

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 สถานที่และระยะเวลาการวิจัย

ทำการทดลองที่เรือนทดลอง ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น การดำเนินการทดลองในเรือนทดลอง เตรียมอุปกรณ์การปลูก เตรียมดินและเมล็ดพันธุ์ ใส่ปุ๋ย ปลูก การปฏิบัติดูแลรักษา และการเก็บเกี่ยวหญ้าพืชอาหารสัตว์ เริ่มตั้งแต่วันที่ 1 พฤษภาคม 2537 ถึงวันที่ 15 มีนาคม 2538

3.2 การวางแผนการทดลอง

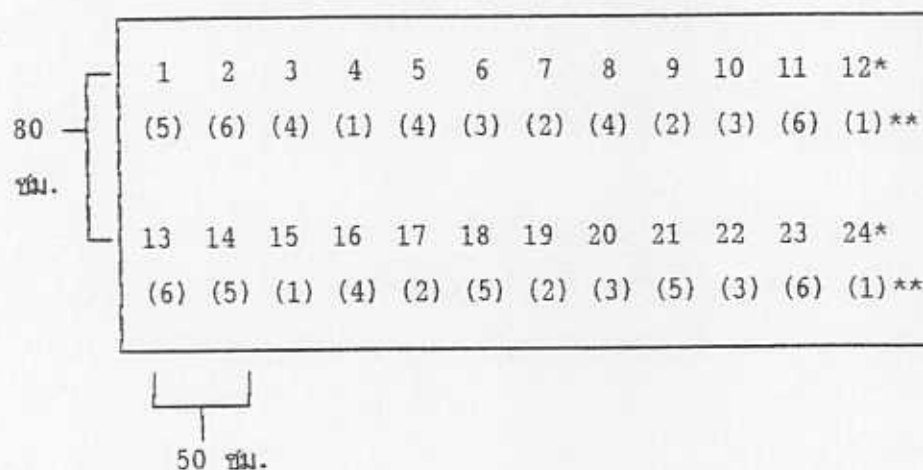
ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomize design (CRD)) ปัจจัยที่ใช้ในการศึกษาคือ ปุ๋ยไนโตรเจน 6 ระดับ ที่อัตราปุ๋ยไนโตรเจน 0, 16, 32, 48, 64, และ 80 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งใช้เป็นทรีทเมนต์ ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ดังรายละเอียดต่อไปนี้

ตารางที่ 1 รายละเอียดของการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่อัตราต่างระหว่างการเก็บเกี่ยว
ผลผลิต 5 ครั้ง

ทรีทเมนต์	การได้รับปุ๋ยไนโตรเจน (กก.N/ไร่) ในแต่ละการเก็บเกี่ยว					รวมอัตราปุ๋ย ไนโตรเจน (กก.N/ไร่)
	1	2	3	4	5	
T ₁	0	-	-	-	-	0
T ₂	8	-	-	8	-	16
T ₃	16	-	-	16	-	32
T ₄	24	-	-	24	-	48
T ₅	32	-	-	32	-	64
T ₆	40	-	-	40	-	80

3.3 แผนผังการทดลอง

ในการศึกษาได้วางหน่วยทดลองในลักษณะดังนี้



หมายเหตุ : * - เลขหน่วยทดลอง
 ** - เลขแสดงทรีทเมนต์

3.4 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในงานทดลอง

กระถางดินขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 12 นิ้ว

ดินจากแปลงทดลองที่ผ่านการร่อน

เมล็ดพันธุ์ข้าวซีพันธุ์ Kennedy

กระป๋องพลาสติกใส่น้ำสำหรับรดน้ำ

ถุงพลาสติกกรองภายในกระถาง

ถุงกระดาษใส่ตัวอย่างเบอร์ 20

ถังพลาสติกบรรจุน้ำแข็งขนาด 5 ลิตร

ตู้อบความร้อน (hot air oven)

เครื่องวัดพื้นที่ใบ

ปุ๋ยเคมีที่ให้ธาตุอาหารแก่พืช ได้แก่ ปุ๋ยยูเรีย (N), ปุ๋ยทริบิลีฟอสเฟต (P), ปุ๋ยโปแตสเซียมคลอไรด์ (K) และยิบซัม (S)

วัสดุปรับปรุงดินปนขาว

เครื่องมือและสารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

ชุดเครื่องมือวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของพืช

ชุดเครื่องมือวิเคราะห์หาคุณค่าทางโภชนาการพืชอาหารสัตว์

เครื่องตัดเนื้อเยื่อพืช (rotary microtome)

สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ดิน

สารเคมีสำหรับวิเคราะห์พืช

3.5 การเตรียมดิน การปลูก และการปฏิบัติดูแลรักษาพืชอาหารสัตว์

3.5.1 การเตรียมดินและการวิเคราะห์ดิน

ดินที่ใช้ในการทดลองสุ่มเก็บมาจากแปลงทดลองของหมวดพืชอาหารสัตว์ งานบริการวิชาการและวิจัย คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น เป็นดินชุดโคราช (oxic

paleustults) เก็บจากชั้นไทรพรวน (0-20 ซม.) นำดินที่เก็บได้ทั้งหมดมาคลุกเคล้าให้เข้ากัน แล้วนำมาตากให้แห้งในร่ม และร่อนด้วยตะแกรงขนาด 2.0 มิลลิเมตร เพื่อแยกเอาเศษพืชและดินก้อนใหญ่ออกไป ทำการชั่งน้ำหนักดินแล้วบรรจุลงในกระถางดินที่มีถุงพลาสติกใส่รองอยู่ภายในจำนวน 24 กระถางละ 12 กิโลกรัม และเก็บตัวอย่างดินส่วนหนึ่งนำไปวิเคราะห์หาคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของดิน ซึ่งมีลักษณะเนื้อดินเป็นดินร่วนปนทราย มีอินทรีย์วัตถุค่อนข้างต่ำ และมี pH เป็นกรด ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงชนิดและคุณสมบัติของดิน^{1/}

คุณสมบัติของดิน	ค่าวิเคราะห์
คุณสมบัติทางกายภาพ	
Sand (%)	74.1
Silt (%)	17.4
Clay (%)	8.5
Textural class	Sandy loam
ชุดดิน	โคราช
คุณสมบัติทางเคมี	
pH (1:1 H ₂ O)	5.10
Organic matter (%)	0.92
Total N (%)	0.046
Available P (ppm)	4.30
Exchangeable K (me/100 g soil)	0.15
Exchangeable Ca (me/100 g soil)	0.74
Exchangeable Mg (me/100 g soil)	0.16
Exchangeable Na (me/100 g soil)	0.21
Cation exchange capacity (me/100 g soil)	2.39

^{1/} วิธีการวิเคราะห์ แสดงในตารางผนวกที่ 3

3.5.2 การใส่ธาตุอาหารพืช

ธาตุอาหารพืชต่างๆที่ใส่ในแต่ละกระถาง อยู่ในรูปของปุ๋ยเคมี คือ ฟอสฟอรัส (P) ใส่ในรูปของปุ๋ยทริบิเบลซูเปอร์ฟอสเฟต ($46\% P_2O_5$) ในอัตรา 6.4 กิโลกรัม P ต่อไร่ ธาตุโปแตสเซียม(K) ใส่ในรูปปุ๋ยโปแตสเซียมคลอไรด์(KCl) ในอัตรา 16 กิโลกรัม K ต่อไร่ และใส่ยิบซัม 40 กิโลกรัมต่อไร่ ปุ๋ยขาวในอัตรา 100 กิโลกรัมต่อไร่ ใส่ครั้งเดียวโดยวิธีการโรยและคลุกเคล้าให้ผสมกับดินในกระถางให้สม่ำเสมอ ก่อนที่จะทำการหยอดเมล็ดปลูกในกระถาง

ส่วนการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนใช้ในรูปของปุ๋ยยูเรีย ($46\% N$) แบ่งใส่ตามทรีทเมนต์พร้อมปุ๋ยรองพื้นครั้งแรก ยกเว้นในอัตราปุ๋ยไนโตรเจนที่ระดับ 32 และ 40 กิโลกรัม N ต่อไร่ จะทำการแบ่งใส่ 2 ครั้ง คือ ใส่ครั้งแรกพร้อมปุ๋ยรองพื้นในอัตรา 24 กิโลกรัม N ต่อไร่ และครั้งที่ 2 ใส่ในอัตรา 8 และ 16 กิโลกรัม N ต่อไร่ ตามลำดับ เมื่อมีอายุหลังปลูก 30 วัน และได้ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอีกครั้งในอัตราที่ 0, 8, 16, 32 และ 40 กิโลกรัม N ต่อไร่ หลังจากการเก็บเกี่ยวผลผลิตครั้งที่ 3 เสร็จสิ้น

3.5.3 การปลูกและปฏิบัติดูแลรักษาพืชอาหารสัตว์

ทำการปลูกหญ้าขึ้นในวันที่ 27 พฤษภาคม 2537 โดยการหยอดเมล็ดตามแนวเส้นทำศูนย์กลางของกระถาง จำนวน 8-10 เมล็ด เมื่อเมล็ดหญ้าซึ่งงอกได้ 7-10 วัน ทำการถอนแยกให้เหลือกระถางละ 2 ต้น ในระหว่างดำเนินการทดลองได้ควบคุมความชื้นของดินในแต่ละกระถางให้อยู่ที่ระดับ 80-90% field capacity (FC) โดยใช้ น้ำกรอง (de-ionized water) รดทุกวันละ 2 ครั้ง คือ ตอนเช้าและตอนเย็น วิธีการรักษาความชื้นที่ระดับ FC ทำได้โดยการชั่งน้ำหนักของกระถางปลูกพืช ทำการสลับตำแหน่งของแต่ละหน่วยทดลองทุกๆ 2 สัปดาห์ เพื่อลดปัญหาการบังร่มเงาที่อาจเกิดขึ้นจากต้นไม้ที่อยู่ใกล้เคียงบริเวณเรือนทดลอง

ทำการกำจัดวัชพืชที่เติบโตขึ้นมาในกระถาง โดยการถอนและนำส่วนที่ถอนหักกลับไว้ในกระถางเดิม เพื่อป้องกันการสูญเสียธาตุในโตรเจนไปจากกระถางปลูกหญ้าที่ใช้อาหารสัตว์

3.5.4 การเก็บเกี่ยวและการปฏิบัติในการเก็บเกี่ยว

ทำการเก็บเกี่ยวหญ้าในงานทดลองครั้งแรกหลังการปลูก 60 วัน และเก็บเกี่ยวครั้งที่ 2 เมื่อ 45 วันหลังการเก็บเกี่ยวครั้งแรก เก็บเกี่ยวครั้งที่ 3, 4 และ 5 ในช่วงฤดูแล้ง โดยเก็บเกี่ยวทุก 60 วัน วิธีเก็บเกี่ยวทำโดยตัดหญ้าสูงจากพื้นดิน 10 เซนติเมตร ซึ่งก่อนทำการตัดหญ้าได้ทำการลุ่มตัดส่วนกลางของใบหญ้าที่แผ่ขยายเต็มที่ใบแรก ให้มีความยาวประมาณ 1 เซนติเมตร จากหญ้าแต่ละต้นในแต่ละกระถาง เพื่อนำไปศึกษาลักษณะโครงสร้างภายในของใบ (leaf anatomy) ทำการตัดหญ้าและลุ่มแขนงจำนวน 10 แขนง ตัดแยกส่วนใบและแขนง นำใบที่ได้ไปวัดหาพื้นที่ใบ (leaf area)

นำตัวอย่างที่ตัดไปแยกต้นและใบใส่ถุงกระดาษ ระบุรายละเอียดข้อมูลของแต่ละหน่วยทดลองในแต่ละรหัสให้ชัดเจน ซึ่งน้ำหนักสดแล้วนำไปอบแห้งด้วยตู้อบที่มีลมร้อนเป่า (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทั้งไว้ให้เย็นในตู้อบแล้วนำมาชั่งน้ำหนัก เพื่อหาผลผลิตน้ำหนักแห้ง และสำหรับการเก็บเกี่ยวครั้งสุดท้ายได้ตัดเอาส่วนต้น กาบใบ ใบทั้งหมดที่อยู่เหนือผิวดินในแต่ละกระถาง รวมกันไปอบแห้งเพื่อหาน้ำหนักแห้งรวมด้วย

ทำการบันทึกจำนวนแขนงของหญ้า โดยการนับจำนวนแขนงในแต่ละกระถางก่อนทำการตัดทุกครั้ง และนับจำนวนใบต่อแขนงจากที่ลุ่มมา 10 แขนงนั้น แล้วนำข้อมูลที่ได้นำไปวิเคราะห์ผลทางสถิติต่อไป

3.5.5 การเก็บตัวอย่างและการเตรียมตัวอย่างในการวัดทางด้านสัตววิทยาและองค์ประกอบทางเคมี

ก่อนทำการตัดหญ้าที่ใช้อาหารสัตว์แต่ละครั้ง บันทึกจำนวนแขนงต่อต้นก่อนในแต่ละกระถาง และหลังการตัดหญ้าที่ใช้อาหารสัตว์ทำการลุ่มแขนงของแต่ละกระถางมาจำนวน 10

แขนง นับจำนวนใบต่อแขนง ใช้กรรไกรตัดแยกส่วนใบและแขนง นำส่วนใบที่ตัดแยกใส่ถุงพลาสติกที่ระบุรายละเอียดของวิธีหั่นอย่างชัดเจน ปิดปากถุงพลาสติก แล้วนำไปแช่ในถังทำความเย็น เพื่อเตรียมขนย้ายไปวัดพื้นที่ใบ ซึ่งน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของใบเพื่อใช้ในการคำนวณหาพื้นที่ใบทั้งหมดในแต่ละหน่วยทดลอง ซึ่งนำใบสดที่เก็บไว้ในถังทำความเย็นมาวัดพื้นที่ใบโดยใช้เครื่อง automatic area meter model AAC-400 ของบริษัท Hayashi denkoh Co., Ltd. ประเทศญี่ปุ่น ใช้พลังงานไฟฟ้า 220 VAC 50 Hz

นำตัวอย่างหญ้าจากการตัดแต่ละครั้งมาซึ่งน้ำหนักแห้งแล้ว หลังจากนั้นนำมาบดด้วยเครื่อง Wiley mill ขนาด 30 mesh โดยแยกบดส่วนใบและต้น นำตัวอย่างที่บดได้เก็บไว้ในถุงพลาสติกปากรัด ที่ระบุรายละเอียดชัดเจนทั้งหน่วยทดลอง วิธีหั่น และซ้ำ นำตัวอย่างที่บดไปวิเคราะห์หาส่วนประกอบโปรตีนหยาบ และการวิเคราะห์หาเยื่อใยในหญ้าพืชอาหารสัตว์ ได้แก่ neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), เซลลูโลส (cellulose), เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose), สารลิกนิน (lignin) และความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุแห้ง (*in vitro* dry matter disappearance; IVDMD) เพื่อนำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติต่อไป

3.6 การวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ

นำตัวอย่างพืชที่ได้รับการบดมาทำการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ การวิเคราะห์หาเยื่อใยในหญ้าพืชอาหารสัตว์ใช้วิธีของ Van Soest ซึ่งเป็นการใช้สารฟอก และมีความเหมาะสมในการวิเคราะห์อาหารสัตว์มาก (Van Soest, 1963, 1966, 1967, 1973 อ้างโดย วารุณี, 2531) ประเภทของเยื่อใยที่ทำการวิเคราะห์หาค่า ได้แก่ NDF, ADF, เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และสารลิกนิน ส่วนการวิเคราะห์หาค่าโปรตีนหยาบใช้วิธี Kjeldahl method (เขามาจารย์, 2533) โดยทั่วไปแล้วโปรตีนจะประกอบด้วยไนโตรเจน 16% โดยน้ำหนักโมเลกุล (ไนโตรเจน 1 กรัม มีอยู่ในโปรตีน $100/16 = 6.25$) ดังนั้นถ้าทราบปริมาณไนโตรเจนที่มีอยู่ในตัวอย่างพืช ทำให้สามารถคำนวณหาปริมาณโปรตีนหยาบได้ โดยคูณกับค่าคงที่ที่เรียกว่าเจลดาล์ฟแฟกเตอร์ (Kjeldahl factor) คือ 6.25 ส่วนเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสสามารถประมาณจากการคำนวณจากสูตรดังต่อไปนี้

$$\text{เอมีเซลลูโลส (\%)} = \text{NDF} - \text{ADF (\%)}$$

$$\text{เซลลูโลส (\%)} = \frac{\text{นน. ADF} - \text{นน. เยื่อใยหลังย่อยด้วย 72\% H}_2\text{SO}_4 \text{ และอบแห้ง}}{\text{นน. ตัวอย่าง}}$$

การวิเคราะห์หาความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุดิบ (*in vitro* dry matter disappearance; IVDMD) ใช้วิธี nylon bag technique (Lowrey, 1970) ซึ่งวิธีนี้อาศัยการย่อยของอาหารที่บรรจุอยู่ในถุงในล่อนด้วย rumen fluid โดยตรง ซึ่งใช้เวลาในการย่อยนาน 48 และ 72 ชั่วโมง แล้วหาค่าเฉลี่ยความสามารถในการย่อยได้ในระยะเวลาทั้ง 2 ช่วงเวลา จะได้ค่าเฉลี่ยความสามารถในการย่อยได้ของวัตถุดิบ แล้วนำไปวิเคราะห์ทางสถิติต่อไป

3.7 การเตรียมตัวอย่างและการศึกษาลักษณะโครงสร้างภายในใบของหญ้าที่

เมื่อทำการตัดส่วนกลางของใบหญ้าที่แผ่ขยายเต็มที่ใบแรก ให้ยาวประมาณ 1 เซนติเมตร จำนวน 3-4 ชิ้น จากต้นหญ้าแต่ละกระถางก่อนทำการเก็บเกี่ยวในแต่ละครั้ง และนำชิ้นส่วนของใบหญ้าที่ตัดแช่ในสาร formalin-aceto-alcohol (FAA) ที่บรรจุในขวดปิดฝา ทั้งนี้เพื่อฆ่าและคงสภาพเนื้อเยื่อในชิ้นส่วนใบดังกล่าว และเก็บไว้ในตู้เย็น รอ นำไปศึกษาลักษณะโครงสร้างภายในใบต่อไป

นำชิ้นส่วนของใบหญ้ามาทำการดึงน้ำออกจากเนื้อเยื่อพืช (dehydration) โดยแช่ในแอลกอฮอล์เปอร์เซ็นต์ต่ำ (มีน้ำมาก) แล้วค่อยๆ เพิ่มเปอร์เซ็นต์ของแอลกอฮอล์ขึ้นทีละน้อยๆ เช่น 50%, 70% และ 90% ของแอลกอฮอล์ตามลำดับ และแช่ในสารละลายที่มีส่วนผสมของน้ำกลั่น แอลกอฮอล์ 95% และบิวทิลแอลกอฮอล์ (tertiary butyl alcohol) โดยให้เพิ่มเปอร์เซ็นต์ของบิวทิลแอลกอฮอล์ขึ้นทีละน้อย (แช่ใน 50% น้ำกลั่น + 40% ของแอลกอฮอล์ 95% และ 10% ของบิวทิลแอลกอฮอล์ในเริ่มแรก) จนถึง 100% ของบิวทิล

แอลกอฮอล์ แต่ส่วนผสมที่เป็นน้ำกลั่นและแอลกอฮอล์ 95% ให้ลดเปอร์เซ็นต์ค่าลงที่ละน้อยจนหมดไป หลังจากนั้นนำชิ้นส่วนใบหญ้าไปแช่ในพาราฟินน้ำเป็นเวลา 12-18 ชั่วโมง

ในขั้นตอนการนำพาราฟินแทรกซึมเข้าสู่เซลล์(infiltration) ได้นำชิ้นส่วนของใบหญ้าที่คั่งน้ำออกหมดแล้ว ไปใส่ในแก้วที่บรรจุพาราฟินเหลวในตู้สุญญากาศที่ทำให้มีแรงดันประมาณ 20 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่อุณหภูมิ 56°C เป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง เพื่อให้พาราฟินเข้าไปภายในเนื้อเยื่อพืช และดึงเอาอากาศออกไปจากเนื้อเยื่อพืช หลังจากนั้นจึงทำการฟุ้งชิ้นส่วนของใบหญ้าลงในพาราฟิน โดยการเทพาราฟินที่หลอมไว้ในตูบ(oven) ลงในกระถงที่เตรียมไว้ แล้วนำชิ้นส่วนของใบที่ผ่านการแทรกซึมมาแล้วไปใส่ลงในกระถงที่มีพาราฟินบรรจุอยู่ขณะที่ยังหลอม พยายามจัดเรียงชิ้นส่วนของใบหญ้าให้แนวรอยตัดอยู่ในแนวตั้งฉากกับพื้นล่างของกระถง เมื่อปล่อยไว้ให้เป็นจนแข็งเป็นก้อนจึงนำแท่งพาราฟินที่มีชิ้นส่วนของใบหญ้าอยู่ภายในไปเก็บไว้ในตู้เย็นที่ช่องแช่แข็ง เมื่อจะตัดเนื้อเยื่อค่อนำแท่งพาราฟินเหล่านี้ออกมาทำการตัดบล็อกพาราฟินให้ได้รูปแท่ง แล้วติดไว้กับฐานยึดที่เป็นพลาสติก เพื่อนำไปตัดเนื้อเยื่อด้วยเครื่อง rotary microtome เพื่อให้ได้แผ่นพาราฟินที่มีเนื้อเยื่อที่ถูกตัดขวางอยู่ด้วย โดยทั่วไปจะตัดให้ได้ความหนาบางของชิ้นส่วนประมาณ 10-16 ไมโครเมตร (μm) แล้วจึงนำไปทำแผ่นสไลด์ถาวร และทำการย้อมสีเพื่อศึกษาโครงสร้างภายในใบพืช โดยทำตามวิธีการของ Gray (1964)

การศึกษาลักษณะกลุ่มเนื้อเยื่อลำเลียง (vascular bundle) ของใบหญ้าซึ่งสามารถแบ่งกลุ่มเนื้อเยื่อลำเลียงเป็น 2 ชนิด ได้แก่ กลุ่มเนื้อเยื่อลำเลียงขนาดเล็กและขนาดใหญ่ ซึ่งกลุ่มเนื้อเยื่อลำเลียงขนาดเล็กจะมีลักษณะของกลุ่มท่อลำเลียงน้ำ(xylem) และกลุ่มท่อลำเลียงอาหาร(phloem) ไม่สามารถแยกได้ชัดเจน มีส่วนของ bundle sheath cells ล้อมรอบเพียงเล็กน้อย และมีขนาดเล็ก ขณะที่กลุ่มเนื้อเยื่อลำเลียงขนาดใหญ่จะมีลักษณะของกลุ่มท่อลำเลียงน้ำและอาหารแยกออกจากกันได้ชัดเจน และมีขนาดใหญ่ มีส่วนของ bundle sheath cells ขนาดใหญ่ล้อมรอบจำนวนมาก และมีขนาดใหญ่ (ภาพผนวกที่ 2) การวัดขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของกลุ่มเนื้อเยื่อลำเลียงขนาดเล็กและขนาดใหญ่ และความหนาของใบโดยใช้ micrometer ซึ่งมีชุดอุปกรณ์ในการวัดขนาด คือ กล้องจุลทรรศน์(microscope) ยี่ห้อ Nikon, Stage micrometer

และ Ocular micrometer (อาหา, 2536) ซึ่งการวัดขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของกลุ่มเนื้อเยื่อลำเลียงขนาดเล็กและขนาดใหญ่วัดตามแนวความยาวของแผ่นใบพื้นที่ตัดขวาง

3.8 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ข้อมูลพื้นฐานที่มี จำนวนแขนงต่อต้นกอ จำนวนใบต่อแขนง พื้นที่ใบ ผลผลิตน้ำหนักแห้งต้นและใบ ผลผลิตน้ำหนักแห้ง องค์ประกอบโปรตีนหยาบ และลักษณะโครงสร้างภายในใบ นำข้อมูลไปวิเคราะห์หาความแปรปรวนโดยใช้ General Linear Model (PROC GLM) ของ Statistical Analysis System (SAS, 1983) อิทธิพลของทรีทเมนต์ ทำโดยการสร้าง Contrasts ระหว่างกลุ่มของทรีทเมนต์ นอกจากนี้ยังใช้ Contrast ในการศึกษาอิทธิพลของปุ๋ยในลักษณะ linear และ quadratic โดยใช้ Coefficients สำหรับ orthogonal polynomials ของ Little และ Hill (1978) และใช้ PROC CORR (SAS, 1983) หาค่า linear correlation เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะทางสัณฐานวิทยาและผลผลิตน้ำหนักแห้งทั้งหมด และระหว่างองค์ประกอบทางเคมีของผลผลิตและคุณค่าทางโภชนาการของวัตถุแห้งของหญ้า ส่วนค่าวิเคราะห์ข้อมูล องค์ประกอบเยื่อใยของวัตถุแห้งลำต้นและใบของหญ้าที่ ได้นำข้อมูลหาค่าความคลาดเคลื่อน (Standard error) ของความแตกต่างจากค่าเฉลี่ยของอิทธิพลระดับของทรีทเมนต์ที่ทำการศึกษาทดลอง เพราะว่าตัวอย่างบดของผลผลิตแห้งของหญ้าที่มีปริมาณไม่เพียงพอสำหรับการวิเคราะห์ตัวอย่างแต่ละหน่วยทดลองของแต่ละทรีทเมนต์ จึงได้รวมแต่ละซ้ำของการทดลองเพื่อวิเคราะห์หาองค์ประกอบเยื่อใยของ NDF, ADF, เซลลูโลส และ เอมีเซลลูโลส สำรลิกัน และ IVDMD ดังกล่าว