

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ



190949



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การสร้างสภาวะการณ์โลกร้อนในพื้นที่ไร่ถั่วเหลืองเพื่อประเมินผลกระทบที่มีต่อ
การเปลี่ยนแปลงคุณภาพสารอาหาร และ การเปลี่ยนแปลงในระดับพันธุกรรม
ของถั่วเหลืองพันธุ์สำคัญของประเทศไทย

Simulation of Global Warming Situation in Soybean Plantation for
Assessing Impact on Quality of Nutrition Value and Genetic Change of
Importance Thai Economic Soybean

โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กณิตา ธนเจริญชนภาส

และ คณะ

เสนอ

มหาวิทยาลัยนครสวรรค์

ธันวาคม 2554

6 00 256090

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



190949



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การสร้างสภาวะการณ์โลกร้อนในพื้นที่ไร่ถั่วเหลืองเพื่อประเมินผลกระทบที่มีต่อ
การเปลี่ยนแปลงคุณภาพสารอาหาร และ การเปลี่ยนแปลงในระดับพันธุกรรม
ของถั่วเหลืองพันธุ์สำคัญของประเทศไทย

Simulation of Global Warming Situation in Soybean Plantation for
Assessing Impact on Quality of Nutrition Value and Genetic Change of
Importance Thai Economic Soybean



โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กณิตา ธนเจริญชนภาส

และ คณะ

เสนอ

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ธันวาคม 2554

ส่วนที่ 1 รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัย

1. ชื่อโครงการวิจัย
(ภาษาไทย)

การสร้างสภาวะการณ์โลกร้อนในพื้นที่ไร่ถั่วเหลืองเพื่อ
ประเมินผลกระทบที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ
สารอาหาร และการเปลี่ยนแปลงในระดับพันธุกรรม ของ
ถั่วเหลืองพันธุ์สำคัญของประเทศไทย

(ภาษาอังกฤษ) Simulation of Global Warming Situation in Soybean
Plantation for Assessing Impact on Quality of
Nutrition Value and Genetic Change of
Importance Thai Economic Soybean

2. รายชื่อคณะผู้วิจัย พร้อมทั้งหน่วยงานที่สังกัด หมายเลขโทรศัพท์ โทรสาร และ E-mail

2.1 หัวหน้าโครงการวิจัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กณิตา ธนเจริญชนภาส
ภาควิชา ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยนเรศวร, จังหวัดพิษณุโลก 65000
โทรศัพท์: 055-962751

โทรสาร : 055-962750

E-mail : kanitat@nu.ac.th

2.2 ผู้ร่วมโครงการวิจัย

(1) ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. โอโรส รักชาติ
ภาควิชา อุตสาหกรรมเกษตร, คณะเกษตรศาสตร์
ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยนเรศวร , จังหวัดพิษณุโลก 65000
โทรศัพท์: 055-962745

โทรสาร : 055-962750

Email: oroser@nu.ac.th

(2) นเรศ ขำเจริญ

ภาควิชา ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยนเรศวร , จังหวัดพิษณุโลก 65000

โทรศัพท์: 055-962751

โทรสาร : 055-962750

3. ได้รับอนุมัติจัดสรรงบประมาณประจำปี 2552 จำนวนเงิน 300,000 บาท

4. ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยสาขา สาขาเกษตรศาสตร์ และ ชีววิทยา

5. เริ่มทำการวิจัยเมื่อ ตุลาคม 2551 ถึง พฤศจิกายน 2554

กิตติกรรมประกาศ

ดิฉันในฐานะหัวหน้าโครงการวิจัย เรื่องการสร้างสภาวะการณ์โลกร้อนในพื้นที่ไร่ถั่วเหลืองเพื่อประเมินผลกระทบที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพสารอาหาร และการเปลี่ยนแปลงในระดับพันธุกรรม ของถั่วเหลืองพันธุ์สำคัญของประเทศไทย และ ทีมผู้ร่วมวิจัย ขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยนเรศวร เป็นอย่างยิ่งสำหรับการอนุมัติและสนับสนุนทุนการวิจัย เป็นจำนวนเงิน 300,000 บาท ซึ่งเป็นงบประมาณสนับสนุนการวิจัยประจำปีงบประมาณแผ่นดินปี 2552 และขอขอบคุณอย่างยิ่งสำหรับการอนุมัติให้ขยายเวลาการดำเนินโครงการ จนสามารถดำเนินการวิจัยจนสำเร็จได้เป็นอย่างดี ขอขอบคุณสำหรับภาควิชาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม และ หน่วยวิจัย คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม สำหรับการอนุเคราะห์ และ ให้ความสะดวกสำหรับการปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการ และ ให้ความสะดวกในด้านเอกสารตามลำดับ และขอขอบคุณเป็นพิเศษสำหรับ นิสิตระดับปริญญาโทสาขาวิชาการจัดการทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม คือ นายนเรศ ขำเจริญ และ นิสิตปริญญาโทสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ นางสาว วิริยาภรณ์ บุญทะปัญญา รวมทั้ง นิสิตปริญญาโทสาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ นางสาว อนุสรรา โพธิ์ศรี ซึ่งได้ปฏิบัติงานเป็นผู้ช่วยในการปฏิบัติงานภาคสนาม ซึ่งรวมทั้งการเก็บตัวอย่างและ เป็นผู้ช่วยในการปฏิบัติงานในห้องปฏิบัติการมาโดยตลอดจนเสร็จสิ้นการวิจัยในครั้งนี้ ซึ่งสิ่งเหล่านี้ล้วนแต่เป็นส่วนสำคัญเป็นอย่างยิ่งสำหรับความสำเร็จของงานวิจัยในครั้งนี้

หัวหน้าโครงการวิจัย

บทคัดย่อ

190949

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบบระยะยาวของระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกันในช่วงฤดูเพาะปลูกที่มีต่อผลผลิต คุณภาพสารอาหาร และลักษณะทางพันธุกรรมในถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merrill) พันธุ์เชียงใหม่ 60 งานวิจัยนี้ได้ดำเนินการ ณ แปลงทดลองทางการเกษตร มหาวิทยาลัยนครสวรรค์ จังหวัดพิษณุโลก ซึ่งใช้เวลาในการศึกษาระยะยาว 3 ปี เพื่อให้ผลผลิตถึงรุ่นที่ 2 ระหว่าง พ.ศ. 2552-2554 โดยปลูกถั่วเหลืองภายใต้สภาวะการควบคุมอุณหภูมิให้แตกต่างกัน 3 ระดับคือ ระดับอุณหภูมิต่ำกว่าธรรมชาติ ระหว่างการวิจัย(ชุดทดลองLT) ควบคุมระดับอุณหภูมิให้ใกล้เคียงกับระดับธรรมชาติภายนอกตู้ทดลองระหว่างทำวิจัย(ชุดทดลองAT) และควบคุมระดับอุณหภูมิให้สูงกว่าระดับธรรมชาติภายนอกตู้ทดลองระหว่างการวิจัย(HT)ภายใต้การควบคุมโดยระบบตู้ทดลองแบบเปิดด้านบนทุกวัน โดยตรวจวัดผลกระทบตั้งแต่ช่วงระยะ V1 ถึง R8 ผลการศึกษาพบว่าสภาวะอุณหภูมิสูงกว่าระดับธรรมชาติส่งผลเชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อถั่วเหลือง ในปัจจัยด้านความสูง ดัชนีพื้นที่ใบ คลอโรฟิลล์เอ น้ำหนัก 100 เมล็ด เถ้า และเยื่อใยตามลำดับ โดยเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดทดลอง HT กับ AT พบว่าความสูงลำต้นของถั่วเหลืองเพิ่มขึ้นที่ระดับ 11.41 % 7.8% และ 13.33% ที่ระยะ V3 R1 และ R3 ในรุ่นที่ 1 ตามลำดับ และพบว่าน้ำหนัก 100 เมล็ด มีการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเท่ากับ 18.72 ในรุ่นที่ 2 ในขณะที่เดียวกับเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดทดลอง LT กับ HT ที่พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการศึกษาบ่งชี้ว่าค่าดัชนีพื้นที่ใบที่ระยะ R1 เพิ่มขึ้น ที่ระดับ 23.17 % นอกจากนั้นปริมาณคลอโรฟิลล์เอ ที่ระยะ R1 R6 และ R8 เพิ่มขึ้นที่ระดับ 47.39% 36.35% และ 55.28% ตามลำดับ แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญที่สถิติ ที่ผลผลิตรุ่นที่ 2 แต่อย่างใด ยกเว้นการวิเคราะห์ในปริมาณเยื่อใยซึ่งพบว่า เพิ่มขึ้นถึง 14.22 % และ 8.3 % ทั้งผลผลิตรุ่นที่ 1 และรุ่นที่ 2 ตามลำดับ ส่วนปริมาณเถ้าพบว่ามีระดับเพิ่มขึ้นในผลผลิตรุ่นที่ 2 โดยเพิ่มขึ้น 23.67 % เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง LT และ HT ผลการศึกษาในทางตรงข้ามก็ได้รับการสังเกตพบเช่นกัน โดยพบว่าผลกระทบของสภาวะอุณหภูมิสูงส่งผลในทางลบต่อปริมาณโปรตีนและไขมันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดทดลอง LT กับ HT พบว่าโปรตีนลดลง 68.42 % ในรุ่นที่ 1 แต่ไม่พบผลความแตกต่างในรุ่นที่ 2 ส่วนปริมาณไขมันลดลงถึง 64 % ในรุ่นที่ 2 โดยเปรียบเทียบผลการศึกษาระหว่าง AT กับ HT ซึ่งไม่พบผลดังกล่าวในรุ่นที่ 1 สุดท้ายเมื่อนำถั่วเหลืองทั้งสองรุ่นไปวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรม โดยเทคนิค AFLPs พบว่า ระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกันส่งผลต่อการแบ่งกลุ่มพันธุกรรมออกเป็น 2 กลุ่มอย่างชัดเจนคือ คือ กลุ่มของ AT และ LT ที่แยกกลุ่มจาก HT อย่างชัดเจน เมื่อพิจารณาพบว่าพันธุกรรมของกลุ่ม AT ซึ่งเป็นกลุ่มที่อุณหภูมิต่ำกว่าระดับปกติในการปลูกนั้น แยกกลุ่มออกมาอย่างชัดเจน ในการปลูกรุ่นที่ 1 ส่วนกลุ่ม LT แยกลักษณะทางพันธุกรรมออกมาอย่างชัดเจนในการปลูกรุ่นที่ 2

ABSTRACT

190949

The purpose of the research was to investigate the long-term effect of difference levels of air temperature during growing season on yield production, nutrition value and genetic characteristic in soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) Chiang Mai 60 cultivar. The experiment was carried out at the Agricultural Research field, Naresuan University in Phitsanulok for 3 years to produced 2 generations during 2009-2011. Soybean plants were exposed to 3 levels of air temperature; Lower Ambient Air Temperature (LT), Ambient Air Temperature(AT), Higher Ambient Air Temperature(HT) under open top chamber system, from V1 through maturing stage. It was found that higher ambient air temperature condition induced significant positive responses in height, LAI, Chlorophyll *a* (Chl *a*), 100 seed weight, ash and fiber. We found sufficient evidence comparing between HT and AT treatments in height and 100 seed weight parameters. At the 1st generation, the results showed the significantly increase in height by 11.41%, 7.8% and 13.33% at V3, R1 and R3 growth stage, respectively. While, the significant increase by 18.72 % of 100 seed weight was found at the 2nd generation. The significant results were found in LAI and pigment content when compared between LT and HT treatment. The significant increased in Leaf Area Index(LAI) by 23.17 % appeared at R1 stage in HT treatment. In addition, Chl *a* content were increased by 47.39 %, 36.35 % and 55.28 % at R1, R6 and R8 stage, respectively. Although, the similar results were not found in the 2nd generation. Although, we found the significant increase by 14.22% and 8.3% in fiber at both the 1st and the 2nd generations, and the increase by 23.67% in ash at the 2nd generations. In contrast, the negative results under high air temperature condition were shown in protein and lipid. At the 1st Generation, protein loss by 68.42 % (compared between LT-HT) while lipid loss by 64.86% was found at the 2nd Generation (compared between AT-HT). Finally, we analyzed phenotypic changes by the Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLPs) technique to investigated the effects of temperature variability on phenotype characteristic changes of soybeans for 2 cropping periods. Six primer sequences of DNA indicated that soybeans under 3 levels of temperature in the growing season could be categorized into 2 groups; AT and LT treatments were separated at the 1st cropping period and the 2nd cropping period, respectively.

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร (Executive Summary)

สรุปโครงการวิจัย

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

การเปลี่ยนแปลงสภาวะภูมิอากาศโลกโดยเฉพาะอย่างยิ่งการเพิ่มอุณหภูมิในบรรยากาศของโลก (global warming) ในชั้นโทรโปสเฟียร์ เป็นปัญหาในระดับโลกมาเป็นเวลาต่อเนื่องหลายปีจนถึงปัจจุบัน จากการศึกษาของกลุ่มนักวิทยาศาสตร์ และ องค์การระดับโลกได้ระบุอย่างชัดเจนว่า การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิโลกนั้น มีความสัมพันธ์ที่ชัดเจนกับการเพิ่มขึ้นของกลุ่มก๊าซเรือนกระจกของโลกอาทิ เช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ไนตรัสออกไซด์ (N_2O) มีเทน (CH_4) และ คลอโรฟลูออโรคาร์บอน (CF_2Cl_2) (Horel and Geisler, 1997; IPCC, 2001; Keeling and Whorf, 2003; IPCC, 2006; IPCC, 2007) ในปัจจุบันพบว่าอุณหภูมิของโลกได้เพิ่มขึ้นแล้วประมาณ 0.6 ในช่วง ศตวรรษที่ผ่านมา (Stott *et al.*, 2006) และจากการรายงานขององค์การระดับโลก คือ IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) ได้คาดการณ์ว่า อุณหภูมิของโลกในอนาคตมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยทำนายว่าอุณหภูมิจะเพิ่มสูงขึ้นกว่าค่าเฉลี่ยปกติถึง $4.5\text{ }^\circ\text{C}$ และเมื่อมีการศึกษาเพิ่มเติมในเวลาต่อมาพบว่าอุณหภูมิเฉลี่ยโลกจะเพิ่มขึ้นถึงประมาณ $1.1\text{-}6.4\text{ }^\circ\text{C}$ ภายในศตวรรษที่ 21 อันเป็นความสัมพันธ์กับปริมาณการเพิ่มขึ้นของก๊าซเรือนกระจกที่สำคัญคือ CO_2 และ CH_4 ในบรรยากาศ (IPCC, 2006; IPCC, 2007)

ปัญหาที่สำคัญมากประการหนึ่งซึ่งเกิดจากผลกระทบของภาวะโลกร้อนคือ การลดลงของผลผลิตทางการเกษตรในพื้นที่ต่างๆทั่วโลก (Fuhrer, 2003; Stangeland, 2007) ผลการวิจัยในหลายประเทศพบว่าปัญหาโลกร้อนมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญต่อการลดลงของผลผลิตทางการเกษตร ของธัญพืชอาหารหลักของโลกหลายชนิด เป็นพื้นที่ในบริเวณกว้าง เช่น ข้าวสาลี ข้าวเจ้า ถั่วเหลือง เนื่องด้วยอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นในบรรยากาศส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงในเชิงสรีรวิทยาในพืชซึ่งนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงในเชิงลบต่อกลไกการผลิตสารอาหาร ประกอบกับปัญหาร่วมจากพื้นที่ทำการเกษตรถูกทำลายจากภาวะอุทกภัยจากโลกร้อน ความแปรปรวนของฤดูกาล การเพิ่มขึ้นของแมลงศัตรูพืช การเปลี่ยนแปลงความสมดุลของปริมาณธาตุอาหารในดิน การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิเกินระดับวิกฤตของพืช รวมทั้งปริมาณน้ำฝนที่ลดลงซึ่งจะส่งผลต่อการลดผลผลิตของพืชทางการเกษตรอย่างต่อเนื่อง (Jacobson, 2002; Fuhrer, 2003; Prasad *et al.*, 2006) และ ภาวะนี้จะยังคงเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องในอนาคตหากอุณหภูมิของโลกยังคงสูงขึ้นต่อไป สถานการณ์ปัญหาที่เกิดขึ้นนี้ ทำให้นักวิทยาศาสตร์ในหลายๆประเทศ รวมทั้งประเทศในแถบทวีปเอเชีย ได้ทำการศึกษาวิจัยเพื่อให้ทราบสถานการณ์ เพื่อประเมินผลกระทบของสภาวะโลกร้อนที่มีผลต่อพืชทางการเกษตรทั้งในสภาวะปัจจุบันและในอนาคต โดยรูปแบบการวิจัยนั้นมีทั้งการใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อทำนายและประเมินผล และ รูปแบบงานวิจัยในแปลงทดลองเพื่อจำลองสถานการณ์จริงในพื้นที่ (Jacobson, 2002; Fuhrer, 2003; Prasad *et al.*, 2006) ทั้งนี้กลุ่มนักวิทยาศาสตร์เหล่านี้มีจุดประสงค์ในการทำการวิจัยเพื่อให้ทราบข้อมูลที่แม่นยำที่เกิดขึ้นได้จริงและเพื่อให้ได้

ข้อมูลพื้นฐานอันนำไปสู่การหาคำถามที่แม่นยำในการทำนายเชิงคณิตศาสตร์อันจะนำไปสู่การจัดการปัญหานี้ต่อไปในอนาคตนั่นเอง

จากข้อมูลปัญหาของสภาวะโลกร้อนและผลกระทบต่อผลผลิตทางด้าน การเกษตรดังกล่าวแล้วมาข้างต้น จำเป็นที่จะต้องพิจารณาความเกี่ยวข้องของสถานการณ์ของ ปัญหานี้ในประเทศไทยทั้ง 2 ประเด็น ในประเด็นที่หนึ่งคือ ประเทศไทยเป็นประเทศ เกษตรกรรมที่สำคัญในระดับเอเชียและในระดับโลก ประเด็นที่สอง เมื่อประเมินสถานการณ์ การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิในประเทศไทยซึ่งพบว่าปัญหานี้เกิดขึ้นแล้วในประเทศไทย ซึ่งขณะนี้ พบว่าค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิในประเทศไทยสูงขึ้นกว่าปกติในช่วงระหว่าง $0.5-1.2^{\circ}\text{C}$ ในช่วงหลาย ปีที่ผ่านมา (จกกลณี อยู่สบาย, 2550) จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งและเร่งด่วนที่จะต้อง ดำเนินการศึกษาวิจัยเพื่อให้ทราบผลที่เกิดขึ้นได้จริงของปัญหาโลกร้อนที่มีต่อผลผลิตทาง การเกษตรในประเทศไทย ทั้งในปัจจุบันและในอนาคต โดยการวิจัยในครั้งนี้คณะผู้วิจัยได้ ตัดสินใจเลือกทำการประเมินผลกระทบจากภาวะโลกร้อนที่มีต่อถั่วเหลืองพันธุ์สำคัญซึ่งเป็นที่ นิยมปลูกและสำคัญในแง่เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของไทย เนื่องด้วยถั่วเหลืองเป็นพืช เศรษฐกิจทางการเกษตรที่สำคัญของประเทศและทั่วโลก ในแง่ของการเป็นอาหารหลักและ อาหารเสริมในรูปแบบต่างๆของประชากรโลกประกอบกับจังหวัดพิษณุโลกเป็นพื้นที่ปลูกถั่ว เหลืองมากเป็นอันดับ 7 ของประเทศ และเลือกรูปแบบการวิจัยโดยการสร้างสถานการณ์จริง ของสภาวะโลกร้อนทั้งในสภาวะปัจจุบันและจำลองสถานการณ์ระดับอุณหภูมิที่อาจเกิดขึ้นได้ จริงในอนาคต ในพื้นที่ปลูกถั่วเหลืองในจังหวัดพิษณุโลกและศึกษาผลกระทบที่เกิดขึ้นทั้งต่อ คุณภาพสารอาหารและการเปลี่ยนแปลงในระดับพันธุกรรมของถั่วเหลืองในพื้นที่ศึกษา ดังนั้น การศึกษาในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการสร้างฐานข้อมูลอย่างเป็นรูปธรรม ต่อการ รองรับประเด็นสภาวะปัญหาระดับโลกที่เกิดขึ้นดังกล่าว ซึ่งประเทศไทยก็เป็นประเทศหนึ่งมี ต้องได้รับผลกระทบจากปัญหานี้อย่างแน่นอนทั้งในปัจจุบันและอนาคต ซึ่งข้อมูลที่จะได้จาก งานวิจัยในขั้นนี้ จะนำไปสู่กระบวนการจัดการทรัพยากรการเกษตรของประเทศไทย ระดับประเทศเพื่อรับมือกับปัญหาสภาวะการณ์ที่เปลี่ยนแปลงไปของโลกที่เกิดขึ้นอย่างตรง ประเด็นต่อไป

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อให้ได้ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับอัตราผลผลิต คุณภาพสารอาหารและ การตอบสนองของ genotype ของถั่วเหลืองจากการปลูกถั่วเหลืองระยะยาวเพื่อให้ได้รุ่นที่ 3 เมื่อปลูกและผลิตพันธุ์ภายใต้สภาวะอุณหภูมิที่สูงกว่าระดับธรรมชาติ

3. ระเบียบวิธีวิจัย

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ดำเนินการตามขอบเขตของระเบียบวิธีวิจัยดังนี้

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ดำเนินการตามขอบเขตของการใช้พื้นที่ อุปกรณ์ เครื่องมือ และวิธีดำเนินการดังนี้

3.1 สถานที่วิจัย

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ใช้พื้นที่ปลูกถั่วเหลืองในแปลงทดลองทางการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร อ.เมือง จ.พิษณุโลก ซึ่งตั้งอยู่ที่ละติจูด 16 องศาเหนือ 44.003 ลิปดา และลองจิจูด 100 องศาตะวันออก 11.810 ลิปดา พื้นที่สูงจากระดับน้ำทะเล 48 เมตร โดยในการวิจัยครั้งนี้ได้ทำการวิเคราะห์ผลทางสรีรวิทยาบางประการ ณ ห้องปฏิบัติการภาควิชาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก และวิเคราะห์ห้องประกอบทางเคมีในเมล็ด ณ ห้องปฏิบัติการภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก

3.2 พันธุ์ถั่วเหลืองที่ใช้ในการวิจัย

ถั่วเหลืองไทย (*Glycine max* (L.) Merrill) เป็นพืชไร่ที่เลือกใช้สำหรับการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ เนื่องจากเป็นพืชตระกูลถั่วที่ให้คุณค่าทางโภชนาการสูงมาก และผู้วิจัยได้ตัดสินใจเลือกถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เป็นพันธุ์เดียวสำหรับการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ เนื่องจากถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เป็นพันธุ์ถั่วเหลืองที่ให้ผลผลิตและคุณค่าทางด้านสารอาหารสูง คือ มีโปรตีน 43.8 เปอร์เซ็นต์ น้ำมัน 20 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลผลิตสูงเฉลี่ย 280-350 กิโลกรัมต่อไร่ ลักษณะเด่นของสายพันธุ์คือ ทนทานต่อโรคราสนิม โรคใบด่าง และไวรัสใบด่าง และนิยมปลูกในภาคเหนือตอนล่างมากที่สุด โดยเฉพาะจังหวัดพิษณุโลก (กรมวิชาการเกษตร, 2555)

3.3 ระยะเวลาการวิจัย

การศึกษามลภาวะในระยะยาวของระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกันในช่วงฤดูเพาะปลูกที่มีต่อผลผลิตและคุณภาพสารอาหารในถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merrill) พันธุ์เชียงใหม่ 60 โดยควบคุมระดับอุณหภูมิที่กำหนด 3 ระดับใน 3 ชุดการทดลอง (3 ซ้ำ) ในแต่ละชุดทดลอง 5 ชั่วโมงต่อวัน ตั้งแต่ 10.00-15.00 น. โดยทำการปลูก 2 รุ่นดังนี้

ปลูก รุ่นที่ 1 ตั้งแต่เดือนมกราคม 2552 – มีนาคม 2552

นำผลผลิตจากรุ่นที่ 1 มาต่อเนื่องในรุ่นที่ 2 ตั้งแต่เดือนมกราคม 2554 - มีนาคม 2554

เพื่อวิเคราะห์ผลทางสรีรวิทยาบางประการ ได้แก่ การเจริญเติบโตด้านความสูง ดัชนีพื้นที่ใบ และปริมาณ รงควัตถุในใบ (คลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และแคโรทีนอยด์)

จากนั้นทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในเมล็ด และวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรม ในการปลูกรุ่นที่ 1 เดือนมิถุนายน 2552 - ธันวาคม 2552 และรุ่นที่ 2 เดือนมิถุนายน 2554 - ธันวาคม 2554

3.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

1. ชุดวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Kjeldatech digestion unit และ distillation unit)
2. ชุดวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (Extraction System Model B-811)
3. ชุดวิเคราะห์เยื่อใย (Fiber Analyzer)
4. ชุดวิเคราะห์เถ้า (Futname Thermolyne sybron Tye 48000 Furnace)
5. เครื่อง Spectrophotometer พร้อม cuvette 1 ชุด Model DR 4000
6. ตู้อบลมร้อน
7. Hot plate
8. เครื่องเซนตริฟิวจ์
9. เครื่อง Evaporator

วัสดุอุปกรณ์

1. เมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60
2. Chamber ขนาดกว้าง 1.5 เมตร สูง 1.7 จำนวน 9 ตู้
3. โกร่งบดตัวอย่างใบพีช
4. เครื่องแก้ว ประกอบด้วย
 - 4.1 ชุดเครื่องแก้ววิเคราะห์คลอโรฟิลล์
 - 4.2 ชุดเครื่องแก้ววิเคราะห์โปรตีน
 - 4.3 ชุดเครื่องแก้ววิเคราะห์ไขมัน
 - 4.4 ชุดเครื่องแก้ววิเคราะห์เยื่อใย
 - 4.5 โถดูดความชื้น
 - 4.6 ชุดถ้วย moisture can วิเคราะห์ความชื้น
 - 4.7 ชุดถ้วยกระเบื้องวิเคราะห์เถ้า
5. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เส้นผ่านศูนย์กลาง 70 มิลลิเมตร
6. กระดาษกรอง Whatman เบอร์ 6 เส้นผ่านศูนย์กลาง 110 มิลลิเมตร

สารเคมี

1. สารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น
2. สารละลายกรดซัลฟูริก เข้มข้น 0.128 โมล
3. สารละลายกรดซัลฟูริก เข้มข้น 0.1 นอร์มอลิตี
4. สารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 32 เปอร์เซนต์
5. สารละลายต่างโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.223 โมล
6. สารละลายบอริกเข้มข้น 2 เปอร์เซนต์

7. ซิลิเนียม
8. อินดิเคเตอร์ (methyl red และ methylene blue)
9. เอ็น-ออกทานอล
10. อะซีโตน เข้มข้น
11. ปีโตรเลียมอีเทอร์
12. เมทานอล
13. Boron Trifluoride
14. โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)
15. Hexane

3.5 การควบคุมสภาวะจำลองเพื่อควบคุมอุณหภูมิในพื้นที่ปลูกถั่วเหลือง

(1) Open Top Chamber

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้จะประยุกต์ใช้ Open top chamber (ห้องระบบเปิดด้านบน) ซึ่งเป็นอุปกรณ์ที่ดัดแปลงมาจาก Drake et al.(1989) ซึ่งขณะนี้ ได้นำมาประยุกต์ใช้ในการวิจัย เรื่อง การประเมินผลกระทบของระดับก๊าซโอโซนที่เพิ่มขึ้นในบรรยากาศต่ออัตราผลผลิตและคุณภาพของสารอาหารในถั่วเหลืองพันธุ์พื้นเมืองของประเทศไทยซึ่งเป็นโครงการวิจัยงบประมาณแผ่นดินปี 2550 (ภาพที่ 1) โดยในงานวิจัยนี้จะพัฒนารูปแบบการใช้งานโดยการเปิดด้านบนไม่มีหลังคา เพื่อให้ถั่วเหลืองได้รับน้ำฝนและความชื้นตามธรรมชาติ และ ลักษณะของ Open top chamber ในงานวิจัยนี้จะคลุมด้วยพลาสติกใสรูปทรงระบอบอก เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 เมตร สูง 1.7 เมตร เปิดหลังคาด้านบน และติดตั้งระบบหมุนเวียนอากาศ โดยติดตั้งพัดลมด้านบนของ ตู้ทดลอง



ภาพที่ 1 Open Top Chamber ที่ประยุกต์ใช้ในการวิจัย

(2) การควบคุมระดับอุณหภูมิในห้องทดลอง

1.1 การสร้างตู้ทดลองชนิดเคลื่อนย้ายได้ การศึกษาวิจัยใช้ตู้ทดลองพลาสติกใสรูปทรงกระบอก เส้นผ่าศูนย์กลาง 1.5 เมตร สูง 1.7 เมตร เปิดระบายอากาศด้านบน และมีหลังคาพลาสติกใสด้านบนเพื่อกันน้ำฝน ตู้ทดลองนี้จะใช้เพื่อควบคุมอุณหภูมิในระดับที่กำหนดใน แปลงปลูกและควบคุมระดับอุณหภูมิไว้ซึ่งใช้จำนวนตู้ทดลองทั้งหมด 9 ตู้

1.2 การควบคุมอากาศและลดอุณหภูมิในตู้ทดลอง ดำเนินการโดยการติดตั้งพัดลมดูดอากาศบริเวณด้านล่างของด้านหน้าตู้ทดลองเพื่อดูดอากาศเข้า อากาศที่ถูกดูดเข้ามาจะผ่านแผ่นกรองก๊าซมลพิษอื่นๆ โดยการใช้ถ่านกัมมันต์ เป็นตัวกรองและผ่านแผ่นกรองฝุ่นอีก 1 ชั้น

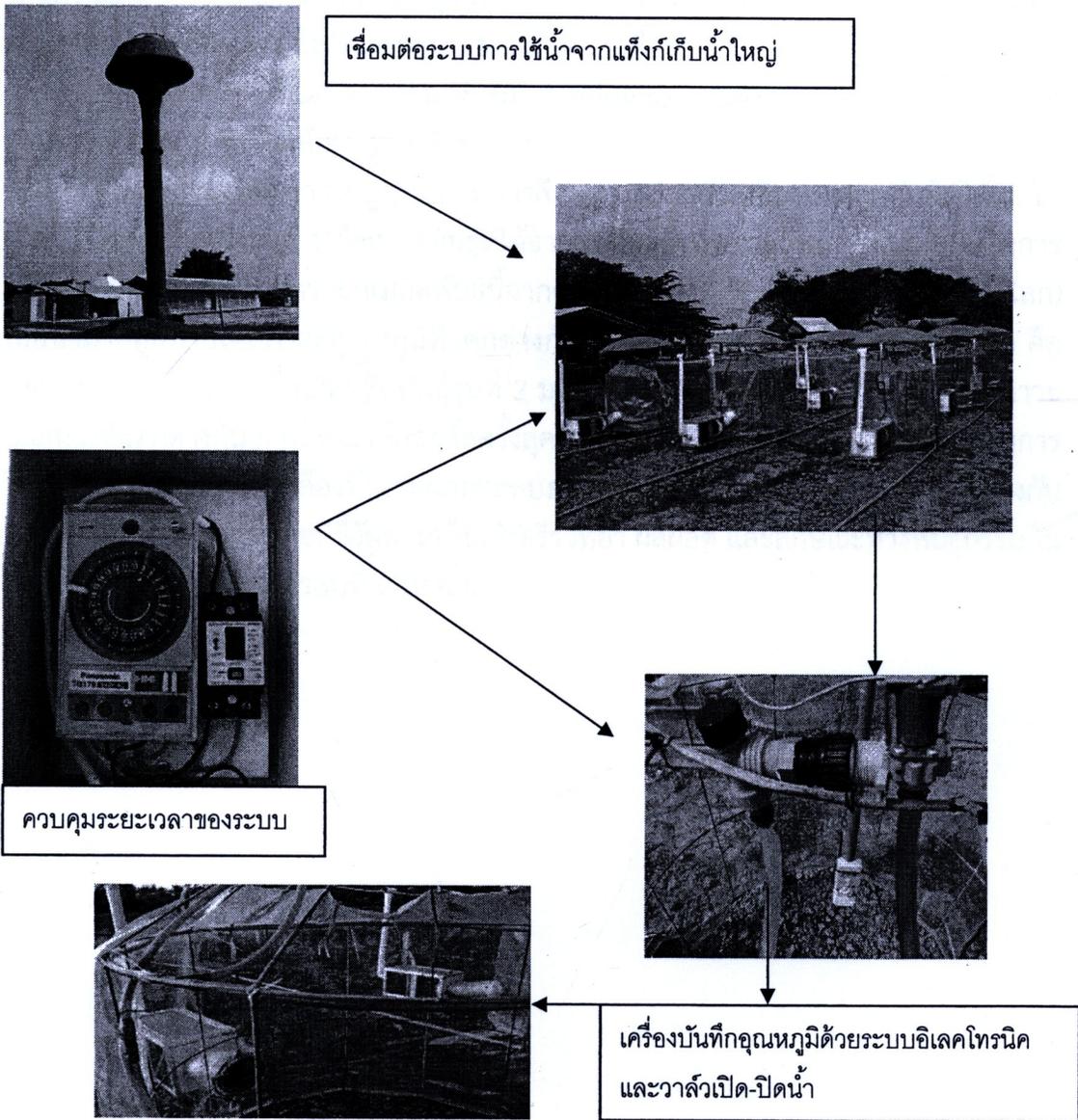
1.3 การควบคุมระดับอุณหภูมิในตู้ทดลองใช้ระบบการควบคุมด้วยอิเล็กทรอนิกส์โดยมีเครื่องบันทึกอุณหภูมิด้วยระบบอิเล็กทรอนิกส์ในห้องทดลองซึ่งส่งสัญญาณต่อเชื่อมกับระบบควบคุมการปล่อยน้ำอัตโนมัติโดยสั่งเปิด ปิดน้ำตามสายยางบริเวณด้านข้างห้องทดลอง โดยระบบจะการควบคุมให้วาล์วปล่อยน้ำเพื่อลดอุณหภูมิในกรณีที่อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นกว่าระดับที่ต้องการ ขณะเดียวกันระบบจะการควบคุมให้วาล์วปิดระบบการปล่อยน้ำเมื่ออุณหภูมิลดลงถึง

ระดับที่กำหนดไว้ ซึ่งการควบคุมระบบนี้ใช้การอ่านค่าอุณหภูมิด้วยเครื่องบันทึกอุณหภูมิด้วยระบบ อิเล็กทรอนิกส์และส่งคำสั่งไปปล่อย-หยุดปล่อยน้ำ นั้นเอง (ดังภาพที่ 2)

3.6 การวางแผนการทดลอง

เนื่องด้วยในการศึกษากำหนดให้มีการควบคุมชุดทดลองทั้งหมด 3 ชุดทดลอง (3 Treatments) จึงกำหนดชุดทดลองและกำหนดชื่อดังนี้

- 1) ชุดทดลอง LT (Lower Air Temperature) ควบคุมให้ต่ำกว่าระดับอุณหภูมิธรรมชาติภายนอกตู้ทดลองระหว่างการวิจัย
- 2) ชุดทดลอง AT (Ambient Air Temperature) ควบคุมให้ใกล้เคียงกับระดับอุณหภูมิภายนอกตู้ทดลองระหว่างทำวิจัย
- 3) ชุดทดลอง HT (Higher Air Temperature) ควบคุมให้สูงกว่าระดับอุณหภูมิธรรมชาติภายนอกตู้ทดลองระหว่างการวิจัย



ภาพที่ 2 แผนผังการติดตั้งระบบควบคุมต่างๆ ในแปลงทดลอง

ซึ่งกำหนดแผนการทดลอง แบบ Random Completed Block Design (RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ ทั้ง 3 ชุดการทดลอง ดังกล่าว ดังนั้น จำนวนตู้ Open Top Chamber จะมีทั้งหมด 9 ตู้ทดลอง

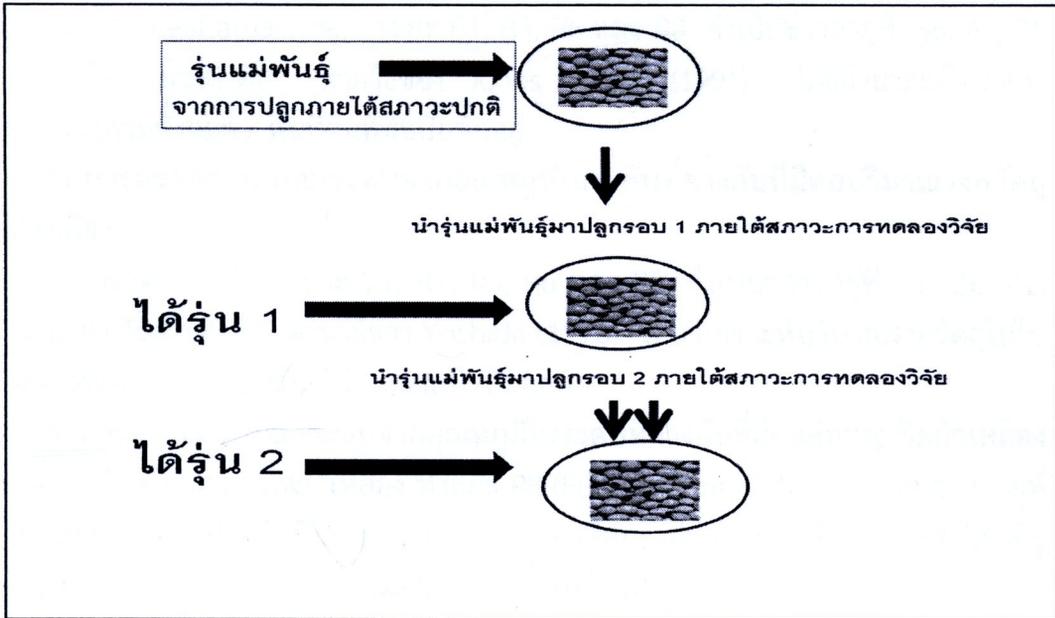
3.7 การจัดการปลุกถั่วเหลืองและการตอบสนองต่อผลกระทบจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

1) การศึกษาจะทำการควบคุมระดับอุณหภูมิที่กำหนด 3 ระดับใน 3 ชุดการทดลอง (3 ซ้ำ) ในแต่ละตู้ทดลอง 5 ซังโมงต่อวัน ตั้งแต่ 10.00-15.00 น.

2) การศึกษาถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 โดยการปลูกในแปลงปลูก กว้าง 17 เมตร ยาว 20 เมตร ระยะห่างระหว่างหลุม 20 เซนติเมตร การทดลองจะเริ่มตั้งแต่การเพาะเลี้ยงต้นกล้า ให้มีความสูง 3 เซนติเมตร จากนั้นนำตู้ทดลองมาครอบในแปลงปลูก และเริ่มควบคุมอุณหภูมิตลอดจนถึงช่วงเก็บเกี่ยว ซึ่งเป็นระยะประมาณเวลา 3 เดือน

3) การปลูกใช้แผนการทดลองแบบ Randomize Completed Block Design (RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ ดังได้อธิบายในหัวข้อ 6.6

4) จำนวนรุ่นของการปลูกวางแผนการศึกษาการปลูกถั่วเหลืองจะปลูกเพื่อให้ได้ผล ในรุ่นที่ 3 โดยกำหนดว่ารุ่นที่ 1 คือเมล็ดพันธุ์ที่ได้จากแม่พันธุ์ที่ปลูกภายใต้สภาวะปกติ (ซึ่งในการวิจัยครั้งนี้ได้ขอความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์นี้จากศูนย์วิจัยพืชไร่ วังทอง อ.วังทอง จ.พิษณุโลก) เมื่อนำมาปลูกภายใต้สภาวะอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ในรอบการปลูกครั้งที่ 1 จะได้ผลผลิต คือ เมล็ดพันธุ์รุ่นที่ 2 และเมื่อนำเมล็ดพันธุ์รุ่นที่ 2 มาปลูก ในรอบที่ 2 ภายใต้สภาวะอุณหภูมิที่แตกต่างกันอีกครั้ง จะได้ผลผลิตครั้งสุดท้ายคือรุ่นที่ 3 ดังภาพที่ 3 ซึ่งในการวิจัยครั้งนี้จะเน้นศึกษาถั่วเหลืองที่ได้รับผลกระทบภายใต้การปลูกในระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ดังนั้นจะเป็นการทดสอบดัชนีชี้วัดต่างๆ ในเชิงสรีรวิทยา ผลผลิต และลักษณะทางพันธุกรรม ในการปลูกของรอบที่ 1 และรอบที่ 2 เท่านั้น



ภาพที่ 3 แสดงวิธีการวางแผนการปลูกเพื่อศึกษาผลกระทบระยะยาวของถั่วเหลือง 2 ระยะการปลูก

3.8 ปัจจัยด้านสภาพภาพในบรรยากาศ

วัดปัจจัยด้านสภาพภาพในบรรยากาศดังนี้

1. ระดับอุณหภูมิ
2. ความชื้นสัมพัทธ์
3. ระดับคาร์บอนไดออกไซด์

3.9 การตรวจสอบดัชนีชี้วัดที่มีต่อถั่วเหลืองในด้านต่างๆ

1) การตรวจสอบ ผลกระทบจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีต่อการเจริญเติบโตของถั่วเหลือง

ในการวิจัยกำหนดการเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ผล โดยมีปัจจัยซึ่งเป็นดัชนีชี้วัดผลกระทบในช่วงระยะของอายุถั่วเหลืองในระยะต่าง ๆ ดังนี้

1.1 การเจริญเติบโตทางลำต้น (ความสูง)

วิเคราะห์จากการเจริญเติบโตทางลำต้น โดยวัดความสูง ตามวิธีของสมชาย บุญประดับ, 2543 โดยการวัดทางด้านความสูงที่ระยะ V3, R1, R3, R6, และ R8 ซึ่งเป็นช่วงอายุที่ 26, 36, 75 และ 89 วัน ตามลำดับ

1.2 ดัชนีพื้นที่ใบ (Leaf area index : LAI)

Leaf area index ระยะเวลา R1, R3, R6 และ R8 ซึ่งเป็นช่วงอายุที่ 36, 47, 75 และ 89 วัน ตามลำดับ ตามวิธีของ Jones *et al.* (1991) โดยคำนวณได้จากสูตร $LAI = \frac{\text{พื้นที่ใบรวมทั้งหมด}}{\text{พื้นที่ดินที่พืชนั้นขึ้นอยู่}}$

2) การตรวจสอบ ผลกระทบจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีต่อปริมาณรงควัตถุของถั่วเหลือง

เก็บตัวอย่างใบที่ระยะ V3, R1, R3, R6 และ R8 ซึ่งเป็นช่วงอายุที่ 26, 36, 47, 75, และ 89 วันตามลำดับ ตามวิธีของ Yoshida (1976) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุในใบชนิดคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และแคโรทีนอยด์

3) การตรวจสอบผลกระทบจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีต่อผลผลิตถั่วเหลือง เก็บตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลือง ที่ระยะ R8 (Full maturity Stage) ซึ่งเป็นช่วงอายุที่ 89 วัน ตามวิธีของ สุมิตรา ปิ่นทองคำ (2533) โดยเลือกองค์ประกอบที่ชี้วัดผลผลิตที่สำคัญ ได้แก่ จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก และน้ำหนัก 100 เมล็ด

4) การตรวจสอบผลกระทบจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีต่อคุณภาพสารอาหารของผลผลิตในเมล็ดถั่วเหลือง 2 รอบการปลูก

เก็บตัวอย่างเมล็ดถั่วเหลืองจากระยะ R8 และนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี โดยการวิเคราะห์โปรตีน ไขมัน เถ้า เยื่อใย และความชื้น ตามวิธีของ AOAC, 1995

3.10 วิเคราะห์ การศึกษาลักษณะทางพันธุกรรม

วิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรม ใช้เทคนิคด้วยวิธี AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) ในใบอ่อน 2 ครั้ง ใน 2 รอบการปลูก ของถั่วเหลืองทั้งสองพันธุ์คือ ในการปลูกครั้งที่ 1 และการปลูกครั้งที่ 2 ดังรายละเอียด

1) ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (Phenotype) ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของพันธุ์ถั่วเหลือง ที่ใช้ในการทดลองโดยเก็บรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแต่ละสายพันธุ์โดยเลือกเก็บจากตัวอย่างในระยะเก็บเกี่ยว จำนวน 2 generations

2) วิธีการสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างใบถั่วเหลือง

2.1 การเตรียมอุปกรณ์ : นำโกร่ง (mortar) และสาก (pestle) แช่ในตู้เย็น -80°C เป็นเวลาอย่างน้อย 2 ชั่วโมง

2.2 นำสารละลาย 1.5X CTAB (dilute จาก 3X CTAB) ต้มในน้ำเดือด 10 นาที

2.3 นำตัวอย่างใบถั่วเหลืองมาตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ใส่ในโกร่งที่เตรียมไว้ เติม liquid nitrogen จนท่วมตัวอย่าง แล้วบดให้ละเอียด ตักใส่หลอด 1.5 ml ประมาณครึ่งหลอด

2.4 เติม 1.5X CTAB 700 μl นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65°C ประมาณ 1 ชั่วโมง

2.5 เติม Chloroform : Isoamyl (24 : 1) ลงในหลอดตัวอย่าง ในอัตราส่วน 1 : 1 ผสมเบาๆ ให้เข้ากันนาน 20 นาที

- 2.6 นำไปปั่นด้วยความเร็วรอบ 12,000 rpm นาน 10 นาที ดึงส่วนใสด้านบนใสหลอด 1.5 ml หลอดใหม่
- 2.7 เติม 10% CTAB 1/10 เท่า (ของปริมาตรของสารที่ดึงมาได้) และ Chloroform : Isoamyl (24 : 1) 1 เท่า (ของปริมาตรของสารที่ดึงมาได้) ผสมให้เข้ากันนาน 20 นาที นำไปปั่นด้วยความเร็วรอบ 12,000 rpm 15 นาที
- 2.8 ย้ายส่วนบนใสในหลอด 1.5 ml (จะได้สารละลายประมาณ 400 μ l) เติม CTAB precipitation (dilute จาก 4X CTAB เป็น 1X CTAB) 2 เท่า ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นด้วยความเร็วรอบ 12,000 rpm นาน 20 นาที เทสารละลายด้านบนทิ้ง พยายามอย่าให้ตะกอนตกลงมาด้วย
- 2.9 เติม 1M NaCl 500 μ l ละลายตะกอนที่อุณหภูมิ 37 oC นาน 2 – 3 ชั่วโมง
- 2.10 เติม 95% EtOH ที่แช่เย็นจัด ประมาณ 2 เท่าของสารละลาย ผสมให้เข้ากันอย่างเบาๆ จะเห็น DNA จับตัวเป็นก้อน นำไปปั่นด้วยความเร็วรอบ 14,000 rpm นาน 10 นาที เพื่อตกตะกอน เทส่วนใสทิ้ง
- 2.11 เติม 70% EtOH 500 μ l กลับหลอดขึ้น-ลง 2-3 ครั้ง นำไปปั่นด้วยความเร็วรอบ 14,000 rpm 5 นาที (ทำซ้ำ 2 ครั้ง)
- 2.12 เท EtOH ออกให้หมด ทำให้ตะกอนแห้งโดยวางไว้ที่อุณหภูมิห้อง หรือใส่ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 65 oC เมื่อตะกอนดีเอ็นเอแห้งดีแล้ว ให้ละลายตะกอนด้วย dH₂O ประมาณ 100 μ l นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 65 oC นาน 1 ชั่วโมง หรือจนตะกอนละลายหมด เก็บดีเอ็นเอที่สกัดไว้ในตู้เย็น จนกระทั่งถึงเวลาที่จะนำมาใช้งาน
- 2.13 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ

4X CTAB	500	ml
CTAB	20	g
1M Tris-Cl pH 8.0	20	ml
0.5 M EDTA pH 8.0	8	ml
เติม d H ₂ O ให้ครบ 500 ml		
3X CTAB (500 ml)		
CTAB	15	g
1M Tris-Cl pH 8.0	75	ml
0.5 M EDTA pH 8.0	30	ml
5M NaCl	210	ml
เติม d H ₂ O ให้ครบ 500 ml		

10 % CTAB (200 ml)

CTAB	20	g
5M NaCl	28	ml
เติม d H ₂ O ให้ครบ 200 ml		

3.11 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำข้อมูลที่ได้จากการตรวจวัดดัชนีในด้านต่าง ๆ มาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยเลือกใช้สถิติเพื่อการวิเคราะห์ข้อมูลระหว่าง 3 สิ่งทดลอง แบบ F-Test ตามลำดับและเลือกการวิเคราะห์ปัจจัยเดียวแบบ One Way ANOVA และเลือกวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ทดสอบเปรียบเทียบความสัมพันธ์ของทุกกลุ่มทดลอง

4.ผลการทดลองโดยสรุป

การศึกษาผลกระทบระยะยาวของการปลูก 2 รุ่น ของถั่วเหลือง(*Glycine max* (L.) Merrill) พันธุ์เชียงใหม่ 60 ภายใต้สภาวะระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกัน 3 ระดับ ซึ่งเป็นการกำหนด 3 ชุดการทดลอง (3 ซ้ำ) ในแต่ละชุดทดลอง 5 ซ้ำต่อวัน ตั้งแต่ 10.00-15.00 น. โดยทำการปลูกรุ่นที่ 1 ตั้งแต่เดือนมกราคม 2552 – มีนาคม 2552 และปลูกรุ่นที่ 2 ตั้งแต่เดือนมกราคม 2554-มีนาคม 2554 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบของระดับอุณหภูมิในช่วงฤดูเพาะปลูกที่แตกต่างกันที่มีต่อการเจริญเติบโต องค์ประกอบผลผลิต องค์ประกอบทางเคมีในเมล็ดบางชนิด ลักษณะทางพันธุกรรม ในเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ผลการศึกษาสามารถสรุปได้ดังนี้

1. ผลการศึกษาในปัจจัยลักษณะการเจริญเติบโต ด้าน ความสูง และดัชนีพื้นที่ใบของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60

ผลการศึกษาพบว่าผลผลิตถั่วเหลืองรุ่นที่ 1 มีการตอบสนองเชิงบวกในชุดการทดลองที่ควบคุมให้สูงกว่าระดับอุณหภูมิธรรมชาติภายนอกชุดทดลองระหว่างการวิจัย (ชุดทดลองHTเมื่อเปรียบเทียบระหว่าง HT-AT)) ในระยะ V3, R1, R3 ในส่วนรุ่นที่ 2 ของการปลูกนั้นไม่พบความแตกต่างของระดับความสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในแต่ละระยะของการเจริญเติบโตระหว่าง 3 ชุดการทดลองแต่อย่างใด

เมื่อพิจารณาดัชนีพื้นที่ใบพบว่าระยะ R1 รุ่นที่ 1 ของการปลูกในชุดการทดลองที่ควบคุมให้สูงกว่าระดับอุณหภูมิธรรมชาติภายนอกชุดทดลองระหว่างการวิจัย (HT)มีอัตราการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (เมื่อเปรียบเทียบระหว่าง LT-HT)ใน ส่วนรุ่นที่ 2 ของการปลูกนั้นไม่พบความแตกต่างของดัชนีพื้นที่ใบ(Leave Area Index) อย่างมีนัยสำคัญในแต่ละระยะของการเจริญเติบโตระหว่าง 3 ชุดการทดลองแต่อย่างใด

ดังนั้นจึงพบว่าปัจจัยระดับอุณหภูมิที่สูงขึ้นส่งผลต่อมวลชีวภาพในด้านความสูงและดัชนีพื้นที่ใบ ในระยะการปลูกรอบที่ 1 เท่านั้น

2. ผลการศึกษาในปัจจัยปริมาณรังควัตถุในใบ ชนิดคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และ แคโรทีนอยด์ขอสรุปปริมาณรังควัตถุแต่ละชนิดดังนี้

2.1 ชนิดคลอโรฟิลล์ เอ ในการปลูกรอบที่ 1 พบว่าที่ระยะ R1 R6 และ R8 ซึ่งเป็นระยะเริ่มออกดอก-ระยะ เมล็ดพัฒนาเต็มที่ – และระยะสุกแก่เต็มที่ ตามลำดับ ระดับคลอโรฟิลล์ เอ เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เพื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดทดลอง LT-HT

ส่วนผลการศึกษาผลผลิตในการปลูกรอบที่ 2 ไม่พบความแตกต่างของปริมาณรังควัตถุในใบของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 อย่างมีนัยสำคัญในแต่ละระยะของการเจริญเติบโตระหว่าง 3 ชุดการทดลองแต่อย่างใด

2.2 ชนิดคลอโรฟิลล์ บี ไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติใดๆ ในทุกระยะการเจริญเติบโต ทั้งในการปลูกเพื่อให้ได้ผลผลิตรอบที่ 1 และรอบที่ 2

2.3 ชนิดแคโรทีนอยด์ ได้ผลการศึกษาเช่นเดียวกับ คลอโรฟิลล์ บี คือ ไม่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติใดๆ ในทุกระยะการเจริญเติบโต ทั้งในการปลูกเพื่อให้ได้ผลผลิตรอบที่ 1 และรอบที่ 2

3. ผลการศึกษาในปัจจัยองค์ประกอบผลผลิต ได้ผลศึกษาดังนี้

พบว่าระดับอุณหภูมิที่สูงขึ้น (HT) มีผลต่อการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เพื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดทดลอง AT-HT ในปัจจัยด้านน้ำหนัก 100 เมล็ดเท่านั้น โดยไม่พบในองค์ประกอบผลผลิตด้านอื่นๆ และพบในผลผลิตรุ่นที่ 2 เท่านั้น ซึ่งแสดงให้เห็นถึงผลกระทบระยะยาวที่ส่งผลให้เห็นในรุ่นที่ 2 อย่างชัดเจน

4. ด้านคุณภาพสารอาหารของผลผลิตในเมล็ดถั่วเหลืองที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิที่แตกต่างกันในช่วงฤดูปลูก มีผลการศึกษา และมีรายละเอียดดังนี้

4.1 การตอบสนองของปริมาณโปรตีน เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดทดลอง LT-HT พบว่าระดับอุณหภูมิที่สูงขึ้น (HT) ส่งผลให้ โปรตีนลดลงมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) และที่น่าสนใจคือ พบว่าระดับโปรตีนกลับเพิ่มขึ้นสูงสุดที่ระดับอุณหภูมิต่ำสุด(ชุดทดลอง LT) แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในผลผลิตรุ่นที่ 2 แต่อย่างใด

4.2 การตอบสนองของปริมาณไขมัน พบว่าผลการศึกษาในผลผลิตรุ่นที่ 2 ระดับอุณหภูมิที่สูงขึ้น (HT) และที่ระดับต่ำ (LT) ส่งผลให้ระดับไขมันเพิ่มสูงขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ทั้ง 2 ระดับอุณหภูมิเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (AT) ไขมันลดลงมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในผลผลิตรุ่นที่ 1 แต่อย่างใด

4.3 การตอบสนองของปริมาณร้อยละของเถ้า พบว่าผลการศึกษาในผลผลิตรุ่นที่ 2 ระดับอุณหภูมิที่สูงขึ้น (HT) ส่งผลให้ระดับเถ้าเพิ่มสูงขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบกับชุด LT อย่างไรก็ตามไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในผลผลิตรุ่นที่ 1 แต่อย่างไรก็ตาม

4.4 การตอบสนองของปริมาณร้อยละของเยื่อใยพบว่า มีผลกระทบต่ออย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งผลผลิตทั้ง 2 รุ่น ในลักษณะเหมือนกันคือ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดทดลอง HT และ LT ส่งผลให้ระดับเยื่อใยเพิ่มสูงขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ทั้ง 2 ระดับอุณหภูมิ เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (AT)

5. ลักษณะทางพันธุกรรม

การวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรม โดยเทคนิค Amplified Fragment Length Polymorphisms (AFLPs) พบว่า ระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกันส่งผลต่อการแบ่งกลุ่มพันธุกรรมออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มของ AT และ LT ซึ่งแยกลักษณะทางพันธุกรรมอย่างชัดเจน ในรุ่นการปลูกที่ 1 และที่ 2 ตามลำดับ

5. สรุปผลการศึกษาในภาพรวม

การศึกษาในครั้งนี้สรุปภาพรวมได้ 4 ประเด็นอย่างชัดเจน

5.1 ผลของระดับอุณหภูมิที่สูงขึ้นส่งผลเชิงบวก ให้แก่ การเจริญเติบโต ดัชนีพื้นที่ใบ ระดับคลอโรฟิลล์เอ น้ำหนัก 100 เมล็ด ถั่ว รวมทั้งเยื่อใย ของผลผลิตถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60

5.2 ผลของระดับอุณหภูมิที่สูงขึ้นส่งผลเชิงลบ ให้แก่ ระดับไขมันและโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

5.4 ผลการศึกษาการปลูกถั่วเหลืองภายใต้ระดับอุณหภูมิ ที่แตกต่างกัน 3 ระดับนั้น พบว่า ทำให้ลักษณะพันธุกรรมของกลุ่ม AT ซึ่งเป็นกลุ่มที่อุณหภูมิต่ำกว่าระดับปกติในการปลูกนั้น แยกกลุ่มออกมาอย่างชัดเจน ในการปลูกรุ่นที่ 1 ส่วนกลุ่ม LT แยกลักษณะทางพันธุกรรมออกมาอย่างชัดเจนในการปลูกรุ่นที่ 2

5.3 การทดลองปลูกรุ่นต่อรุ่น เพื่อให้ทราบผลกระทบของเมล็ดพันธุ์ที่เปลี่ยนแปลงว่าจะส่งผลอย่างไรต่อผลผลิตรุ่นต่อมานั้น พบว่า ยังไม่เห็นผลชัดเจนในรุ่นที่ 2 เมื่อพิจารณาถึงพารามิเตอร์ต่างๆไปในภาพรวมของในการศึกษา ยกเว้นผลทางด้านองค์ประกอบผลผลิตบางประการคือ น้ำหนัก 100 เมล็ด และ ลักษณะการแบ่งกลุ่มทางพันธุกรรมที่ค่อนข้างเห็นผลชัดเจน

6. ข้อเสนอแนะ

6.1 ผลการศึกษาน่าจะเผยแพร่ต่อหน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาสายพันธุ์ถั่วเหลืองต่อไป ในเพื่อวางแผนระยะการปลูกที่เหมาะสมในการรับมือกับสถานการณ์ในอนาคต

6.2 ควรต่อยอดองค์ความรู้ในการวิจัยเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่ทนทานต่อสถานการณ์โลกร้อนในอนาคต

7. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับและหน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลการวิจัยนี้ จะเป็นส่วนหนึ่งของฐานข้อมูลในประเทศไทย ที่เกี่ยวข้องกับผลกระทบของพืชเศรษฐกิจการเกษตรที่มีต่อ สภาวะการณ์ของการเปลี่ยนแปลงของสภาวะโลกร้อน ที่ทวีความรุนแรงขึ้นในอนาคต รวมทั้งผลการวิจัยนี้จะเป็นเป็นองค์ความรู้สำหรับการทำการวิจัยในขั้นต่อไป ในการวิจัยเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่ทนทานต่อสถานการณ์โลกร้อนในอนาคต

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
ส่วนที่ 1 รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัย	I
กิตติกรรมประกาศ	II
บทคัดย่อภาษาไทย	III
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	IV
บทสรุปสำหรับผู้บริหาร	V
สารบัญ	XX
สารบัญภาพ	XXI
สารบัญตาราง	XXV
1. บทนำ	1
2. วัตถุประสงค์โครงการวิจัย	2
3. ขอบเขตของโครงการวิจัย	3
4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับและหน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์	3
5. การทบทวนวรรณกรรม	4
6. ระเบียบวิธีวิจัย	6
7. ผลการศึกษา	20
7.1 ปัจจัยทางกายภาพในบรรยากาศ	21
7.2 ปัจจัยชี้วัดผลกระทบจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีต่อการเจริญเติบโตของ ถั่วเหลือง	24
7.3 ปัจจัยชี้วัดผลกระทบจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีต่อปริมาณรงควัตถุใน ใบของถั่วเหลือง	33
7.4 ปัจจัยชี้วัดผลกระทบจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีต่อองค์ประกอบผลผลิต ของถั่วเหลือง	48
7.5 ปัจจัยชี้วัดผลกระทบจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีต่อคุณภาพสารอาหาร ของผลผลิตในเมล็ดถั่วเหลือง	52
7.6 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรม	57
8. สรุปและอภิปรายผล	
9. ข้อเสนอแนะ	
10. เอกสารอ้างอิง	
ภาคผนวก	

สารบัญภาพ

ภาพที่	รายละเอียด	หน้าที่
ภาพที่ 1	Open Top Chamber ที่ประยุกต์ใช้ในการวิจัย	13
ภาพที่ 2	แผนผังการติดตั้งระบบควบคุมต่างๆ ในแปลงทดลอง	14
ภาพที่ 3	แสดงวิธีการวางแผนการปลูกเพื่อศึกษาผลกระทบระยะยาวของ ถั่วเหลือง 2 ระยะการปลูก	16
ภาพที่ 4	ระดับอุณหภูมิเฉลี่ยของการปลูกแต่ละรุ่นในช่วงระยะเวลาทดลอง	21
ภาพที่ 5	ระดับความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยของการปลูกแต่ละรุ่นในช่วงระยะเวลา ทดลอง	22
ภาพที่ 6	ระดับความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เฉลี่ยของการปลูก แต่ละรุ่นในช่วงระยะเวลาทดลอง	23
ภาพที่ 7	ความสูงเฉลี่ย(cm.) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ V3 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิใน ระดับที่ต่างกัน	24
ภาพที่ 8	ความสูงเฉลี่ย(cm.) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R1 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิใน ระดับที่ต่างกัน	25
ภาพที่ 9	ความสูงเฉลี่ย(cm.) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R3 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิใน ระดับที่ต่างกัน	26
ภาพที่ 10	ความสูงเฉลี่ย(cm.) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R6 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิใน ระดับที่ต่างกัน	27
ภาพที่ 11	ความสูงเฉลี่ย(cm.) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิใน ระดับที่ต่างกัน	28
ภาพที่ 12	ดัชนีพื้นที่ใบ(Leave Area Index)เฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์ เชียงใหม่ 60 ในระยะ R1 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการ ตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน	30
ภาพที่ 13	ดัชนีพื้นที่ใบ(Leave Area Index)เฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์ เชียงใหม่ 60 ในระยะ R3 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการ ตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน	31

ภาพที่	รายละเอียด	หน้าที่
ภาพที่ 25	คลอโรฟิลล์ บี (mg/g.fw) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน	43
ภาพที่ 26	แคโรทีนอยด์ (mg/g.fw) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ V3 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน	44
ภาพที่ 27	แคโรทีนอยด์ (mg/g.fw) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R1 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ ต่างกัน	45
ภาพที่ 28	แคโรทีนอยด์ (mg/g.fw) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R3 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน	46
ภาพที่ 29	แคโรทีนอยด์ (mg/g.fw) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R6 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน	47
ภาพที่ 30	แคโรทีนอยด์ (mg/g.fw) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน	48
ภาพที่ 31	จำนวนฝักต่อต้น ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน	49
ภาพที่ 32	จำนวนเมล็ดต่อฝัก ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน	50
ภาพที่ 33	น้ำหนัก 100 เมล็ด ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน	51
ภาพที่ 34	ปริมาณโปรตีน(%) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน	53
ภาพที่ 35	ปริมาณไขมัน(%) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน	54

ภาพที่	รายละเอียด	หน้าที่
ภาพที่ 36	ปริมาณเถ้า(%) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน	55
ภาพที่ 37	ปริมาณเยื่อใย(%) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน	56
ภาพที่ 38	ปริมาณความชื้น(%) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน	57
ภาพที่ 39	Phylogenetic Tree ของถั่วเหลือง รุ่นที่ 1	59
ภาพที่ 40	Phylogenetic Tree ของถั่วเหลือง รุ่นที่ 2	61

ตารางที่	สารบัญญัตรา รายละเอียด	หน้าที่
ตารางที่ 1	ค่า similarity ของถั่วเหลือง รุ่นที่ 1	60
ตารางที่ 2	ค่า similarity ของถั่วเหลือง รุ่นที่ 2	61