

บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

1. วัสดุและอุปกรณ์ในการปลูก

1. เมล็ดพันธุ์มะเขือเทศได้แก่ เมล็ดพันธุ์สีดาทิพย์ 1 (P₁) พันธุ์ CLN 2116 B (P₂) เมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 (F₁) เมล็ดพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 (F₂) เมล็ดพันธุ์ลูกผสมกลับแม่ (BC₁) และ เมล็ดพันธุ์ลูกผสมกลับพ่อ (BC₂)

2. อุปกรณ์ทางการเกษตร

- พืทมอส ใช้สำหรับเพาะเมล็ดพันธุ์
- ดินผสมปลูก ทราาย ปุ๋ยคอก แกลบ
- ภาชนะพลาสติกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 นิ้ว
- ชุดกระบะเพาะต้นกล้า
- ไม้ค้ำยันต้น เชือกฟาง
- พลาสติกคลุมพื้น วัสดุการเกษตรต่างๆ เช่น หัวฉีดน้ำ พลับ สายยาง
- กระบอกลีดยาฆ่าแมลง
- สารเคมีป้องกันกำจัดโรคแมลงต่างๆ เช่น เซฟวินท์ 85 สารป้องกันเชื้อราคาร์ลาดี ฯลฯ
- ปุ๋ยเคมี เช่น ปุ๋ย สูตร 15-15-15 สูตร 21-21-21 สูตร 46-0-0 และธาตุอาหารเสริมต่างๆ

สารจับใบพืช ฯลฯ

- อุปกรณ์สำหรับในการผสมเกสร เช่น คีมคีบ กรรไกรตัดกลีบดอก แอลกอฮอล์
ตำลึงหุ้มดอก ป้ายบันทึกข้อมูล เชือกด้ายผูก เครื่องหมาย ถุงซิป

- ชุดอุปกรณ์การให้ระบบน้ำหยดอัตโนมัติ และระบบการให้ปุ๋ยอัตโนมัติ

2. อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการ

- เครื่องชั่งน้ำหนักละเอียด 2 ตำแหน่ง
- เครื่องวัดความแน่นเนื้อ (Penetrometer)
- อุปกรณ์วัดขนาดเวอร์เนียร์คาลิเปอร์
- เครื่องวัดเปอร์เซ็นต์น้ำตาล (Hand refractometer)
- กระดาษเทียบสี R.H.S. Colour Chart in Association with the Flower Council

of Holland and the Royal Horticultural Society London

- บีกเกอร์ ขวดฉีดน้ำกลั่น หลอดหยด ฝักกรอง กรวยแก้ว ถุงพลาสติกขนาดต่างๆ

3. วิธีดำเนินการ

1. ฤดูปลูกที่ 1 ทำการผสมข้ามระหว่างพันธุ์แม่พันธุ์สีกาทิพย์ 1 (P₁) และพันธุ์พ่อ CLN 2116 B (P₂) เพื่อผลิตลูกผสมชั่วที่ 1 (F₁) ลักษณะประจำพันธุ์ของพันธุ์สีกาทิพย์ 1 เป็นพันธุ์ที่ทนร้อน ลักษณะผลเป็นแบบรูปไข่ (Ovate shape) มีน้ำหนักประมาณ 30 กรัม ผลสุกสีชมพูส้ม มีการเจริญเติบโตแบบกิ่งเลื้อย แต่เป็นพันธุ์ที่อ่อนแอต่อโรค ผสมกับพันธุ์ CLN 2116 B (P₂) เป็นพันธุ์ที่ทนทานโรคเหี่ยวและโรคใบด่างที่เกิดจากเชื้อไวรัส หรือ TMV (tobacco mosaic virus) มีลักษณะประจำพันธุ์ผลเป็นแบบทรงกระบอก (cylindrical) น้ำหนักผลประมาณ 60 กรัม ผลสุกมีสีแดงมีการเจริญเติบโตแบบไม่ทอดยอด ในฤดูนี้ทำการปลูกพันธุ์ละ 20 ต้น เมื่อดอกบานทำการผสมข้ามระหว่างพันธุ์ และคัดเลือกผลที่สมบูรณ์ไว้เพื่อเก็บเมล็ดพันธุ์

2. ฤดูที่ 2 จะทำการผสมกลับระหว่างลูกผสมชั่วที่ 1 (F₁) กับพันธุ์แม่ (P₁) เป็นการสร้างลูกผสมกลับพันธุ์แม่ (BC₁) และผสมกลับระหว่างลูกผสมชั่วที่ 1 (F₁) กับพันธุ์พ่อ (P₂) เป็นการสร้างลูกผสมกลับพันธุ์พ่อ (BC₂) และในขณะเดียวกันก็ปล่อยให้ลูกผสมชั่วที่ 1 (F₁) ผสมตัวเองเพื่อให้ได้ลูกผสมชั่วที่ 2 (F₂) เลือกผลในลูกผสมกลับ และจากต้น F₁ ที่สมบูรณ์ เพื่อเก็บเมล็ดพันธุ์จะได้ใช้ในฤดูปลูกถัดไป

3. ฤดูที่ 3 นำลูกชั่วรุ่นที่ 1 (F₁) ลูกชั่วรุ่นที่ 2 (F₂) และลูกจากการผสมกลับพันธุ์แม่ และพันธุ์พ่อ (BC₁ และ BC₂) ไปด้วยพันธุ์แม่ และพันธุ์พ่อ (P₁ และ P₂) มาปลูกพร้อมกัน ปลูกในเรือนกระจก โดยใช้แผนการทดลองแบบบล็อกสุ่มสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design, RCBD) โดยชั่วรุ่นต่างๆ ทั้ง 6 จะเป็นทริตเมนต์ที่ทดสอบเปรียบเทียบ ปลูกจำนวน 3 ซ้ำ แต่ละทริตเมนต์จะปลูกด้วยจำนวนต้นไม่เท่ากัน ทั้งนี้เนื่องจากมีระดับความแปรปรวนภายในแต่ละทริตเมนต์ไม่เท่ากัน ปลูกในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12 นิ้ว 1 ต้นต่อกระถาง จำนวนต้น (หรือจำนวนกระถาง) ที่ใช้ ต่อทริตเมนต์ ต่อซ้ำมีดังนี้

1. พันธุ์แม่ (P₁) ปลูก 10 ต้นต่อซ้ำ
2. พันธุ์พ่อ (P₂) ปลูก 10 ต้นต่อซ้ำ
3. พันธุ์ลูกผสมกลับ พันธุ์แม่ (BC₁) ปลูก 20 ต้นต่อซ้ำ
4. พันธุ์ลูกผสมกลับ พันธุ์พ่อ (BC₂) ปลูก 20 ต้นต่อซ้ำ
5. พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 (F₁) ปลูก 10 ต้นต่อซ้ำ
6. พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 2 (F₂) ปลูก 40 ต้นต่อซ้ำ

วิธีการปลูกจะเริ่มด้วยการเพาะกล้าในกระบะเพาะ จนต้นกล้าอายุประมาณ 20-25 วัน จึงย้ายลงปลูกในกระถางซึ่งมีดินผสมและมีการให้ระบบน้ำหยดทำการทดลองรวมจำนวนทั้งสิ้น 330 กระถาง

4. สถานที่ทำการวิจัยการทดลอง

เรือนกระจก คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่

5. ระยะเวลาทำการทดลอง

กันยายน 2546- สิงหาคม 2548

6. การบันทึกข้อมูล

1. ความสูงของต้น วัดจากโคนต้นถึงปลายยอด โดยวัดความสูง 2 ระยะ คือความสูงของต้นระยะดอกแรกบาน และความสูงของต้นหลังการเก็บเกี่ยว (เซนติเมตร)
2. อายุการออกดอกโดยนับจำนวนวันที่ต้นกล้าลงปลูกในกระถางถึงวันที่ดอกบานดอกแรก โดยทำการบันทึกทุกต้นที่ทำการทดลอง
3. จำนวนดอกต่อช่อ
4. น้ำหนักผล (หน่วยเป็นกรัมต่อผล)
5. ความกว้างผล โดยทำการวัดโดยใช้เวอร์เนียในการวัด โดยวัดความกว้างจากบริเวณส่วนกลางของผลที่กว้างสุด (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)
6. ความยาวของผล โดยทำการวัดโดยใช้เวอร์เนียในการวัด โดยทำการวัดความยาวจากขั้วผลถึงก้นผล (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)
7. ความแน่นเนื้อของผล โดยใช้เครื่องวัดความแน่นเนื้อ (penetrometer) (หน่วยเป็นนิวตัน)
8. ความหนาเนื้อของผล โดยทำการผ่าผลตามขวาง แล้ววัดส่วนของเนื้อถึงเปลือกโดยใช้เครื่องเวอร์เนีย (หน่วยเป็นมิลลิเมตร)
9. จำนวนช่องว่างภายในผล (locule) โดยทำการผ่าผลตามขวาง (หน่วยเป็นช่องต่อผล)
10. วัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ โดยทำการบดผลมะเขือเทศที่สุ่มมาวัดโดยใช้ เครื่องวัดเปอร์เซ็นต์น้ำตาล (หน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์บรีกซ์)
11. จำนวนผลต่อต้น
12. ผลผลิตต่อต้น โดยทำการชั่งน้ำหนักรวมผลผลิตต่อต้น (หน่วยเป็นกรัมต่อต้น)
13. เปอร์เซ็นต์การติดผล โดยนับจำนวนดอกจากทุกช่อดอก และนับการติดผลจากดอกที่ได้รับการผสมติดและเกิดเป็นคุ่มผล

$$\text{จากสูตร} \left(\frac{\text{จำนวนผลทั้งหมด} \times 100}{\text{จำนวนดอกทั้งหมด}} \right)$$

14. ลักษณะคุณภาพสีผล โดยใช้กระดาษเทียบสี R.H.S.Colour Chart in Association with the Flower Council of Holland and the Royal Horticultural Society London

วิธีการวิเคราะห์ข้อมูล

1. การวิเคราะห์ข้อมูล จะดำเนินการ 2 ขั้นตอน ดังนี้คือ

1.1 . การวิเคราะห์ความแปรปรวน

เพื่อทดสอบความแตกต่างทางสถิติระหว่างซ้ำรุ่น ซึ่งคือค่าเฉลี่ยของซ้ำรุ่นต่างๆ 6 ซ้ำรุ่น ทดสอบด้วย F-test (Steel and Torrie, 1980)

แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ คือ

$$Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + \epsilon_{ij}$$

เมื่อ Y_{ij} = ค่าสังเกตของซ้ำรุ่นที่ i^{th} ปลูกในบล็อกที่ j^{th}

i = 1.....t (t = จำนวนทรีตเมนต์ หรือจำนวนซ้ำรุ่น)

j = 1.....r (r = จำนวนบล็อก)

μ = ค่าเฉลี่ยทั่วไป

T_i = อิทธิพลของทรีตเมนต์ (ซ้ำรุ่นที่ i^{th})

B_j = อิทธิพลของบล็อกที่ j^{th}

ϵ_{ij} = ความคลาดเคลื่อนซึ่งมีการกระจายแบบปกติ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0 และมีวาเรียนเท่ากับ σ^2

ในการวิเคราะห์ความแปรปรวนจะกำหนดให้ทรีตเมนต์ เป็นปัจจัยคงที่ ส่วนบล็อกเป็นปัจจัยสุ่ม ซึ่งค่า expected mean square และการทดสอบนัยสำคัญได้แสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนมีค่า expected mean square (EMS) และการทดสอบนัยสำคัญดังนี้

Source	df	MS	EMS	F
Block	r-1	MS_1	$\sigma^2 + t\sigma^2 B$	MS_1 / MS_3
Treatment	t-1	MS_2	$\sigma^2 + r\sum T_i^2 / (t-1)$	MS_2 / MS_3
Error	(r-1)(t-1)	MS_3	σ^2	
Total	rt-1			

1.2 การวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของชั่วรุ่น

ลักษณะที่พบว่ามี ความแตกต่างกันทางสถิติระหว่าง ชั่วรุ่นจะทำการวิเคราะห์ทางพันธุกรรม โดยวิธีการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยของชั่วรุ่น (Hayman, 1958) โมเดล ในการวิเคราะห์ ใช้ค่าเฉลี่ยของชั่วรุ่น F_2 เป็นศูนย์กลาง และใช้สัญลักษณ์ตามที่กำหนด โดย Gamble (1962) ดังนี้

1.2.1 Additive-dominance model ในการวิเคราะห์หาอิทธิพลของยีนแบบต่าง ๆ โดยการวิเคราะห์ชั่วรุ่น จะวิเคราะห์โดยใช้ โมเดลแบบง่าย คือ additive-dominance model ซึ่งจะมีเพียง 3 พารามิเตอร์ก่อนคือ ค่าพารามิเตอร์ m , a และ d จากนั้นจะทดสอบความเหมาะสมของโมเดลโดยใช้ไคสแควร์ (Chi-square, χ^2) เรียกว่าวิธี joint-scaling test (Mather and Jinks, 1977 ; Singh and Chaudhary, 1979)

$$Y = m + \alpha a + \beta d$$

เมื่อ Y คือ ค่าเฉลี่ย ของ ชั่วรุ่น ($\bar{P}_1, \bar{P}_2, \bar{F}_1, \bar{F}_2, \bar{BC}_1, \bar{BC}_2$)

m คือ ค่าเฉลี่ยชั่วรุ่นที่ 2 (F_2)

a คือ อิทธิพลของยีนแบบบวก (additive effect)

d คือ อิทธิพลของยีนแบบข่ม (dominance effect)

ค่าสัมประสิทธิ์ α, β จะแตกต่างกันในชั่วรุ่นต่างกัน ดังสมการต่างๆ ดังนี้

$$P_1 = m + a - (1/2) d$$

$$P_2 = m - a - (1/2) d$$

$$BC_1 = m + (1/2) a$$

$$BC_2 = m - (1/2) a$$

$$F_1 = m + (1/2) d$$

$$F_2 = m$$

1.2.2 Epistasis model เมื่อพบว่าโมเดลที่ใช้ 3 พารามิเตอร์ไม่เพียงพอจะใช้โมเดลที่รวมยีนข่มข้ามคู่ (epistasis) ด้วยคือ โมเดล ที่มีพารามิเตอร์ $aa, ad,$ และ dd เพิ่มขึ้น คือ

$$Y = m + \alpha a + \beta d + \alpha^2 aa + 2\alpha\beta ad + \beta^2 dd$$

เมื่อ Y คือ ค่าเฉลี่ย ของ ชั่วรุ่น ($\bar{P}_1, \bar{P}_2, \bar{F}_1, \bar{F}_2, \bar{BC}_1, \bar{BC}_2$)

m คือ ค่าเฉลี่ยชั่วรุ่นที่ 2 (F_2)

a คือ อิทธิพลของยีนแบบบวก (additive effect)

d คือ อิทธิพลของยีนแบบข่ม (dominance effect)

aa คือ ผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างยีนชนิดแบบบวก x แบบบวก (additive x additive effects)

ad คือ ผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างยีนชนิดแบบบวกxแบบข่ม (additive x dominance effects)

dd คือ ผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างยีนชนิดแบบข่มxแบบข่ม (dominance x dominance effects)

ค่าสัมประสิทธิ์ α, β จะแตกต่างกันในชั่วรุ่นต่างกัน ดังสมการต่างๆ ดังนี้ (Hayman, 1958)

$$P_1 = m + a - (1/2) d + aa - ad + (1/4) dd$$

$$P_2 = m - a - (1/2) d + aa + ad + (1/4) dd$$

$$BC_1 = m + (1/2) a + (1/4) aa$$

$$BC_2 = m - (1/2) a + (1/4) aa$$

$$F_1 = m + (1/2) d + (1/4) dd$$

$$F_2 = m$$

การวิเคราะห์หาค่าพารามิเตอร์ของโมเดลอาจเขียนในรูปของ เมทริกซ์ (matrix) ได้ดังต่อไปนี้ และมีวิธีการแก้สมการหาพารามิเตอร์ จาก สมการข้างต้น โดยถ่วงดุล (weighted) ค่าเฉลี่ยของชั่วรุ่นต่างๆ ด้วยส่วนกลับของวาเรียนซ์ของชั่วรุ่นนั้นๆ

$$C' \cdot W \cdot C = J \text{-----} (1)$$

เมื่อ C คือ เมตริกซ์ ของค่าสัมประสิทธิ์ มีขนาด 6X3

$$C = \begin{pmatrix} 1 & 1 & -0.5 \\ 1 & -1 & -0.5 \\ 1 & 0.5 & 0 \\ 1 & -0.5 & 0 \\ 1 & 0 & 0.5 \\ 1 & 0 & 0 \end{pmatrix}$$

C' คือ transpose ของเมตริกซ์ C (มีขนาด 3 X 6)

W = เมทริกซ์ของค่าส่วนกลับของวาเรียนซ์ (weight matrix) ซึ่งมีขนาด 6×6

$$W = \begin{pmatrix} 1/V_{P_1} & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 1/V_{P_2} & 0 & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 1/V_{BC_1} & 0 & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 1/V_{BC_2} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 1/V_{F_1} & 0 \\ 0 & 0 & 0 & 0 & 0 & 1/V_{F_2} \end{pmatrix}$$

J คือ information matrix ซึ่ง J จะเป็นเมทริกซ์ขนาด 3×3

$$C' W O = S \text{ ----- (2)}$$

เมื่อ O คือ เวกเตอร์ (column vector) ของค่าเฉลี่ยของซ้ำรุ่น มีขนาด 6×1

$$O = \begin{pmatrix} \bar{P}_1 \\ \bar{P}_2 \\ \bar{BC}_1 \\ \bar{BC}_2 \\ \bar{F}_1 \\ \bar{F}_2 \end{pmatrix}$$

S คือ เวกเตอร์ (column vector) ของ scores มีขนาด 3×1

$$J M = S \text{ ----- (3)}$$

เมื่อ M คือ เวกเตอร์ (column vector) ของพารามิเตอร์ที่จะคำนวณหา และมีขนาด 3×1

$$M = J^{-1} S \text{ ----- (4)}$$

โดย J^{-1} คือ เมทริกซ์ผกผัน (inverse matrix) ของ เมทริกซ์ J

ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (standard error) ของพารามิเตอร์สามารถประมาณได้จากการถอดกรณฑ์ที่ 2

ของค่าตัวเลขที่อยู่บนเส้นทแยง (diagonal elements) ของ เมทริกซ์ J^{-1} คือ

$$S.E._{(m)} = \sqrt{J_{11}}$$

$$S.E._{(a)} = \sqrt{J_{22}}$$

$$S.E._{(d)} = \sqrt{J_{33}}$$

เมื่อ $\sqrt{J_{11}}$ $\sqrt{J_{22}}$ และ $\sqrt{J_{33}}$ คือ ค่าตัวเลขที่อยู่บนเส้นทแยงของ เมทริกซ์ J^{-1}

การทดสอบการแสดงออกของยีนแบบต่างๆ ว่าแตกต่างจากศูนย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่ ใช้ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (standard error) ของค่าประเมินนั้น ๆ ซึ่งทดสอบโดยใช้ค่า t (t-test) ซึ่ง $t = M_i / S.E. (M_i)$ เมื่อ M_i คือ อิทธิพลการแสดงออกของยีนที่จะทำการทดสอบและ $S.E. (M_i)$ คือความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าประเมินนั้น (Mather and Jinks, 1977)

เมื่อใช้ epistasis model การแก้สมการหาค่าพารามิเตอร์ก็ทำเช่นเดียวกับ additive-dominance model ต่างกันที่ขนาดของ เมทริกซ์ C จะมีขนาด 6×6

เมื่อ C คือ เมทริกซ์ของค่าสัมประสิทธิ์

$$C = \begin{pmatrix} 1 & 1 & -0.5 & 1 & -1 & 0.25 \\ 1 & -1 & -0.5 & 1 & 1 & 0.25 \\ 1 & 1 & 0.5 & 0 & 0.25 & 0 \\ 1 & -0.5 & 0 & 0.25 & 0 & 0 \\ 1 & 0 & 0.5 & 0 & 0 & 0.25 \\ 1 & 0 & 0 & 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}$$

ในขณะที่ W และ O ยังเหมือนเดิม ดังนั้น ขนาดของ J และ S จะเปลี่ยนไปด้วย โดย

$$C' \cdot W \cdot C = J$$

J จะมีขนาด 6×6 และ

$$C' \cdot W \cdot O = S$$

S จะมีขนาด 6×1

$$M = J^{-1} \cdot S$$

M จะเป็นเวกเตอร์ของพารามิเตอร์ มีขนาด 6×1 J จะมีขนาด 6×6 ค่าเส้นทแยงของ J^{-1} จะเป็นค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานของค่าพารามิเตอร์ ทั้ง 6

1.2.3 Scaling test

การทดสอบความเพียงพอของ 3 พารามิเตอร์ โมเดลโดยวิธีที่นอกเหนือจาก joint scaling test ได้ใช้วิธีการทดสอบตามที่เสนอ โดย Mather (1949) (อ้างใน Singh and Chaudhary, 1979) ซึ่งมีค่า scale ที่ใช้ 3 ค่าคือ A , B และ C

$$\begin{aligned} A &= 2 \overline{BC_1} - \overline{P_1} - \overline{F_1} \\ B &= 2 \overline{BC_2} - \overline{P_2} - \overline{F_1} \\ C &= 4 \overline{F_2} - 2 \overline{F_1} - \overline{P_1} - \overline{P_2} \end{aligned}$$

ค่าวารียัณษัของ A, B และ C คืั V_A , V_B และ V_C มีค่าดังแสดง

$$V_A = 4V_{BC_1} + V_{P_1} + V_{F_1}$$

$$V_B = 4V_{BC_2} + V_{P_2} + V_{F_1}$$

$$V_C = 16V_{F_2} + 4V_{F_1} + V_{P_1} + V_{P_2}$$

การทดสอบว่า A, B และ C แตกต่างจากศูนย์หรือไม่ โดยใช้ t-test ถ้าโมเดล 3 พารามิเตอร์ถูกต้องหรือมาตรวัดเป็นมาตราที่เหมาะสม ค่า A, B และ C ควรจะมีค่าเป็นศูนย์ ถ้าค่า A, B หรือ C ค่าใดค่าหนึ่งแตกต่างจากศูนย์ เป็นการบ่งชี้ว่า อาจเกิดจากการมีอิทธิพลของยีนชนิดการข่มขั้มคู่ (epistasis)

2. อัตราพันธุกรรมแบบแคบ คือ อัตราส่วนของความแปรปรวนทางพันธุกรรมที่เกิดจากยีนที่แสดงผลในแบบบวก ต่อความแปรปรวนทั้งหมด สามารถคำนวณได้ โดยวิธีการของ Warner (1952)

$$h_{ns}^2 = \frac{2V_{F_2} - (V_{BC_1} + V_{BC_2})}{V_{F_2}}$$

โดย V_{F_2} = วารียัณษัของประชากรในช่วรุ่น F_2

V_{BC_1} = วารียัณษัของประชากรในช่วรุ่น BC_1

V_{BC_2} = วารียัณษัของประชากรในช่วรุ่น BC_2

ทั้งนี้ความแปรปรวนของแต่ละช่วรุ่นที่ใส่จะเป็นความแปรปรวนจากระหว่างต้นของช่วรุ่นนั้นจากทุกขั้