

ภาคผนวก

## ภาคผนวกที่ 1 วิธีการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์

โดยอาศัยวิธีของ Arnon 1994

ทำการสุ่มใบพญาขอโดยใช้ใบที่เจริญเติบโตสูงสุด หรือใบตำแหน่งข้อที่ 2-3 จากยอด จากนั้นนำใบพญาขอมาหั่นฝอยละเอียดแล้วนำไปชั่งปริมาณ 1 กรัม นำใบพญาขอที่ชั่งได้ของแต่ละซ้ำมาบดในครกหินให้ละเอียด แล้วละลายด้วย อะซิโตน (acetone) 80 เปอร์เซ็นต์ นำสารละลายที่ได้ไปกรองโดยใช้กระดาษกรอง ALBET 145 สังเกตว่าถ้ามีสีเขียวของใบพญาขอเหลืออยู่ก็ให้เติม อะซิโตน 80 เปอร์เซ็นต์จนกระทั่งสีเขียวหมดไป สารละลายที่ได้จะมีสีเขียวแล้วนำมาปรับปริมาตรเท่ากับ 100 มิลลิเมตร ด้วยอะซิโตน 80 เปอร์เซ็นต์แล้วนำไปอ่านค่า โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ของ Milton Roy รุ่น spectronic genesys 5 อ่านค่าที่วัดได้ที่ความยาวคลื่นแสงเท่ากับ 645 นาโนมิเตอร์ และ 663 นาโนมิเตอร์ นำค่าที่อ่านได้จากความยาวคลื่นแสงทั้งสองมาคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ a b และคลอโรฟิลล์รวม โดยใช้สูตร

$$Ca = 12.7 \times D663 - 2.69 \times D645$$

$$Cb = 22.9 \times D645 - 4.68 \times D663$$

$$\text{Total chlorophyll (a+b)} = 8.02 D663 + 20.20 D645$$

โดยที่ Ca = ความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์เอ (chlorophyll a) มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสดใบ

Cb = ความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์บี (chlorophyll b) มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสดใบ

Total chlorophyll (a+b) = ความเข้มข้นของคลอโรฟิลล์รวม มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักสดใบ

D663 = ค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 663 นาโนเมตร

D645 = ค่า absorbance ที่ความยาวคลื่น 645 นาโนเมตร

## ภาคผนวกที่ 2 ขั้นตอนและวิธีการทำสไลด์ถาวรเนื้อเยื่อพืช

### ขั้นตอนการทำสไลด์ถาวร

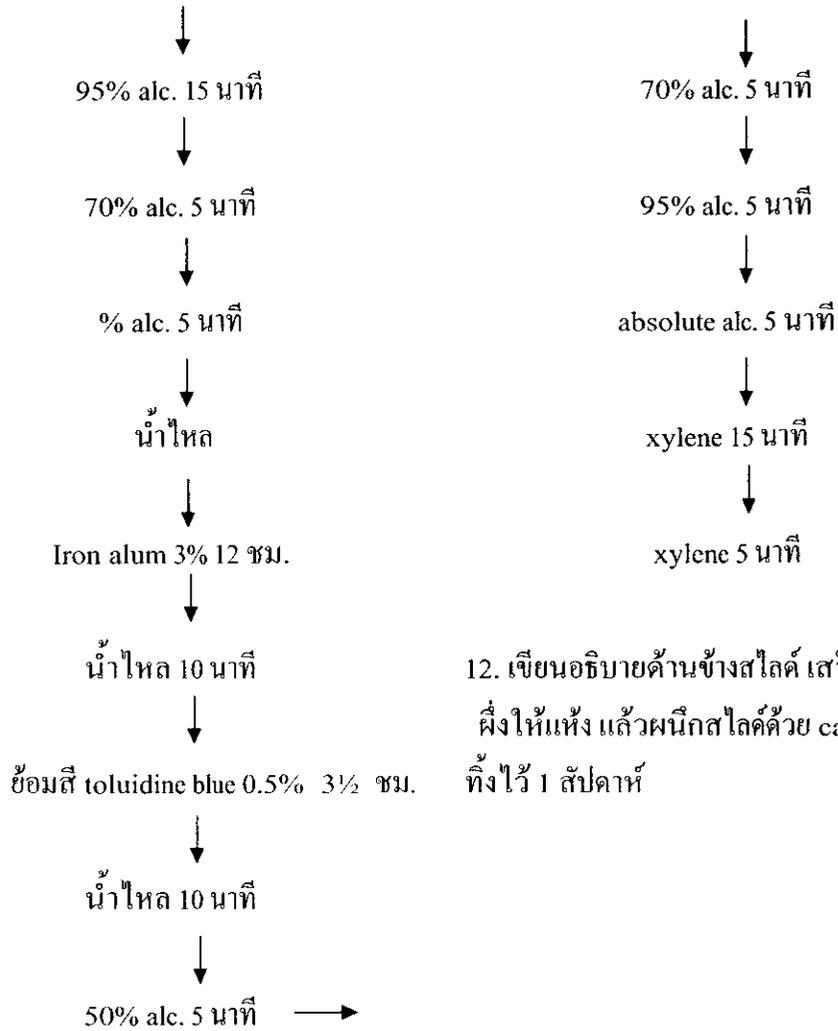
1. Fix ชิ้นส่วนในน้ำยา fixative ประกอบด้วย alc. 95% 3 ส่วน : glacial acetic acid 1 ส่วน  
24 ชม. (suction 12 ชม.)
2. ย้ายลงใน 70% alc ใส่ในตู้เย็น (ขั้นตอนนี้เก็บไว้ได้นาน ถ้าไม่เก็บก็ทำต่อข้อ 3)
3. ค้างน้ำออกจากเซลล์
  - 3.1 แช่ในส่วนผสม 95% alc. 15 ml : TBA 50 ml : น้ำกลั่น 35 ml (2 ชม)
  - ↓
  - 3.2 แช่ในส่วนผสม 95% alc. 25 ml : TBA 75 ml (2 ชม)
  - ↓
  - 3.3 แช่ในส่วนผสม absolute alc. 75 ml : Isopropyl alc. 25 ml (2 ชม)
  - ↓
  - 3.4 แช่ใน TBA pure 1 คืน (24 ชม.)
4. TBA + paraffin (หลอมแล้ว) อัตราส่วน 1 : 1 เก็บไว้ที่ 60 องศา จนกว่าจะไม่มีกลิ่นของ TBA
5. ฝังใน paraffin
6. ตัดแต่งเป็นก้อน → ตัดบนแท่งไม้เตรียมตัดด้วยเครื่องตัดชิ้นส่วนพืชชนิดล้อหมุนให้  
ชิ้นส่วนที่ตัดมีความหนา 12 ไมครอน
7. เตรียมทำความสะอาดสไลด์ (โดยแช่ใน alc. 95%) เช็ดให้สะอาด แล้วเก็บใส่กล่อง
8. เตรียมน้ำยาคอนเทกซ์ ซึ่งประกอบด้วย
 

ไข่ขาว 20 ml	}	กรอง เก็บไว้ในตู้เย็น
Glycerin 20 ml		
Salicylic acid 1 กรัม		
9. เอน้ำยามาหยดบนสไลด์ 1 หยด แล้วใช้นิ้วถูจนหนืดให้ทั่วทั้งสไลด์ (ทำเสร็จแล้วต้องรีบใช้)
10. ตัดชิ้นส่วน (นำแผ่นสไลด์) วางบน slide warmer 40 องศาเซลเซียส แล้วหยคน้ำกลั่นลงบนแผ่น  
สไลด์ แล้วตัดชิ้นส่วนให้เป็น ribbon แล้วแบ่งเป็นชุด ๆ นำไปวางบนผิวของน้ำกลั่นบนแผ่น  
สไลด์ ทิ้งไว้ 12 ชม. เมื่อน้ำแห้งแล้วเก็บใส่กล่อง

## 11. ทำการย้อมสี

- prestaining → เอา paraffin

ออกด้วย xylene 2 ครั้ง ๆ ละ 5 นาที



12. เขียนอธิบายด้านข้างสไลด์ เสร็จแล้ว

ฝั่งให้แห้ง แล้วผนึกสไลด์ด้วย carada balsum

ทิ้งไว้ 1 สัปดาห์

**ตารางผนวกที่ 1** การวิเคราะห์ความสูงด้วยวิธี combine analysis

SOV	df	SS	MS	F-test
season (S)	2	1108.9623	554.4812	329.2**
Rep.within season	9	30.031806	3.336867	1.98*
Treatment (T)	3	7679.5847	2559.862	1519.81**
S x T	6	83.4243	13.90405	8.25*
Pooled error	27	33.83055	1.252983	
Total	47			

C.V. (%)= 2.82

หมายเหตุ : \* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\*\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

**ตารางผนวกที่ 2** การวิเคราะห์จำนวนกิ่งด้วยวิธี combine analysis

SOV	df	SS	MS	F-test
season (S)	2	29.63761667	14.818808	148.91*
Rep.within season	9	29.63761667	0.0262778	0.26ns
Treatment (T)	3	4.84086667	1.6136222	16.21**
S x T	6	1.12668333	0.1877806	1.89*
Pooled error	27	2.6869	0.0995148	
Total	47			

C.V. (%)= 6.74

หมายเหตุ : ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\*\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางผนวกที่ 3 การวิเคราะห์จำนวนข้อด้วยวิธี combine analysis

SOV	df	SS	MS	F-test
season (S)	2	29.637617	14.8188083	148.91**
Rep.within season	9	0.2365	0.02627778	0.26ns
Treatment (T)	3	4.8408667	1.61362222	16.21**
S x T	6	1.1266833	0.18778056	1.89*
Pooled error	27	2.6869	0.09951481	
Total	47			

C.V. (%)= 6.74

หมายเหตุ : ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\*\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางผนวกที่ 4 การวิเคราะห์ความยาวปล้องด้วยวิธี combine analysis

SOV	df	SS	MS	F-test
season (S)	2	0.9629167	0.4814583	5.16*
Rep.within season	9	1.95625	0.2173611	2.33*
Treatment (T)	3	166.4304167	55.4768056	594.4**
S x T	6	0.1870833	0.0311806	0.33*
Pooled error	27	2.52	0.0933333	
Total	47			

C.V. (%)= 4.02

หมายเหตุ : \* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\*\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางภาคผนวกที่ 5 การวิเคราะห์เส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นด้วยวิธี combine analysis

SOV	df	SS	MS	F-test
season (S)	2	0.03915417	0.01957708	13.26*
Rep.within season	9	0.0146188	0.00162431	1.1*
Treatment (T)	3	0.3445396	0.11484653	77.8*
S x T	6	0.0045792	0.00076319	0.52*
Pooled error	27	0.0398563	0.00147616	
Total	47			

C.V. (%)= 7.95

หมายเหตุ : \* แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ตารางภาคผนวกที่ 6 การวิเคราะห์ความยาวใบด้วยวิธี combine analysis

SOV	df	SS	MS	F-test
season (S)	2	4.45947917	2.22973958	9.64*
Rep.within season	9	2.59859375	0.2887326	1.25ns
Treatment (T)	3	34.9555729	11.651858	50.37**
S x T	6	0.83052083	0.1384201	0.6ns
Pooled error	27	6.24578125	0.2313252	
Total	47			

C.V. (%)= 4.48

หมายเหตุ : ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

\* แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

\*\* แตกต่างกันอย่างสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางภาคผนวกที่ 7 การวิเคราะห์ความกว้างใบด้วยวิธี combine analysis

SOV	df	SS	MS	F-test
season (S)	2	0.21485	0.107425	8.74*
Rep.within season	9	0.1801	0.02001111	1.63*
Treatment (T)	3	0.24101667	0.08033889	6.53**
S x T	6	0.03268333	0.00544722	0.44ns
Pooled error	27	0.33205	0.01229815	
Total	47			

C.V. (%)= 3.34

หมายเหตุ : ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\*\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางภาคผนวกที่ 8 การวิเคราะห์จำนวนใบด้วยวิธี combine analysis

SOV	df	SS	MS	F-test
season (S)	2	33807.167	16903.583	10.04*
Rep.within season	9	11221.5	1246.833	0.74ns
Treatment (T)	3	1480475	493491.667	293.17**
S x T	6	7241.5	1206.917	0.72ns
Pooled error	27	45449.5	1683.315	
Total	47			

C.V. (%)= 5.13

หมายเหตุ : ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\*\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางภาคผนวกที่ 9 การวิเคราะห์พื้นที่ไปด้วยวิธี combine analysis

SOV	df	SS	MS	F-test
season (S)	2	1.0457464	0.5228732	2.35*
Rep.within season	9	18.287996	2.0319996	9.14*
Treatment (T)	3	471.86562	157.28854	707.7**
S x T	6	7.3836145	1.2306024	5.54*
Pooled error	27	6.0007351	0.2222494	
Total	47			

C.V. (%)= 1.29

หมายเหตุ : \* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\*\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางภาคผนวกที่ 10 การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ด้วยวิธี combine analysis

SOV	df	SS	MS	F-test
season (S)	2	785.723119	392.861559	80.52**
Rep.within season	9	71.885513	7.98728	1.64*
Treatment (T)	3	4455.8346	1485.28	304.41**
S x T	6	659.27532	109.879	22.52**
Pooled error	27	126.85919	4.8792	
Total	47	6099.5778		

C.V. (%)= 7.29

หมายเหตุ : \* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\*\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางผนวกที่ 11 การวิเคราะห์ผลผลิตสดต่อต้นด้วยวิธี combine analysis

SOV	df	SS	MS	F-test
season (S)	2	1589.8173	794.90866	42.92**
Rep.within season	9	69.56	7.7289	0.42ns
Treatment (T)	3	2933.6	977.86	52.8**
S x T	6	296.95	49.492	2.67*
Pooled error	27	481.54	18.521	
Total	47			

C.V. (%)= 3.83

หมายเหตุ : ns ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\*\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางผนวกที่ 12 การวิเคราะห์ผลผลิตสดต่อไร่ด้วยวิธี combine analysis

SOV	df	SS	MS	F-test
season (S)	2	1880692	940346	222.9**
Rep.within season	9	39032	4336.9	1.03*
Treatment (T)	3	1636223.152	545408	129.29**
S x T	6	237992	39665	9.4**
Pooled error	27	109684	4218.6	
Total	47			

c.v. (%) = 2.51

หมายเหตุ : \* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\*\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางผนวกที่ 13 การวิเคราะห์ผลผลิตแห้งต่อต้นด้วยวิธี combine analysis

SOV	df	SS	MS	F-test
season (S)	2	1.7937683	0.8968841	0.82*
Rep.within season	9	6.7350023	0.7483	0.68 <sup>ns</sup>
Treatment (T)	3	385.9661186	128.66	117.54**
S x T	6	9.6437054	1.6073	1.47*
Pooled error	27	28.4580264	1.0945	
Total	47			

c.v. (%) = 7.59

หมายเหตุ : ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

\*\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 14 การวิเคราะห์ผลผลิตแห้งไร่ต้นด้วยวิธี combine analysis

SOV	df	SS	MS	F-test
season (S)	2	816.218	408.109	0.82*
Rep.within season	9	3065.9172	340.66	0.68ns
Treatment (T)	3	175648.4712	58549	117.54**
S x T	6	4388.9373	731.49	1.47*
Pooled error	27	12951.0845	498.12	
Total	47			

c.v. (%) = 7.59

หมายเหตุ : ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

\*\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซนต์

ตารางผนวกที่ 15 การวิเคราะห์หัตถ์ชันีการเก็บเกี่ยวด้วยวิธี combine analysis

SOV	df	SS	MS	F-test
season (S)	2	0.055838	0.027919	13.23*
Rep.within season	9	0.008	0.0009	0.42ns
Treatment (T)	3	0.5978	0.1993	94.43**
S x T	6	0.0864	0.0144	6.82*
Pooled error	27	0.057	0.0021	
Total	47			

c.v. (%) = 10.42

หมายเหตุ : ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\*\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางผนวกที่ 16 การวิเคราะห์ปริมาณ  $\beta$ -sitosterol ต่อใบแห้ง 1 กรัม ด้วยวิธี combine analysis

SOV	df	SS	MS	F-test
season (S)	2	26.567348	13.283674	4.5*
Rep.within season	9	10.843	1.2048	0.41 <sup>ns</sup>
Treatment (T)	3	2.8528	0.9509	0.32ns
S x T	6	22.183	3.6971	1.25*
Pooled error	27	82.657	2.952	
Total	47			

C.V. (%) = 3.89

หมายเหตุ : ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางผนวกที่ 17 การวิเคราะห์ปริมาณ  $\beta$ -sitosterol ต่อต้น ด้วยวิธี combine analysis

SOV	df	SS	MS	F-test
season (S)	2	0.0050918	0.0025459	1.12ns
Rep.within season	9	0.0179	0.0019915	0.88*
Treatment (T)	3	0.7673	0.2557814	112.57**
S x T	6	0.0172	0.0028637	1.26*
Pooled error	27	0.0613	0.0022722	
Total	47			

C.V. (%)= 7.94

หมายเหตุ : ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\*\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ตารางผนวกที่ 18 การวิเคราะห์ปริมาณ  $\beta$ -sitosterol ต่อไร่ ด้วยวิธี combine analysis

SOV	df	SS	MS	F-test
season (S)	2	73.736	36.8679524	155.63**
Rep.within season	9	2.9386	0.32650624	1.38*
Treatment (T)	3	61.063	20.3542121	85.92**
S x T	6	11.402	1.9003923	8.02**
Pooled error	27	6.3962	0.2368975	
Total	47			

C.V. (%)= 4.25

หมายเหตุ : \* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

\*\* แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์