลอด CRD (Completely Randomized Design)

1.1 การวัดปริมาณคลอโรฟิลล์ (chl)

ศึกษาจากตัวอย่างจำนวน 10 ซ้ำ นำตัวอย่างใบพืชจากกิ่งปักชำที่กางเต็มที่แล้ว ศึกษาที่อายุหลังปักชำ 12, 16, 20, 24, 28, 32 และ 36 วัน ในการวัดปริมาณคลอโรฟิลล์จะดัดแปลงวิธีการของ Arnon (1949) โดยมีขั้นตอนการศึกษาดังนี้

1) เจาะแผ่นใบด้วยอุปกรณ์เจาะแผ่นใบจำนวน 4 ชิ้น

2) นำไปใส่ในขวดแก้วมีฝาปิดซึ่งมีสารละลาย acetone 80% ปริมาตร 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร

3) เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง รินน้ำใสไปวัดค่า absorbance ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 645 และ 663 nm

4) นำมาแทนค่าลงในสูตรการหาปริมาณคลอโรฟิลล์ซึ่งรวบรวม โดย Arnon (1949) และตรวจสอบโดย Bruinsma (1961)

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

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

$$\text{Chl (a+b)} = 8.05A663 + 20.29A645$$

หน่วยที่ใช้ในการศึกษา mg l^{-1}

1.2 การวัดปริมาณ soluble protein และ insoluble protein

ใช้ตัวอย่างพืชชุดเดียวกันกับที่ใช้วัดปริมาณคลอโรฟิลล์ โดยดัดแปลงวิธีการของ Lowry, Rasebrough, Farr และ Randall (1951) ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

- การหาปริมาณ soluble protein

1) ตัวอย่างใบ น้ำหนัก 0.1 กรัม บดในโกร่งให้ละเอียด

2) เติมสารละลาย Tris buffer pH 7.5 ปริมาตร 4 ลูกบาศก์เซนติ เมตร

3) นำไปตกตะกอนในเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วสูงสุด เป็นเวลา 10 นาที

4) ถ่ายน้ำใสส่วนบน 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร ลงในหลอดทดลอง และ เติมกรด Trichloroacetic เข้มข้น 10% ปริมาตร 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร

5) แช่หลอดในกระติกน้ำแข็งเป็นเวลา 30 นาทีแล้ว นำไปตกตะกอนที่ความเร็วเท่าเดิมเป็นเวลา 10 นาที

6) รินน้ำใสตอนบนทิ้งแล้วเติม กรด Trichloroacetic เข้มข้น 5% นำไปตกตะกอนที่ความเร็วเท่าเดิมเป็นเวลา 10 นาที

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

7) รินน้ำใสตอนบนทิ้งและเติม 1 N NaOH 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร นำไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 80 °c จนกระทั่งตะกอนละลายหมด

8) เติมสารละลาย Copper sulphate reagent 5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที

9) เติมสารละลาย Folin & Ciocalteu's Phenol Reagent 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที

10) นำไปวัดค่า absorbance โดยใช้เครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 520 nm

11) นำค่าที่วัดได้ไปหาปริมาณโปรตีนโดยเปรียบเทียบกับ standard curve เพื่อหาปริมาณ soluble protein

- การหาปริมาณ Insoluble protein

1) นำตะกอนจาก 3) จากการหาปริมาณ soluble protein มาเติมสารละลาย Chloroform และ Ethanol (อัตราส่วน 1:1) ปริมาตร 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร

2) นำไปตกตะกอน ที่ความเร็วเท่าเดิม เป็นเวลา 10 นาที เทน้ำใสส่วนบนทิ้งไป

3) ทำซ้ำ 4 ครั้ง จนกระทั่งน้ำส่วนบนใส

4) ดูดน้ำส่วนบนทิ้งแล้ว เติม Ethanol ปริมาตร 2 ลูกบาศก์เซนติเมตร

5) นำไปตกตะกอน ที่ความเร็วเท่าเดิม เป็นเวลา 10 นาที

6) ทำตามเช่นเดียวกันกับการหาปริมาณ soluble protein ตั้งแต่ข้อ 7) - 11)

1.3 การวิเคราะห์การเจริญเติบโต (Growth analysis)

ศึกษาจากตัวอย่างพืชทดลอง จำนวน 5 ซ้ำ ปลูกพืชทดลองใน บริเวณเรือนกระจก ภาควิชาพฤกษศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เก็บข้อมูลเบื้องต้นที่อายุหลังปักชำที่ 8, 16, 24 และ 32 วัน โดยการ

1) นับจำนวนกิ่ง

2) วัดความยาวกิ่ง

3) วัดความยาวและความกว้างใบย่อยที่กางแล้วทุกใบนำไป หาพื้นที่ใบโดยใช้วิธีการแทนค่าในสมการถดถอยเชิงเส้น (ภาพที่ 5.1-5.5)

4) นับจำนวนใบ

5) หาน้ำหนักแห้งใบ โดยนำใบย่อยทุกใบใส่ในขวดแก้วอบในตู้อบ ที่อุณหภูมิ 105°c นาน 30 นาที แล้วย้ายมาที่อุณหภูมิ 80°c นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปชั่งด้วยเครื่องชั่ง

ชนิดละเอียด

นำข้อมูลจาก 5) ไปคำนวนหาค่า Relative Growth Rate ซึ่งมีสูตรการคำนวณดังนี้ (Evans, 1988)

$$RGR = \frac{\log_e W_2 - \log_e W_1}{T_2 - T_1}$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักแห้งใบ (g) ในช่วงเวลาที่ 1

W_2 = น้ำหนักแห้งใบ (g) ในช่วงเวลาที่ 2

T_1 = เวลาในช่วงที่ 1

T_2 = เวลาในช่วงที่ 2

นำข้อมูลจาก 3) และ 4) ไปคำนวนหาค่า Relative Leaf area Growth Rate ซึ่งมีสูตรการคำนวณดังนี้ (Fisher, 1931)

$$RLaGR = \frac{\log_e LA_2 - \log_e LA_1}{T_2 - T_1}$$

เมื่อ LA_1 = พื้นที่ใบ ในช่วงเวลาที่ 1

LA_2 = พื้นที่ใบ ในช่วงเวลาที่ 2

T_1 = เวลาในช่วงที่ 1

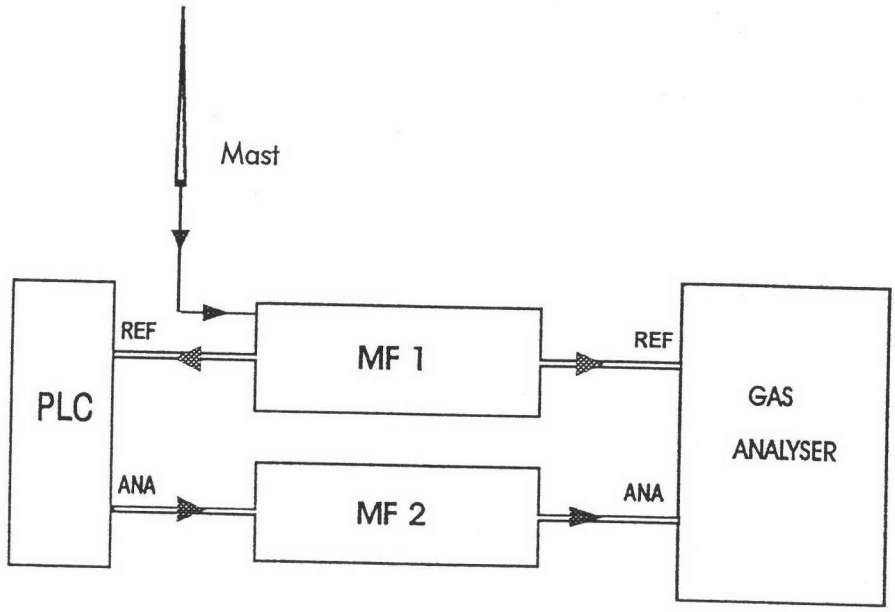
T_2 = เวลาในช่วงที่ 2

โดยกำหนดให้วันที่เริ่มเก็บผลการทดลอง คือ วันที่ 8 หลังจากปักชำกิ่ง เป็นวันที่ 0 ของการวิเคราะห์การเจริญเติบโต และวันที่เก็บผลการทดลองครั้งที่ 2-4 เป็น วันที่ 8 วันที่ 16 และวันที่ 24 ตามลำดับ

1.4 การวัดอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิโดยใช้เครื่อง IRGA

ใช้ตัวอย่างพืชทดลองจำนวน 10 ซ้ำ อายุหลังปักชำ 8 สัปดาห์ ใน 4 สัปดาห์แรก จัดพืชทดลองไว้ในเรือนกระจกภาควิชาพฤกษศาสตร์ หลังจากนั้นนำมาวางบนระเบียงทางเดินอาคารพฤกษศาสตร์ เป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ นำพืชทดลองมาศึกษาโดยใช้ใบที่กางเต็มที่ นำใบใส่เข้าใน leaf chamber ที่มีปริมาตร 16 ลูกบาศก์เซนติเมตร และ มีพื้นที่รับแสง 6.25 ตารางเซนติเมตร วัดการหายใจในที่มืด และวัดอัตราการสังเคราะห์แสงสุทธิด้วยเครื่อง Infrared gas analyzer ที่ความเข้มแสง

500 และ 1,500 μmol $m^{-2}s^{-1}$ โดยใช้แสงจากเครื่อง Overhead projector ใช้หลอดไฟ 360 วัตต์ อุณหภูมิช่วง 30±2°c flow rate ของอากาศ 250 ml min^{-1} เวลา นาน 1 นาที (ภาพที่ 2.2)



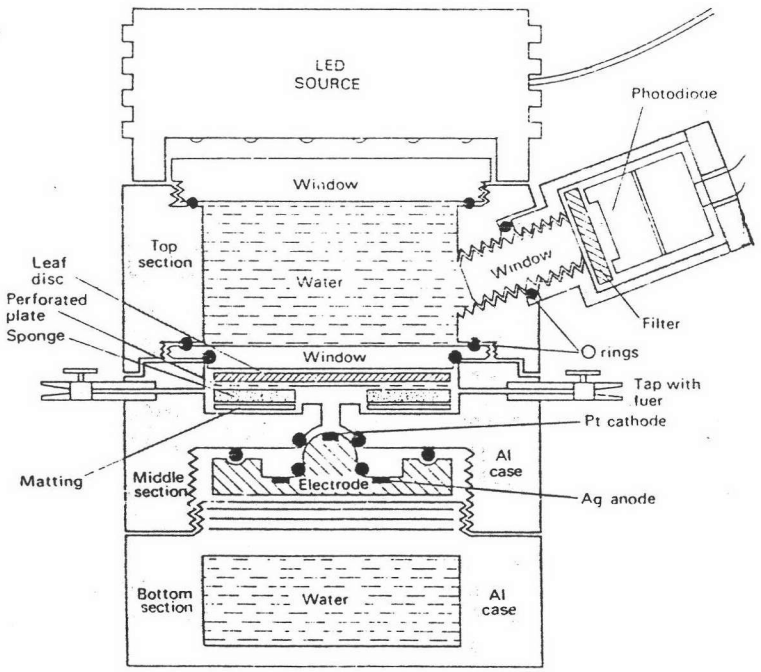
ภาพที่ 2.2 ผังแสดงอุปกรณ์ที่ใช้ในการวัดอัตราการสังเคราะห์ แสงโดยใช้เครื่อง IRGA (PLC = Plant leaf chamber, MF1 = Mass flow 1, MF2 = Mass flow 2, ANA = Sample gas, REF = Reference gas)

อากาศผ่าน mast เข้ามาที่ PLC ถูกปั๊มเข้ามาโดยผ่าน MF1 (mass flow 1) และไปยัง PLC ค่า Reference air ส่งไปยัง gas analyzer ขณะเดียวกันปริมาณก๊าซที่ตัวอย่างทดลองผ่าน PLC แล้วผ่านเข้า MF2 ส่งไปที่ gas analyzer เครื่องจะบันทึกผลและคำนวณค่าต่าง ๆ แสดงออกมาทางหน้าจอและบันทึก ไว้ในหน่วยความจำ อัตราการสังเคราะห์แสงที่วัดเป็นค่า Pn (Net Photosynthesis)

1.5 การวัดอัตราการสังเคราะห์แสงโดยใช้ Oxygen electrode

ศึกษาจากตัวอย่างพืชทดลองจำนวน 5 ซ้ำ อายุหลังปักชำ 8 สัปดาห์ ใช้ใบตำแหน่งที่ 2 จากยอด นำใบตัวอย่างที่กางเต็มที่แล้ว เจาะด้วยอุปกรณ์เจาะแผ่นใบขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3.57 เซนติเมตร ได้พื้นที่ใบ 10 ตารางเซนติเมตร นำแผ่นใบที่เจาะ (leaf disc)วางในจานแก้วที่มีกระดาษกรองชื้นวางอยู่ เก็บตัวอย่างไว้ในที่มืดจนกว่าจะนำตัวอย่างมาใช้ทดลอง เมื่อเริ่มทดลองจัดแผ่นใบที่เจาะและอุปกรณ์ต่าง ๆ ภายใน leaf chamber มีการจัดวางชั้นต่าง ๆ ดังนี้ โดยที่ใบตัวอย่างอยู่ชั้นบนสุด (ภาพที่ 2.3)

ภาพที่ 2.3 ผังแสดงตำแหน่งของแผ่นใบและอุปกรณ์ต่าง ๆ ภายใน leaf chamber



ภาพที่ 2.4 ผังแสดงอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในการวัดอัตราการสังเคราะห์แสง โดยใช้ Oxygen electrode

จัดวางลงในส่วนกลางของแท่น มี O_2 electrode วางบนแท่นล่างและด้านบนชิดกับ leaf chamber แท่นส่วนบนมีน้ำ ต่อจากอ่างควบคุมอุณหภูมิไหลเวียน และ ต่อกับแท่น ล่างโดยมีสายยางอ่อนเชื่อมกัน (ไม่ได้แสดงในรูป) ที่ใต้แท่นด้านบนติดกับ leaf chamber มี window ที่สามารถให้แสงจากอุปกรณ์ให้แสงสว่าง ส่องผ่านลงไปยังแผ่นใบได้ และ ส่วนนี้ ยึดติดกับ leaf chamber โดยมี clip ยึดด้านข้างทั้ง 2 ข้าง และ ช่อง taps สำหรับใช้ในการ calibration (Walker, 1988) ในการทดลองใช้ bicarbonate buffer (1.0 M sodium hydrogen carbonate 0.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร) เป็น CO_2 source ควบคุมให้ leaf chamber อุณหภูมิคงที่ที่ 20°c โดยต่อกับอ่างควบคุมอุณหภูมิแบบหมุนเวียน นำแผ่น

ใบที่เจาะแล้ววางใน leaf chamber ชั้นบนสุดวัด วัดการหายใจในที่มืด Oxygen evolution ที่ความเข้มแสง 500 และ 1,000 μmol $m^{-2}s^{-1}$ ตามลำดับ โดยใช้อุปกรณ์ให้ แสงสว่าง (LS1) นำค่าที่อ่านได้จากเครื่องบันทึกผลไปคำนวณหา Oxygen evolution (Walker, 1988) โดยใช้สูตร

$$\text{Oxygen evolution} = \frac{\text{DATA} \times N \times 10{,}000 \times 273}{(\text{STANDARD})(10\text{cm}^2)\ (5\ \text{min.} \times 60\ \text{sec.})\ (273+20^{o}\text{c})}$$

เมื่อ $N = \frac{\text{ปริมาตรอากาศที่ eject} \times 21 \times 1000}{22.4}$

DATA = ผลการทดลองที่วัดได้และบันทึกโดยเครื่องบันทึกผล มีหน่วยเป็นเซนติเมตร

STANDARD = ค่าเฉลี่ยจากการทำ calibration 3 ครั้ง โดยใช้ อากาศที่ทราบปริมาตรและบันทึกโดยเครื่องบันทึกผล (เซนติเมตร) Oxygen evolution หน่วยเป็น μmol O_2 $m^{-2}s^{-1}$

2. การศึกษาเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยา

ลักษณะสัณฐานวิทยาที่ใช้ได้แก่:-

คำย่อ	ลักษณะสัณฐานวิทยา
BN	จำนวนของกิ่งใหม่ที่แตก
BL	ความยาวกิ่งใหม่ที่แตก
NN	จำนวนข้อ
LN	จำนวนใบทั้งหมด
LB	ความกว้างของแผ่นใบ
LL	ความยาวของแผ่นใบ
ARL	ความยาวของรากเฉลี่ย
LRL	ความยาวของรากยาวที่สุด

โดยใช้กิ่งปักชำที่อายุหลังปักชำ 2 สัปดาห์ และ 4 สัปดาห์ จำนวนพันธุ์ละ 10 ตัวอย่าง นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ตัวแปรพหุคูณโดยใช้ เทคนิคการวิเคราะห์การจัดจำแนก (Discriminant Analysis)

เพื่อหาข้อสรุปว่า ลักษณะสัณฐานวิทยาใดเป็นลักษณะที่จะบอกความแตกต่างของหม่อน ทั้ง 5 พันธุ์ และมีความสำคัญต่อการใช้ทำนายผลผลิตของหม่อน

3. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำผลจากการทดลองในหัวข้อ 1 มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี DMRT (Duncan's multiple range test) โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูล SPSS/PC^{+} คำนวณค่าทางสถิติ