บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

การสร้างสายพันธุ์และทดลองผลิตทานตะวันลูกผสมที่ให้ผลผลิตและมีเปอร์เซ็นต์น้ำมันสูง มีรายละเอียดดังข้อ 3.1 ส่วนการทดลองเพื่อใช้เทคโนโลยีการปลูกที่เหมาะสมในการปลูกทานตะวัน ที่มีรายละเอียดดังข้อ 3.2 ซึ่งทั้งสองการทดลองมีรายละเอียดการดำเนินการ ดังนี้

3.1 การปรับปรุงทานตะวันพันธุ์ลูกผสม

โครงการปรับปรุงพันธุ์ทานตะวันของสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุร-นารี ได้พัฒนาสายพันธุ์ไว้จำนวนหนึ่งที่มีเปอร์เซ็นต์น้ำมันสูง นอกจากนั้นทางโครงการฯ ได้รับแหล่งของ normal cytoplasm จาก North Central Regional Plant Introduction Station (NCRPIS) ได้ดำเนินการพัฒนาสายพันธุ์ A-line, B-line และ R-line เพื่อใช้ในการผลิตลูกผสม โดยนำเมล็ดจาก NCRPIS จำนวน 2 พันธุ์ คือ PI431511 และ PI500689 (ใช้ชื่อรหัสพันธุ์เป็น W7 และ W10 ตามลำดับ) นำทั้งสองสายพันธุ์มาผสมข้ามกับทานตะวันของโครงการ 3 สายพันธุ์ เพื่อถ่ายทอดลักษณะ normal cytoplasm N(_ _) จากพันธุ์ของ NCRPIS (W7, W10) ให้กับทั้ง 3 สายพันธุ์ (2A, 5A และ 10A) โดยสายพันธุ์ของโครงการทั้ง 3 สายพันธุ์ได้ผ่านการทดสอบแล้วว่ามีศักยภาพสูงในการนำไปผลิตเป็นลูกผสม (ฐิติพร มะชิโกวา และ ปิยะดา ตันตสวัสดิ์, 2554) แล้วทำการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์จำนวน 5 คู่ผสม ได้แก่ W7×2A, W7×5A, W10×2A, W10×5A และ W10×10A จากนั้นทำการผสมกลับไปยังสายพันธุ์ของโครงการ โดยให้สายพันธุ์ของโครงการเป็นพันธุ์พ่อจำนวน 8 ครั้ง ได้ลูกผสมกลับ BC_8F_1 และเพื่อยืนยันว่าสายพันธุ์ที่ได้จากการผสมกลับมี normal cytoplasm จึงได้ทำการทดสอบโดยใช้ 2 วิธีการ คือ การทดสอบโดยใช้วิธีการผสมกับพันธุ์ทดสอบ และการทดสอบโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล ซึ่งจากการทดสอบดังกล่าวสามารถถ่ายทอดลักษณะ normal cytoplasm ให้แก่สายพันธุ์ และได้หลายสายพันธุ์ที่มีลักษณะเป็น normal cytoplasm (ฐิติพร มะชิโกวา และ ปิยะดา ตันตสวัสดิ์, 2554) ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้จึงเป็นการวิจัยที่ต่อเนื่องจากผลการทดลองที่ผ่านมา โดยนำสายพันธุ์ที่ผ่านการตรวจสอบแล้วมีลักษณะเป็น normal cytoplasm มาขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มจำนวน จากนั้นผสมตัวเองแล้วนำมาทดสอบเพื่อให้ทราบว่าสายพันธุ์เหล่านี้มียีโนไทป์เป็นยีนด้อย N(msms) เพื่อนำไปผลิตเป็น A-line, B-line และในขณะเดียวกันทำการคัดเลือกต้น N(MsMs) หรือ S(MsMs) เพื่อผลิต R-line สำหรับนำไปผลิตลูกผสม ซึ่งในการทดลองนี้มีรายละเอียดของขั้นตอนของการวิจัย ดังนี้

3.1.1 การตรวจสอบยีโนไทป์ของสายพันธุ์ที่ได้รับการพัฒนาโดยโครงการ

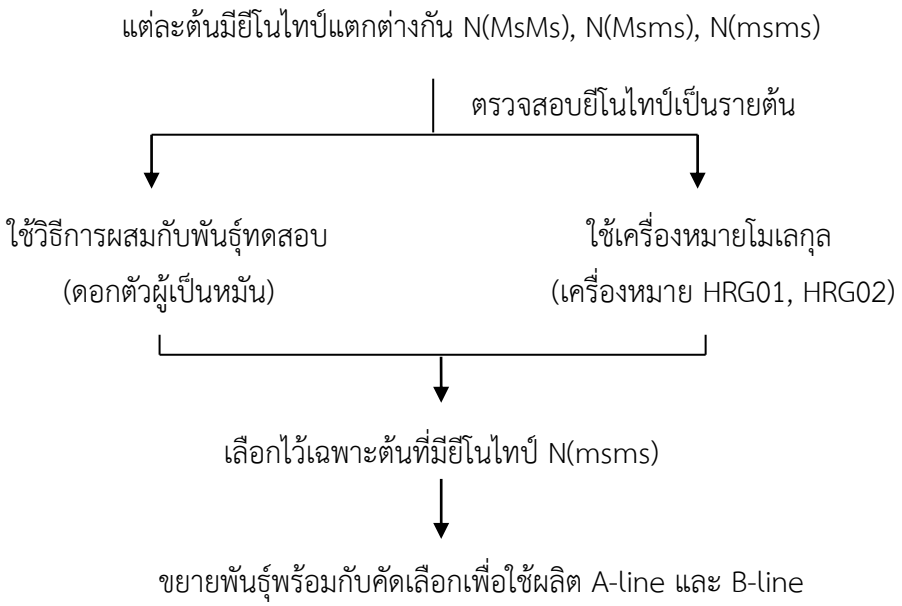
การทดสอบยีโนไทป์ของสายพันธุ์ที่กล่าวมาแล้วข้างต้นว่ามียีโนไทป์อยู่ในสภาพ N(msms) หรือ N(Msms) สามารถทำได้โดยการนำต้นที่ผ่านการคัดเลือกมาปลูกให้ผสมตัวเอง ซึ่งจะได้ลูกที่มียีโนไทป์หลากหลายดังแสดงด้านล่าง โดยเมล็ดจากแต่ละต้นที่ได้อาจมียีโนไทป์ต่างๆ กันดังแสดงในสมการ

N(MsMs) ⊗ ⟶ N(MsMs)

N(Msms) ⊗ ⟶ 3/4 N(Ms_), 1/4 N(msms)

N(msms) ⊗ ⟶ N(msms)

นำไปปลูกเพื่อทดสอบยีโนไทป์สามารถใช้ 2 วิธีการ ได้แก่ การทดสอบโดยใช้วิธีการผสมพันธุ์กับพันธุ์ทดสอบ และการทดสอบโดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ ซึ่งมีขั้นตอนการวิจัยดังแสดงในรูปที่ 3.1 และมีรายละเอียดดังข้อ 3.1.1.1 และ 3.1.1.2



รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการทดสอบยีโนไทป์ N(msms) ของสายพันธุ์

3.1.1.1 การทดสอบยีโนไทป์ msms, MsMs และ Msms โดยการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์กับพันธุ์ทดสอบ การทดสอบว่าลูกที่ได้จากการผสมตัวเองมียีโนไทป์เป็นแบบใด (เพื่อจะกลับไปใช้ต้นที่มียีโนไทป์ N(msms) ใช้ผสมตัวเองเพื่อใช้ในการผลิต B-line) สามารถทำได้โดย

1) นำเมล็ดรุ่นลูกที่ได้จากการผสมตัวเอง ใช้เป็นพันธุ์พ่อผสมกับต้นแม่ (พันธุ์ทดสอบ) ที่มีดอกตัวผู้เป็นหมันคือมียีโนไทป์ S(msms) จะได้ลูกผสมที่มีลักษณะดอกตัวผู้เป็นหมัน และไม่เป็นหมัน มีการแสดงออกที่แตกต่างกันขึ้นกับยีโนไทป์ต้นพ่อ ดังแสดงด้านล่าง ได้แก่

S(msms) × N(msms) ⟶ **S(msms)**

S(msms) × N(Msms) ⟶ **S(Msms), S(msms)**

S(msms) × N(MsMs) ⟶ **S(Msms)**

การทดสอบครั้งนี้เป็นสายพันธุ์ที่มาจาก 2A จำนวน 42 ต้น 5A จำนวน 55 ต้น และสายพันธุ์ 10A จำนวน 23 ต้น มาผสมข้ามกับสายพันธุ์ 2A, 5A และ 10A ที่มีดอกตัวผู้เป็นหมัน (ยีโนไทป์ S(msms) ใช้เป็นต้นแม่)

2) จากนั้นนำเมล็ดรุ่นลูกไปปลูกเป็นต้นต่อแถว โดยนำเมล็ดที่ได้จากการผสมพันธุ์ไปปลูกเป็นต้นต่อแถว ซึ่งได้ทั้งหมด 120 สายพันธุ์ (แถว) หากในรุ่นลูกปรากฏลักษณะเป็นหมันทั้งแถว แสดงว่าต้นพ่อจากข้อ 1) มียีโนไทป์ N(msms) ให้เก็บเมล็ดต้นพ่อไว้ใช้ประโยชน์ หากในรุ่นลูกมีการกระจายตัว คือมีทั้งต้นเป็นหมันและไม่เป็นหมันแสดงว่าพ่อมียีโนไทป์ N(Msms) หากไม่เป็นหมันทั้งแถว แสดงว่าต้นพ่อมียีโนไทป์ N(MsMs) ถ้าในแถวได้ลูกที่ไม่เป็นหมัน ทำการคัดทิ้งเมล็ดในข้อ 1)

S(msms) × N(msms) ⟶ **S(msms)** ..... ต้นเป็นหมันทั้งแถวเก็บเมล็ดต้นพ่อ N(msms) ในข้อ 1) ไว้ใช้ผลิต B-line และ A-line

S(msms) × N(Msms) ⟶ **S(Ms_)** ..... ต้นภายในแถวมีทั้งเป็นหมันและไม่เป็นหมัน คัดทิ้งต้นพ่อในข้อ 1)

S(msms) × N(MsMs) ⟶ **S(Msms)** ..... ต้นไม่เป็นหมันทั้งแถว คัดทิ้งต้นพ่อ

ซึ่งสายพันธุ์ N(msms) นำไปผลิตเป็น B-line และ S(msms) นำไปผลิต A-line

3.1.1.2 การทดสอบยีโนไทป์ msms, MsMs และ Msms โดยใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอ การใช้เครื่องหมายดีเอ็นเอเพื่อแยกความแตกต่างทางพันธุกรรม เนื่องจากให้ผลการทดลองที่รวดเร็ว ไม่ต้องรอผสมข้ามกับยีโนไทป์ S(msms) และไม่ต้องรอเก็บเกี่ยวก็สามารถวิเคราะห์ข้อมูลได้ ซึ่งมีวิธีการดังนี้

1) นำเมล็ดชุดเดียวกับเมล็ด 3.1.1.1 ข้อ 1) มาปลูกร่วมกับสายพันธุ์เปรียบเทียบของโครงการที่ทราบว่ามีลักษณะดอกตัวผู้เป็นหมัน (มียีโนไทป์ S(msms)) และดอกตัวผู้ไม่เป็นหมัน ซึ่งการที่ดอกตัวผู้ไม่เป็นหมันอาจมียีโนไทป์ S(Msms) หรือ S(MsMs)

2) ในระยะต้นอ่อนหรืออายุ 30 วันหลังจากปลูก เก็บตัวอย่างใบอ่อนของสายพันธุ์ที่ต้องการทดสอบ (ต้นที่ได้จาก 3.1.1.1 ข้อ 1) และต้นเปรียบเทียบที่ทราบว่ามีลักษณะดอกตัวผู้เป็นหมัน (ยีโนไทป์ S(msms)) และไม่เป็นหมัน (ยีโนไทป์ S(MsMs) หรือ S(Msms)) นำมาสกัดดีเอ็นเอตามวิธีการของ Rieseberg et al. (1993) จากนั้นวิเคราะห์ความเข้มข้นของดีเอ็นเอ

3) นำดีเอ็นเอของทานตะวันที่ได้มาทำปฏิกิริยา PCR โดยใช้ไพรเมอร์ที่จำเพาะเจาะจงกับ GMS (Genotypic Male Sterility) ในทานตะวัน (Rieseberg et al., 1992; Rieseberg et al., 1994) ได้แก่ HRG01 และ HRG02 (Köhler et al., 1991; Kusterer et al., 2005)

4) นำดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยา PCR ในข้อ 3) มาแยกขนาดบน 1.5% agarose gel และย้อมดูแถบดีเอ็นเอด้วย ethidium bromide

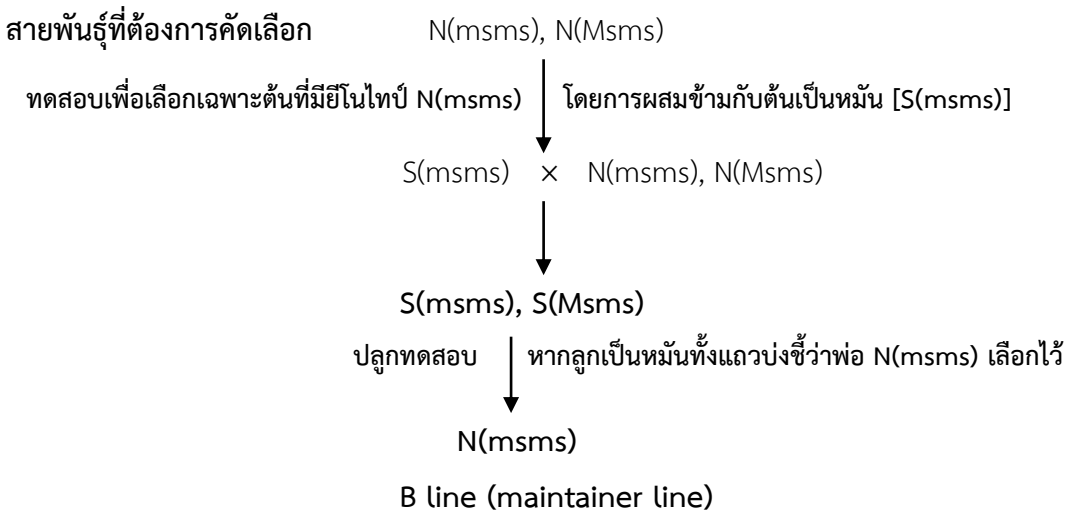
6) ถ่ายภาพเพื่อตรวจสอบขนาดและจำนวนของท่อนดีเอ็นเอในแต่ละตัวอย่าง

7) บันทึกผลการทดลอง และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ที่ต้องการทดสอบ กับสายพันธุ์ของโครงการที่มีลักษณะดอกตัวผู้เป็นหมันและไม่เป็นหมัน โดยหากลูกจากคู่ผสมต่างๆ เมื่อตรวจสอบโดยใช้ 2 ไพรเมอร์จะได้ผลการทดสอบดังนี้

- ไพรเมอร์ HRG01 หากต้นที่ต้องการทดสอบไม่พบแถบดีเอ็นเอเหมือนสายพันธุ์ที่มีดอกตัวผู้เป็นหมัน S(msms) แสดงว่ามียีโนไทป์ N(msms) ทำการคัดเลือกไว้ หากมีลักษณะเหมือนสายพันธุ์ที่มีดอกตัวผู้ไม่เป็นหมัน จะพบแถบดีเอ็นเอขนาด 454-bp (Kusterer et al., 2005) บ่งชี้ว่าต้นนั้นมียีโนไทป์ N(Msms) หรือ N(MsMs) ทำการคัดทิ้ง
- ไพรเมอร์ HRG02 หากต้นที่ต้องการทดสอบไม่พบแถบดีเอ็นเอเหมือนสายพันธุ์ที่มีดอกตัวผู้เป็นหมันแสดงว่ามียีโนไทป์ N(msms) ทำการคัดเลือกไว้ หากมีลักษณะเหมือนสายพันธุ์ที่มีดอกตัวผู้ไม่เป็นหมัน จะได้แถบดีเอ็นเอขนาด 740-bp (Kusterer et al., 2005) แสดงว่ามียีโนไทป์ N(Msms) หรือ N(MsMs) ทำการคัดทิ้ง

ผลจากการทดสอบโดยใช้ 2 ไพรเมอร์ ดังกล่าวมาแล้ว หากต้นจากคู่ผสมใดไม่พบแถบดีเอ็นเอเช่นเดียวกับต้นที่ดอกตัวผู้เป็นหมัน บ่งชี้ว่าต้นนั้นมียีโนไทป์ S(msms) กลับไปใช้ต้นจาก 3.1.1.1 (ข้อ 1) ที่มียีโนไทป์ N(msms) มาผลิต B-line และใช้เป็นต้นพ่อเพื่อผลิต A-line

3.1.1.3 การผลิตสายพันธุ์ N(msms) หรือ B-line เป็นการนำเมล็ดต้นพ่อที่ผ่านการทดสอบในข้อ 3.1.1.1 และ 3.1.1.2 ที่ทดสอบแล้วพบลูกเป็นหมันทั้งแถวและการทดสอบโดยเครื่องหมายโมเลกุลไม่ปรากฏแถบดีเอ็นเอ ซึ่งบ่งชี้ว่าต้นพ่อมียีโนไทป์ N(msms) นำเมล็ดมาปลูกจนถึงระยะออกดอกทำการผสมตัวเอง (รูปที่ 3.2)



รูปที่ 3.2 ขั้นตอนการสร้าง B-line (maintainer line)

การบันทึกลักษณะต่างๆ ในช่วงที่ปลูกทดสอบต้นพ่อ บันทึกลักษณะทางการเกษตร และลักษณะอื่นๆ ที่จำเป็น ได้แก่

- อายุออกดอก: บันทึกอายุออกดอกเป็นในระยะออกดอกรายแถว แล้วหาค่าเฉลี่ย
- ความสม่ำเสมอของความสูงต้น: บันทึกความสม่ำเสมอของความสูงเป็นรายแถว โดยให้เป็นคะแนน 1–5 โดย 1 = มีความสูงไม่สม่ำเสมอ และ 5 = มีความสูงสม่ำเสมอมาก
- รูปร่างดอก ให้คะแนน 1–5 โดย 1 = มีรูปร่างดอกบิดเบี้ยว และ 5 = มีรูปร่างดอกเป็นทรงกลม
- ความแข็งแรงของคอดอก ให้คะแนน 1–5 โดย 1 = คอดอกเล็กไม่แข็งแรง และ 5 = คอดอกแข็งแรงทั้งแถว
- การติดเมล็ด ให้คะแนน 1–100 เปอร์เซ็นต์ โดยการสุ่ม 10 ดอกจากแต่ละซ้ำ จากนั้นคำนวณพื้นที่การติดเมล็ดของดอกเป็นเปอร์เซ็นต์ แล้วคิดเป็นค่าเฉลี่ยจากทั้ง 10 ดอก

ในระยะเก็บเกี่ยวคัดเลือกต้นที่มีลักษณะที่ดีตรงตามความต้องการ คือ มีความสูงต้นสม่ำเสมอ ดอกมีรูปร่างกลมสวย คอดอกมีความแข็งแรงสูง และมีเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดสูง

3.1.1.4 การผลิตสายพันธุ์ S(msms) หรือ A-line เป็นการนำต้นพ่อที่ผ่านการทดสอบในข้อ 3.1.1.1 และ 3.1.1.2 ที่คาดว่ามียีโนไทป์ N(msms) มาปลูกเพื่อใช้เป็นสายพันธุ์พ่อ (W10x2A, W10x5A, W10x10A) พร้อมกับสายพันธุ์ 2A, 5A, 10A ที่มียีโนไทป์ S(msms) ใช้เป็นสายพันธุ์แม่ จากนั้นในระยะออกดอกผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์ ดังนี้ [2A x (W10x2A)], [5A x (W10x5A)], [10A x (W10x10A)] ในระยะสุกแก่เก็บเกี่ยวแล้วนำเมล็ดมาปลูกทดสอบ ซึ่งต้นที่ได้ทั้งหมดต้องมีดอกตัวผู้เป็นหมันทุกต้น พร้อมกันนี้ทำการบันทึกลักษณะทางการเกษตร และลักษณะต่างๆ เช่น อายุออกดอก รูปร่างดอก ความสม่ำเสมอของความสูงต้น ความสม่ำเสมอของอายุออกดอก ความแข็งแรงของคอดอก การติดเมล็ด จากนั้นนำข้อมูลมาใช้ในการคัดเลือกเฉพาะสายพันธุ์ที่มีลักษณะต้นดี ตรงตามความต้องการ

3.1.2 การผลิตสายพันธุ์พ่อ S(MsMs) หรือ C-line เป็นการผลิตสายพันธุ์ทานตะวันที่ไม่เป็นหมันที่มียีโนไทป์ S(MsMs) หรือ S(Msms) สำหรับใช้เป็นสายพันธุ์พ่อในการผลิตลูกผสม ซึ่งสามารถผลิตได้โดยการนำสายพันธุ์ที่ดอกตัวผู้ปกติ (ไม่เป็นหมัน) มาผสมตัวเอง หรือผสมข้ามต้นกับสายพันธุ์เดียวกัน ระหว่างต้นที่มียีโนไทป์ S(Msms) และ S(MsMs) ของแต่ละสายพันธุ์แล้วผสมตัวเอง ดังนี้

1) นำต้น S (Msms) ไปผสมตัวเองจะได้ 3/4(Ms_) และ 1/4 S(msms)

S(Msms) $\otimes$ ⟶ 3/4 S(Ms_) : 1/4 S(msms)

2) นำเมล็ดจากข้อ 1) ไปปลูกทดสอบต้นต่อแถว หากพบว่าแถวใดมีทั้งต้นเป็นหมันและไม่เป็นหมันทำการคัดทิ้ง คัดเลือกแถวที่ไม่พบต้นที่มีดอกตัวผู้เป็นหมันแล้วผสมตัวเองเก็บไว้

S(MsMs) ⟶ S(MsMs) ..... ดอกไม่เป็นหมันทั้งแถว (ผสมตัวเอง เก็บเมล็ดไว้)

S(Msms) ⟶ S(MsMs) ..... ดอกไม่เป็นหมันทั้งแถว (ผสมตัวเอง)

S(Msms) ⟶ S(msms) .....ในแถวมีทั้งดอกเป็นหมันและไม่เป็นหมัน (คัดทิ้ง)

3) นำเมล็ดจากการผสมตัวเองในข้อ 2) มาปลูกเป็นต้นต่อแถว ถ้าทดสอบแล้วมีการกระจายตัวคัดทิ้ง แต่หากไม่มีการกระจายตัวเก็บเมล็ดไว้ใช้ผลิต C-line

S(MsMs) × ⟶ S(MsMs) เก็บไว้

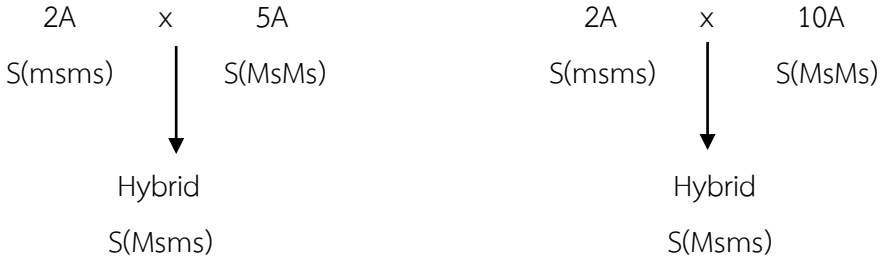
S(Msms) × ⟶ S(MsMs), S(Msms), S(msms) คัดทิ้ง

หากมีการกระจายตัวคัดทิ้ง หากไม่มีการกระจายตัวบ่งชี้ว่ามียีนแก้การเป็นหมัน ซึ่งมียีโนไทป์ S(MsMs) เก็บไว้ผลิตเป็นสายพันธุ์พ่อ (R-line) เมื่อได้แถวที่ไม่เป็นหมันทั้งแถวเก็บเมล็ดมาเพื่อปลูกขยายพันธุ์ โดยนำเมล็ดมาปลูกเป็นรายแถว พร้อมทั้งบันทึกข้อมูลลักษณะต่างๆ พร้อมทั้งประเมินเพื่อให้คะแนนความสม่ำเสมอความสูงต้น ความแข็งแรงต้น และคอดอก เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการคัดเลือกเมื่อเก็บเกี่ยวเก็บเป็นรายแถว นวดเมล็ด

3.1.3 การทดลองผลิตลูกผสม

1) ขยายพันธุ์เพื่อเพิ่มปริมาณสายพันธุ์ B-line (สายพันธุ์ที่ได้จากข้อ 3.1.1.3), A-line (สายพันธุ์ที่ได้จากข้อ 3.1.1.4) และ R-line (สายพันธุ์ที่ได้จากข้อ 3.1.2) ให้ได้เมล็ดจำนวนมากใช้เวลา 1 ชั่วอายุ หรือประมาณ 4 เดือน โดย A-line ต้องผสมข้ามกับ B-line เพื่อให้สามารถผลิตเมล็ดได้ เช่น A-line ของ 2A มีวิธีการคือนำต้น S(msms) x N(msms) ⟶ S(msms) ส่วน B-line และ C-line นำต้นที่ผ่านการคัดเลือกผสมตัวเอง

2) ทดลองผลิตลูกผสมจากสายพันธุ์ 2A, 5A และ 10A โดยการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์เหล่านี้ ได้จำนวน 3 คู่ผสม ได้แก่ 2A×5A, 2A×10A และ 5A×10A โดยการผสมข้ามจะใช้การผสมระหว่าง A-line ของสายพันธุ์แม่ผสมข้ามกับ R-line ของสายพันธุ์พ่อ ดังนี้



3) การปลูกทดสอบผลผลิต และลักษณะต่างๆ ของลูกผสม เมื่อได้เมล็ด F_1 ของทั้ง 3 คู่ผสม แล้วปลูกทดสอบใน 2 ฤดูหรือ 2 สถานที่ โดยปลูกทดสอบ F_1 จำนวน 3 คู่ผสม ร่วมกับพันธุ์เปรียบเทียบ คือ พันธุ์แปซิฟิก 77 ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก (randomized complete block

design, RCBD) จำนวน 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำมีแปลงย่อย 6 แถว แถวยาว 5 เมตร ระยะระหว่างแถว 75 ซม. ระหว่างต้น 25 ซม. ขนาดแปลงทดลอง 4.5 × 6 ตรม./ซ้ำ หลังปลูก 15 วัน ทำการถอนแยกให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุม เมื่อต้นทานตะวันมีอายุ 30 วัน ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 30 กก./ไร่ พร้อมกำจัดวัชพืชและพูนโคน กำจัดโรคและแมลงตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร หลังจากนั้นทำการบันทึกข้อมูลของผลผลิต และลักษณะต่างๆ ดังนี้

<u>การเก็บข้อมูล</u>

- อายุออกดอก (วัน) : ทำการบันทึกอายุออกดอกในระยะออกดอกรายแถว แล้วหาค่าเฉลี่ย
- ความแข็งแรงของคอดอก (คะแนน) ให้คะแนน 1–5 โดย 1 = คอดอกเล็กไม่แข็งแรง และ 5 = คอดอกแข็งแรงทั้งแถว
- รูปทรงของดอก (คะแนน) ให้คะแนน 1–5 โดย 1 = มีรูปร่างดอกบิดเบี้ยว และ 5 = มีรูปร่างดอกเป็นทรงกลม
- ความสม่ำเสมอของความสูง (คะแนน) : บันทึกความสม่ำเสมอของความสูงเป็นรายแถว ให้คะแนน 1–5 โดย 1 = มีความสูงไม่สม่ำเสมอ และ 5 = มีความสูงสม่ำเสมอมาก
- การติดเมล็ด ให้คะแนน 1–100 เปอร์เซ็นต์ โดยการสุ่ม 10 ดอกจากแต่ละซ้ำ จากนั้นคำนวณพื้นที่การติดเมล็ดของดอกเป็นเปอร์เซ็นต์ แล้วคิดเป็นค่าเฉลี่ยจากทั้ง 10 ดอก
- ความสูงของลำต้น (ซม.) สุ่มวัดความสูงต้นในระยะ R7 แปลงละ 10 ต้น แล้วหาค่าเฉลี่ย
- ขนาดดอก (ซม.) สุ่มวัดขนาดดอกในระยะเก็บเกี่ยวแปลงละ 20 ดอก แล้วหาค่าเฉลี่ย
- น้ำหนักเมล็ด (กรัม/ 100 เมล็ด) หลังจากนวดเมล็ดแล้วสุ่มวัดน้ำหนัก 100 เมล็ด แปลงละ 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย
- ผลผลิต (กก./ไร่) เก็บเกี่ยวทานตะวันเป็นรายแปลง เมื่อนวดเมล็ดแล้วนำเมล็ดไปอบลดความชื้น จากนั้นชั่งน้ำหนักเมล็ดต่อพื้นที่เก็บเกี่ยว แล้วเปลี่ยนเป็นกิโลกรัม/ไร่
- เปอร์เซ็นต์น้ำมัน (เปอร์เซ็นต์) นำเมล็ดไปวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณน้ำมันตามวิธีการของ AOAC (1995)

<u>การวิเคราะห์ข้อมูล</u>

วิเคราะห์วาเรียนซ์ของผลผลิต และลักษณะต่างๆ พร้อมเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ซึ่งลักษณะที่ใช้ในการวิเคราะห์ ได้แก่ อายุออกดอก ความสม่ำเสมอของความสูง รูปทรงของดอก ความแข็งแรงของคอดอก ความสูงต้น การติดเมล็ด ขนาดดอก ขนาดเมล็ด ผลผลิต (กก./ไร่) และเปอร์เซ็นต์น้ำมัน

3.2 การเพิ่มผลผลิตทานตะวันโดยวิธีเขตกรรม

การทดสอบปัจจัยการผลิตต่างๆ ที่เหมาะสมกับการปลูกทานตะวัน นอกจากจะทำให้การใช้ปัจจัยการผลิต อันได้แก่ น้ำ ปุ๋ย รวมถึงการจัดการวัชพืช และความหนาแน่นต้น เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพแล้ว ยังทำให้ประหยัดค่าใช้จ่ายในการผลิต และเพิ่มรายได้ในการปลูกทานตะวันด้วย

3.2.1 ผลของการให้น้ำต่อการเจริญเติบโต และการให้ผลผลิตของทานตะวัน

การทดสอบผลของการให้น้ำต่อการเจริญเติบโต และผลผลิตของทานตะวันพันธุ์สังเคราะห์และพันธุ์ลูกผสม เพื่อให้การจัดการน้ำในการผลิตทานตะวันเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ ได้ทดสอบการให้น้ำ 2 แบบ คือ แบบที่ 1 ทดสอบการให้น้ำที่ความถี่ต่างกัน เป็นการให้น้ำเมื่อความชื้นในดินลดลงจนถึงระดับต่างๆ (30 และ 50% AWHC) และแบบที่ 2 ทดสอบช่วงเวลาที่เหมาะสมในการให้น้ำแก่ทานตะวัน การทดสอบเริ่มจากปลูกทานตะวันที่ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ดำเนินการทดสอบใน 2 ฤดู โดยใช้ทานตะวัน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์สังเคราะห์ คือพันธุ์สุรนารี 473 และพันธุ์ลูกผสม คือพันธุ์แปซิฟิก 77 ใช้ระยะห่างระหว่างแถว 70 ซม. และระยะระหว่างต้น 25 ซม. ขนาดแปลงย่อย 4.5 x 6 ตรม. เพื่อทดสอบวิธีการให้น้ำในดินที่มีเนื้อดินเป็นดินร่วนเหนียวปนทรายที่มีผลการวิเคราะห์ดิน ซึ่งพบว่าเนื้อดินมีความเป็นกรด-ด่าง 6.41–6.68 มีอินทรียวัตถุในดินค่อนข้างต่ำ (1.11–1.17) ดินไม่เค็ม ค่า P ปานกลาง (11.5–18.9 ppm) และค่า K อยู่ในระดับต่ำ–ปานกลาง (35–65 ppm) ดังแสดงในตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ผลการวิเคราะห์ดินก่อนปลูกทดสอบทานตะวัน

ตัวอย่าง/ระดับความลึก	pH	EC (µs/cm)	OM (%)	P (ppm)	K (ppm)	Ca (ppm)	Mg (ppm)	S (ppm)	เนื้อดิน
15 cm	6.68	50	1.17	18.9	65	926	234	17	ร่วนเหนียวปนทราย
30 cm	6.41	59	1.11	11.5	35	786	199	15	ร่วนเหนียวปนทราย

สำหรับการทดลองผลของน้ำต่อทานตะวันได้แบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ ความถี่ของการให้น้ำที่เหมาะสม และช่วงเวลาของการให้น้ำที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และการให้ผลผลิตของทานตะวัน ซึ่งได้ดำเนินการทดลองดังนี้

3.2.1.1 ความถี่ของการให้น้ำต่อการเจริญเติบโต และการให้ผลผลิตของทานตะวัน

ทดสอบโดยใช้ความถี่ของการให้น้ำจำนวน 3 ทรีตเมนต์ ได้แก่

T1 = ไม่ให้น้ำ (ให้เฉพาะหลังปลูกครั้งแรก)

T2 = ให้น้ำเมื่อระดับน้ำในดิน (ลึก 30 ซม.) ลดลงถึง 50% AWHC

T3 = ให้น้ำเมื่อระดับน้ำในดิน (ลึก 30 ซม.) ลดลงถึง 30% AWHC

การให้น้ำทุกครั้ง จะให้จนถึงระดับ Field Capacity ที่ความลึก 30 ซม.

<u>การเก็บข้อมูล</u>

- ความชื้นในดิน ก่อนให้น้ำทุกครั้ง
- ปริมาณการให้น้ำแต่ละครั้ง/ตลอดการทดลอง
- ความสูงต้น (ซม.) วัดความสูงต้นในระยะ R7 จำนวน 10 ต้นต่อแปลงแล้วหาค่าเฉลี่ย
- ขนาดดอก (ซม.) สุ่มวัดขนาดดอกในระยะเก็บเกี่ยวแปลงละ 20 ดอก แล้วหาค่าเฉลี่ย
- ขนาดเมล็ด (กรัม/100 เมล็ด) หลังจากนวดเมล็ดแล้ว สุ่มวัดน้ำหนัก 100 เมล็ด แปลงละ 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย
- การกะเทาะ (%) เมื่อนวดเมล็ดแล้วเทียบสัดส่วนระหว่างน้ำหนักเมล็ดและน้ำหนักจานดอกเป็นเปอร์เซ็นต์
- น้ำหนักแห้งต้นในระยะ V6, R1, R3, R5 โดยสุ่มตัดต้นแปลงละ 4 ต้น เพื่อนำไปอบที่ 70°C เป็นเวลา 48 ชม. ชั่งน้ำหนักแห้งเป็นกรัม
- ผลผลิต (กก./พื้นที่) เก็บเกี่ยวทานตะวันเป็นรายแปลง เมื่อนวดเมล็ดแล้วนำเมล็ดไปอบลดความชื้น จากนั้นชั่งน้ำหนักเมล็ดต่อพื้นที่เก็บเกี่ยว

<u>การวิเคราะห์ข้อมูล</u>

วิเคราะห์วาเรียนซ์ของผลผลิต และลักษณะต่างๆ พร้อมเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย

3.2.1.2 ช่วงเวลาของการให้น้ำต่อการเจริญเติบโต และการให้ผลผลิตของทานตะวัน ทำการทดสอบโดยใช้ความถี่ของการให้น้ำจำนวน 5 ทรีตเมนต์ ได้แก่

T1 = ให้น้ำ 10 ครั้ง โดยให้ทุกๆ 10 วัน
T2 = ให้น้ำ 8 ครั้ง (หลังปลูก, ระยะ V3, V6, R1, R3, R5, R6, R7)
T3 = ให้น้ำ 6 ครั้ง (หลังปลูก, ระยะ V4, R1, R3, R5, R6)
T4 = ให้น้ำ 4 ครั้ง (หลังปลูก, ระยะ V4, R3, R5)
T5 = ไม่ให้น้ำ (ให้เฉพาะหลังปลูกครั้งแรก)

การให้น้ำทุกครั้ง จะให้จนถึงระดับ Field Capacity ที่ความลึก 30 ซม.

<u>การเก็บข้อมูล</u> ทำการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองอื่นๆ โดยเก็บข้อมูลของลักษณะต่างๆ ดังนี้

- ความชื้นในดิน ก่อนให้น้ำทุกครั้ง
- ปริมาณการให้น้ำแต่ละครั้ง/ตลอดการทดลอง
- การกะเทาะ (%)
- ความสูงต้น (ซม.)
- ขนาดดอก (ซม.)
- ผลผลิต (กก./พื้นที่)

- น้ำหนักแห้งต้นในระยะ V6, R1, R3, R5 - ขนาดเมล็ด (กรัม/100 เมล็ด)

<u>การวิเคราะห์ข้อมูล</u>

ทำการวิเคราะห์วาเรียนซ์ของผลผลิต และลักษณะต่างๆ พร้อมเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย

3.2.2 ผลของชนิดปุ๋ยต่อการเจริญเติบโต และการให้ผลผลิตของทานตะวัน

3.2.2.1 ผลของชนิดปุ๋ยต่อการเจริญเติบโต และการให้ผลผลิตของทานตะวัน

ปลูกทดสอบทานตะวันที่ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยใช้ทานตะวัน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์สังเคราะห์ คือ พันธุ์สุรนารี 473 และพันธุ์ลูกผสมคือ พันธุ์แปซิฟิก 77 โดยใช้ระยะระหว่างแถว 70 ซม. และระยะระหว่างต้น 25 ซม. จำนวน 6 แถว แถวยาว 6 เมตร ขนาดแปลงย่อย 4.5 x 6 ตรม./ซ้ำ การป้องกันกำจัดวัชพืช โรค และแมลง ทำตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร โดยมีชนิดและวิธีการให้ปุ๋ย ดังนี้

T1 = ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 30 กก./ไร่
T2 = ปุ๋ยเคมี ตามค่าการวิเคราะห์ดิน
T3 = ปุ๋ยอินทรีย์ + ปุ๋ยเคมี ตามค่าการวิเคราะห์ดิน
T4 = ปุ๋ยเคมี + จุลธาตุ (พ่นทางใบ) ตามค่าการวิเคราะห์ดิน
T5 = ปุ๋ยอินทรีย์ + ปุ๋ยเคมี + จุลธาตุ (พ่นทางใบ) ตามค่าการวิเคราะห์ดิน

<u>การเก็บข้อมูล</u> ทำการเก็บข้อมูลเหมือนการทดลองอื่นๆ ดังนี้

- ความสูงต้น (ซม.) - ขนาดดอก (ซม.)
- การกะเทาะ (%) - ผลผลิต (กก./พื้นที่)
- น้ำหนักแห้งต้นในระยะ R5 - ขนาดเมล็ด (กรัม/100 เมล็ด)

<u>การวิเคราะห์ข้อมูล</u>

วิเคราะห์วาเรียนซ์ของผลผลิต และลักษณะต่างๆ พร้อมเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย

3.2.2.2 ผลของโบรอนต่อการเจริญเติบโต และการให้ผลผลิตของทานตะวัน

ปลูกทดสอบทานตะวันที่ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยใช้ทานตะวัน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์สังเคราะห์คือ พันธุ์สุรนารี 473 และพันธุ์ลูกผสมคือ พันธุ์แปซิฟิก 77 โดยใช้ระยะระหว่างแถว 70 ซม. และระยะระหว่างต้น 25 ซม. จำนวน 6 แถว แถวยาว 6 เมตร ขนาดแปลงย่อย 4.5 x 6 ตรม./ซ้ำ การป้องกันกำจัดวัชพืช โรค และแมลง ทำตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร โดยมี 2 ปัจจัย ดังนี้

ปัจจัยที่ 1 การให้ปุ๋ยอินทรีย์ และไม่ให้ปุ๋ยอินทรีย์

ปัจจัยที่ 2 การให้ปุ๋ยเคมี และให้โบแรกซ์

T1 = ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 30 กิโลกรัม/ไร่

T2 = โบแรกซ์ 500 ก./ไร่ + ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 30 กิโลกรัม/ไร่

T3 = โบแรกซ์ 1,000 ก./ไร่ + ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 30 กิโลกรัม/ไร่

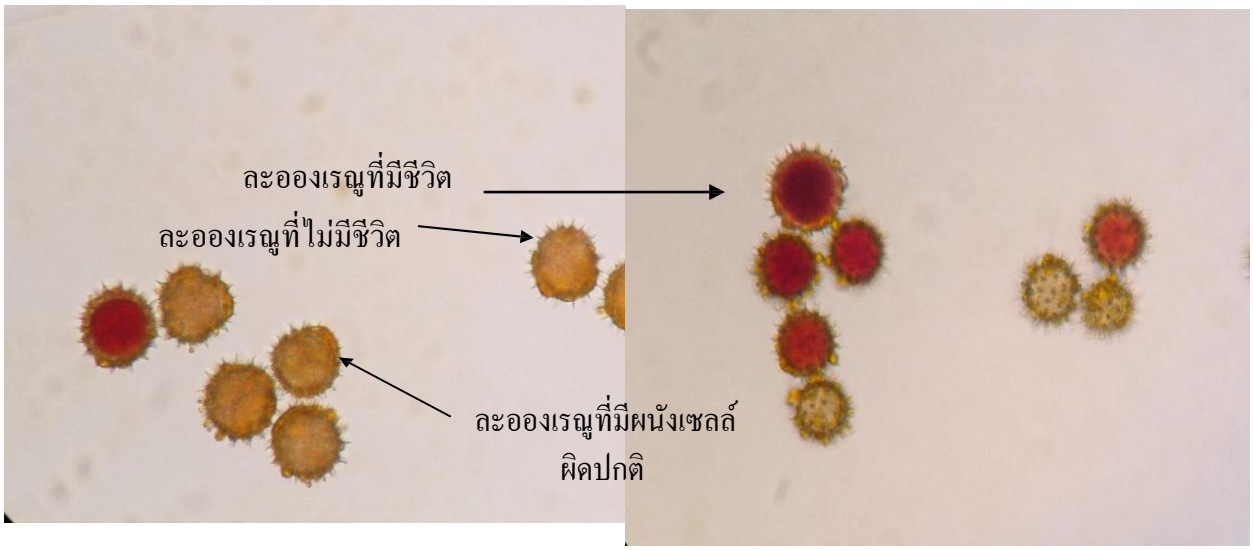
T4 = โบแรกซ์ 1,500 ก./ไร่ + ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 30 กิโลกรัม/ไร่

T5 = โบแรกซ์ 2,000 ก./ไร่ + ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 30 กิโลกรัม/ไร่

<u>การเก็บข้อมูล</u> เก็บข้อมูลลักษณะต่างๆ ดังนี้

- ความมีชีวิตของละอองเรณู ในระยะดอกบาน (R5.1) สุ่มเก็บดอกทานตะวันทุกทรีตเมนต์ จากนั้นนำละอองเรณูมาย้อมด้วย Tetrazolium จากนั้นนับเปอร์เซ็นต์ความมีชีวิต โดยละอองเรณูที่มีชีวิตจะติดสีย้อม ส่วนละอองเรณูที่ไม่มีชีวิตจะไม่ติดสี (รูปที่ 3.3)

- ความสูงต้น (ซม.)
- ผลผลิต (กก./ไร่)
- น้ำหนักแห้ง ในระยะ R5
- ปริมาณโบรอนในใบ
- ขนาดดอก (ซม.)
- ขนาดเมล็ด (กรัม/100 เมล็ด)
- เปอร์เซ็นต์น้ำมัน
- การติดเมล็ด (%)



รูปที่ 3.3 ผลการย้อมสีละอองเรณูทานตะวันด้วยวิธี Tetrazolium Test

<u>การวิเคราะห์ข้อมูล</u>

วิเคราะห์วาเรียนซ์ของผลผลิต และลักษณะต่างๆ พร้อมเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย

3.2.3 ผลของความหนาแน่นประชากรต่อการเจริญเติบโต และการให้ผลผลิตของทานตะวัน

ปลูกทดสอบทานตะวันที่ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ใน 2 ฤดู ทดสอบในทานตะวันพันธุ์สุรนารี 473 ขนาดแปลงย่อย 4.5 × 6 ตรม./ซ้ำ ปลูกจำนวน 6 แถวต่อแปลงย่อย แต่ละแถวยาว 6 เมตร การให้น้ำ ปุ๋ย และการกำจัดวัชพืช โรค และแมลง ทำตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร มีระยะปลูกและจำนวนต้น/ไร่ต่าง ๆ กันดังนี้

T1 = ระยะระหว่างแถวและระยะระหว่างต้น 75×30 ซม. (7,111 ต้น/ไร่)
T2 = ระยะระหว่างแถวและระยะระหว่างต้น 75×25 ซม. (8,533 ต้น/ไร่)
T3 = ระยะระหว่างแถวและระยะระหว่างต้น 70×30 ซม. (7,619 ต้น/ไร่)
T4 = ระยะระหว่างแถวและระยะระหว่างต้น 70×25 ซม. (9,143 ต้น/ไร่)
T5 = ระยะระหว่างแถวและระยะระหว่างต้น 65×30 ซม. (8,205 ต้น/ไร่)
T6 = ระยะระหว่างแถวและระยะระหว่างต้น 65×25 ซม. (9,846 ต้น/ไร่)

การเก็บข้อมูล เก็บข้อมูลเหมือนการทดลองอื่นๆ ดังนี้

- ดัชนีพื้นที่ใบ (LAI) ในระยะ R1
- ความสูงต้น (ซม.)
- น้ำหนักแห้งต้นในระยะ V4, V6, R3, R5
- ขนาดดอก (ซม.)
- ผลผลิต (กก./พื้นที่)
- ขนาดเมล็ด (กรัม/100 เมล็ด)

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์วาเรียนซ์ของผลผลิต และลักษณะต่างๆ พร้อมเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย

3.2.4 ผลของวิธีการกำจัดวัชพืชต่อการเจริญเติบโต และการให้ผลผลิตของทานตะวัน

ปลูกทดสอบทานตะวันที่ฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี โดยใช้ทานตะวัน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์สังเคราะห์คือ พันธุ์สุรนารี 473 และพันธุ์ลูกผสมคือ พันธุ์แปซิฟิก 55 ใช้ระยะระหว่างแถว 70 ซม. และระยะระหว่างต้น 25 ซม. จำนวน 6 แถว แถวยาว 6 เมตร ขนาดแปลงย่อย 4.5 × 6 ตรม./ซ้ำ การให้น้ำ ปุ๋ย รวมถึงการป้องกันกำจัดโรคและแมลง ทำตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร มีวิธีการกำจัดวัชพืช ดังนี้

T1 = ไม่กำจัดวัชพืช
T2 = ฉีดพ่นยาคุมวัชพืชก่อนงอก
T3 = ฉีดพ่นยาคุมวัชพืชก่อนงอก + ใช้แรงงานคนกำจัดวัชพืชหลังงอก 35 วัน
T4 = ฉีดพ่นยาคุมวัชพืชก่อนงอก + ฉีดพ่นยากำจัดวัชพืชหลังงอก 35 วัน

<u>การเก็บข้อมูล</u> เก็บข้อมูลเหมือนการทดลองอื่นๆ ดังนี้

- ความสูงต้น (ซม.)
- ขนาดดอก (ซม.)
- การกะเทาะ (%)
- ผลผลิต (กก./พื้นที่)
- น้ำหนักแห้งต้นในระยะ V6, R1, R3, R5
- ขนาดเมล็ด (กรัม/100 เมล็ด)

<u>การวิเคราะห์ข้อมูล</u>

วิเคราะห์วาเรียนซ์ของผลผลิต และลักษณะต่างๆ พร้อมเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย

3.3 การทดสอบผลของปัจจัยการผลิตต่อผลผลิตของทานตะวัน

ปลูกทดสอบทานตะวันใน 2 ฤดู ฤดูละ 4 ซ้ำ โดยใช้ทานตะวัน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์สังเคราะห์ คือ พันธุ์สุรนารี 473 และพันธุ์ลูกผสมคือ พันธุ์แปซิฟิก 77 โดยมีขนาดแปลงย่อย 4.5 x 6 ตรม./ซ้ำ ทดสอบที่ 2 ระยะปลูก คือ 65x30 ซม. และ 70x30 ซม. การให้ปุ๋ย น้ำ และการป้องกันกำจัดวัชพืช โรค และแมลง ทำตามวิธีการต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 3.2 ดังนี้

Low Input = ปลูกและดูแลรักษาตามวิธีการของเกษตรกร

Medium Input = ให้น้ำตามระยะที่จำเป็น (6 ครั้ง) ให้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน กำจัดวัชพืช โรค และแมลง เมื่อมีการระบาด

High Input = ให้น้ำ 10 ครั้ง ให้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน กำจัดวัชพืช โรค และแมลง เมื่อมีการระบาด ส่วนระยะปลูกของทั้ง 3 ระดับใช้จากผลการทดลองที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 การจัดทรีตเมนต์เพื่อทดสอบการใช้ปัจจัยการผลิตที่แตกต่างกันในทานตะวัน

ทรีตเมนต์	ปุ๋ย[1]	น้ำ	วัชพืช	ระยะปลูก (แถวxต้น)
Low Input[2]	1	1	1	70x30 และ 65x30 ซม.
Medium Input	2	2	2	70x30 และ 65x30 ซม.
High Input	3	3	2	70x30 และ 65x30 ซม.

(ดัดแปลงจาก Laosuwan and Macartney, 1992)

[1] **การให้ปัจจัยการผลิต** 1 = ระดับต่ำ, 2 = ระดับปานกลาง และ 3 = ระดับสูง

[2] **Low input** = ให้ปุ๋ยเคมีพร้อมปลูกตามวิธีเกษตรกร น้ำให้ครั้งเดียวหลังปลูก กำจัดวัชพืชครั้งเดียวโดยฉีดยาคุมวัชพืชหลังปลูก การป้องกันกำจัดแมลงและโรคเมื่อมีการระบาด

Medium input = ให้ปุ๋ยเคมีและจุลธาตุตามค่าวิเคราะห์ดิน (ใส่ 2 ครั้ง รองพื้น+หลังถอนแยก) ให้น้ำในระยะที่จำเป็น (6 ครั้ง) กำจัดวัชพืช 2 ครั้ง (ฉีดยาคุมวัชพืชหลังปลูก+พร้อมกับให้ปุ๋ยครั้งที่ 2 หากมีวัชพืชระบาด) การป้องกันกำจัดแมลงและโรคเมื่อมีการระบาด

High input = ให้ปุ๋ยเคมีและจุลธาตุตามค่าวิเคราะห์ดิน (ใส่ 2 ครั้ง รองพื้น+หลังถอนแยก) ให้น้ำตามความต้องการของพืช (10 ครั้ง) กำจัดวัชพืช 2 ครั้ง (ฉีดยาคุมวัชพืชหลังปลูก+พร้อมกับให้ปุ๋ยครั้งที่ 2) และป้องกันกำจัดแมลงและโรคเมื่อมีการระบาด

<u>การเก็บข้อมูล</u> เก็บข้อมูลเหมือนการทดลองอื่นๆ ดังนี้

- ความสูงต้น (ซม.)
- การกะเทาะ (%)
- น้ำหนักแห้งต้นในระยะ V6, R3, R5, R6
- ขนาดดอก (ซม.)
- ผลผลิต (กก./ไร่)
- ขนาดเมล็ด (กรัม/100 เมล็ด)

<u>การวิเคราะห์ข้อมูล</u>

วิเคราะห์วาเรียนซ์ของผลผลิต และลักษณะต่างๆ พร้อมเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย