

1. บทนำ

ความสำคัญ ที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

การเปลี่ยนแปลงสภาวะภูมิอากาศโลกโดยเฉพาะอย่างยิ่งปัญหาการเพิ่มอุณหภูมิในบรรยากาศของโลก (global warming) ในชั้นโทรโปสเฟียร์ซึ่งเป็นชั้นระดับบรรยากาศของชีวลัยที่มีสิ่งมีชีวิตทุกชนิดอาศัยอยู่ได้กลายเป็นปัญหาในระดับโลกมาเป็นเวลาต่อเนื่องหลายปี จนถึงปัจจุบัน จากการศึกษาของกลุ่มนักวิทยาศาสตร์ และ องค์การระดับโลกได้ระบุอย่างชัดเจนว่า การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิโลกนั้น มีความสัมพันธ์ที่ชัดเจนกับการเพิ่มขึ้นของกลุ่มก๊าซเรือนกระจกของโลก อาทิ 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) โดย กลุ่มนักวิทยาศาสตร์ขององค์การระดับโลก คือ IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) ได้คาดการณ์ว่า อุณหภูมิของโลกในอนาคตมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยทำนายว่าอุณหภูมิจะเพิ่มสูงขึ้นกว่าค่าเฉลี่ยปกติถึง 4.5 °C และเมื่อมีการศึกษาเพิ่มเติมในเวลาต่อมาพบว่าอุณหภูมิเฉลี่ยโลกจะเพิ่มขึ้นถึงประมาณ 1.1-6.4 °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 ภาวะนี้ก็ยังจะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องในอนาคตหากอุณหภูมิของโลกยังคงสูงขึ้นต่อไป สถานการณ์ปัญหาที่เกิดขึ้นนี้ ทำให้นักวิทยาศาสตร์ในหลายๆประเทศ รวมทั้งประเทศในแถบทวีปเอเชีย ได้ทำการศึกษาวิจัยเพื่อให้ทราบสถานการณ์ เพื่อประเมินผลกระทบของสภาวะโลกร้อนที่มีผลต่อพืชทางการเกษตรทั้งในสภาวะปัจจุบันและในอนาคต โดยรูปแบบการวิจัยนั้นมีทั้งการใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อทำนายและประเมินผล และ รูปแบบงานวิจัยในแปลงทดลองเพื่อจำลองสถานการณ์จริงในพื้นที่ (Jacobson, 2002; Fuhrer, 2003;

Prasad et al., 2006) ทั้งนี้กลุ่มนักวิทยาศาสตร์เหล่านี้มีจุดประสงค์ในการทำการวิจัยเพื่อให้ทราบข้อมูลที่แม่นยำที่เกิดขึ้นได้จริงและเพื่อให้ได้ข้อมูลพื้นฐานอันนำไปสู่การหาคำถามที่แม่นยำในการทำนายเชิงคณิตศาสตร์อันจะนำไปสู่การจัดการปัญหานี้ต่อไปในอนาคตนั่นเอง

จากข้อมูลปัญหาของสภาวะการณ์โลกร้อนและผลกระทบต่อผลิตผลทางด้าน การเกษตรดังกล่าวแล้วมาข้างต้น จำเป็นที่จะต้องพิจารณาความเกี่ยวข้องของสถานการณ์ของ ปัญหานี้ในประเทศไทยทั้ง 2 ประเด็น ในประเด็นที่หนึ่งคือ ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม ที่สำคัญในระดับเอเชียและในระดับโลก ประเด็นที่สอง เมื่อประเมินสถานการณ์การเพิ่มขึ้นของ อุณหภูมิในประเทศไทยซึ่งพบว่าปัญหานี้เกิดขึ้นแล้วในประเทศไทย ซึ่งขณะนี้พบว่าค่าเฉลี่ยของ อุณหภูมิในประเทศไทยสูงขึ้นกว่าปกติในช่วงระหว่าง 0.5-1.2 °C ในช่วงหลายปีที่ผ่านมา (จงบกลนี อยู่สบาย, 2550) จึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งและเร่งด่วนที่จะต้องดำเนินการศึกษาวิจัย เพื่อให้ทราบผลที่เกิดขึ้นได้จริงของปัญหาโลกร้อนที่มีต่อผลิตผลทางการเกษตรในประเทศไทย ทั้ง ในปัจจุบันและในอนาคต โดยการวิจัยในครั้งนี้คณะผู้วิจัยได้ตัดสินใจเลือกทำการประเมินผล กระทบจากภาวะโลกร้อนที่มีต่อถั่วเหลืองพันธุ์สำคัญซึ่งเป็นพืชปลูกและสำคัญในแง่เป็นพืช เศรษฐกิจที่สำคัญของไทย เนื่องด้วยถั่วเหลืองเป็นพืชเศรษฐกิจทางการเกษตรที่สำคัญของ ประเทศและทั่วโลก ในแง่ของการเป็นอาหารหลักและอาหารเสริมในรูปแบบต่างๆของประชากร โลกประกอบกับจังหวัดพิษณุโลกเป็นพื้นที่ปลูกถั่วเหลืองมากเป็นอันดับ 7 ของประเทศ และ เลือกรูปแบบการวิจัยโดยการสร้างสถานการณ์จริงของสภาวะโลกร้อนทั้งในสภาวะปัจจุบันและ จำลองสถานการณ์ระดับอุณหภูมิที่อาจเกิดขึ้นได้จริงในอนาคต ในพื้นที่ปลูกถั่วเหลืองในจังหวัด พิษณุโลกและศึกษาผลกระทบที่เกิดขึ้นทั้งต่อคุณภาพสารอาหารและการเปลี่ยนแปลงในระดับ พันธุกรรมของถั่วเหลืองในพื้นที่ศึกษา ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการ สร้างฐานข้อมูลอย่างเป็นรูปธรรม ต่อการรองรับประเด็นสภาวะปัญหาระดับโลกที่เกิดขึ้นดังกล่าว ซึ่งประเทศไทยก็เป็นประเทศหนึ่งที่ต้องได้รับผลกระทบจากปัญหานี้อย่างแน่นอนทั้งในปัจจุบัน และอนาคต ซึ่งข้อมูลที่จะได้จากงานวิจัยในขั้นนี้ จะนำไปสู่กระบวนการจัดการทรัพยากร การเกษตรของประเทศไทยระดับประเทศเพื่อรับมือกับปัญหาสภาวะการณ์ที่เปลี่ยนแปลงไปของ โลกที่เกิดขึ้นอย่างตรงประเด็นต่อไป

2. วัตถุประสงค์โครงการวิจัย

เพื่อให้ได้ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับอัตราผลิต คุณภาพสารอาหารและ การตอบสนองของ genotype ของถั่วเหลืองจากการปลูกถั่วเหลืองระยะยาวเพื่อให้ได้รุ่นที่ 2 เมื่อ ปลูกและผลิตพันธุ์ภายใต้สภาวะอุณหภูมิที่สูงกว่าระดับธรรมชาติ

3. ขอบเขตของโครงการวิจัย

3.1 พันธุ์ถั่วเหลืองในการวิจัย

1 ในการศึกษาใช้ถั่วเหลืองหลายสายพันธุ์ที่นิยมปลูกจริงในประเทศไทยโดยเฉพาะอย่างยิ่งในพื้นที่ภาคเหนือ เช่น พันธุ์เชียงใหม่ 60

2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลง genotype ในเมล็ดถั่วเหลืองที่ปลูกภายใต้สภาวะอุณหภูมิ
3 ระดับอย่างต่อเนื่องตลอดฤดูกาลปลูก ใน 2 รุ่นคือ พันธุ์ที่นำมาปลูก เป็นรุ่นพ่อแม่ เมล็ดพันธุ์ที่ได้จากกลุ่มการทดลองครั้งที่ 1 จะเป็นเมล็ดพันธุ์เป็นรุ่นที่ 1 และ นำเมล็ดพันธุ์รุ่นที่ 1 มาปลูกได้ผลผลิตเป็นเมล็ดพันธุ์รุ่นที่ 2

3 ระดับอุณหภูมิในการทดลอง

ในการศึกษาควบคุมระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกัน 3 ระดับในช่วงฤดูกาลปลูก ดังนี้

- ชุดทดลอง LT (Lower Air Temperature) ควบคุมให้ต่ำกว่าระดับอุณหภูมิธรรมชาติภายนอกตู้ทดลองระหว่างการศึกษาวิจัย

- ชุดทดลอง AT (Ambient Air Temperature) ควบคุมให้ใกล้เคียงกับระดับอุณหภูมิภายนอกตู้ทดลองระหว่างทำวิจัย

- ชุดทดลอง HT (Higher Air Temperature) ควบคุมให้สูงกว่าระดับอุณหภูมิธรรมชาติภายนอกตู้ทดลองระหว่างการศึกษาวิจัย

4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับและหน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

ผลการวิจัยนี้ จะเป็นส่วนหนึ่งของฐานข้อมูลในประเทศไทย ที่เกี่ยวข้องกับผลกระทบของพืชเศรษฐกิจการเกษตรที่มีต่อ สภาพการณ์ของการเปลี่ยนแปลงของสภาวะโลกร้อน ที่ทวีความรุนแรงขึ้นในอนาคต รวมทั้งผลการวิจัยนี้จะเป็นเป็นองค์ความรู้สำหรับการทำการวิจัยในขั้นต่อไป ในการวิจัยเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่ทนทานต่อสถานการณ์โลกร้อนในอนาคต

5. การทบทวนวรรณกรรม

5.1 สถานการณ์การเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศโลกและ สถานการณ์โลกร้อนในระดับโลก

ปรากฏการณ์สภาวะอากาศที่เปลี่ยนแปลง อันเนื่องมาจากสภาวะโลกร้อนได้เกิดขึ้นมา ระยะหนึ่งแล้ว และยังมีแนวโน้มจะมีความรุนแรงมากขึ้นในอนาคต อันเนื่องมาจากการเพิ่มขึ้นของก๊าซเรือนกระจกที่สำคัญคือ CO_2 , N_2O , CH_4 , N_2O , HFCs, PFCs, (Mall et al., 2004; IPCC, 2007) และมีการคาดการณ์โดย IPCC ว่า ระดับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าในศตวรรษนี้ ซึ่งย่อมส่งผลกระทบต่อ การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิโลกและความแปรปรวนของสภาวะภูมิอากาศอย่างแน่นอน (IPCC, 2001)

กลุ่มนักวิทยาศาสตร์ในระดับโลกที่มีความสนใจในปัญหาสภาวะโลกร้อนได้มีงานวิจัยที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่งโดยพบว่าในช่วง ศตวรรษที่ผ่านมาอุณหภูมิของโลกเพิ่มสูงขึ้นแล้วประมาณ 0.6°C ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่ไม่เคยปรากฏมาก่อนในช่วงระยะเวลา 900 ปีที่ผ่านมา (Stott et al., 2006) และผลการศึกษาทั้งจากการประมวลข้อมูลในการเก็บตัวอย่างและการคำนวณในรูปแบบการจำลองทางคณิตศาสตร์พบว่า อุณหภูมิของโลกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในอนาคต นอกจากนั้นยังได้มีการศึกษา โดย IPCC ระบุว่าในปี ค.ศ. 2050 นั้นอุณหภูมิโลกโดยเฉลี่ยจะมีระดับเพิ่มขึ้น $1.1-1.7^\circ\text{C}$ (Anonymous, 1992) และมีโอกาสเพิ่มขึ้นเป็น $1.1-6.4^\circ\text{C}$ ในช่วงปลายศตวรรษที่ 21 (IPCC, 2007) หากแนวโน้มของการเพิ่มขึ้นของก๊าซ CO_2 และ CH_4 มีแนวโน้มของการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจริงอย่างเด่นชัด (IPCC 2006; IPCC, 2007) อย่างไรก็ตาม ยังมีสาเหตุและปัจจัยอื่นๆที่สามารถส่งผลกระทบต่อภาวะโลกร้อนได้อีกเช่น การผันแปรของปริมาณฝน ความชื้นในบรรยากาศ ความผันแปรของวงโคจรโลก การระเบิดของภูเขาไฟ ความผันแปรของพลังสุริยธรรมทั้ง ผันแปรของปริมาณก๊าซเรือนกระจกที่สำคัญตัวหนึ่งคือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในชั้นบรรยากาศ (IPCC, 2001; IPCC, 2007; นิพนธ์ ตั้งธรรม, 2549)

สถานการณ์ของสภาวะโลกร้อน (Global Warming) คือสภาวะของบรรยากาศที่มีการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศที่เกิดขึ้นจากการเพิ่มขึ้นของความเข้มข้นของ ก๊าซเรือนกระจกในชั้นบรรยากาศในระดับโทรโปสเฟียร์ เมื่อก๊าซเหล่านี้มีการสะสมมากขึ้นในชั้นบรรยากาศจะทำให้หน้าที่คล้ายเรือนกระจก คืยยอมให้รังสีดวงอาทิตย์คลื่นสั้น ผ่านเข้ามาในชั้นบรรยากาศได้ แต่เมื่อรังสีดังกล่าวตกกระทบกับพื้นโลกแล้วสะท้อนกลับเป็นรังสีคลื่นยาว เช่นรังสีอินฟราเรด ไม่สามารถกระจายออกนอกชั้นบรรยากาศได้ จึงทำให้เกิดการสะสมความร้อนบริเวณผิวโลก ดังนั้นสาเหตุนี้จึงทำให้โลกมีอุณหภูมิสูงขึ้น (Horel and Geisler, 1997; Jacobson, 2002) ซึ่งกลุ่มนักวิทยาศาสตร์ขององค์กร IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) ได้ระบุก๊าซเรือนกระจกหลักๆ 6 ชนิดที่เป็นสาเหตุทำให้โลกร้อนคือ CO_2 , N_2O , CH_4 , N_2O , HFCs, PFCs, SF_6 ซึ่งกลุ่มนักวิจัยได้เน้นผลการศึกษาที่ระบุว่าการเพิ่มขึ้นของ CO_2 เป็นสาเหตุที่สำคัญของการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิโลก(IPCC, 2006; IPCC, 2007) ซึ่งข้อมูลการศึกษาเฉพาะก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพียงชนิดเดียว พบว่า ระดับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เฉลี่ยในระดับ

บรรยากาศทั่วไปของโลกได้เพิ่มขึ้นประมาณ 35 % จากระดับ $275 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ในช่วงก่อนยุคอุตสาหกรรมโลกเพิ่มเป็นระดับ $372 \mu\text{mol mol}^{-1}$ ในปี 2002 (Keeling and Whorf, 2003) ซึ่งมีการคาดการณ์โดย IPCC ว่า ระดับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จะเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่าในศตวรรษนี้ (IPCC, 2001) ซึ่งย่อมส่งผลกระทบต่อการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิโลกอย่างแน่นอน

กลุ่มนักวิทยาศาสตร์ในระดับโลกที่มีความสนใจในปัญหาสภาวะโลกร้อนได้มีงานวิจัยที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่งโดยพบว่าในช่วง ศตวรรษที่ผ่านมา อุณหภูมิของโลกเพิ่มสูงขึ้นแล้วประมาณ 0.6°C ซึ่งเป็นปรากฏการณ์ที่ไม่เคยปรากฏมาก่อนในช่วงระยะเวลา 900 ปีที่ผ่านมา (Stott et al., 2006) และผลการศึกษาทั้งจากการประมวลข้อมูลในการเก็บตัวอย่างและการคำนวณในรูปแบบการจำลองทางคณิตศาสตร์พบว่า อุณหภูมิของโลกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในอนาคต นอกจากนั้นยังได้มีการศึกษา โดย IPCC ระบุว่าในปี ค.ศ. 2050 นั้นอุณหภูมิโลกโดยเฉลี่ยจะมีระดับเพิ่มขึ้น $1.1-1.7^{\circ}\text{C}$ (Anonymous, 1992) และมีโอกาสเพิ่มขึ้นเป็น $1.1-6.4^{\circ}\text{C}$ ในช่วงปลายศตวรรษที่ 21 (IPCC, 2007) หากแนวโน้มของการเพิ่มขึ้นของก๊าซ CO_2 และ CH_4 มีแนวโน้มของการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจริงอย่างเด่นชัด (IPCC 2006; IPCC, 2007) อย่างไรก็ตาม ยังมีสาเหตุและปัจจัยอื่นๆที่สามารถส่งผลกระทบต่อภาวะโลกร้อนได้อีกเช่น การผันแปรของปริมาณฝน ความชื้นในบรรยากาศ ความผันแปรของวงโคจรโลก การระเบิดของภูเขาไฟ ความผันแปรของพลังสุริยรวมทั้ง ผันแปรของปริมาณก๊าซเรือนกระจกที่สำคัญตัวหนึ่งคือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในชั้นบรรยากาศ (IPCC, 2001; นิพนธ์ ตั้งธรรม, 2549)

การศึกษาเพื่อประเมินสถานการณ์ภาวะโลกร้อนโดยการใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อทำนายภาวะอุณหภูมิของโลกอย่างต่อเนื่องได้ดำเนินมาอย่างต่อเนื่องเป็นเวลาหลายปี โดยนักวิทยาศาสตร์ทั่วโลก ซึ่งผลที่ได้แม้ว่าตัวเลขที่ได้มีความแตกต่างกันแต่ข้อมูลได้บ่งชี้ไปในทิศทางเดียวกัน คือ อุณหภูมิโลกยังคงเพิ่มสูงขึ้นในอนาคตอย่างแน่นอน ซึ่งผลการศึกษาที่ต่างกันนี้ย่อมขึ้นกับปัจจัยร่วมที่ใช้ในการศึกษานั้นเอง ซึ่งปัจจัยหลักที่ใช้ร่วมในการคำนวณ คือ ปริมาณความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นปัจจัยหลักนั่นเอง (IPCC, 2006) อาทิเช่น การใช้แบบจำลอง HadCM₃ Model โดย Johns et al.(2003) ผลการศึกษาประเมินว่าอุณหภูมิเฉลี่ยของผิวโลกจะเพิ่มขึ้น $2.9-3.3^{\circ}\text{C}$ ในศตวรรษหน้าและเฉพาะในประเทศสหรัฐอเมริกาอุณหภูมิเฉลี่ยจะเพิ่มขึ้นถึง $4-8^{\circ}\text{C}$ ซึ่งผลที่ได้ความแตกต่างจากการศึกษาโดยใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ HadGEM₁ Model โดย Stott et al.(2006) ซึ่งระบุผลการศึกษาว่าอุณหภูมิเฉลี่ยของผิวโลกจะเพิ่มขึ้น ถึง $3.4-3.8^{\circ}\text{C}$ ในศตวรรษหน้า และผลการทำนายอุณหภูมิในประเทศสหรัฐอเมริการะบุว่าอุณหภูมิเฉลี่ยจะเพิ่มขึ้นถึง $3-5^{\circ}\text{C}$ เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลจากแบบจำลองทั้ง 2 พบว่า HadGEM₁ Model โดย Stott et al.(2006) แสดงผลการทำนายการเพิ่มระดับอุณหภูมิสูงเป็นค่าระดับที่สูงกว่า

5.2 ผลกระทบของภาวะโลกร้อนต่อระบบนิเวศและ ผลผลิตทางการเกษตร

มีงานวิจัยจำนวนมากที่สรุปผลกระทบในกรณีต่างๆที่เกิดขึ้นจากสภาวะโลกร้อน ซึ่งงานวิจัยประมาณ 1 ใน 5 นั้นเน้นประเด็นของผลกระทบที่เกิดต่อผลผลิตทางการเกษตรซึ่งเป็นเรื่องที่สำคัญในระดับโลก (Tan and Shinasaki, 2003) การสรุปของการประชุมกลุ่ม IPCC (อ้างโดย นิพนธ์ ตั้งธรรม, 2549) และการรวบรวมข้อมูลของ Tan and Shinasaki (2003) ได้สรุปประเด็นที่น่าสนใจของผลกระทบของโลกร้อนคือ การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิที่เกิดจากก๊าซเรือนกระจก จะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสภาวะอากาศทั้งในด้านกายภาพและชีวภาพ การเปลี่ยนแปลงต่อกระบวนการทางอุทกวิทยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งการส่งผลกระทบในเชิงลบต่อในระบบนิเวศเกษตรในประเทศในช่วงระยะ 10 ปีที่ผ่านมา ศักยภาพในการให้ผลผลิตของพืชในเกือบทุกประเทศในเอเชียลดลงซึ่งดูเหมือนจะเกิดขึ้นจากการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ ซึ่งอาจส่งผลต่อการขาดแคลนน้ำมากขึ้นและถี่ขึ้น และส่งผลทำให้เกิดการระบาดของโรคพืชมากขึ้น รวมทั้งฤดูกาลที่ผิดปกติไป การเสื่อมโทรมของดิน การเกิดให้เกิดสภาวะน้ำท่วมในพื้นที่การเกษตรหลายๆพื้นที่ทั่วโลก น้ำท่วมชายฝั่งทะเล และการรุกคืบของน้ำเค็มเข้าไปในแหล่งน้ำ ซึ่งคาดว่าผลผลิตในเอเชียใต้คาดว่าจะลดลงไปประมาณ 4-10% ในสิ้นศตวรรษ

จากการศึกษาวิจัยของนักวิทยาศาสตร์และหน่วยงานต่างๆระดับนานาชาติโลกเช่น IPCC ได้ข้อมูลที่สอดคล้องกัน และข้อมูลเหล่านั้นได้บ่งชี้ปัญหาภาวะโลกร้อนในปัจจุบันและความเป็นไปได้จริงของความรุนแรงของปัญหาในอนาคต ทำให้นักวิทยาศาสตร์กลุ่มหนึ่งมีความตระหนักถึงผลกระทบของ ภาวะโลกร้อนนี้ต่อระบบนิเวศธรรมชาติ นี้ ซึ่งปัญหาสำคัญนี้ทำให้มีการมุ่งประเด็นศึกษาผลกระทบของสภาวะโลกร้อนต่อผลผลิตทางการเกษตรดังกล่าว โดยส่วนหนึ่งของการศึกษาได้มีการทำนายโดยใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อให้ได้ข้อมูลเชิงพื้นที่ในแต่ละภูมิภาค (Tan, 2003) ซึ่งได้มีกลุ่มนักวิทยาศาสตร์ได้มีการประเมินความเสียหายในเชิงเศรษฐกิจจากการสูญเสียพืชพรรณในเขตพื้นที่อนุรักษ์ของแอฟริกาเป็นจำนวนเงินถึง 74.5 ล้านดอลลาร์สหรัฐ ในปี 2100 โดยใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ ในการประเมินผล และยังมี การคาดการณ์ว่าในปี ค.ศ.2065 มูลค่าความเสียหายจะสูงกว่านี้อีกมาก (Velarde et al., 2005)

นักวิทยาศาสตร์กลุ่มหนึ่งที่เน้นศึกษาผลกระทบของสภาวะอุณหภูมิโลกที่สูงขึ้นที่มีต่อพืชพรรณทางการเกษตรซึ่งเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญให้กับมนุษย์ทั้งโลก และได้มีการศึกษาอย่างจริงจังและต่อเนื่องจนมาถึงปัจจุบัน ได้มีผลการศึกษาที่พบว่าอัตราผลผลิตของพืชไร่ในโลกมีความสัมพันธ์เป็นอย่างยิ่งกับสภาวะการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิของโลก และส่งผลกระทบต่อสภาวะเศรษฐกิจของโลก และรายงานเพิ่มเติมว่าผลผลิตของพืชไร่ในหลายพื้นที่ของโลกในปัจจุบันลดลงได้สูงสุดได้สภาวะที่บรรยากาศมีอุณหภูมิสูงขึ้น จริง ซึ่งทำให้ต้องมีค่าใช้จ่ายเพิ่มขึ้นในการเพิ่มผลผลิตพืชทางการเกษตรเหล่านี้ ซึ่งในประเทศได้หวั่น ได้ประยุกต์ใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อศึกษาผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงสภาวะภูมิอากาศและสภาวะอุณหภูมิสูงขึ้นที่มีต่อพืชไร่ 60 ชนิดโดยสัมพันธ์กับข้อมูลทางเศรษฐศาสตร์ในการคำนวณ (Chang, 2002) พบว่าปรากฏการณ์โลกร้อนร่วมกับความแปรปรวนของภูมิอากาศเป็นปัจจัยร่วมกันในการเกิดผลกระทบต่อการลดผลผลิตของพืชทางการเกษตร

การใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ EPIC(Erosion Productivity Impact Calculator) ร่วมกับ ระบบสารสนเทศทางภูมิศาสตร์ (GIS) และ IE(Inference Engine) โดยกลุ่มวิจัยของ Tan and Shinasaki (2003) เพื่อทำนายผลกระทบของภาวะโลกร้อนที่มีต่อผลผลิตทางการเกษตร ในปี ค.ศ.2010 2020 2030 และ 2040 ผลที่ได้คือพบว่าผลผลิตทางการเกษตรหลายประเทศส่วนใหญ่ของพื้นที่ในโลกจะลดลงอย่างต่อเนื่องด้วยผลกระทบของภาวะโลกร้อน

การวิจัยในประเทศเคนยา (Mariara and Karanja, 2007) โดยการใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ Seasonal Ricardian mode ศึกษาผลกระทบของภาวะโลกร้อนที่ต่ออัตราผลผลิตพืชไร่ในประเทศพบว่า มีความสัมพันธ์ระหว่างภาวะโลกร้อนและส่งผลกระทบในเชิงลบต่ออัตราผลผลิตของพืชไร่ และ จะส่งผลอย่างต่อเนื่องในเชิงลบต่อไปในอนาคตในสภาวะอุณหภูมิเพิ่มขึ้น และ ยังแสดงผลที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่งว่า ผลของการใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์พบว่าผลจากภาวะโลกร้อนมีผลกระทบต่ออัตราผลผลิตของพืชไร่มากกว่าผลจากปริมาณน้ำฝนในประเทศ

ประเทศออสเตรเลียได้ประเมินผลกระทบของโลกร้อนที่มีต่อผลผลิตของข้าวสาลีโดยใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ CSIRO's Global atmosphere model ทำนายสภาวะการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิที่สัมพันธ์กับการเพิ่มระดับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในบรรยากาศพบว่าผลผลิตข้าวสาลีจะลดลง 29 % ภายใต้สภาวะอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นในอนาคตในเงื่อนไข การไม่เพิ่มระดับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ แต่หากอยู่ภายใต้สภาวะการเพิ่มระดับอุณหภูมิ ร่วมกับการเพิ่มระดับก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์ผลผลิตข้าวสาลีจะลดลง 25% (Anwar et al., 2007)

การศึกษาผลกระทบของสภาวะโลกร้อนต่อผลผลิตทางการเกษตรในภาคสนาม เป็นงานวิจัยอีกประเด็นหนึ่งซึ่งได้มีการศึกษามาอย่างต่อเนื่องเช่นเดียวกัน อาทิเช่น การวิจัยของ Wheeler et al.(1993) ได้ทำการทดลองภาคสนาม โดยใช้เครื่องพ่นความร้อนส่งผ่านท่อโพลีเอทิลีนในแนวราบทั้งควบคุมกับการปรับระดับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อศึกษาผลกระทบต่อนักชนิดต่างๆ ต่อมา Newton (1994) ได้สร้างสภาวะจำลองสถานการณ์อุณหภูมิสูงขึ้นโดยการให้ความร้อนในแปลงทดลองข้าวไรย์ และพบว่าผลผลิตได้ลดลงในสภาวะในช่วงอุณหภูมิสูงขึ้น ต่อมาการศึกษาของ Wurr et al. (1996) นักวิทยาศาสตร์ในประเทศอังกฤษ ได้ศึกษาผลกระทบของระดับอุณหภูมิที่ตามแนวโน้มของภาวะโลกร้อน ต่อพืชทางการเกษตร 3 ชนิดคือ ผักกาดหอม (Iceberg lettuce (*Lactuca sativa* L.)) กระเทียม (Leek (*Allium ampeloprasum* L.)) และ กระหล่ำดอก (Roscoff cauliflower(*Brassica oleracea* var. *botrytis* L.)) โดยการศึกษาสถานการณ์บรรยากาศที่มีระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกัน โดยใช้ระดับอุณหภูมิตั้งแต่ระดับบรรยากาศจริงในชุดควบคุมและ ใช้ท่อส่งความร้อนในแนวลาด ที่มีความกว้าง 8.7 m เมตร ความยาว 31.9 m ส่งผ่านอุณหภูมิ ในพื้นที่ทดลองเพื่อปรับระดับอุณหภูมิให้สูงขึ้นกว่าระดับเฉลี่ย 4 °C ในชุดทดลองเปรียบเทียบ การศึกษาพบว่า กลุ่มทดลองที่ให้ระดับอุณหภูมิสูงขึ้นนั้นเร่งระยะเวลาช่วงเก็บผลได้ของผักกาดหอมให้สั้นขึ้น แต่ยืระยะเวลาของการเก็บผลได้ของกระหล่ำดอกเกิน 49 วัน และยังเพิ่มจำนวนใบของกระหล่ำดอกอย่างมีนัยสำคัญ

Fuhrer (2003) ได้ระบุถึงผลกระทบของการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ การเปลี่ยนแปลงความชื้นในดิน ร่วมกับการเพิ่มขึ้นของ CO₂ และ O₃ ที่ส่งผลกระทบของระบบนิเวศเกษตร ซึ่งผลการศึกษาเฉพาะปัจจัยการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ พบว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้นส่งผลต่อการเร่งระยะ

ช่วงระยะการเติบโตของพืชประเภท C3 เพิ่มความต้องการน้ำ แต่ ลดผลผลิตของเมล็ด รวมทั้งลดศักยภาพการนำดีสารอาหารในพืช ประเภทนี้แต่จะส่งผลต่อพืชประเภท C3 มากกว่า C4

การศึกษาเพื่อวิจัยผลกระทบของอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นต่อผลผลิตของ ข้าวไร่ซึ่งเป็นพืชไร่เศรษฐกิจที่สำคัญโดย Nijs (1996) ในสวีตเซอร์แลนด์ ได้ผลการศึกษาที่น่าสนใจเป็นอย่างยิ่ง โดยในการวิจัย คณะผู้วิจัย ได้สร้างสภาวะจำลองโลกร้อนโดยการใช้ เครื่องทำความร้อนร่วมกับ แสงอินฟราเรด (1500 w IR lamp) โดยใช้ระบบอิเล็กทรอนิกส์ควบคุมการทำงานเพื่อควบคุมอุณหภูมิ ให้สูงกว่าปกติประมาณ 2.5°C โดยเปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่งได้รับอุณหภูมิปกติ ผลการศึกษาในแปลงทดลองพบว่าชุดทดลองซึ่งได้รับอุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้มวลชีวภาพส่วนเหนือดินซึ่งวัดโดยน้ำหนักแห้งลดลงถึง 52% และลดอัตราผลผลิตลงถึง 48% เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม

การประยุกต์ใช้ Open Top Chamber เพื่อศึกษาผลกระทบของภาวะโลกร้อนมีกันอย่างแพร่หลาย เช่น การศึกษาโดยกลุ่มคณะวิจัยของ Norby et al. (1997) ประยุกต์ใช้ Open Top Chamber เพื่อศึกษาผลกระทบของสภาวะอุณหภูมิที่สูงขึ้นร่วมกับการเพิ่มระดับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่มีต่อไม้ยืนต้น กลุ่มนักวิจัยได้ควบคุมอุณหภูมิใน Open Top Chamber ควบคุมโดยใช้ท่อส่งความร้อนเพื่อปรับให้อุณหภูมิสูงขึ้น และ พัดลมเป่าเพื่อปรับลดระดับอุณหภูมิ และการศึกษาในระบบนิเวศในเขตทุนดรา โดย Hollister และ Webber (2000) ซึ่งพบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุมอุณหภูมิได้เป็นอย่างดี เช่น การศึกษาผลกระทบของระดับอุณหภูมิที่สูงขึ้นในระบบนิเวศอื่นๆ โดยการประยุกต์ใช้ Open Top Chamber เพื่อปรับอุณหภูมิในพื้นที่ทุ่งหญ้าอัลไพน์เพื่อศึกษาผลกระทบของการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการแพร่พันธุ์ของพืชพรรณชนิดต่างๆในระบบนิเวศทุ่งหญ้าแถบอัลไพน์ ในการศึกษา Kudernatsch et al. (2007) ผลการศึกษาพบว่ากลุ่มพืชที่ได้อยู่ในสภาวะอุณหภูมิสูงขึ้นมีสภาวะการเติบโตและแพร่พันธุ์เพิ่มขึ้นแต่ไม่ได้มีการตรวจวัดธาตุอาหารทั้งในพืชและในดินแต่อย่างใด

พบว่ากลุ่มนักวิทยาศาสตร์แถบยุโรปและอเมริกาเหนือได้มีความสนใจในการวิจัยผลกระทบของการเพิ่มอุณหภูมิที่มีต่อผลผลิตทางการเกษตรเช่นเดียวกัน อาทิเช่น การศึกษาในข้าวฟ่าง (*Sorghum bicolor* (L.)) โดย Chowdhury and Wardlaw (1978) ได้ศึกษาในภาคสนามโดยปลูกใน Chamber ภาคสนาม ในเขตเทกซัส สหรัฐอเมริกา พบว่า ผลผลิตของเมล็ดข้าวฟ่างลดลงถึง 50 % ภายใต้สภาวะอุณหภูมิ $33/28^{\circ}\text{C}$ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองซึ่งปลูกภายใต้ สภาวะอุณหภูมิ $30/25^{\circ}\text{C}$ ซึ่งมีข้อมูลที่แสดงผลสอดคล้องกัน คือการทดลองของ Prasad et al. (2006) นักวิจัยกลุ่มนี้ ศึกษาผลกระทบของสภาวะอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นในบรรยากาศที่มีต่อผลผลิตของข้าวฟ่าง (*Sorghum bicolor* (L.)) โดยการปลูกใน Chamber เพื่อทดลองในภาคสนามเช่นเดียวกัน โดยการควบคุมอุณหภูมิ ให้มีความแตกต่างกันโดยการ ผลการศึกษาพบว่ากลุ่มปลูกภายใต้สภาวะอุณหภูมิที่สูงกว่า $36/26^{\circ}\text{C}$ ส่งผลต่อการลดการผลิตเกสรอย่างมีนัยสำคัญ และ ลดการผลิตเมล็ดข้างฟางถึง 10 % เมื่อเปรียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งปลูกภายใต้สภาวะอุณหภูมิ $32/22^{\circ}\text{C}$

การศึกษาประเด็นปัญหานี้ในประเทศไทยได้ดำเนินการมาระยะหนึ่งแล้ว โดยการศึกษาด้วยการสร้างสภาวะการณ์จำลองสถานการณ์ความแปรปรวนของระดับอุณหภูมิที่มีอิทธิพลต่อข้าว

โดย กณิดา ธนเจริญชนภาส และโอรส รักชาติ (2551) ได้สร้างแบบจำลองสภาวะการณ์โลกร้อนในพื้นที่นาข้าว เพื่อปลูกข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในฤดูกาลปลูกจริงในพื้นที่จังหวัดพิษณุโลก โดยประยุกต์ใช้ Open Top Chamber ลักษณะโปร่งใส เพื่อควบคุมระดับอุณหภูมิสูงสุด 3 ระดับคือ 30°C 35°C และ 40°C ผลการศึกษาพบว่าที่ระดับ 35°C เป็นอุณหภูมิที่กระตุ้นให้ต้นข้าวโตเร็วและมีมวลชีวภาพที่สูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับอีก 2 ชุดการศึกษา แต่กลับพบว่ามียปริมาณโปรตีนในเมล็ดข้าวลดลงมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับระดับอุณหภูมิ 30°C และ 40°C ผลการศึกษาในปัจจัยอัตราผลผลิตพบว่า ชุดการทดลองภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูงสุดที่ 40°C มีเปอร์เซ็นต์เมล็ดที่ได้ผลผลิตดี / รวง ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเปรียบเทียบกับชุดทดลองที่มีระดับอุณหภูมิ 30°C และ 35°C โดยลดลง 9.7 % และ 12.3 % ผลการศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมเบื้องต้นโดยวิธี RAPD พบว่าการปลูกข้าวภายใต้ความแตกต่างของระดับอุณหภูมิสูงสุด 3 ระดับ ในระยะยาวส่งผลต่อการจำแนกแถบดีเอ็นเอที่แตกต่างกันออกเป็น 3 กลุ่มอย่างชัดเจน

5.3 บทสรุป

ประเทศไทยเป็นอีกประเทศหนึ่งที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะภูมิอากาศของโลก ข้อมูลจากกรมอุตุนิยมวิทยาได้พยากรณ์แนวโน้มของระดับการเพิ่มระดับอุณหภูมิในบรรยากาศในเขตภาคเหนือในอนาคตโดยพบว่ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้น $4-5^{\circ}\text{C}$ และในทศวรรษที่ 2100 (ค.ศ.2091-2100) เมื่อเทียบกับในช่วงทศวรรษที่ 2000 (ค.ศ.1991-2000) รวมทั้งการแสดงผลพยากรณ์ความแปรปรวนทางด้านสภาวะภูมิอากาศในปัจจัยอื่นๆที่มีแนวโน้มแปรปรวนมากขึ้นเช่นกัน (สำนักพัฒนาอุตุนิยมวิทยา, 2552) ด้วยเหตุนี้การสร้างสภาวะการณ์จริงของสภาวะการณ์อุณหภูมิที่สูงร่วมกับปัจจัยความแปรปรวนของความชื้น และความแปรปรวนของอุณหภูมิจึงมีความสำคัญและควรศึกษาอย่างเร่งด่วนในประเทศไทย เพื่อให้ได้ข้อมูลที่แม่นยำของผลกระทบจากสภาวะการณ์ภูมิอากาศแปรปรวนที่มีผลต่อผลผลิตและคุณภาพสารอาหารในถั่วเหลือง รวมทั้งการคาดการณ์ถึงสายพันธุ์ที่ทนทานต่อสภาวะวิกฤตดังกล่าว การศึกษาในครั้งนี้กลุ่มวิจัยเลือกศึกษาในถั่วเหลือง เนื่องจากการตระหนักถึงความสำคัญในประเด็นการเป็นพืชเศรษฐกิจ และบทบาทของประเทศไทยที่มีต่อการผลิตถั่วเหลืองในระดับโลกและในประเทศ ซึ่งยืนยันจากข้อมูลของ จากองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ ได้รายงานไว้ว่าประเทศไทยได้รับการจัดอันดับให้เป็นประเทศที่ผลิตถั่วเหลืองได้เป็นอันดับที่ 17 ของโลก โดยพิจารณาจากเนื้อที่เก็บเกี่ยว ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ ของประเทศผู้ผลิตที่สำคัญ ปี 2545-2547 โดยผลิตได้ถึง 260,000 ตัน/ปี ในปี พ.ศ. 2545 231,000 ตัน/ปี ในปี พ.ศ. 2546 และ 240,000 ตัน/ปี ในปี พ.ศ. 2547 ตามลำดับ และพบว่าภาคเหนือเป็นพื้นที่ปลูกถั่วเหลืองมากที่สุดในประเทศไทย (กรมวิชาการเกษตร, 2552)

ผลการศึกษาจะสามารถนำไปสู่การต่อยอดการศึกษาและการวิจัยเพิ่มเติมที่นำไปสู่การรองรับ และการจัดการแก้ปัญหา ดังกล่าวในพื้นที่เขตภาคเหนือของประเทศไทยต่อไป

6. ระเบียบวิธีวิจัย

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้ดำเนินการตามขอบเขตของการใช้พื้นที่ อุปกรณ์ เครื่องมือ และวิธีดำเนินการดังนี้

6.1 สถานที่วิจัย

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

6.2 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)

6.3 ระยะเวลาการวิจัย

การศึกษาผลกระทบระยะยาวของระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกันในช่วงฤดูเพาะปลูกที่มีต่อผลผลิตและคุณภาพสารอาหารในถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merrill) พันธุ์เชียงใหม่ 60 โดยควบคุมระดับอุณหภูมิที่กำหนด 3 ระดับใน 3 ชุดการทดลอง (3 ซ้ำ) ในแต่ละชุดทดลอง 5 ซ้ำโมงต่อวัน 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 รงควัสดุในใบ (คลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และแคโรทีนอยด์) จากนั้นทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในเมล็ด และวิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรม ใน

การปลูกครั้งที่ 1 เดือนมิถุนายน 2552 – ธันวาคม 2552 และครั้งที่ 2 เดือนมิถุนายน 2554 – ธันวาคม 2554

6.4 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 เปอร์เซ็นต์
5. สารละลายต่างโพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 0.223 โมล
6. สารละลายบอริกเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์
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

6.5 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 ในงานวิจัยนี้จะคลุมด้วยพลาสติกใสรูปทรงกระบอก เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5 เมตร สูง 1.7 เมตร เปิดหลังคาด้านบน และติดระบบหมุนเวียนอากาศ โดยติดตั้งพัดลมด้านหน้าของ 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 ดำเนินการโดยการติด พัดลมดูดอากาศบริเวณด้านล่างของด้านหน้าตู้ทดลองเพื่อดูอากาศเข้า อากาศที่ถูกดูดเข้ามาจะผ่านแผ่นกรองก๊าซมลพิษอื่นๆ โดยการใช้ถ่านกัมมันต์ เป็นตัวกรองและผ่านแผ่นกรองฝุ่นอีก 1 ชั้น

1.3 การควบคุมระดับอุณหภูมิในตู้ทดลองใช้ระบบการควบคุมด้วยอิเล็กทรอนิกส์โดยมีเครื่องบันทึกอุณหภูมิด้วยระบบอิเล็กทรอนิกส์ในห้องทดลองซึ่งส่งสัญญาณต่อเชื่อมกับระบบควบคุมการปล่อยน้ำอัตโนมัติโดยสั่งเปิด ปิดน้ำตามสายยางบริเวณด้านข้างห้องทดลอง โดยระบบจะการควบคุมให้วาล์วปล่อยน้ำเพื่อลดอุณหภูมิในกรณีที่อุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นกว่าระดับที่ต้องการ ขณะเดียวกันระบบจะการควบคุมให้วาล์วปิดระบบการปล่อยน้ำเมื่ออุณหภูมิลดลงถึงระดับที่กำหนดไว้ ซึ่งการควบคุมระบบนี้ใช้การอ่านค่าอุณหภูมิด้วยเครื่องบันทึกอุณหภูมิด้วยระบบอิเล็กทรอนิกส์และส่งคำสั่งไปปล่อย-หยุดปล่อยน้ำ นั้นเอง (ดังภาพที่ 2)

6.6 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



เชื่อมต่อระบบการใช้น้ำจากแท้งก์เก็บน้ำใหญ่



ควบคุมระยะเวลาของระบบ



เครื่องบันทึกอุณหภูมิด้วยระบบอิเล็กทรอนิกส์
และวาล์วเปิด-ปิดน้ำ



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

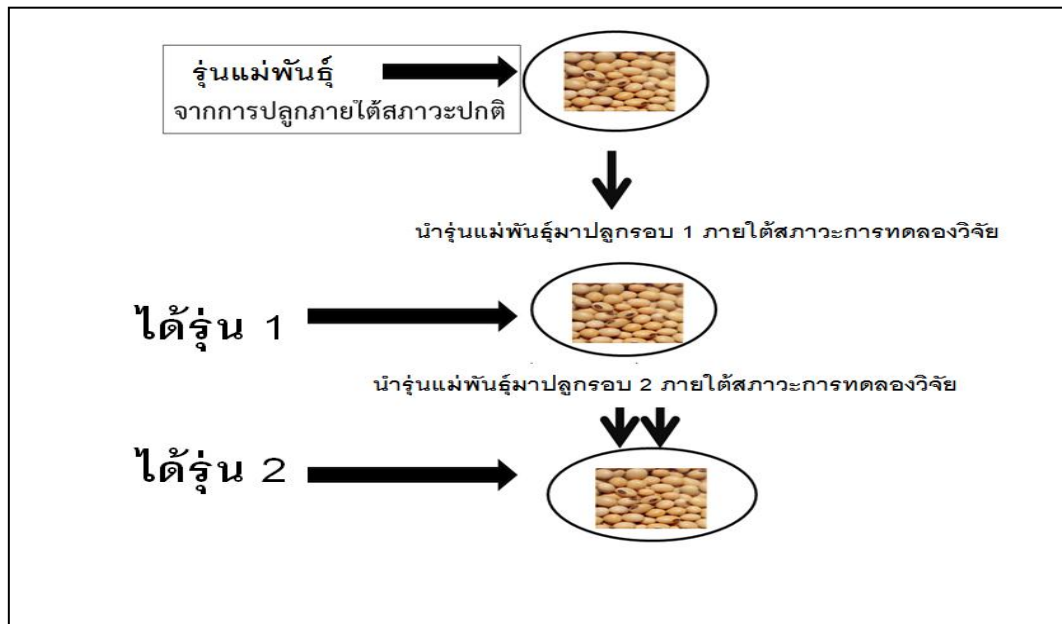
6.7 การจัดการปลูกข้าวเหลืองและการตอบสนองต่อผลกระทบจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

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

2) การศึกษาข้าวเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 โดยการปลูกในแปลงปลูก กว้าง 17 เมตร ยาว 20 เมตร ระยะห่างระหว่างหลุม 20 เซนติเมตร การทดลองจะเริ่มตั้งแต่การเพาะเลี้ยงต้นกล้าให้มีความสูง 3 เซนติเมตร จากนั้นนำตู้ทดลองมาครอบในแปลงปลูก และเริ่มควบคุมอุณหภูมิตลอดจนถึงช่วงเก็บเกี่ยว ซึ่งเป็นระยะประมาณเวลา 3 เดือน

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

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



ภาพที่ 3 แสดงวิธีการวางแผนการปลูกเพื่อศึกษาผลกระทบระยะยาวของถั่วเหลือง 2 ระยะการปลูก

6.8 ปัจจัยด้านสภาพภาพในบรรยากาศ

วัดปัจจัยด้านสภาพภาพในบรรยากาศดังนี้

1. ระดับอุณหภูมิ
2. ความชื้นสัมพัทธ์
3. ระดับคาร์บอนไดออกไซด์

6.9 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 ระยะ R1, R3, R6 และ R8 ซึ่งเป็นช่วงอายุที่ 36, 47, 75 และ 89 วัน ตามลำดับ ตามวิธีของ Jones *et al.* (1991) โดยคำนวณได้จากสูตร $LAI = \text{พื้นที่ใบรวมทั้งหมด} / \text{พื้นที่ดินที่พืชขึ้นขึ้นอยู่}$

2) การตรวจสอบ ผลกระทบจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีต่อปริมาณรงควัตถุของ ถั่วเหลือง

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

6.10 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 เติมน้ำเหลวไนโตรเจน จนท่วมตัวอย่าง แล้วบดให้ละเอียด ตักใส่หลอด 1.5 ml ประมาณครึ่งหลอด

2.4 เติมน้ำ 1.5X CTAB 700 μl นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 65°C ประมาณ 1 ชั่วโมง

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

- 2.6 นำไปปั่นด้วยความเร็วรอบ 12,000 rpm นาน 10 นาที ดึงส่วนใสด้านบนในหลอด 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 °C 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 ทำให้ตะกอนแห้งโดยวางไว้ในอุณหภูมิห้อง หรือใส่ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 65 °C เมื่อตะกอนดีเอ็นเอแห้งดีแล้ว ให้ละลายตะกอนด้วย dH₂O ประมาณ 100 μ l นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 65 °C นาน 1 ชั่วโมง หรือจนตะกอนละลายหมด เก็บดีเอ็นเอที่สกัดไว้ในตู้เย็น จนกระทั่งถึงเวลาที่จะนำมาใช้งาน
- 2.13 สารเคมีที่ใช้ในการสกัดดีเอ็นเอ
- 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 H₂O ให้ครบ 200 ml

6.11 การวิเคราะห์ทางสถิติ

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

7. ผลการศึกษา

การศึกษาวิจัยเรื่องผลกระทบระยะยาวของระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกันในช่วงฤดูเพาะปลูกที่มีต่อผลผลิตและคุณภาพสารอาหารในถั่วเหลือง (*Glycine max* (L.) Merrill) พันธุ์เชียงใหม่ 60 ผู้วิจัยขอเสนอผลการวิจัยตามลำดับหัวข้อ ดังนี้

7.1 ปัจจัยด้านสภาพภาพในบรรยากาศ

1. ระดับอุณหภูมิ
2. ความชื้นสัมพัทธ์
3. ระดับคาร์บอนไดออกไซด์

7.2 ปัจจัยชี้วัดผลกระทบจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีต่อการเจริญเติบโตของถั่วเหลือง

1. ความสูงของลำต้น
2. ดัชนีพื้นที่ใบ

7.3 ปัจจัยชี้วัดผลกระทบจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีต่อปริมาณรงควัตถุในใบของถั่วเหลือง

1. คลอโรฟิลล์เอ
2. คลอโรฟิลล์บี
3. แคโรทีนอยด์

7.4 ปัจจัยชี้วัดผลกระทบจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีต่อผลผลิตของเมล็ดถั่วเหลือง

1. จำนวนฝักต่อต้น
2. จำนวนเมล็ดต่อฝัก
3. น้ำหนัก 100 เมล็ด

7.5 ปัจจัยชี้วัดผลกระทบจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีต่อคุณภาพสารอาหารของผลผลิตในเมล็ดถั่วเหลือง

1. ปริมาณโปรตีน
2. ปริมาณไขมัน
3. ปริมาณเถ้า
4. ปริมาณเยื่อใย
5. ความชื้น

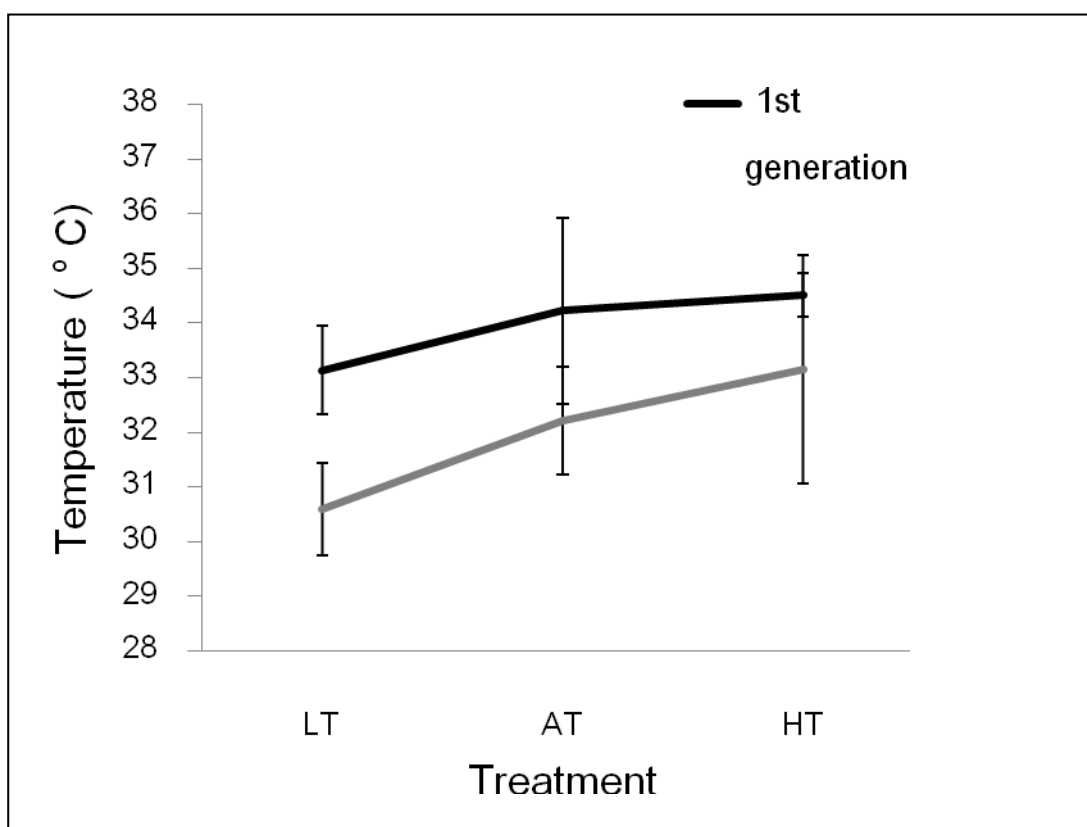
7.6 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรม

จากการวางแผนการวิจัยศึกษาผลกระทบของจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 โดยศึกษาในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน 3 ระดับทั้ง 3 ชุดการทดลอง ได้ผลการศึกษาลำดับดังนี้

7.1 ปัจจัยทางกายภาพในบรรยากาศ

1. อุณหภูมิ

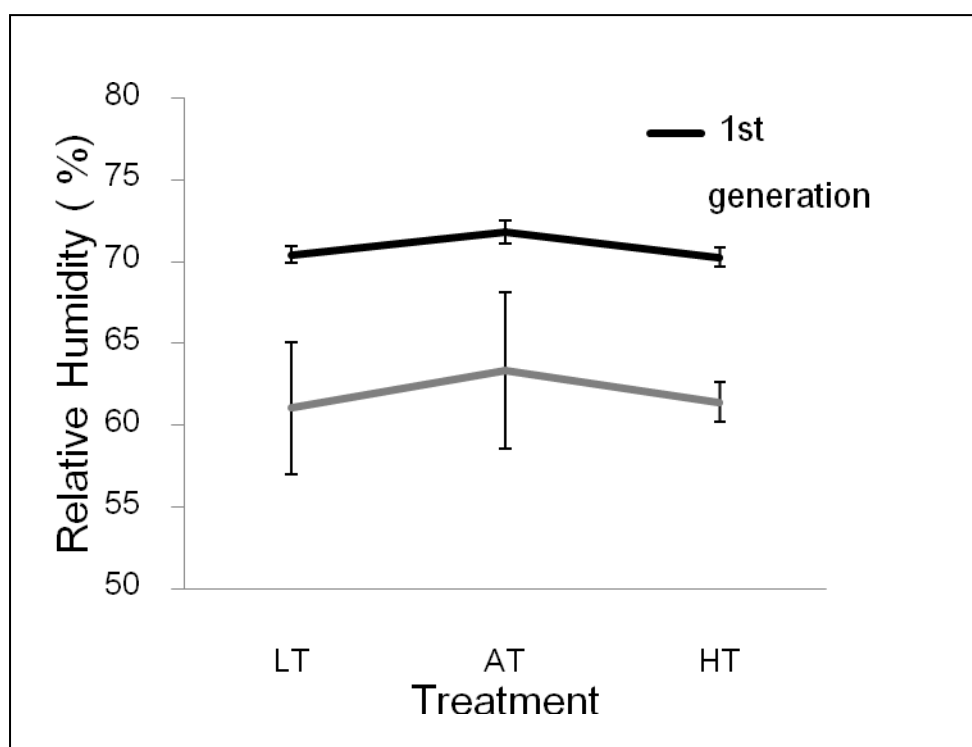
จากผลการศึกษาถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ที่มีผลกระทบของจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีระดับ ในการวิจัยครั้งนี้ได้ทำการปลูกถั่วเหลืองภายใต้อุณหภูมิที่แตกต่างกัน 3 ระดับทั้ง 3 ชุดการทดลอง เป็นเวลา 5 ชั่วโมงต่อวัน (10.00 – 15.00 น.) โดยบันทึกผลตั้งแต่เดือนมกราคม 2552 – มีนาคม 2552 และปลูกรุ่นที่ 2 ตั้งแต่เดือนมกราคม 2554-มีนาคม 2554 โดยบันทึกผลระดับอุณหภูมิเฉลี่ยดังแสดงในภาพที่ 3 ซึ่งพบว่า มีค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิในช่วงระยะเวลาการทดลองรุ่นที่ 1 ของการปลูกเท่ากับ 33.15 ± 0.8 34.23 ± 1.07 และ 34.52 ± 0.4 องศาเซลเซียส ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ ส่วนค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิในช่วงระยะเวลาการทดลองรุ่นที่ 2 ของการปลูกเท่ากับ 30.60 ± 0.85 32.22 ± 0.99 และ 33.16 ± 2.19 องศาเซลเซียส ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ (ภาพที่ 4)



ภาพที่ 4 ระดับอุณหภูมิเฉลี่ยของการปลูกแต่ละรุ่นในช่วงระยะเวลาการทดลอง

2. ความชื้นสัมพัทธ์

การบันทึกผลตั้งแต่เดือนมกราคม 2552 – มีนาคม 2552 และ เดือนมกราคม 2554-มีนาคม 2554 โดยบันทึกผลระดับความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยดังแสดงในภาพที่ 4 ซึ่งพบว่า มีค่าเฉลี่ยของความชื้นสัมพัทธ์ในช่วงระยะเวลาการทดลองรุ่นที่ 1 ของการปลูกเท่ากับ 70.41 ± 0.5 71.77 ± 0.7 และ 70.27 ± 0.6 เปอร์เซ็นต์ ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ ส่วนค่าเฉลี่ยของความชื้นสัมพัทธ์ในช่วงระยะเวลาการทดลองรุ่นที่ 2 ของการปลูกเท่ากับ 61.05 ± 4.04 63.32 ± 4.78 และ 61.39 ± 1.21 เปอร์เซ็นต์ ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ (ภาพที่ 5)

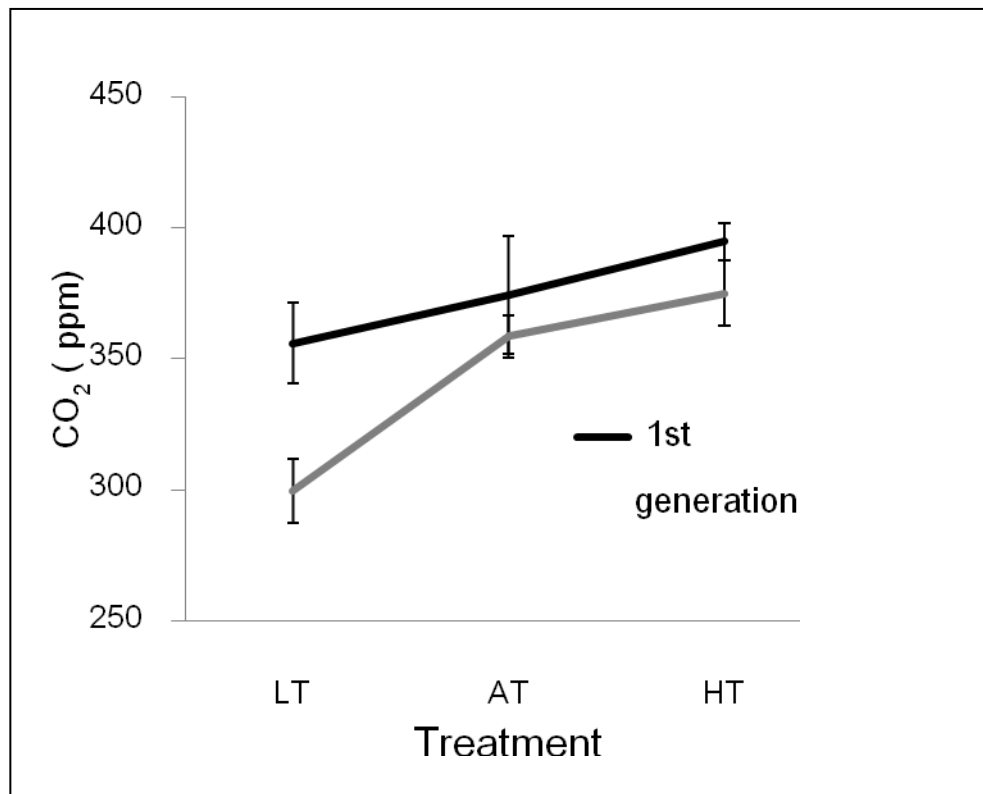


ภาพที่ 5 ระดับความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยของการปลูกแต่ละรุ่นในช่วงระยะเวลาการทดลอง

3. ระดับความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

จากผลการศึกษาถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ที่มีผลกระทบของจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีระดับ ในการวิจัยครั้งนี้ได้ทำการปลูกถั่วเหลืองภายใต้อุณหภูมิที่แตกต่างกัน 3 ระดับ ทั้ง 3 ชุดการทดลอง เป็นเวลา 5 ชั่วโมงต่อวัน (10.00 – 15.00 น.) โดยบันทึกผลตั้งแต่เดือนมกราคม 2552 – มีนาคม 2552 และปลูกรุ่นที่ 2 ตั้งแต่เดือนมกราคม 2553-มีนาคม 2553 โดยบันทึกผลระดับความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยดังแสดงในภาพที่ 6 ซึ่งพบว่า มีค่าเฉลี่ยของระดับความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในช่วงระยะเวลาการทดลองรุ่นที่ 1 ของการปลูกเท่ากับ

326.03±15.35 374.45±22.63 และ 394.71±7.05 ppb ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ ส่วนค่าเฉลี่ยของระดับความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในช่วงระยะเวลาการทดลองรุ่นที่ 2 ของการปลูกเท่ากับ 299.72±12.32 358.52±7.90 และ 375.04±12.51 ppb ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ



ภาพที่ 6 ระดับความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เฉลี่ยของการปลูกแต่ละรุ่นในช่วงระยะเวลาการทดลอง

จากผลการศึกษาปัจจัยทางกายภาพในบรรยากาศในช่วงระยะทดลองนั้นแสดงให้เห็นว่าระดับอุณหภูมิเฉลี่ยในช่วงระยะเวลาการทดลองรุ่นที่ 1 ของการปลูกจะมีระดับค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิที่สูงกว่าการทดลองรุ่นที่ 2 ของการปลูกอย่างชัดเจนดังภาพที่ 3 ส่วนระดับความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย และค่าเฉลี่ยของระดับความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ พบว่าปริมาณของค่าเฉลี่ยของชุดทดลอง HT มีค่าเฉลี่ยสูงกว่าชุดทดลองอื่นๆอย่างสังเกตเห็นได้ชัดเจน

7.2 ปัจจัยชี้วัดผลกระทบจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีต่อการเจริญเติบโตของถั่วเหลือง

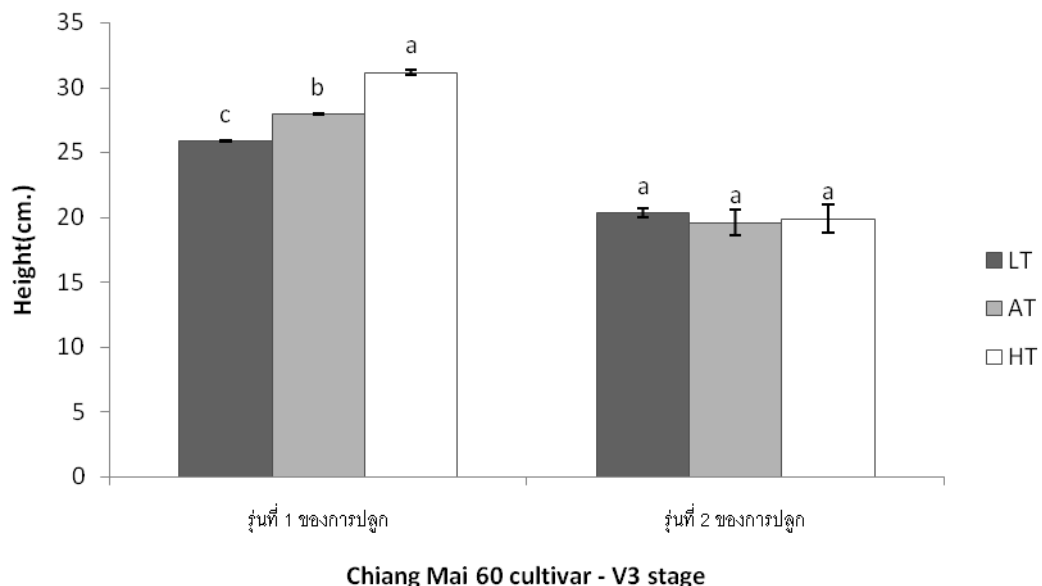
1 ผลกระทบของอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีต่อความสูงของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60

โดยศึกษาในระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกัน 3 ระดับในช่วงฤดูกาลปลูกโดยการวัดทางด้านความสูงของลำต้น (shoot height) โดยวัดจากความสูงจากโคนถึงปลายที่ระยะ V3, R1, R3, R6, และ R8 ซึ่งเป็นช่วงอายุที่ 26, 36, 47, 75 และ 89 วัน ตามลำดับ

1.1 ความสูง(Height) จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ V3

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ V3 ซึ่งเป็นระยะข้อที่ 3 (third node) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 7 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ความสูงโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 25.88 ± 0.05 , 27.96 ± 0.06 และ 31.15 ± 0.20 cm. ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติพบความแตกต่างของระดับความสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ระหว่างชุดการทดลองที่ควบคุมให้สูงกว่าระดับอุณหภูมิธรรมชาติภายนอกตู้ทดลองระหว่างการวิจัย(HT) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดทดลองที่ควบคุมให้ใกล้เคียงกับระดับอุณหภูมิภายนอกตู้ทดลองระหว่างทำวิจัยและชุดทดลองที่ควบคุมให้ต่ำกว่าระดับอุณหภูมิธรรมชาติภายนอกตู้ทดลองระหว่างการวิจัย(ATและLT)



ภาพที่ 7 ความสูงเฉลี่ย(cm.) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ V3 ในการปลูก รุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

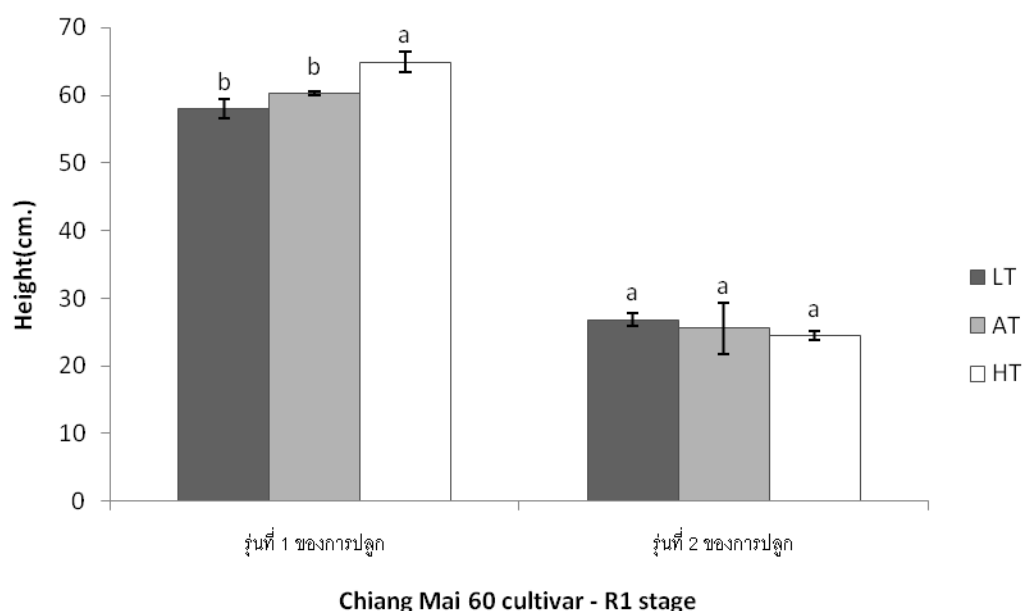
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของเพิ่มขึ้นพบว่าระหว่างชุดการทดลอง AT กับ HT พบว่ามีเปอร์เซ็นต์เพิ่มขึ้นเท่ากับ 11.41% ตามลำดับ

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ความสูงโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 20.33 ± 0.35 19.6 ± 1.00 และ 19.87 ± 1.00 cm. ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของระดับความสูงอย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

1.2 ความสูง(Height) จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R1

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R1 ซึ่งเป็นระยะเริ่มออกดอก(beginning bloom) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 8 และมีรายละเอียดดังนี้ในการปลูกรุ่นที่ 1 ความสูงโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 58.03 ± 1.43 60.25 ± 0.32 และ 64.95 ± 1.46 cm. ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติพบความแตกต่างของระดับความสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ระหว่างชุดการทดลองที่ควบคุมให้สูงกว่าระดับอุณหภูมิธรรมชาติภายนอกตู้ทดลองระหว่างการวิจัย(HT) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดทดลอง HT-AT พบว่าความสูงเพิ่มขึ้น 7.80 % ในการปลูกรุ่นที่ 2 ความสูงโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 26.83 ± 0.91 25.6 ± 3.76 และ 24.49 ± 0.72 cm. เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของระดับความสูงอย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 8 ความสูงเฉลี่ย(cm.) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R1 ในการปลูก รุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

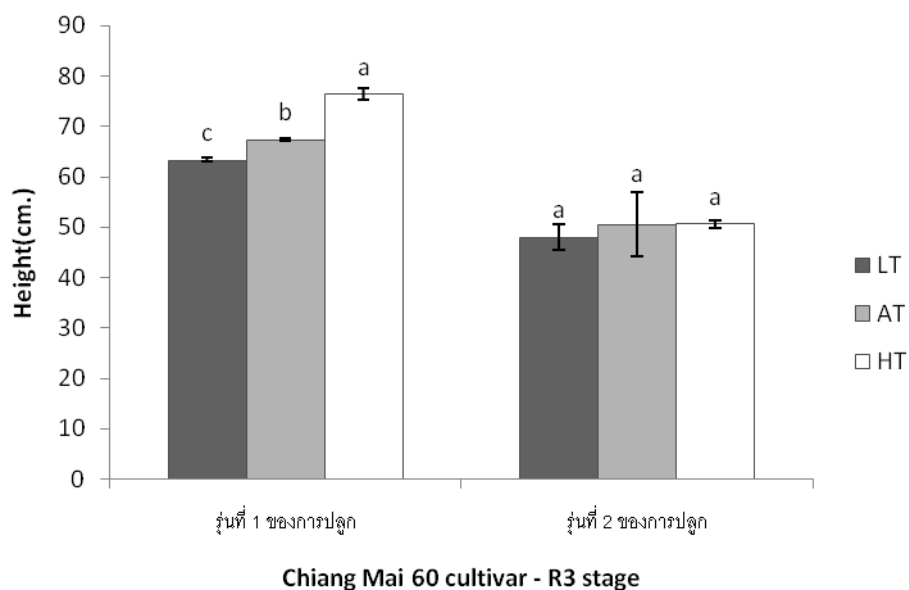
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

1.3 ความสูง(Height) จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R3

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R3 ซึ่งเป็นระยะเริ่มติดฝัก (beginning pod) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 9 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ความสูงโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 63.32 ± 0.38 67.42 ± 0.23 และ 76.41 ± 1.14 cm. ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติพบความแตกต่างของระดับความสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ระหว่างชุดการทดลองที่ควบคุมให้สูงกว่าระดับอุณหภูมิธรรมชาติภายนอกตู้ทดลอง ระหว่างการวิจัย(HT) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดทดลอง ระหว่าง HT-At พบว่ามีความสูงเพิ่มขึ้นที่ชุดทดลอง HT เท่ากับ 13.33 %

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ความสูงโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 48.02 ± 2.58 50.49 ± 6.33 และ 50.64 ± 0.72 cm เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของระดับความสูงอย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 9 ความสูงเฉลี่ย(cm.) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R3 ในการปลูก รุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

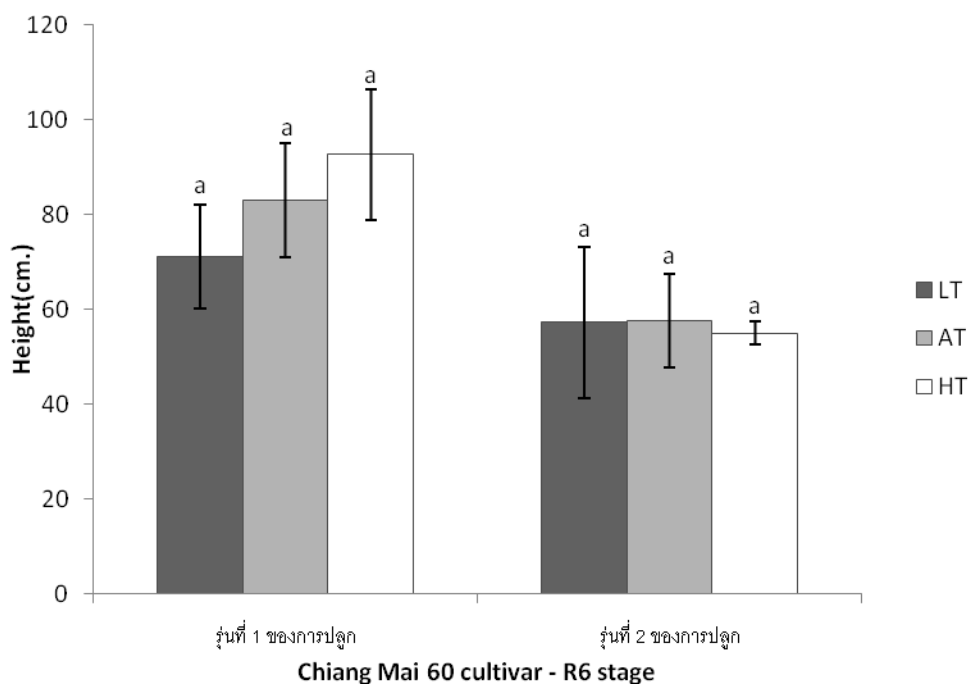
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

1.4 ความสูง(Height) จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R6

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R6 ซึ่งเป็นระยะเมล็ดพัฒนาเต็มที่ (full seed) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 10 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ความสูงโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 71.16 ± 10.95 82.95 ± 12.06 และ 92.63 ± 13.79 cm. ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของระดับความสูงอย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ความสูงโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 57.27 ± 15.98 57.63 ± 9.95 และ 55.00 ± 2.43 cm. เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของระดับความสูงอย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 10 ความสูงเฉลี่ย(cm.) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R6 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

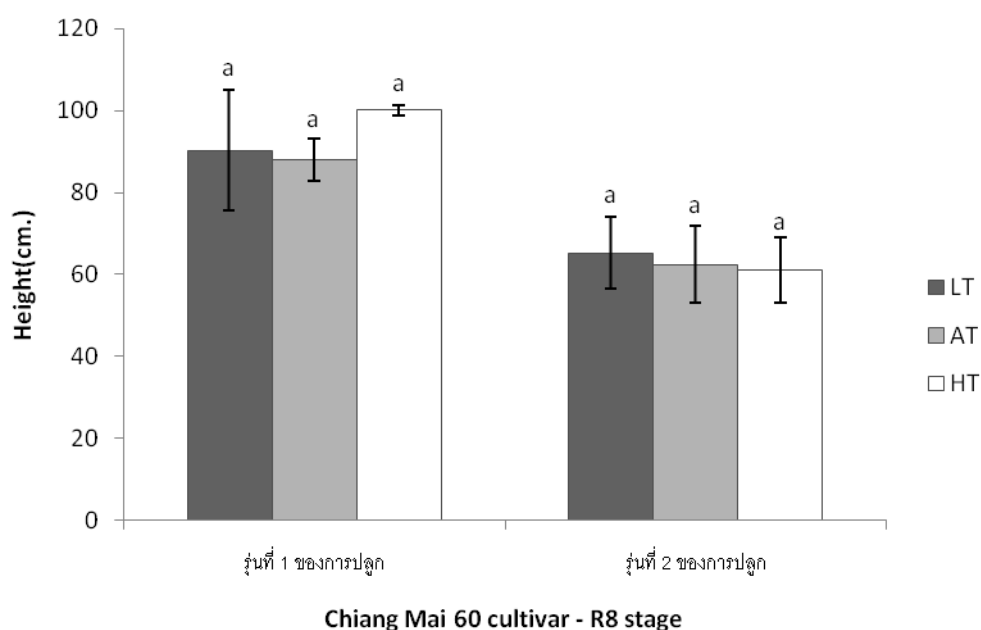
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

1.5 ความสูง(Height) จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R8

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R8 ซึ่งเป็นระยะสุกแก่เต็มที่ (full maturity) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 11 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ความสูงโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 90.24 ± 14.65 , 87.96 ± 5.26 และ 100.10 ± 1.23 cm. ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของระดับความสูงอย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ความสูงโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 65.17 ± 8.79 , 62.47 ± 9.50 และ 61.10 ± 7.88 cm. เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของระดับความสูงอย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 11 ความสูงเฉลี่ย(cm.) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 ในการปลูก รุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

จากการศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีต่อความสูงของถั่วเหลืองพันธุ์ เชียงใหม่ 60 ระหว่างการทดลองรุ่นที่ 1 ของการปลูกและ รุ่นที่ 2 ของการปลูก ซึ่งพิจารณาจากระยะของการเจริญเติบโตที่ระยะ V3, R1, R3, R6, และ R8 ซึ่งเป็นช่วงอายุที่ 26, 36, 47, 75 และ 89 วัน ตามลำดับ พบว่าความสูงในการทดลองรุ่นที่ 1 ของการปลูกที่ระยะ V3, R1, R3 มีการตอบสนองเชิงบวกในชุดการทดลองที่ควบคุมให้สูงกว่าระดับอุณหภูมิธรรมชาติภายนอกตู้ทดลองระหว่างการทำวิจัย (HT) มีอัตราการเพิ่มขึ้นของความสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดทดลองที่ควบคุมให้ใกล้เคียงกับระดับอุณหภูมิภายนอกตู้ทดลองระหว่างการทำวิจัยและชุดทดลองที่ควบคุมให้ต่ำกว่าระดับอุณหภูมิธรรมชาติภายนอกตู้ทดลองระหว่างการทำวิจัย (AT และ LT) อย่างไรก็ตามไม่พบการตอบสนองเช่นนี้ในผลผลิตรุ่นที่ 2 แต่อย่างใด

2. ผลกระทบของอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีต่อดัชนีพื้นที่ใบ (Leave Area Index) ของถั่วเหลืองพันธุ์ เชียงใหม่ 60

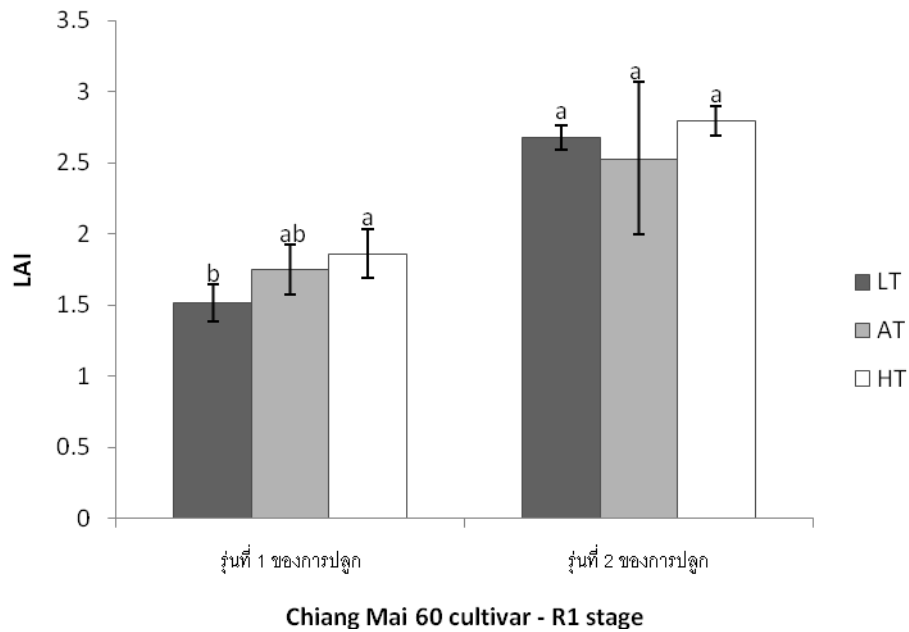
โดยศึกษาในระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกัน 3 ระดับในช่วงฤดูกาลปลูกโดยพิจารณาจากดัชนีพื้นที่ใบ (Leave Area Index) ของถั่วเหลืองพันธุ์ เชียงใหม่ 60 ที่ระยะ R1, R3, R6, และ R8 ซึ่งเป็นช่วงอายุที่ 36, 47, 75 และ 89 วัน ตามลำดับ

2.1 ดัชนีพื้นที่ใบ (Leave Area Index) จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R1

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R1 ซึ่งเป็นระยะเริ่มออกดอก (beginning bloom) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 12 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ดัชนีพื้นที่ใบ (leave Area Index) โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์ เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 1.51 ± 0.13 1.74 ± 0.17 และ 1.86 ± 0.17 ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติพบความแตกต่างของดัชนีพื้นที่ใบ (leave Area Index) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ระหว่างชุดการทดลองที่ควบคุมให้สูงกว่าระดับอุณหภูมิธรรมชาติภายนอกตู้ทดลองระหว่างการทำวิจัย (HT) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดทดลองที่ควบคุมให้ต่ำกว่าระดับอุณหภูมิธรรมชาติภายนอกตู้ทดลองระหว่างการทำวิจัย (LT) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบพบว่าที่ HT มีเปอร์เซ็นต์ของเพิ่มขึ้นเท่ากับ 23.17

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ดัชนีพื้นที่ใบ (leave Area Index) โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์ เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 2.67 ± 0.08 2.53 ± 0.53 และ 2.79 ± 0.10 เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของดัชนีพื้นที่ใบ (leave Area Index) อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 12 ดัชนีพื้นที่ใบ(Leave Area Index)เฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R1 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

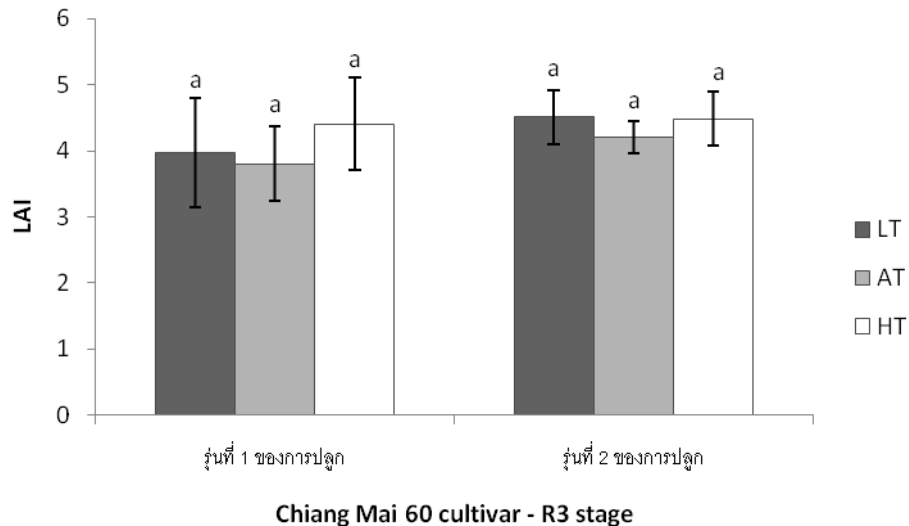
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

2.2 ดัชนีพื้นที่ใบ(Leave Area Index) จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R3

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R3 ซึ่งเป็นระยะเริ่มติดฝัก (beginning pod) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 13 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ดัชนีพื้นที่ใบ(leave Area Index) โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 3.96 ± 0.82 3.80 ± 0.56 และ 4.40 ± 0.70 ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของดัชนีพื้นที่ใบ(leave Area Index)อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ดัชนีพื้นที่ใบ(leave Area Index) โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 4.51 ± 0.40 4.20 ± 0.24 และ 4.49 ± 0.40 เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของดัชนีพื้นที่ใบ(leave Area Index)อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 13 ดัชนีพื้นที่ใบ(Leave Area Index)เฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R3 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่อ อุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

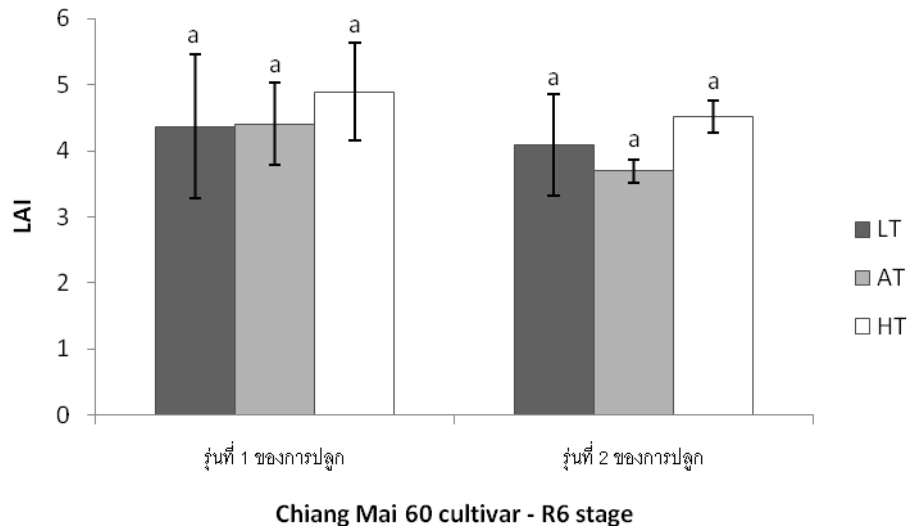
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

2.3 ดัชนีพื้นที่ใบ(Leave Area Index) จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และ รุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R6

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R6 ซึ่งเป็นระยะเมล็ดพัฒนาเต็มที่ (full seed) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 14 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ดัชนีพื้นที่ใบ(Leave Area Index) โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 4.37 ± 1.08 4.40 ± 0.61 และ 4.88 ± 0.73 ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของดัชนีพื้นที่ใบ(Leave Area Index)อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ดัชนีพื้นที่ใบ(Leave Area Index) โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 4.08 ± 0.77 3.69 ± 0.17 และ 4.51 ± 0.24 เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของดัชนีพื้นที่ใบ(Leave Area Index)อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 14 ดัชนีพื้นที่ใบ(Leave Area Index)เฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R6 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

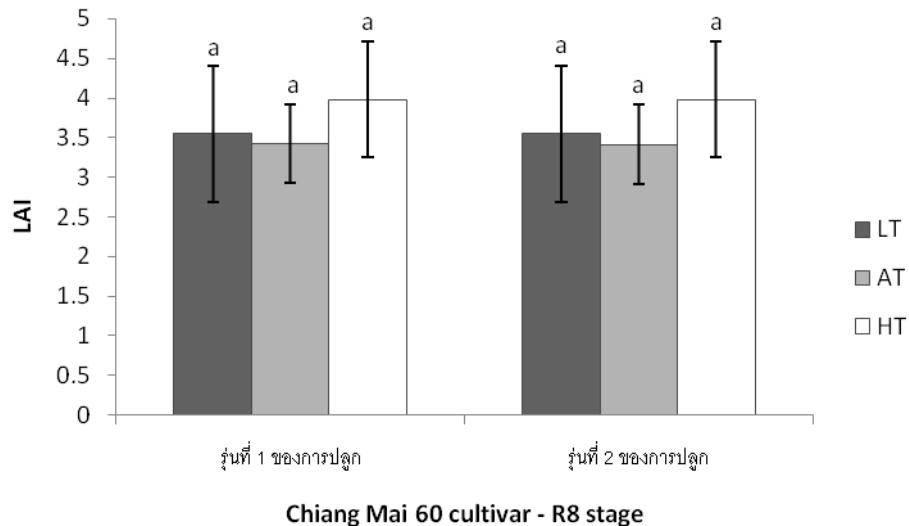
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

2.4 ดัชนีพื้นที่ใบ(Leave Area Index) จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และ รุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R8

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R8 ซึ่งเป็นระยะสุกแก่เต็มที่ (full maturity) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 15 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ดัชนีพื้นที่ใบ(Leave Area Index) โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 3.54 ± 0.85 3.42 ± 0.52 และ 3.98 ± 0.73 ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของดัชนีพื้นที่ใบ(Leave Area Index)อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ดัชนีพื้นที่ใบ(Leave Area Index) โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 3.54 ± 0.85 3.41 ± 0.52 และ 3.98 ± 0.73 เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของดัชนีพื้นที่ใบ(Leave Area Index)อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 15 ดัชนีพื้นที่ใบ(Leave Area Index)เฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่อ อุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

จากการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 โดยพิจารณาจาก ดัชนีพื้นที่ใบ(Leave Area Index) ที่มีผลกระทบต่อระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกัน 3 ระดับในช่วง ฤดูกาลปลูกในการทดลองรุ่นที่ 1 ของการปลูกและ รุ่นที่ 2 ของการปลูก พบว่าระยะ R1 รุ่นที่ 1 ของการปลูกในชุดการทดลองที่ควบคุมให้สูงกว่าระดับอุณหภูมิธรรมชาติภายนอกตู้ ทดลองระหว่างการวิจัย(HT)มีอัตราการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อ เปรียบเทียบกับชุดทดลองที่ควบคุมให้ต่ำกว่าระดับอุณหภูมิธรรมชาติภายนอกตู้ ทดลองระหว่างการวิจัย(LT)ในส่วนรุ่นที่ 2 ของการปลูกนั้นไม่พบความแตกต่างของดัชนี พื้นที่ใบ(Leave Area Index) อย่างมีนัยสำคัญในแต่ละระยะของการเจริญเติบโตระหว่าง 3 ชุดการ ทดลองแต่อย่างใด

7.3 ปัจจัยชี้วัดผลกระทบจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีต่อปริมาณรงควัตถุในใบของ ถั่วเหลือง

โดยการศึกษาจากปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และแคโรทีนอยด์ ของถั่วเหลือง พันธุ์เชียงใหม่ 60 ที่มีการตอบสนองต่อระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกัน 3 ระดับในช่วงฤดูกาลปลูก ที่ระยะ V3, R1, R3, R6 และ R8 ซึ่งเป็นช่วงอายุที่ 26, 36, 47, 75 และ 89 วัน ตามลำดับ

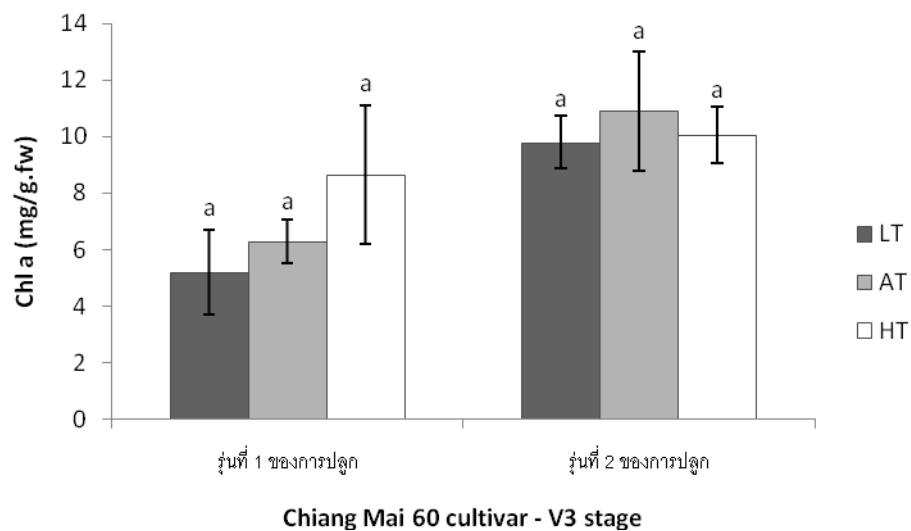
1. คลอโรฟิลล์ เอ

1.1 คลอโรฟิลล์ เอ จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ V3

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ V3 ซึ่งเป็นระยะข้อที่ 3 (third node) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 16 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 5.18 ± 1.49 6.29 ± 0.75 และ 8.65 ± 2.45 mg/g.fw ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 9.79 ± 0.92 10.89 ± 2.12 และ 10.06 ± 1.00 mg/g.fw ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 16 คลอโรฟิลล์ เอ (mg/g.fw) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ V3

ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

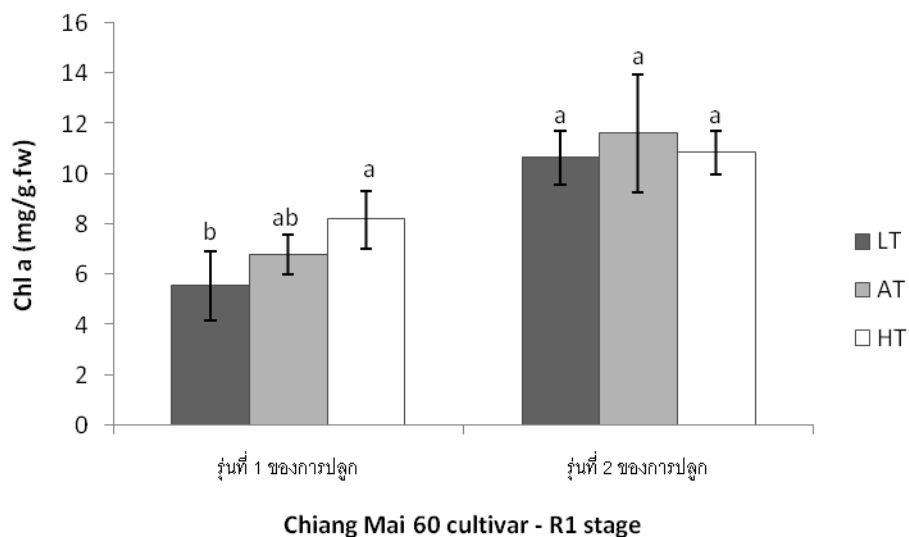
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

1.2 คลอโรฟิลล์ เอ จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R1

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R1 ซึ่งเป็นระยะเริ่มออกดอก(beginning bloom) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 17 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 5.55 ± 1.37 6.78 ± 0.79 และ 8.18 ± 1.16 mg/g.fw ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติพบความแตกต่างของปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ระหว่างชุดทดลอง HT และ LT โดยพบระดับคลอโรฟิลล์เอเพิ่มขึ้นในชุดทดลอง HT เท่ากับ 47.39 %

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 10.65 ± 1.06 11.61 ± 2.35 และ 10.84 ± 0.87 mg/g.fw เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 17 คลอโรฟิลล์ เอ (mg/g.fw) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R1 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

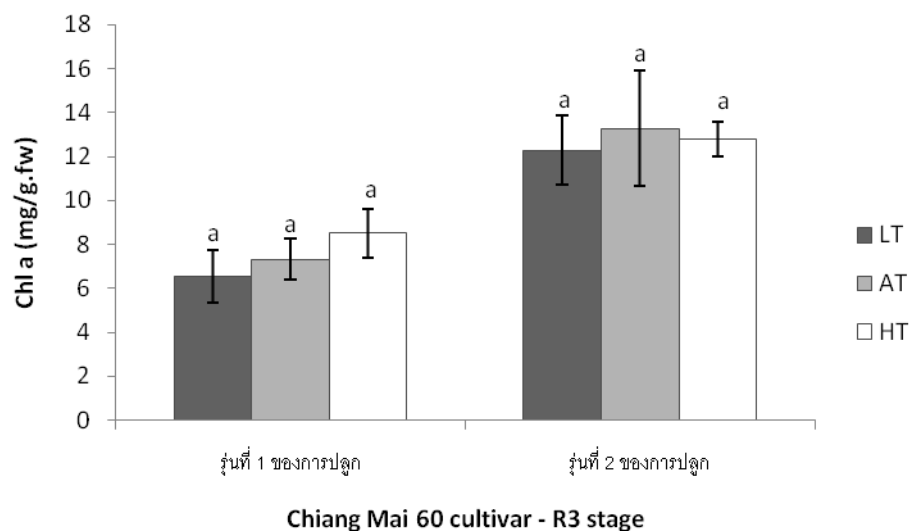
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

1.3 คลอโรฟิลล์ เอ จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R3

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R3 ซึ่งเป็นระยะเริ่มติดฝัก (beginning pod) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 18 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 6.53 ± 1.18 7.31 ± 0.92 และ 8.50 ± 1.09 mg/g.fw ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 12.27 ± 1.58 13.27 ± 2.62 และ 12.79 ± 0.78 mg/g.fw เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 18 คลอโรฟิลล์ เอ (mg/g.fw) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R3 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

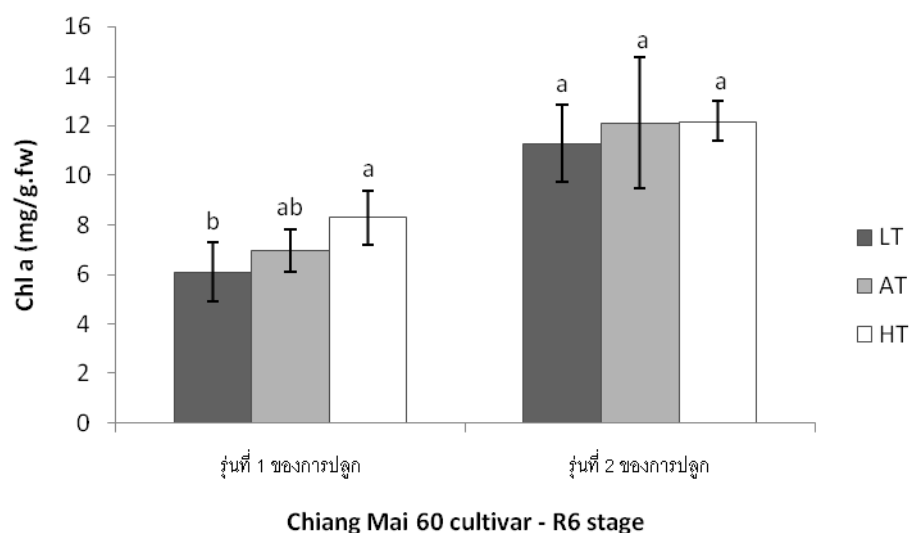
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

1.4 คลอโรฟิลล์ เอ จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R6

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R6 ซึ่งเป็นระยะเมล็ดพัฒนาเต็มที่ (full seed) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 19 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 6.08 ± 1.19 6.96 ± 0.85 และ 8.29 ± 1.08 mg/g.fw ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติพบความแตกต่างของปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยวิเคราะห์ระหว่าง ชุดทดลอง HT และ LT โดยพบระดับคลอโรฟิลล์เอ เพิ่มขึ้นในชุดทดลอง HT เท่ากับ 36.35 %

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ความสูงโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 11.30 ± 1.56 12.11 ± 2.63 และ 12.17 ± 0.80 mg/g.fw เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 19 คลอโรฟิลล์ เอ (mg/g.fw) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R6 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

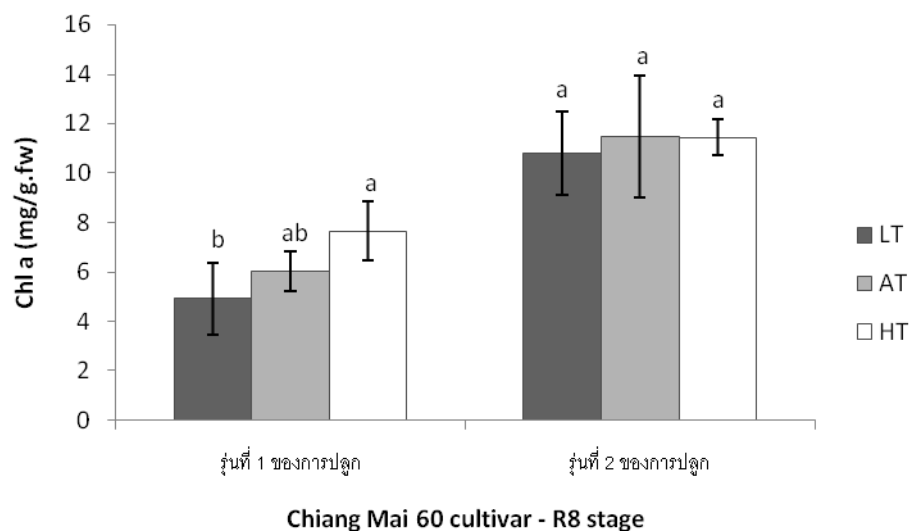
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

1.5 คลอโรฟิลล์ เอ จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R8

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R8 ซึ่งเป็นระยะสุกแก่เต็มที่ (full maturity) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 20 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 4.92 ± 1.44 6.03 ± 0.79 และ 7.64 ± 1.19 mg/g.fw ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติพบความแตกต่างของปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยวิเคราะห์ระหว่าง ชุดทดลอง HT และ LT โดยพบระดับคลอโรฟิลล์เอ เพิ่มขึ้นในชุดทดลอง HT เท่ากับ 55.28 % ในระยะการเจริญช่วงเก็บเกี่ยว ซึ่งนับว่าเป็นระยะที่ทำให้ปริมาณคลอโรฟิลล์เพิ่มขึ้นสูงสุด

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 10.79 ± 1.66 11.47 ± 2.45 และ 11.44 ± 0.71 mg/g.fw เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 20 คลอโรฟิลล์ เอ (mg/g.fw) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

2. คลอโรฟิลล์ บี

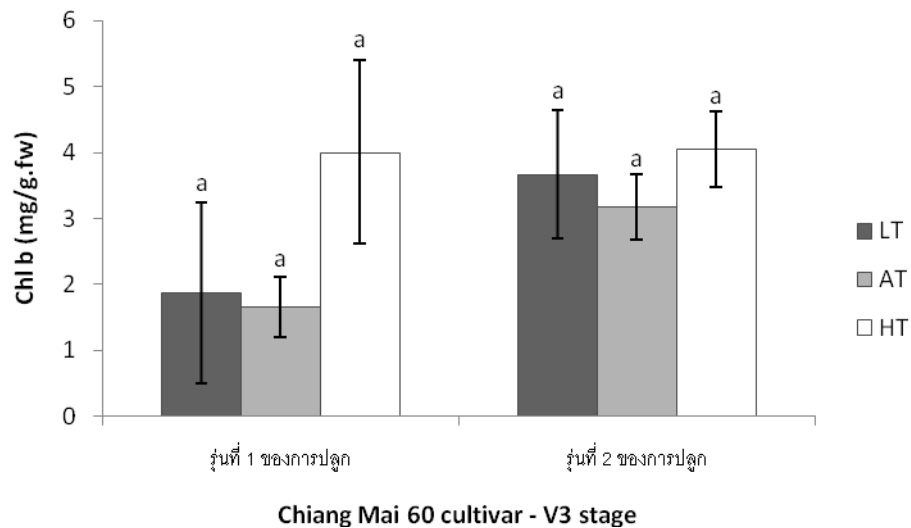
2.1 คลอโรฟิลล์ บี จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ V3

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ V3 ซึ่งเป็นระยะข้อที่ 3 (third node) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 21 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 1.86 ± 1.37 1.65 ± 0.46 และ 4.00 ± 1.39 mg/g.fw ในชุดการทดลอง LT AT และ HT

ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณคลอโรฟิลล์ บี อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 3.66 ± 0.97 3.17 ± 0.49 และ 4.05 ± 0.57 mg/g.fw ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณคลอโรฟิลล์ บี อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 21 คลอโรฟิลล์ บี (mg/g.fw) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ V3 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

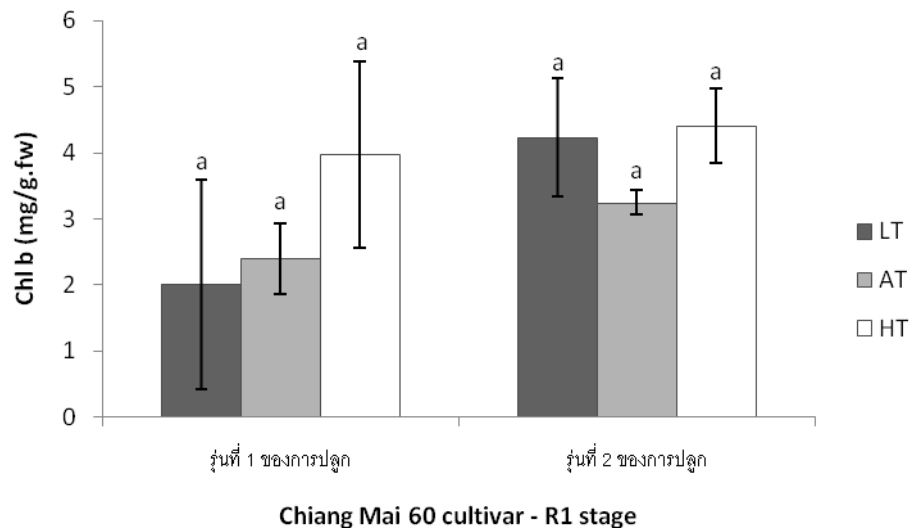
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

2.2 คลอโรฟิลล์ บี จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R1

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R1 ซึ่งเป็นระยะเริ่มออกดอก(beginning bloom) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 22 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 2.00 ± 1.58 2.40 ± 0.53 และ 3.97 ± 1.41 mg/g.fw ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณคลอโรฟิลล์ บี อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 4.23 ± 0.89 3.24 ± 0.18 และ 4.40 ± 0.57 mg/g.fw เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณคลอโรฟิลล์ บี อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 22 คลอโรฟิลล์ บี (mg/g.fw) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R1 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

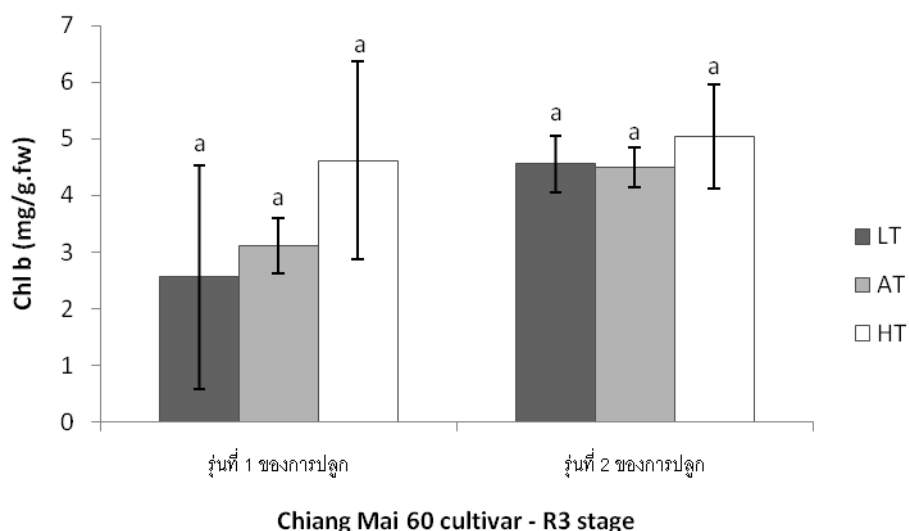
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

2.3 คลอโรฟิลล์ บี จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R3

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R3 ซึ่งเป็นระยะเริ่มติดฝัก (beginning pod) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 23 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 2.56 ± 1.98 3.10 ± 0.49 และ 4.62 ± 1.73 mg/g.fw ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณคลอโรฟิลล์ บี อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 4.55 ± 0.50 4.50 ± 0.34 และ 5.04 ± 0.91 mg/g.fw เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณคลอโรฟิลล์ บี อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 23 คลอโรฟิลล์ บี (mg/g.fw) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R3 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

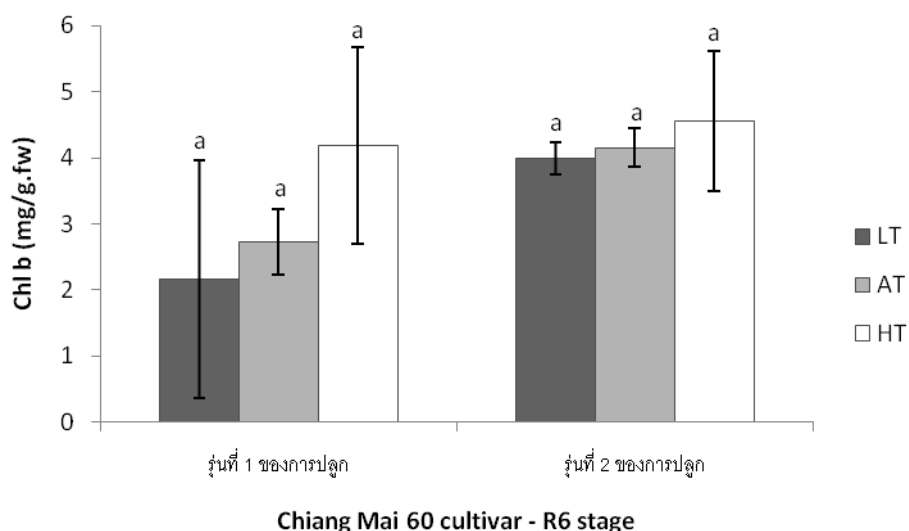
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

2.4 คลอโรฟิลล์ บี จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R6

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R6 ซึ่งเป็นระยะเมล็ดพัฒนาเต็มที่ (full seed) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 24 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 2.15 ± 1.80 2.71 ± 0.49 และ 4.17 ± 1.48 mg/g.fw ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณคลอโรฟิลล์ บี อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 3.99 ± 0.24 4.15 ± 0.29 และ 4.55 ± 1.05 mg/g.fw เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณคลอโรฟิลล์ บี อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 24 คลอโรฟิลล์ บี (mg/g.fw) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R6 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

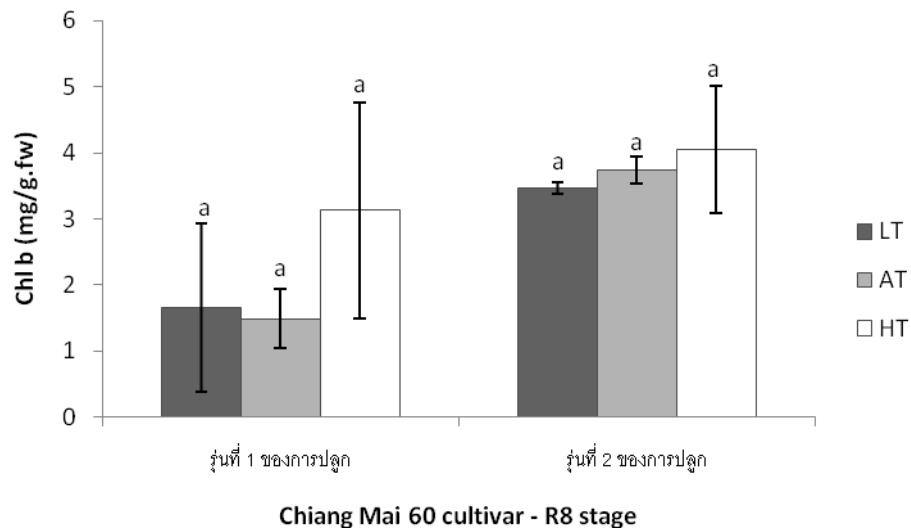
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

2.5 คลอโรฟิลล์ บี จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R8

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R8 ซึ่งเป็นระยะสุกแก่เต็มที่ (full maturity) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 25 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 1.65 ± 1.26 1.48 ± 0.45 และ 3.12 ± 1.62 mg/g.fw ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณคลอโรฟิลล์ บี อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ปริมาณคลอโรฟิลล์ บี โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 3.46 ± 0.08 3.72 ± 0.20 และ 4.05 ± 0.96 mg/g.fw เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณคลอโรฟิลล์ บี อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 25 คลอโรฟิลล์ บี (mg/g.fw) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

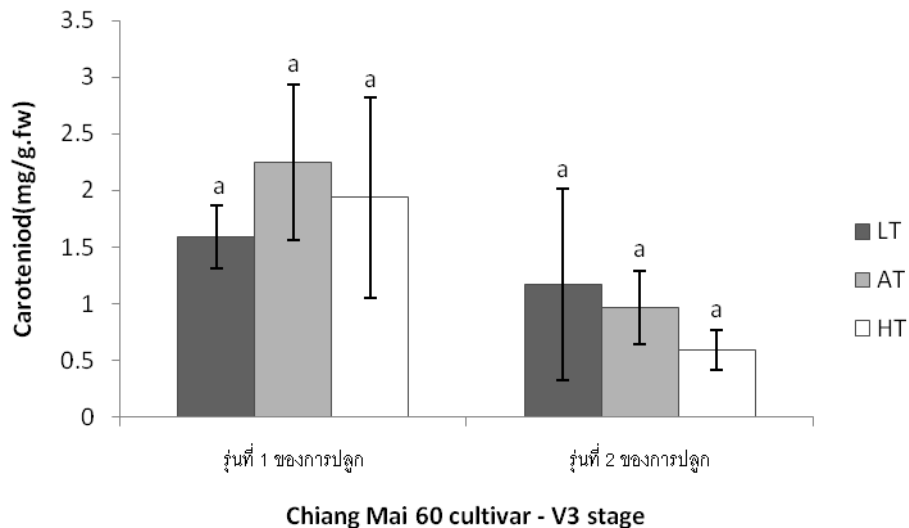
3. แคโรทีนอยด์

3.1 แคโรทีนอยด์ จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ V3

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ V3 ซึ่งเป็นระยะข้อที่ 3 (third node) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 26 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ปริมาณแคโรทีนอยด์โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 1.59 ± 0.27 2.24 ± 0.68 และ 1.94 ± 0.88 mg/g.fw ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณแคโรทีนอยด์ อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ปริมาณแคโรทีนอยด์โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 1.17 ± 0.84 0.96 ± 0.32 และ 0.59 ± 0.17 mg/g.fw ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณแคโรทีนอยด์ อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 26 แคโรทีนอยด์ (mg/g.fw) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ V3 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

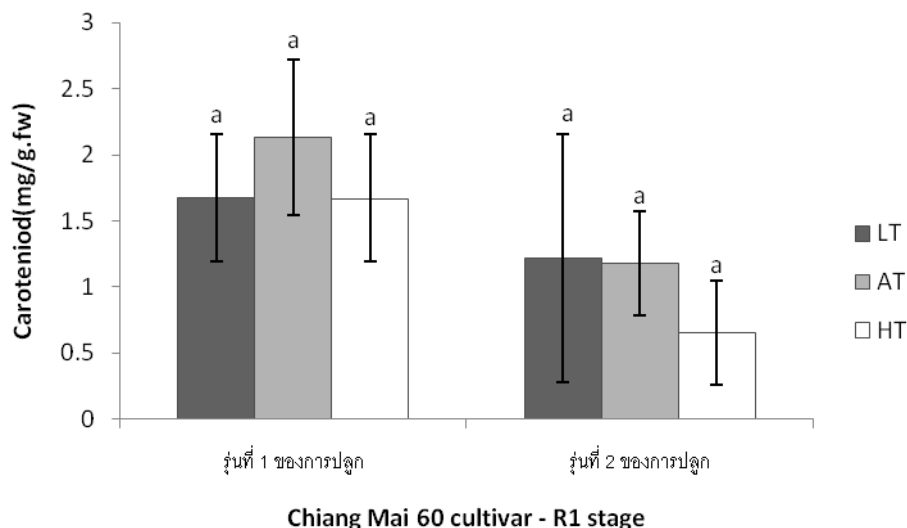
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

3.2 แคโรทีนอยด์ จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R1

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R1 ซึ่งเป็นระยะเริ่มออกดอก(beginning bloom) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 27 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ปริมาณแคโรทีนอยด์โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 1.67 ± 0.48 2.13 ± 0.58 และ 1.67 ± 0.48 mg/g.fw ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณแคโรทีนอยด์ อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ปริมาณแคโรทีนอยด์โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 1.21 ± 0.93 1.18 ± 0.39 และ 0.65 ± 0.39 mg/g.fw เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณแคโรทีนอยด์ อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 27 แคโรทีนอยด์ (mg/g.fw) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R1 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

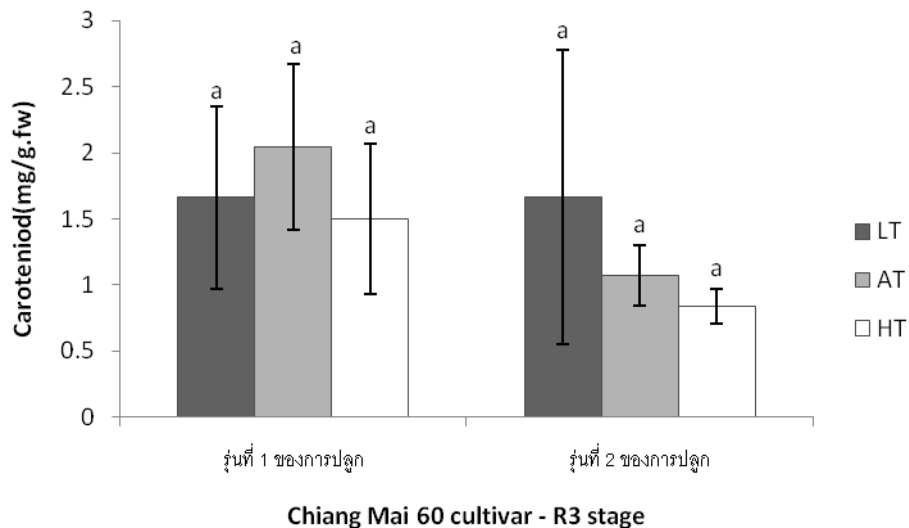
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

3.3 แคโรทีนอยด์ จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R3

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R3 ซึ่งเป็นระยะเริ่มติดฝัก (beginning pod) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 28 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ปริมาณแคโรทีนอยด์โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 1.66 ± 0.69 2.04 ± 0.62 และ 1.49 ± 0.56 mg/g.fw ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณแคโรทีนอยด์ อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ปริมาณแคโรทีนอยด์โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 1.66 ± 1.11 1.07 ± 0.22 และ 0.83 ± 0.12 mg/g.fw เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณแคโรทีนอยด์ อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 28 แคโรทีนอยด์ (mg/g.fw) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R3 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

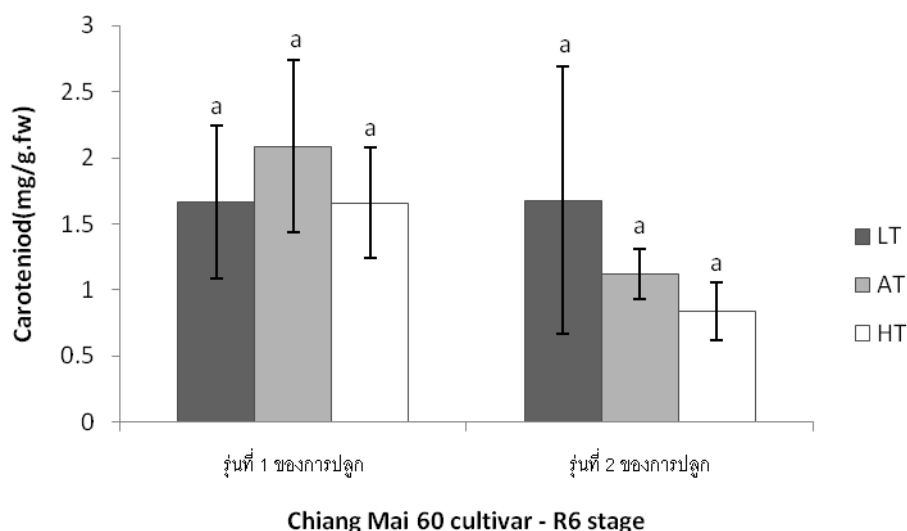
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

3.4 แคโรทีนอยด์ จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R6

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R6 ซึ่งเป็นระยะเมล็ดพัฒนาเต็มที่ (full seed) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 29 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ปริมาณแคโรทีนอยด์โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 1.66 ± 0.58 2.08 ± 0.64 และ 1.65 ± 0.42 mg/g.fw ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณแคโรทีนอยด์ อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ปริมาณแคโรทีนอยด์โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 1.67 ± 1.01 1.11 ± 0.18 และ 0.84 ± 0.21 mg/g.fw เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณแคโรทีนอยด์ อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 29 แคโรทีนอยด์ (mg/g.fw) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R6 ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

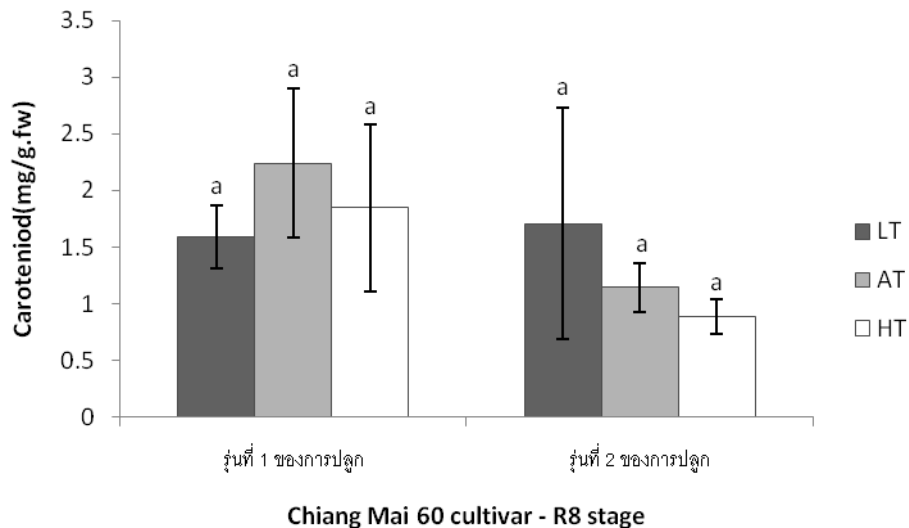
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

3.5 แคโรทีนอยด์ จากการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R8

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 (1st Generation) และรุ่นที่ 2 (2nd Generation) ในระยะ R8 ซึ่งเป็นระยะสุกแก่เต็มที่ (full maturity) มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 30 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ปริมาณแคโรทีนอยด์โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 1.58 ± 0.28 2.24 ± 0.65 และ 1.84 ± 0.73 mg/g.fw ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณแคโรทีนอยด์ อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ปริมาณแคโรทีนอยด์โดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 1.70 ± 1.01 1.14 ± 0.21 และ 0.88 ± 0.15 mg/g.fw เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณแคโรทีนอยด์ อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 30 แคโรทีนอยด์ (mg/g.fw) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 ในการปลูกวันที่ 1 และ วันที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

จากการศึกษาวัดผลกระทบจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีต่อปริมาณรงควัตถุในใบของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในการทดลองวันที่ 1 ของการปลูก พบการเพิ่มระดับของรงควัตถุอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เฉพาะในคลอโรฟิลล์เอเท่านั้น โดยไม่พบในรงควัตถุชนิดคลอโรฟิลล์ บี และแคโรทีนอยด์แต่อย่างใด ซึ่งพบว่ามีค่าแตกต่างดังกล่าว เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดการทดลอง LT และ HT เท่านั้น และพบที่ระยะ R, R6 และ R8

ส่วนผลการศึกษาในรุ่นที่ 2 ของการปลูกนั้นไม่พบความแตกต่างของปริมาณรงควัตถุทั้ง 3 ชนิดในใบของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 อย่างมีนัยสำคัญในแต่ละระยะของการเจริญเติบโตระหว่าง 3 ชุดการทดลองแต่อย่างใด

7.4 ปัจจัยชี้วัดผลกระทบจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีต่อองค์ประกอบผลผลิตของถั่วเหลือง

ในการศึกษาที่ระยะเก็บเกี่ยวได้กำหนดขอบเขตในการศึกษาด้านผลผลิตของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ไว้ 3 ปัจจัย คือ จำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก และ น้ำหนัก 100 เมล็ด ในระยะ R8 (full maturity) โดยเก็บเกี่ยวในวันที่ 89 ของการปลูก ซึ่งเป็นระยะที่ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ได้รับอุณหภูมิที่แตกต่างกันในช่วงฤดูกาลปลูก ผลการศึกษามีรายละเอียดดังนี้

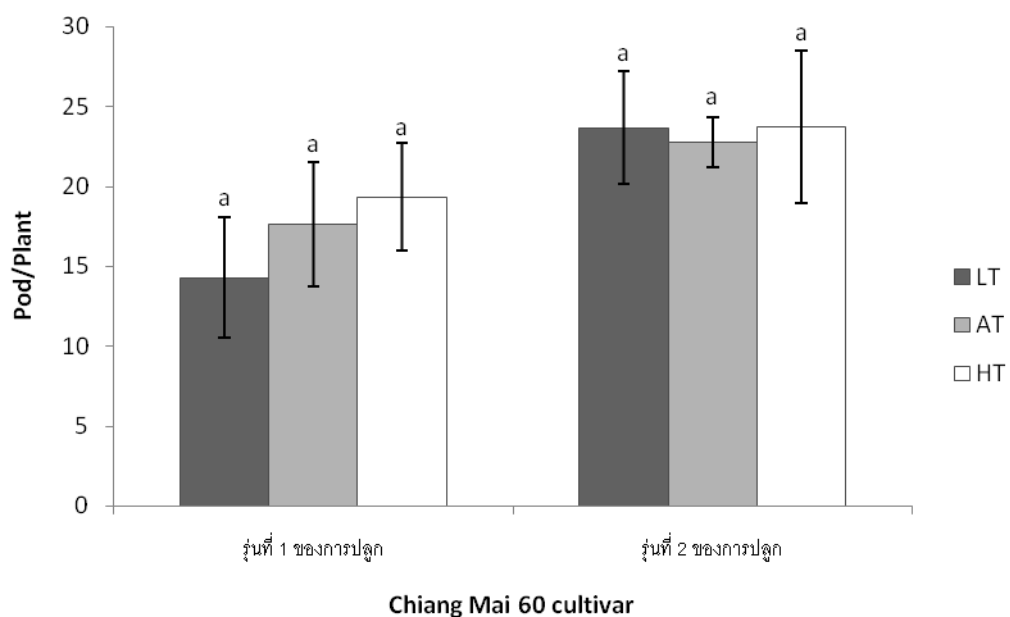
1. จำนวนฝักต่อต้น (Pod/Plant)

จากการศึกษาปัจจัยด้านองค์ประกอบผลผลิต โดยพิจารณาจากจำนวนฝักต่อต้น (Pod/Plant) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 (full maturity) ที่มีการตอบสนองต่อ

อุณหภูมิที่แตกต่างกันในช่วงฤดูกาลปลูก มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 31 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 จำนวนฝักต่อต้นโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 14.27 ± 3.75 17.63 ± 3.88 และ 19.33 ± 3.35 ฝัก/ต้น ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของจำนวนฝักต่อต้น อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

พิจารณาผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 2 ได้ผลการศึกษาสอดคล้องกับการปลูกรุ่นที่ 1 คือ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของจำนวนฝักต่อต้น อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด โดยพบว่า จำนวนฝักต่อต้นโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 23.67 ± 3.53 22.77 ± 1.55 และ 23.73 ± 4.78 ฝัก ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ



ภาพที่ 31 จำนวนฝักต่อต้น ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8
ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับ
ที่ต่างกัน

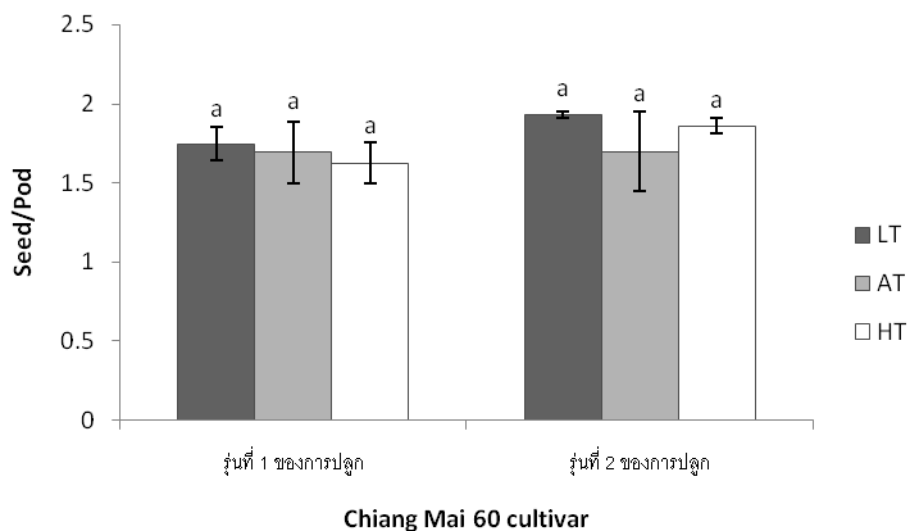
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

2. จำนวนเมล็ดต่อฝัก (Seed/Pod)

จากการศึกษาปัจจัยด้านองค์ประกอบผลผลิต โดยพิจารณาจากจำนวนเมล็ดต่อฝัก (Seed/Pod) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 (full maturity) ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิที่ต่างกันในช่วงฤดูกาลปลูก มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 32 และมีรายละเอียดดังนี้

ผลการศึกษาจากการปลูกรุ่นที่ 1 จำนวนเมล็ดต่อฝักโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 1.74 ± 0.10 1.69 ± 0.19 และ 1.62 ± 0.13 เมล็ด ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของจำนวนเมล็ดต่อฝัก อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในการปลูกรุ่นที่ 2 จำนวนเมล็ดต่อฝักโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 1.93 ± 0.01 1.69 ± 0.25 และ 1.85 ± 0.04 เมล็ด เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของจำนวนเมล็ดต่อฝัก อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 32 จำนวนเมล็ดต่อฝัก ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8
ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับ
ที่ต่างกัน

*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

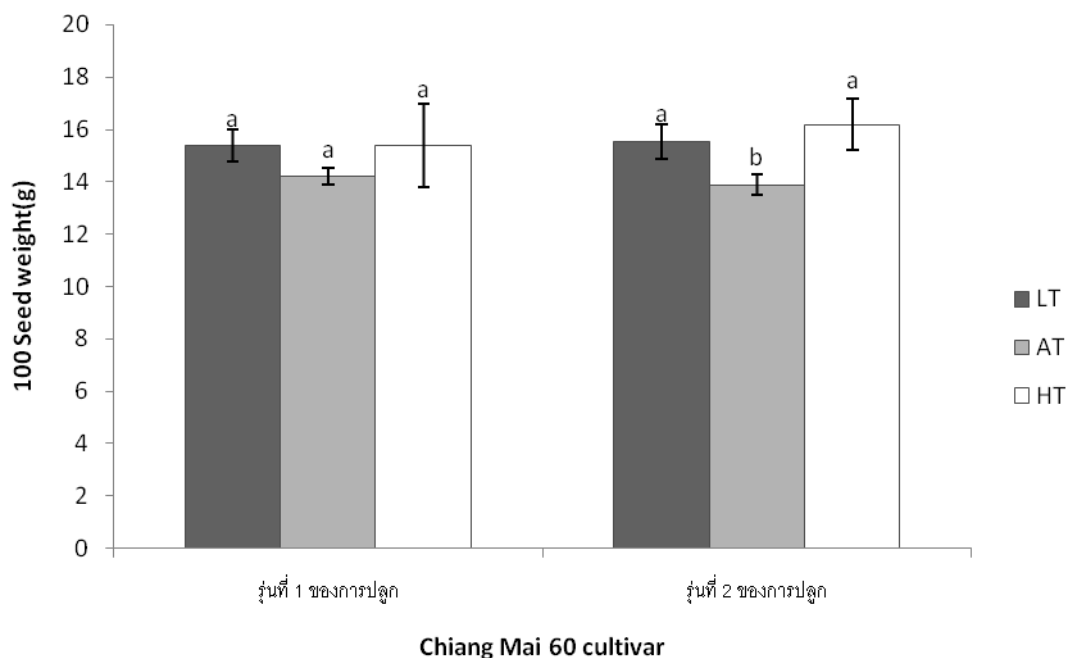
3. น้ำหนัก 100 เมล็ด

จากการศึกษาปัจจัยด้านองค์ประกอบผลผลิต โดยพิจารณาจากน้ำหนัก 100 เมล็ดของ ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 (full maturity) ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิที่ต่างกันในช่วงฤดูกาลปลูก มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 33 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 น้ำหนัก 100 เมล็ดโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 15.38 ± 0.62 14.20 ± 0.33 และ 15.39 ± 1.57 กรัม ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ

เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของน้ำหนัก 100 เมล็ด อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในการปลูกรุ่นที่ 2 น้ำหนัก 100 เมล็ดโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 15.54 ± 0.64 13.89 ± 0.38 และ 16.49 ± 0.97 กรัม เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติพบความแตกต่างของน้ำหนัก 100 เมล็ด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ระหว่างชุดทดลองที่ควบคุมให้ใกล้เคียงกับระดับอุณหภูมิภายนอกตู้ทดลองระหว่างทำวิจัย(AT) เมื่อเปรียบเทียบกับชุดการทดลองที่ควบคุมให้สูงกว่าระดับอุณหภูมิธรรมชาติภายนอกตู้ทดลองระหว่างการวิจัย(HT) พบว่าน้ำหนัก 100 เมล็ดเพิ่มขึ้น 18.72 ในชุดทดลอง HT



ภาพที่ 33 น้ำหนัก 100 เมล็ด ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8
ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับ
ที่ต่างกัน

*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P < 0.05$

จากการศึกษาผลกระทบจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีต่อผลผลิตของเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 พบว่าจำนวนฝักต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อฝัก ทั้งรุ่นที่ 1 ของการปลูก และ รุ่นที่ 2 ของการปลูก นั้นไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่อย่างใดระหว่าง 3 ชุดการทดลอง แต่ในปัจจัยน้ำหนัก 100 เมล็ด ในรุ่นที่ 2 ของการปลูกพบว่ามีตอบสนองในเชิงลบอย่าง

มีนัยสำคัญทางสถิติ($P \leq 0.05$) ที่ชุดทดลองที่ควบคุมให้ใกล้เคียงกับระดับอุณหภูมิภายนอกตู้ทดลองระหว่างทำวิจัย(AT)

7.5 ปัจจัยชี้วัดผลกระทบจากอุณหภูมิในระดับที่ต่างกันที่มีต่อคุณภาพสารอาหารของผลผลิตในเมล็ดถั่วเหลือง

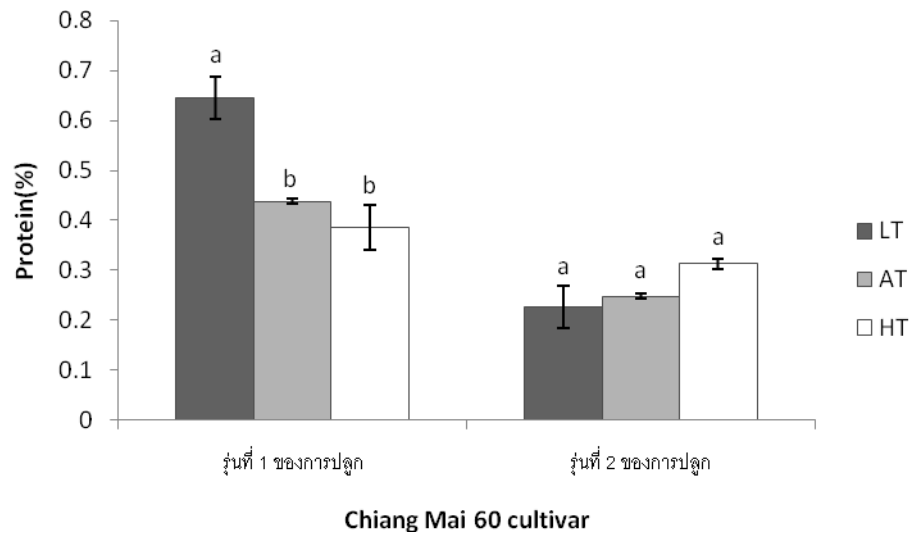
จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เพื่อวิเคราะห์คุณภาพสารอาหารนั้น โดยพิจารณาปัจจัยด้านปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ปริมาณเถ้า ปริมาณเยื่อใย และ ความชื้น ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิที่แตกต่างกันในช่วงฤดูกาลปลูก มีผลการศึกษา และมีรายละเอียดดังนี้

1. ปริมาณโปรตีน

จากการศึกษาปัจจัยด้านองค์ประกอบทางเคมี โดยพิจารณาจากปริมาณของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 (full maturity) ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิที่แตกต่างกันในช่วงฤดูกาลปลูก มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 34 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ปริมาณโปรตีนโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 0.64 ± 0.04 0.43 ± 0.004 และ 0.38 ± 0.04 เปอร์เซ็นต์ ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติพบความแตกต่างของปริมาณโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P \leq 0.05$) พบว่ามีความแตกต่างกันระหว่างชุดทดลอง LT และ HT โดยพบว่าเปอร์เซ็นต์ของโปรตีนในถั่วเหลืองในชุดการทดลอง HT ลดลงมากถึงระดับ 68.42 %

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ปริมาณโปรตีนโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 0.22 ± 0.04 0.24 ± 0.005 และ 0.31 ± 0.01 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณโปรตีน อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 34 ปริมาณโปรตีน(%) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8
ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับ
ที่ต่างกัน

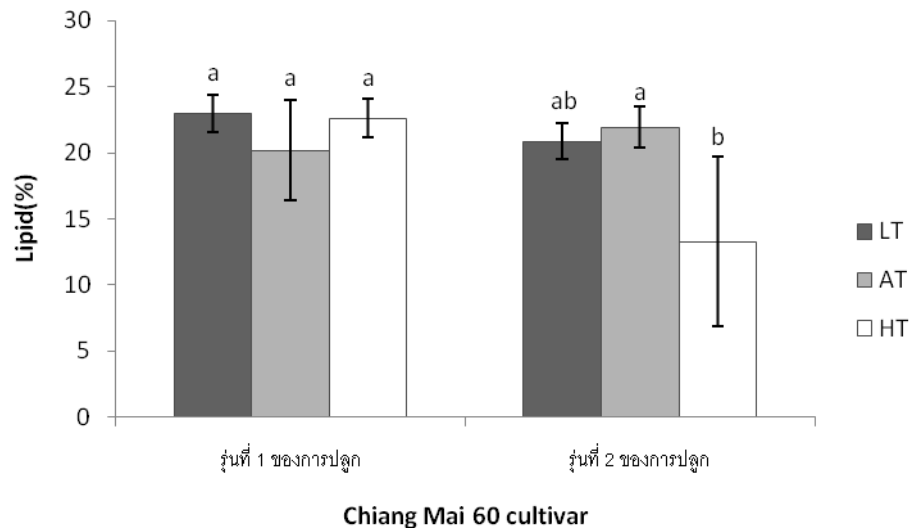
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

2. ปริมาณไขมัน

จากการศึกษาปัจจัยด้านองค์ประกอบทางเคมี โดยพิจารณาจากปริมาณของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 (full maturity) ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิที่แตกต่างกันในช่วงฤดูกาลปลูก มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 35 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ปริมาณไขมันโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 22.97 ± 1.42 20.21 ± 3.76 และ 22.6 ± 1.45 เปอร์เซ็นต์ ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณไขมัน อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ปริมาณไขมันโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 20.89 ± 1.37 21.91 ± 1.54 และ 13.29 ± 6.44 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติพบความแตกต่างของปริมาณไขมันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ระหว่างชุดการทดลองที่ควบคุมให้สูงกว่าระดับอุณหภูมิธรรมชาติภายนอกตู้ทดลองระหว่างการวิจัย (HT) กับชุดทดลองที่ควบคุมให้ใกล้เคียงกับระดับอุณหภูมิภายนอกตู้ทดลองระหว่างทำวิจัย (AT) ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์ของการลดลงเท่ากับ 64.86



ภาพที่ 35 ปริมาณไขมัน(%) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8
ในการปลูกวันที่ 1 และ วันที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับ
ที่ต่างกัน

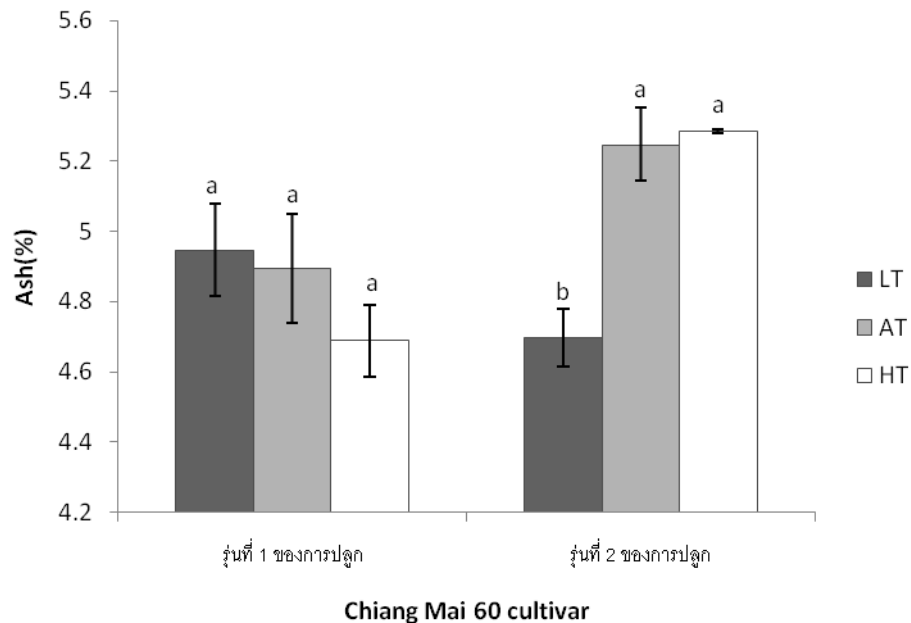
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

3. ปริมาณเถ้า

จากการศึกษาปัจจัยด้านองค์ประกอบทางเคมี โดยพิจารณาจากปริมาณของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 (full maturity) ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิที่แตกต่างกันในช่วงฤดูกาลปลูก มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 36 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกวันที่ 1 ปริมาณเถ้าโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 4.94 ± 0.13 4.89 ± 0.15 และ 4.68 ± 0.10 เปอร์เซ็นต์ ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณเถ้า อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในการปลูกวันที่ 2 ปริมาณเถ้าโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 4.69 ± 0.08 5.24 ± 0.10 และ 5.28 ± 0.005 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติพบความแตกต่างของปริมาณเถ้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดทดลอง LT และ HT พบการเพิ่มขึ้นของเถ้าที่ชุดทดลอง HT เท่ากับ 23.67 %



ภาพที่ 36 ปริมาณเถ้า(%) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8
ในการปลูกรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับ
ที่ต่างกัน

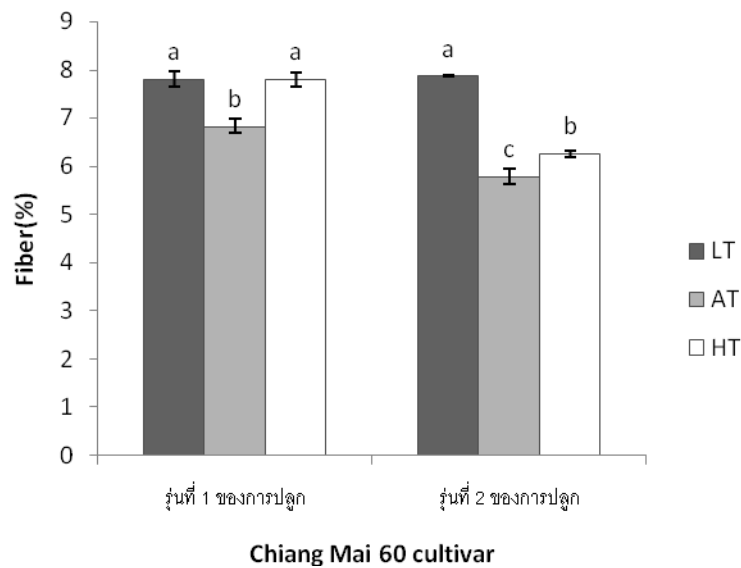
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

4. ปริมาณเยื่อใย

จากการศึกษาปัจจัยด้านองค์ประกอบทางเคมี โดยพิจารณาจากปริมาณของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 (full maturity) ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิที่แตกต่างกันในช่วงฤดูการปลูก ผลการศึกษาในปริมาณเยื่อใยพบว่าการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในชุดการทดลอง HT ทั้งในผลผลิตรุ่นที่ 1 และรุ่นที่ 2 ซึ่งแสดงในภาพที่ 37 และมีรายละเอียดดังนี้

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 ปริมาณเยื่อใยโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 7.80 ± 0.14 6.82 ± 0.14 และ 7.79 ± 0.10 เปอร์เซ็นต์ ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติพบความแตกต่างของปริมาณเยื่อใยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ระหว่างชุดทดลอง AT และ HT พบว่ามีระดับเยื่อใยเพิ่มขึ้นที่ชุดทดลอง HT เท่ากับ 14.22%

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 2 ปริมาณเยื่อใยโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 7.87 ± 0.01 5.78 ± 0.17 และ 6.26 ± 0.06 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติพบความแตกต่างของปริมาณเยื่อใยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ระหว่างชุดทดลอง AT และ HT เช่นเดียวกับผลการทดลองในชุดที่ 1 พบว่า พบว่ามีระดับเยื่อใยเพิ่มขึ้นที่ชุดทดลอง HT เท่ากับ 8.3 %



ภาพที่ 37 ปริมาณเยื่อใย(%) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 ในการปลูก
รุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

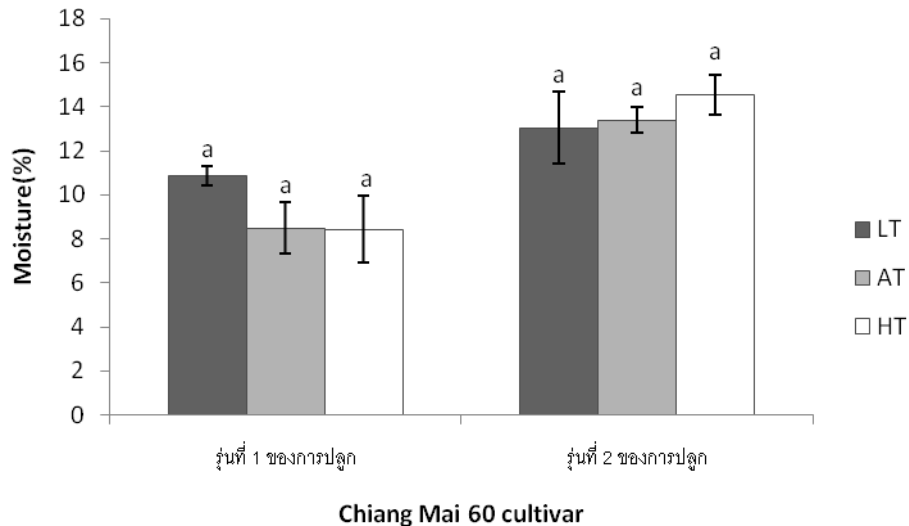
*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

5. ความชื้น

จากการศึกษาปัจจัยด้านองค์ประกอบทางเคมี โดยพิจารณาจากปริมาณของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 (full maturity) ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิที่ต่างกันในช่วงฤดูการปลูก มีผลการศึกษาดังภาพที่แสดงในภาพที่ 38 และมีรายละเอียดดังนี้

ในการปลูกรุ่นที่ 1 ปริมาณความชื้นโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 10.86 ± 0.43 8.50 ± 1.16 และ 8.41 ± 1.51 เปอร์เซ็นต์ ในชุดการทดลอง LT AT และ HT ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณความชื้น อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในการปลูกรุ่นที่ 2 ปริมาณความชื้นโดยเฉลี่ยของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 เท่ากับ 13.02 ± 1.63 13.40 ± 0.58 และ 14.55 ± 0.89 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์ทางด้านสถิติไม่พบความแตกต่างของปริมาณความชื้น อย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด



ภาพที่ 38 ปริมาณความชื้น(%) ของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ในระยะ R8 ในการปลูกครั้งที่ 1 และ ครั้งที่ 2 ที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิในระดับที่ต่างกัน

*ตัวอักษร a-c :ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ $P \leq 0.05$

7.6 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางพันธุกรรม

ในการศึกษาครั้งนี้ส่วนหนึ่งต้องการทราบผลการเปลี่ยนแปลงทางด้านพันธุกรรม เมื่อนำถั่วเหลืองที่ได้รับการผสมโอโซนไปเป็นพันธุ์ปลูกต่อเพื่อให้ได้รุ่นที่ 2 ว่าจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงด้านพันธุกรรมอย่างไร ดังนั้น ในการศึกษาเลือกใช้วิธีเอเอฟแอลพี (amplified fragment length polymorphism, AFLP) ซึ่งเป็นวิธีการที่พัฒนาขึ้นโดย Zebean และ Vos (1993) การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยวิธีการนี้เป็นการรวมเอาเทคนิคอาร์เอฟแอลพีและอาร์เอฟดี เข้าด้วยกัน ซึ่งมีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอที่ได้จากการตัดด้วยเอนไซม์โดยใช้เทคนิคพีซีอาร์ โดยการตัด 20 ดีเอ็นเอด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 2 ชนิด คือ เอนไซม์ที่มีตำแหน่งจดจำ 6 คูเบส (EcoRI) รวมกับเอนไซม์ที่มีตำแหน่งจดจำ 4 คูเบส (MseI) แล้วเชื่อมต่อ adapter เขที่ปลายของชิ้นดีเอ็นเอต่อจากตำแหน่งตัดจำเพาะของเอนไซม์ adapter เป็นดีเอ็นเอสายคู่สั้น ๆ ที่มีปลายเหนียว โดยปลายหนึ่งมีลำดับเบสที่สามารถเชื่อมกับดีเอ็นเอที่ถูกตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ การต่อ adapter เขที่ปลายทั้งสองข้างของชิ้นดีเอ็นเอเพื่อเป็นตำแหน่งที่จับของไพรเมอร์ในการทำพีซีอาร์ เพื่อเพิ่มปริมาณชิ้นดีเอ็นเอไพรเมอร์ที่จำเพาะกับ adapter นั้น ๆ คุณสมบัติที่สำคัญคือ สามารถตรวจสอบความแตกต่างได้สูง อีกทั้งเป็นได้ทั้ง codominant และ dominant marker

การทำพีซีอาร์มี 2 ขั้นตอนได้แก่ขั้นตอน preselective amplification โดยไพรเมอร์ที่ไซดานปลาย 5' มีลำดับเบสตรงกับส่วนของ adapter รวมกับส่วนของเบสที่ตำแหน่งตัด

จำเพาะของเอนไซม์ มีการเพิ่มเบสเพื่อคัดเลือกเขาที่ปลาย 3' 1 เบส เพื่อทำให้เกิดการเพิ่มปริมาณขึ้นดีเอ็นเอบางส่วนที่มีลำดับเบสที่ปลายทั้งสองข้างมีเบสคู่สมกับไพรเมอร์ เป็นการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอแบบใหม่มากขึ้น และช่วยให้เกิดการคัดเลือกเพิ่มปริมาณขึ้นดีเอ็นเอที่ถูกต้องการทำพีซีอาร์ขั้นตอนที่สองเรียกว่า selective amplification ไพรเมอร์ที่ใช่เป็นไพรเมอร์ที่เพิ่มเบส (selective nucleotide) 2-3 เบสที่ด้านปลาย 3' เพื่อคัดเลือกขึ้นดีเอ็นเอบางส่วนเท่านั้น การทำพีซีอาร์ครั้งที่สองได้ปรับอุณหภูมิในช่วง annealing ที่มีอุณหภูมิสูงในรอบแรก แล้วลดอุณหภูมิลงในรอบต่อ ๆ ไปเพื่อเลือกเพิ่มปริมาณเฉพาะดีเอ็นเอที่มีลำดับเบสคู่สมกับไพรเมอร์ ภาตต้องการเพิ่มเบสเพื่อคัดเลือกตั้งแต่ 3 เบสขึ้นไปต้องใช้วิธีการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ 2 ครั้ง โดยครั้งแรกใช้ไพรเมอร์ที่เพิ่มเบสเพื่อคัดเลือกตั้งแต่ 1-2 เบส และครั้งที่สองจึงใช้ไพรเมอร์ที่เพิ่มเบสคัดเลือกต่อจากไพรเมอร์ที่ใช่เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอในครั้งแรกอีก 1-2 เบส รวมเบสที่เพิ่มเพื่อการคัดเลือก 3-4 เบส ตามที่ต้องการขั้นตอนสุดท้ายนำดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้มาแยกขนาด โดยใช้วิธีการอิเล็กโตรโฟรีซิสบน denaturing polyacrylamide gel และตรวจสอบดีเอ็นเอจากการติดฉลากไพรเมอร์ด้วยสารกัมมันตรังสี แลวนำมาทำออโตเรดิโอกราฟ หรือติดฉลากไพรเมอร์ด้วยสารเรืองแสง (fluorescent dye) แล้วติดตามโดยเครื่องหาลำดับเบสแบบอัตโนมัติ (automate sequencer) หรือไฮบริดเซชันโดยใช้ไพรเมอร์ที่ติดฉลากด้วยสารปลดรังสีและทำ chemiluminescence หรือติดตามแถบดีเอ็นเอด้วยการย้อมเจลด้วยซิลเวอร์ไนเตรท แถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นเป็นแถบดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นจากการทำพีซีอาร์โดยใช้ไพรเมอร์คูหนึ่ง ๆ สามารถไขแบายความแตกต่างของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิด หรือแต่ละตัวอย่างได้ โดยพิจารณาจากขนาด และจำนวนขึ้นดีเอ็นเอที่แตกต่างกัน จำนวนขึ้นดีเอ็นเอที่เกิดขึ้นมีจำนวนมากขึ้นกับ ขนาดของจีโนม ความถี่ในการตัดของเอนไซม์ตัดจำเพาะ และจำนวนเบสที่เพิ่มขึ้นที่ปลาย 3' ของไพรเมอร์

จะสังเกตเห็นได้ชัดเจนว่าแนวโน้มของระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกันคือสูงกว่าระดับปกติในธรรมชาติ และต่ำกว่าระดับปกติในธรรมชาติ ที่ใช้ในการทดลองนั้นส่งผลให้เกิดความแตกต่างกันในระดับโมเลกุลของถั่วทั้ง 2 รุ่น โดยพิจารณาความสัมพันธ์ทางด้านพันธุกรรมจากภาพ Phylogenetic tree (ภาพที่ 38-39) และ ค่า Similarity Index (ตารางที่ 1-2) ดังรายละเอียด

ผลการศึกษาในการปลูกรุ่นที่ 1 จากการศึกษาผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในระหว่างการเพาะปลูก ต่อการเปลี่ยนแปลงในระดับโมเลกุลของถั่วเหลืองด้วยเทคนิคการทำ AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) โดยแบ่งสภาวะอุณหภูมิในช่วงการเพาะปลูกเป็นสามกลุ่มคือ

AT: สภาวะอุณหภูมิปกติ

LT: สภาวะอุณหภูมิต่ำ

HT: สภาวะอุณหภูมิสูง

จะสังเกตเห็นได้ชัดเจนว่าแนวโน้มของอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงไปในการทดลองนั้นส่งผลให้เกิดความแตกต่างกันในระดับโมเลกุลของถั่วเหลืองที่ใช้ในการทดลองโดยพิจารณาความสัมพันธ์ทางด้านพันธุกรรมจากภาพ Phylogenetic tree (ภาพ 39) และ ค่า Similarity Index (ตารางที่ 1) จะเห็นได้ว่าทุกตัวอย่างมีการกระจายตัวกันค่อนข้างเด่นชัดโดยสามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มหลักๆ ได้ดังนี้

ซึ่งค่อนข้างเห็นชัดเจนว่า กลุ่มการทดลอง AT ถูกแบ่งออกเป็นกลุ่มที่มีเอกลักษณ์แตกต่างจากกลุ่ม LT และ HT

ลักษณะทางพันธุกรรมจากผลการปลูกรุ่นที่ 1

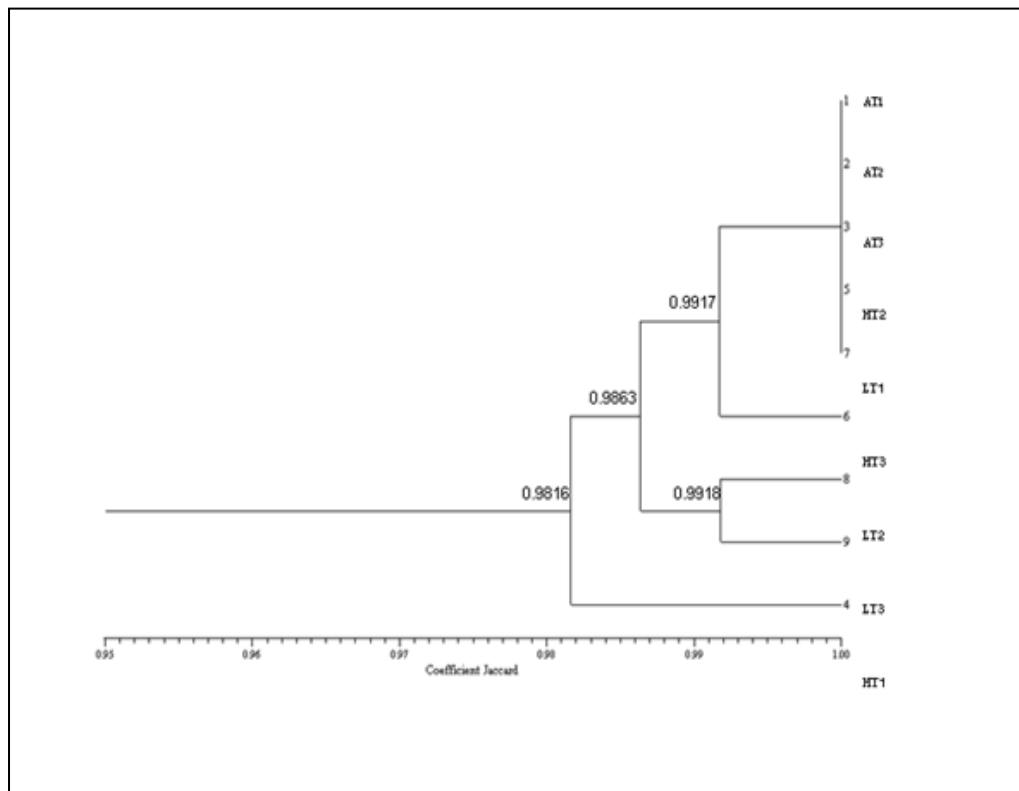
แบ่งผลการแยกได้เป็น 4 กลุ่มดังนี้

กลุ่มที่ 1 AT1, AT2, AT3, HT2, LT1

กลุ่มที่ 2 HT3

กลุ่มที่ 3 LT2, LT3

กลุ่มที่ 4 HT1



ภาพที่ 39 Phylogenetic Tree ของถั่วเหลือง รุ่นที่ 1

ตารางที่ 1 ค่า similarity ของถั่วเหลือง รุ่นที่ 1

Sample	AT1	AT2	AT3	HT1	HT2	HT3	LT1	LT2	LT3
AT1	1.0000								
AT2	1.0000	1.0000							
AT3	1.0000	1.0000	1.0000						
HT1	0.9836	0.9836	0.9836	1.0000					
HT2	1.0000	1.0000	1.0000	0.9836	1.0000				
HT3	0.9917	0.9917	0.9917	0.9756	0.9917	1.0000			
LT1	1.0000	1.0000	1.0000	0.9836	1.0000	0.9917	1.0000		
LT2	0.9836	0.9836	0.9836	0.9837	0.9836	0.9756	0.9836	1.0000	
LT3	0.9917	0.9917	0.9917	0.9756	0.9917	0.9836	0.9917	0.9918	1.0000

ผลการศึกษาจากการปลูกในรุ่นที่ 2 จากการใช้เทคนิค AFLP ในการศึกษาความแตกต่างที่ระดับพันธุกรรมของถั่วเหลืองต่อระดับอุณหภูมิที่ต่างกันพบว่าผลของอุณหภูมิสามารถแบ่งแยกได้เป็นสามกลุ่มหลักๆอย่างชัดเจนคือกลุ่มที่ใช้อุณหภูมิต่ำ อุณหภูมิปกติ และอุณหภูมิสูงแต่พบว่าการกระจายตัวบ้างของกลุ่มที่ใช้อุณหภูมิสูง ซึ่งในภาพที่ 40 และตารางที่ 2 แสดงให้เห็นอย่างชัดเจนว่ากลุ่มที่ถูกแยกออกมาด้วยลักษณะทางพันธุกรรมที่ชัดเจนมากคือ กลุ่มการทดลอง LT

ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจาก ระยะเวลาหรือตำแหน่งของการเพาะปลูก การสัมผัสกับความร้อนตามธรรมชาติ หรือร่มเงาจากสภาวะแวดล้อม และอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นจากสภาวะการทดลองเอง การเลือกช่วงอายุของใบ หรือระยะเวลาที่เก็บใบอ่อนไว้นานเกินไปเพื่อรอการวิเคราะห์ทางห้องปฏิบัติการ หรืออาจจะเป็นผลในการเลือกชนิดของไพรเมอร์ที่ใช้ แต่ในการทดลองนี้เป็นแนวทางที่สามารถบอกได้เบื้องต้นถึงผลของอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นจากระดับปกติทำให้เกิดความแตกต่างในระดับพันธุกรรมและมีแนวโน้มต่อเมล็ดพันธุ์ที่ปลูกในรอบต่อไป เมื่อนำเมล็ดพันธุ์จากรุ่นแรกมาปลูกในรุ่นที่สองแล้วศึกษาผลจะเห็นได้ว่าเมล็ดพันธุ์ที่มาจากตัวอย่างที่ใช้อุณหภูมิสูงยังคงพบการกระจายตัวอย่างชัดเจน แต่สำหรับที่ระดับอุณหภูมิปกติและอุณหภูมิต่ำพบมีการเปลี่ยนแปลงบ้างแต่ ยังคงอยู่ในกลุ่มเดิม

ลักษณะทางพันธุกรรมจากการปลูกรุ่นที่ 2

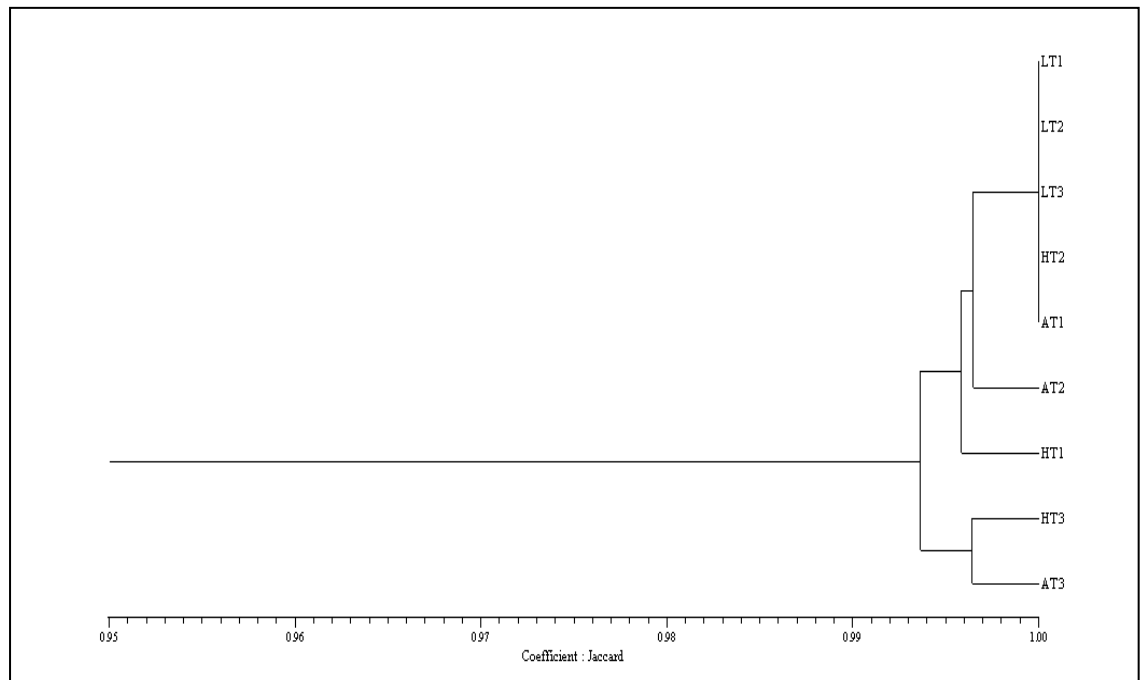
แบ่งผลการแยกได้เป็น 4 กลุ่มดังนี้

กลุ่มที่ 1 **LT1, LT2, LT3, HT2, AT1**

กลุ่มที่ 2 **AT2**

กลุ่มที่ 3 **HT1**

กลุ่มที่ 4 **AT3, HT3**



ภาพที่ 40 Phylogenetic Tree ของถั่วเหลือง รุ่นที่ 2

ตารางที่ 2 ค่า similarity ของถั่วเหลือง รุ่นที่ 2

sample	LT1	LT2	LT3	HT1	HT2	HT3	AT1	AT2	AT3
LT1	1.0000								
LT2	1.0000	1.0000							
LT3	1.0000	1.0000	1.0000						
HT1	0.9964	0.9964	0.9964	1.0000					
HT2	1.0000	1.0000	1.0000	0.9964	1.0000				
HT3	0.9964	0.9964	0.9964	0.9929	0.9964	1.0000			
AT1	1.0000	1.0000	1.0000	0.9964	1.0000	0.9964	1.0000		
AT2	0.9964	0.9964	0.9964	0.9929	0.9964	0.9929	0.9964	1.0000	
AT3	0.9929	0.9929	0.9929	0.9893	0.9929	0.9964	0.9929	0.9893	1.0000

8. สรุปและอภิปรายผล

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 (ชุดทดลอง HT เมื่อเปรียบเทียบกับระหว่าง HT-AT) ในระยะ V3, R1, R3 ในส่วนรุ่นที่ 2 ของการปลูกนั้นไม่พบความแตกต่างของระดับความสูงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ในแต่ละระยะของการเจริญเติบโตระหว่าง 3 ชุดการทดลองแต่อย่างใด

เมื่อพิจารณาดัชนีพื้นที่ใบพบว่าระยะ R1 รุ่นที่ 1 ของการปลูกในชุดการทดลองที่ควบคุมให้สูงกว่าระดับอุณหภูมิธรรมชาติภายนอกชุดทดลองระหว่างการวิจัย (HT) มีอัตราการเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (เมื่อเปรียบเทียบกับระหว่าง LT-HT) ในส่วนรุ่นที่ 2 ของการปลูกนั้นไม่พบความแตกต่างของดัชนีพื้นที่ใบ (Leave Area Index) อย่างมีนัยสำคัญในแต่ละระยะของการเจริญเติบโตระหว่าง 3 ชุดการทดลองแต่อย่างใด ดังนั้นจึงพบว่าปัจจัยระดับอุณหภูมิที่สูงขึ้นส่งผลต่อมวลชีวภาพในด้านความสูงและดัชนีพื้นที่ใบในระยะการปลูกรอบที่ 1 เท่านั้น

2. ผลการศึกษาในปัจจัยปริมาณรงควัตถุในใบ ชนิดคลอโรฟิลล์ เอ คลอโรฟิลล์ บี และแคโรทีนอยด์ของสรุปรงควัตถุแต่ละชนิดดังนี้

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 ส่วนผลการศึกษาผลผลิตในการปลูกรุ่นที่ 2 ไม่พบความแตกต่างของปริมาณรงควัตถุในใบของถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 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 ได้ผลการศึกษาดังนี้

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

4. ด้านคุณภาพสารอาหารของผลผลิตในเมล็ดถั่วเหลืองที่มีการตอบสนองต่ออุณหภูมิที่แตกต่างกันในช่วงฤดูกาลปลูก มีผลการศึกษา และมีรายละเอียดดังนี้

4.1 การตอบสนองของปริมาณโปรตีน เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดทดลอง LT-HT พบว่าระดับอุณหภูมิที่สูงขึ้น (HT) ส่งผลให้โปรตีนลดลงมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) 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 ($P \leq 0.05$) ในผลผลิตรุ่นที่ 1 แต่อย่างใด

4.4 การตอบสนองของปริมาณร้อยละของเยื่อใยพบว่าผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งผลผลิตทั้ง 2 รุ่น ในลักษณะเหมือนกันคือ เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชุดทดลอง HT และ LT ส่งผลให้ระดับเยื่อใยเพิ่มสูงขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ทั้ง 2 ระดับอุณหภูมิเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม (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 เถ้า 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 เมื่อพิจารณาถึงพารามิเตอร์ต่างๆไปในภาพรวมของการศึกษา ยกเว้นผลทางด้านองค์ประกอบผลผลิตบางประการคือ น้ำหนัก 100 เมล็ด และ ลักษณะการแบ่งกลุ่มทางพันธุกรรมที่ค่อนข้างเห็นผลชัดเจน

อภิปรายผล

ปัญหาการเปลี่ยนแปลงสภาวะภูมิอากาศที่ส่งผลกระทบต่อผลผลิตทางการเกษตรดังกล่าวเกิดขึ้นเนื่องจาก สภาวะภูมิอากาศที่ไม่เหมาะสม (โดยเฉพาะอย่างยิ่งการปลูกภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูงหรือต่ำ) ที่ก่อให้เกิดความเครียด(stress)ของพืชนั้นส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลง เชิง สรีรวิทยา ที่ซับซ้อน จากการศึกษาวิจัยด้านความสัมพันธ์ระหว่างสภาวะภูมิอากาศและสรีรวิทยาของพืชพบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมเป็นปัจจัยที่สำคัญอันดับต้นต่อการเจริญเติบโตและการรอดของพืชเนื่องด้วยอุณหภูมิที่เหมาะสมในเนื้อเยื่อพืชคือ อุณหภูมิที่พืชรับจากรังสีดวงอาทิตย์หรือจากสภาวะแวดล้อมในกรณีอื่นๆ และก่อให้เกิดสภาวะสมดุลพลังงานทั้งการนำไปใช้ในกลไกทางสรีรวิทยาและการเก็บไว้ในเนื้อเยื่อเพื่อรักษาสภาวะส่งผลต่อการทำงานของเมตาบอลิซึมให้เป็นไปอย่างสมบูรณ์ ทำให้พืชเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว พืชบกโดยส่วนใหญ่ของระบบนิเวศโลก จะมีความคงทนต่อระดับอุณหภูมิ ตั้งแต่ 0-40 °C ซึ่งความแตกต่างของความคงทนต่ออุณหภูมิที่แตกต่างกันนั้นจะขึ้นอยู่กับ สายพันธุ์ ช่วงระยะการเติบโต และสภาพแวดล้อมอื่นๆในที่ระบบนิเวศบริเวณนั้นด้วย (Jones, 1992) การศึกษาวิจัยในประเด็นที่คล้ายคลึงกันนี้ได้มีอย่างแพร่หลายในหลายประเทศ โดยมีกลุ่มผู้ร่วมวิจัยได้ศึกษาข้อมูลที่สำคัญพบว่า ซึ่งได้พบว่าระดับอุณหภูมิที่สูงกว่าระดับวิกฤตนั้น ส่งผลโดยตรงต่อการเปลี่ยนแปลงกระบวนการทางสรีรวิทยาของพืช อาทิเช่น อัตราการใช้น้ำ อัตราเร่งการใช้ธาตุอาหาร ประสิทธิภาพของกระบวนการผลิตสารอาหาร ซึ่งส่งผลต่อการเจริญเติบโตในระยะต้น ต้นอ่อน ระยะออกผล หรือ ระยะการสืบพันธุ์ ซึ่งจะส่งผลต่อการผลิตผลผลิตในระยะสุดท้าย ซึ่งส่งผลทำให้ผลผลิตรวมลดลง และมีข้อมูลที่ได้ทำการศึกษาร่วมกันของนักวิทยาศาสตร์หลายกลุ่มที่ระบุได้ชัดเจนว่าการเพิ่มอุณหภูมิของพื้นที่การเกษตรนั้นส่งผลกระทบในเชิงลบต่อพืชทางการเกษตรในหลายๆประการ เช่น ลดการสร้างมวลชีวภาพ ลดอัตราผลผลิต ลดประสิทธิภาพของ

การผลิตเมล็ดได้จริงและผลการศึกษาทั้งสองสอดคล้องกัน (Wheeler et al., 1993; Newton et al., 1994; Wurr et al., 1996; Nijs et al., 1996 ; Hollister and Webber, 2000)

การศึกษาผลกระทบของสภาวะอุณหภูมิสูงในพืช ในระดับสรีรวิทยานั้นพบว่า กรณีของพืชที่เติบโตภายใต้สภาวะอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม ทั้งระดับที่สูงหรือต่ำเกินไปทำให้พืชเกิดสภาวะเสีย สมดุลพลังงานในเนื้อเยื่อ ทำให้การเจริญเติบโตของพืชลดลง และโดยทั่วไปแล้วหากอุณหภูมิเพิ่มขึ้นกว่าระดับปกติ 10-15 °C สภาวะอุณหภูมิสูงยังสามารถทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อของพืชเนื่องจากการ เช่นการเกิดสภาวะ เนื้อเยื่อตาย (necrosis) (Jones, 1992) หรือการเกิดภาวะช็อคหรือภาวะเครียดจากอุณหภูมิ (temperature stress) (Jones, 1992; ภาควิชา พระประเสริฐ, 2550) และยังส่งผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์จนมีผลต่อการออกน้ำหนักของมวลชีวภาพ และการสร้างสารอาหารในเมล็ด (ภาควิชา พระประเสริฐ, 2550)

นอกจากนี้ยังพบว่า พืชจะถูกเร่งกระบวนการการดูดธาตุอาหารมากขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น เพราะเป็นการเพิ่มอัตราการหายใจนั่นเอง แต่ถ้าอุณหภูมิสูงเกินระดับ 40 °C อัตราการดูดธาตุอาหารกลับลดลง ซึ่งอาจเกิดจากอุณหภูมิที่สูงเกินไปส่งผลต่อการทำลายเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการดูดธาตุอาหารเช่นกัน (ชวนพิศ แดงสวัสดิ์, 2544) และพบว่าปัญหาการเพิ่มระดับของอุณหภูมิในบรรยากาศส่งผลกระทบต่อภาคการเกษตรทั่วโลกในปัจจุบัน ซึ่งผลกระทบนั้นได้แก่การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐาน กระบวนการทางสรีรวิทยาเปลี่ยนแปลงกระบวนการทางชีวเคมีอันซับซ้อน รวมทั้งส่งผลต่อการเจริญและเติบโต ซึ่งผลกระทบอย่างต่อเนื่องนี้ส่งผลต่อภาวะเศรษฐกิจในระดับโลกในระยะยาว (Wahid et al., 2007 ; Hall, 2001)

ผลกระทบทางลบของระดับสภาวะอุณหภูมิสูงที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงรูปแบบการสร้างโปรตีนในพืช จัดว่าเป็นงานศึกษาที่สำคัญและมีการศึกษาวิจัยมาอย่างต่อเนื่อง กลุ่มนักวิจัยของอเมริกา (Irmak et al., 2008) ได้ศึกษาพบว่า การปลูกข้าวสาลีภายใต้สภาวะอุณหภูมิช่วงกลางวันในระดับเฉลี่ย 40 °C ส่งผลต่อการลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของ Glutenin ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งของในเมล็ดข้าวสาลี จากการศึกษาข้อมูลพบว่าผลที่ปรากฏดังนี้น่าจะเกี่ยวเนื่องจากระดับอุณหภูมิที่สูงเกินไปจะส่งผลต่อการทำลายโครงสร้างของโปรตีนในเอนไซม์ และพบว่าในกรณีที่การสร้างเอนไซม์ของพืชลดลงตั้งแต่ในระยะเริ่มต้นของการเจริญเติบโตจะส่งผลต่อการลดการผลิต โปรตีนในเมล็ด โปรตีนในเอนไซม์ คลอโรฟิลล์ และ RNA (ชวนพิศ แดงสวัสดิ์, 2544) และได้มีการศึกษาพบว่าระดับอุณหภูมิที่สูงเกินไปส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนในรูปแบบต่างๆ ร่วมกับการเพิ่มระดับการสร้าง ROS (reactive oxygen species) และองค์ประกอบประเภทต่างที่เป็นพิษซึ่งโดยภาพรวมจะเป็นผลเสียต่อพืชอย่างต่อเนื่องด้วย (Wahid et al., 2007; Schoffl et al., 1999; Howarth, 2005) อย่างไรก็ตามพบว่าพืชมีกลไกปกป้องตัวเองจากสภาวะอุณหภูมิที่สูงขึ้น โดยพบว่าที่ระดับอุณหภูมิเกินระดับวิกฤติในพืชชนิดนั้น (มักเกินระดับ 40 °C) ทำให้พืชเกิดความเครียดเนื่องจากความร้อน และจะกระตุ้นให้เซลล์สังเคราะห์โปรตีนที่เรียกว่า heat shock proteins (HSPs) ขนาด 15-18 kDa ให้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเพื่อปกป้องเซลล์ไม่ได้รับความเสียหายอันเนื่องมาจากความร้อน และปริมาณ HSPs ที่เพิ่มขึ้นนี้ยังสัมพันธ์กับเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วของ อาร์เอ็นเอเข้ารหัส (mRNA) ภายในเวลาเพียง 3-5 นาที ซึ่ง

mRNA นี้เป็น RNA ที่ทำหน้าที่ช่วยในการสร้างโปรตีน ซึ่งถือว่าเป็นกลไกหนึ่งในการปกป้องเซลล์จากภาวะอุณหภูมิสูงอีกประการหนึ่ง (Ho and Sachs, 1989)

กระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงในพืชนั้น เป็นปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์ควบคุมและการทำงานของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่เหมาะสมเป็นสำคัญ ข้อมูลการศึกษาพบว่ากระบวนการสังเคราะห์แสงของพืชประเภท C_3 เช่นถั่วเหลือง ข้าวเจ้า จะมีความไวต่อการตอบสนองในทางลบต่อภาวะความเครียดจากอุณหภูมิสูงมากกว่าพืช C_4 เช่นข้าวสาลี และกระบวนการตอบสนองของพืชต่อภาวะเครียดของอุณหภูมินั้นจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของการสร้างพลังงานอื่น เนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงกลไกกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการนำคาร์บอนมาใช้ในกระบวนการสร้างอาหาร เช่น ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลง rubisco ซึ่งเกี่ยวข้องกับกลไกการตรึง CO_2 ให้ RuBp ในกระบวนการสังเคราะห์แสงจึงส่งผลทำให้ลดประสิทธิภาพของการสังเคราะห์แสง และส่งผลอย่างต่อเนื่องจนนำไปสู่การลดผลผลิต (Salvucci and Crafts-Brandner, 2004)

ในการศึกษาครั้งนี้ส่วนหนึ่งต้องการทราบผลการเปลี่ยนแปลงทางด้านพันธุกรรม เมื่อนำถั่วเหลืองที่ได้รับการสัมผัสโอโซนไปเป็นพันธุ์ปลูกต่อเพื่อให้ได้รุ่นที่ 2 ว่าส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงด้านพันธุกรรมอย่างไร ดังนั้น ในการศึกษาเลือกใช้วิธีเอเอฟแอลพี (amplified fragment length polymorphism, AFLP) ซึ่งเป็นวิธีการที่พัฒนาขึ้นโดย Zeebman และ Vos (1993) การตรวจสอบลายพิมพ์ดีเอ็นเอโดยวิธีการนี้เป็นการรวมเอาเทคนิคอาร์เอฟแอลพีและอาร์เอฟดีดี เข้าด้วยกัน

เทคนิคเอเอฟแอลพี เป็นเทคนิคที่ยุ่งยาก และซับซ้อน แต่ผลที่ได้สามารถทำซ้ำได้ผลคงเดิม และสามารถเลือกคุณสมบัติของไพรเมอร์ได้หลายแบบ ลายพิมพ์ดีเอ็นเอที่ได้จึงมีความแตกต่างกัน (polymorphism) จำนวนมาก ซึ่งเกิดจากการเปลี่ยนแปลงของเบส (point mutation) ที่ตำแหน่งจดจำของเอนไซม์ทำให้เกิดการเสียหาย หรือเพิ่มใหม่ หรือการเปลี่ยนแปลงของเบสที่ตำแหน่งติดกับตำแหน่งจดจำของเอนไซม์ ให้สามารถหรือไม่สามารถเพิ่มปริมาณขึ้นดีเอ็นเอได้ หรืออาจเกิดการมีขึ้นดีเอ็นเอสั้น ๆ ขาดหายไป หรือสอดแทรกเข้ามาในระหว่างตำแหน่งตัดจำเพาะของเอนไซม์ก็ได้ ผลที่เกิดขึ้นคือการมีแถบดีเอ็นเอ หรือไม่มีแถบดีเอ็นเอที่ตำแหน่งนั้น ๆ หรือขึ้นดีเอ็นเอที่เพิ่มปริมาณได้มีขนาดเปลี่ยนไป การถ่ายทอดลักษณะของแถบดีเอ็นเอจากการทำเอเอฟแอลพี จึงมีทั้งลักษณะข่ม (dominant) โดยปรากฏเป็นการเกิดหรือไม่เกิดแถบดีเอ็นเอ และแบบที่แสดงลักษณะข่มรวมกัน (codominant) โดยปรากฏเป็นแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดต่างกันโดยทั่วไป จะพบเครื่องหมายเอเอฟแอลพี (AFLP marker) แบบที่เป็นลักษณะข่มมากกว่า (สุรินทร์, 2543) ปัจจุบันเอเอฟแอลพีเป็นเทคนิคที่นำมาศึกษาเกี่ยวกับพันธุศาสตร์ประชากร วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม การจัดจำแนกชนิดและพันธุ์ หรือนำมาใช้ในการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมกันอย่างกว้างขวาง

จากการใช้เทคนิค AFLP ในการศึกษาความแตกต่างที่ระดับพันธุกรรมของถั่วเหลืองต่อระดับอุณหภูมิที่แตกต่างกัน โดยพิจารณาแนวโน้มที่ได้ทั้ง 2 รุ่น พบว่ามีความแตกต่างกันในลักษณะทางพันธุกรรม ทั้งในรุ่นที่ 1 และ รุ่นที่ 2 นั่นคือ คือ กลุ่มของ AT และ LT ที่แยกกลุ่มจาก HT อย่างชัดเจน เมื่อพิจารณาพบว่าพันธุกรรมของกลุ่ม AT ซึ่งเป็นกลุ่มที่อุณหภูมิต่ำกว่าระดับปกติใน

การปลูกนั้น แยกกลุ่มออกมาอย่างชัดเจน ในการปลูกรุ่นที่ 1 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า ระดับอุณหภูมิที่ไม่ปกตินั้นแสดงลักษณะทางพันธุกรรมอีกลักษณะหนึ่ง (ทั้งอุณหภูมิสูงและต่ำกว่าปกติ) ส่วนกลุ่ม LT แยกลักษณะทางพันธุกรรมออกมาอย่างชัดเจนในการปลูกรุ่นที่ 2 ซึ่งแสดงให้เห็นว่า กลุ่มระดับอุณหภูมิสูงและต่ำมีความแตกต่างกันในลักษณะทางพันธุกรรมในระยะยาวอย่างชัดเจน นั้นหมายถึงว่า ผลการทดลองนี้เป็นแนวทางที่สามารถบอกได้ในเบื้องต้นถึงผลของระดับอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นจากระดับปกติ หรือต่ำกว่าระดับปกติในฤดูกาลปลูก ซึ่งทำให้เกิดความแตกต่างในระดับพันธุกรรมและมีแนวโน้มต่อเมล็ดพันธุ์ที่ปลูกในรอบที่สองต่อไป

ประเทศไทยเป็นอีกประเทศหนึ่งที่ได้รับผลกระทบจากการเปลี่ยนแปลงสภาวะภูมิอากาศของโลก ข้อมูลจากกรมอุตุนิยมวิทยาได้พยากรณ์แนวโน้มของระดับการเพิ่มระดับอุณหภูมิในบรรยากาศในเขตภาคเหนือในอนาคตโดยพบว่าแนวโน้มเพิ่มขึ้น 4-5 °C และในทศวรรษที่ 2100 (ค.ศ.2091-2100) เมื่อเทียบกับในช่วงทศวรรษที่ 2000 (ค.ศ.1991-2000) รวมทั้งการแสดงผลพยากรณ์ความแปรปรวนทางด้านสภาวะภูมิอากาศในปัจจุบันอื่นๆที่มีแนวโน้มแปรปรวนมากขึ้นเช่นกัน (สำนักพัฒนาอุตุนิยมวิทยา, 2552) ด้วยเหตุนี้ผลการศึกษาจากการสร้างสภาวะการณ์จริงของสภาวะการณ์ความแปรปรวนของอุณหภูมิจึงมีความสำคัญและควรศึกษาอย่างเร่งด่วนในประเทศไทย จึงสามารถเป็นฐานข้อมูลที่ดีเพื่อนำไปสู่ การคาดการณ์ผลกระทบจากสภาวะการณ์ภูมิอากาศแปรปรวนที่มีผลต่อผลผลิตและคุณภาพสารอาหารในถั่วเหลือง และสามารถนำไปสู่การวิจัยเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่ทนทานต่อสภาวะวิกฤตดังกล่าว ในพื้นที่เขตภาคเหนือของประเทศไทยต่อไป

9. ข้อเสนอแนะ

9.1 ผลการศึกษาน่าจะเผยแพร่ต่อหน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาสายพันธุ์ถั่วเหลืองต่อไป ในเพื่อวางแผนระยะการปลูกที่เหมาะสมในการรับมือกับสถานการณ์ในอนาคต

9.2 ควรต่อยอดองค์ความรู้ในการวิจัยเพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่ทนทานต่อสถานการณ์โลกร้อนในอนาคต

10. เอกสารอ้างอิง

กณิตา ธนเจริญชนภาส และ โอรัส รักชาติ. 2551. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์เรื่องการจำลองสภาวะการณ์โลกร้อนในพื้นที่ปลูกข้าวเพื่อประเมินผลกระทบที่มีต่ออัตราผลผลิตคุณภาพสารอาหาร และการเปลี่ยนแปลงในระดับพันธุกรรมของข้าวหอมมะลิไทย. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

กณิตา ธนเจริญชนภาส และ โอรัส รักชาติ. 2552. ผลกระทบของสภาวะอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นในฤดูกาลปลูกที่มีต่อผลผลิตและ อนุภาคเมล็ดแบ่งของข้าวหอมไทย (*Oryza sativa* L.) พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105. เรื่องเต็มการประชุมวิชาการครั้งที่ 47 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เล่มที่ 9 สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม, วันที่ 17-20 มีนาคม 2552, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. หน้า 282-290.

กรมวิชาการเกษตร. 2552. ถั่วเหลือง : การผลิตการตลาด

<http://as.doa.go.th/fieldcrops/soy/oth/002.HTM>

จงกลนี อยู่สบาย, 2550. เอกสารประกอบการบรรยาย ในการประชุมวิชาการ เรื่อง มลพิษอากาศของไทย ผลพวงจากโลกร้อน วันที่ 24 เมษายน 2550, กรุงเทพฯ.

นิพนธ์ ตั้งธรรม, 2549. เอกสารประกอบการบรรยายพิเศษ ในการประชุมวิชาการการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศของโลกและผลกระทบที่เกิดขึ้นในประเทศไทย วันที่ 24 กรกฎาคม 2549, กรุงเทพฯ.

สำนักพัฒนาอตุณิยมวิทยา. 2552. การคาดการณ์การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศในอนาคต, 129 หน้า, เอกสารเผยแพร่ในเวปไซด์กรมอตุณิยมวิทยา
<http://www.tmd.go.th/index.php>

Aonymous, 1992, Climate Change. 1992. In: J.T. Houghton, B.A. Callander and S.K. Varney (Editors), The Supplementary Report to the IPCC Scientific Assessment. Cambridge University Press, Cambridge. In Wurr, D.C.E. , Fellows, J.R. and Phelps, K. 1996. Investigating trends in vegetable crop response to increasing temperature associated with climate change. *Scientia Horticulturae* , Vol. 66, pp 255-263.

Anwar, M.R., Leary, G.O., McNeil, D., Hossian, H., and Nelson, R., 2007. Climate change impact on rainfed wheat in south-eastern Australia. *Fields Crops Reasearch*, Vol. 104, pp. 139-147.

Chang, C.C., 2002. The potential impact of climate change on Taiwan's agriculture. *Agricultural Economisc*. Vol. 27, pp 51-64.

Chainuvati C., Kasivivat A., Uthayopas A., Sewatasai R., and Chanaseni C., 1997. Soybean production Technology in Thailand, Proceeddings:World soybean research conference 21-27 Febuary 1994; Chaing Mai , Thailand, B. Napornpeth, Kasetsart University, pp 503-506.

Chowdhury, S.I., wardlaw, I.F., 1978. The effect of temperature on kernel development in cereals. *Australia Journal of Agricultural Research*. Vol. 29, pp. 205-223.

Fuhrer, J., 2003. Agroecosystem responses to combinations of elevated CO₂, Ozone, and global climate change. *Agriculture, Ecosystem and Environment*, Vol. 97, pp 1-20

Hollister, R.D. and Webber, P.J., 2000. Biotic validation of small open top chamber in tundra ecosystem. *Global Change Biology*, Vol.6, Issue 7, pp 835.

Horel, J. and Geisler, J., 1997. Global Environmental Change an atmospheric perspective. John Wiley & Sons, Inc., New York. 151 p.

- (IPCC) Intergovernmental Panel on Climate Change. 2001. In: Houghton, J.T., Ding, Y., Griggs, D.J., Noguer, M., van der Linden, P.J., Xiaosu, D. (Eds.), *Climate Change 2001: The Scientific Basis*. Cambridge University Press, UK.
- (IPCC) Intergovernmental Panel on Climate Change. 2002. IPCC Technical Paper V : Climate change and biodiversity. 86 p.
- (IPCC) Intergovernmental Panel on Climate Change. 2006. 2006 IPCC Guidelines for National Greenhouse Gas Inventories ; Volume 1: General Guidance and Reporting. Institute for Global Environmental Strategies (IGES), Japan.
- (IPCC) Intergovernmental Panel on Climate Change., 2007a. *Climate Change 2007: The Physical Science Basis*. Cambridge University Press, Cambridge, UK. Cited in Stangeland, A. 2007. A model for the CO₂ capture potential. *International Journal of Greenhouse Gas Control*. Vol. 1, pp. 418-429.
- Jacobson, M.Z., 2002. *Atmospheric Pollution; History, Science, and Regulation*. Cambridge University Press, UK. 399 p.
- John, T.C., Gregory, J.M.G., Ingram, W.J., Johnson, C.E., Jones, A., Lowe, J.A., Mitchell, J.F.B., Roberts, D.L., Sexton, D.M.H., Stevenson, D.S. , Tett, S.F.B. and Woodage, M.J., 2003. Anthropogenic Climate Change for 1860 to 2100 simulated with the HadCM3 model under update emissions scenarios. *Climate Dynamics*. Vol.20, pp 583-612.
- Jones, H.G. 1992. *Plants and microclimate : A quantitative approach to environmental plant physiology*, Cambridge University Press, Cambridge, 428 p.
- Keeling, C.D., Whorf, T.O., 2003. Atmospheric CO₂ records from sites in the SIO air sampling networks. *Carbon Dioxide Inf. Anal. Center Commun.* Vol.30, pp 4. Cited in Prasad, P.V., Boote, K.J. Allen Jr, H., 2006. Adverse high temperature effects on pollen viability, seed-set, seed yield and harvest index of grain-sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) are more severe at elevated carbon dioxide due to higher tissue temperatures, *Agriculture and Forest Meteorology*. Vol. 139, pp 237-251.
- Kudernatsch, T., Fischer, A., Bernhardt-Romermann, M. and Abs, C., 2007. Short-term effects of temperature enhancement on growth and reproduction of alpine grassland species. *Basic and Applied Ecology*, Available online 19 April 2007.
- Mall, R.K., Lal, M., Bhatia, V.S., Rathore, L.S., Singh, R. 2004. Mitigating climate change impact on soybean productivity in India: a simulation study, *Agriculture and Forest Meteorology*, Vol.121, pp 113-125.

- Monokata, K., 1976. Effects of Temperature and light on the reproductive growth and reaping of rice . In: Climate and Rice. The International Rice Research Institute, Manila, Philipines, pp. 187-210.
- Mariara, J.K. and Karanja, F.K., 2007. The economic impact of climate change on Kenyan crop agriculture: A Ricardian approach. *Global and Planetary Change*. Available online at www.sciencedirect.com.
- Newton, P.D.C., Clark, H., Bell, C.C., Glasgow, E.M., and Campbell, B.D., 1994. Effects of elevated CO₂ and simulated seasonal changes in temperature on the species composition and growth rates of pasture turves. *Annual Botany*. Vol. 73, pp 53-59.
- Nijs, I., Teughels, H., Blum, H., Hendrey, G. and Impens, I., 1996. Simulation of Climate Change with Infrared Heaters Reduces The Productivity of *Lolium Perenne* L. in Summer. *Environmental Experimental Botany*. Vol. 36, pp 271-280.
- Norby, R., Edwards, N., Riggs, J., Abner, C., Wullschleger, S., and Gunderson, C., 1997. Temperature-controlled open-top chambers for global. *Global Change Biology*. Vol. 3, pp. 259-267.
- Prasad, P.V., Boote, K.J. Allen Jr, H., 2006. Adverse high temperature effects on pollen viability, seed-set, seed yield and harvest index of grain-sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) are more severe at elevated carbon dioxide due to higher tissue temperatures, *Agriculture and Forest Meteorology*. Vol. 139, pp 237-251.
- Stangeland, A., 2007. A model for the CO₂ capture potential. *International Journal of Greenhouse Gas Control*. Vol. 1, pp. 418-429.
- Stott, P.A., John, G. S., Lowe, J.A., Thorne, P., Durman, C., Johns, T.C. and Thelen J.C., 2006. Transient Climate Simulations with the HadGEM1 Climate Model : Causes of Past Warming and Future Climate Change. *Journal of Climate*. Vol. 19, pp 2763-2782.
- Tan, G., and Shibasaki, R., 2003. Global estimation of crop productivity and the impacts of global warming by GIS and EPIC integration. *Ecological Modelling*. Vol. 168, pp. 357-370.
- Velarde, S.J., Malhi, Y., Moran, D., Wright, J., and Hussian, S., 2005. Valuing the impacts of climate change on protected areas in Africa. *Ecological Economics*. Vol. 53, pp. 21-33.
- Wheeler, T.R., Morison, J.I.L., Hadley, P. and Ellis, R.H., 1993. Whole-season experiments on the effects of carbon dioxide and temperature on vegetable

crop. In : G.J. Kenny, P.A. Harrison and M.L. Parry (Editors), The effect of Climate Change on Agricultural and Horticultural Potential in Europe, Oxford, pp. 165-176. In Wurr, D.C.E. , Fellows, J.R. and Phelps, K. 1996. Investigating trends in vegetable crop response to increasing temperature associated with climate change. *Scientia Horticulturae* , Vol.66, pp 255-263.

Wurr, D.C.E. , Fellows, J.R. and Phelps, K., 1996. Investigating trends in vegetable crop response to increasing temperature associated with climate change. *Scientia Horticulturae* , Vol.66, pp 255-263.

ภาคผนวก

วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

องค์ประกอบทางเคมี ปริมาณสารอาหารในเมล็ด และปริมาณรงควัตถุในใบของพืช

1. วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

วิเคราะห์ทางเคมีของวัตถุดิบ (AOAC 1995)

โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้า ความชื้น

1.1 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

จากวิธีของ AOAC 40.1.06, 1995

1.1.1 อุปกรณ์

ชุดวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน

(Kjeldatherm digestion unit และ distillation unit)

1.1.2 สารเคมี

- 1) สารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น
- 2) สารละลายกรดซัลฟูริก เข้มข้น 0.1 นอร์มัล
- 3) สารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 32 เปอร์เซ็นต์
- 4) สารละลายกรดบอริกเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์
- 5) ซิลิเนียม
- 6) อินดิเคเตอร์ ซึ่งเป็นส่วนผสมของ methyl red และ methylene

blue

1.1.3 วิธีการทดลอง

- 1) ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม ใส่ในขวดย่อยเจตาห์ล
- 2) เติมซิลิเนียม 3 กรัม
- 3) เติมสารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 mL
- 4) ย่อยตัวอย่างด้วยเครื่อง Kjeldatherm ควบคุมอุณหภูมิในการย่อย

เป็น 3 ช่วง คือ

ช่วงที่1 ใช้อุณหภูมิ 250 °C เป็นเวลา 15-20 นาที

ช่วงที่2 ใช้อุณหภูมิ 380 °C เป็นเวลา 30-45 นาที

ช่วงที่3 ใช้อุณหภูมิ 380 °C เป็นเวลา 20-30 นาที

- 5) ย่อยตัวอย่างจนกระทั่งตัวอย่างได้สารละลายใสสีเขียว

- 6) กลั่นตัวอย่างที่ย่อยแล้วด้วยเครื่อง distillation unit โดยเติมน้ำ

กลั่น 100 mL และสารละลายต่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้น 32 เปอร์เซ็นต์ 90 mL เก็บส่วนที่กลั่นได้ในสารละลายบอริกเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 60 mL ที่มีอินดิเคเตอร์ผสมอยู่ ก๊าซแอมโมเนียมที่เกิดขึ้นถูกควบแน่นจนหมดได้ปริมาตรสารละลายในกรดบอริก รวมประมาณ 200 mL

7) ไตเตรตส่วนที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรดซัลฟูริก เข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนสารละลายเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีส้ม ซึ่งเป็นจุดยุติ บันทึกปริมาตรที่ไตเตรตได้

8) ทำสารละลายแบลงค์โดยใช้สารละลายต่างๆ ในปริมาณเท่าๆ กัน เช่นเดียวกับตัวอย่าง แต่ ไม่ใส่ตัวอย่าง

$$\text{ปริมาณโปรตีน} = \frac{(A-B) \times C \times 6.25 \times 1400}{D}$$

A = ปริมาตรกรดซัลฟูริกที่ใช้ไตเตรตตัวอย่าง

B = ปริมาตรกรดซัลฟูริกที่ใช้ไตเตรตสารละลายแบลงค์

C = นอร์มัลลิตีของกรดซัลฟูริกที่ใช้ไตเตรต (0.1 N)

D = น้ำหนักตัวอย่าง (มิลลิกรัม)

1.2 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

จากวิธีของ AOAC 40.1.05, 1995

1.2.1 อุปกรณ์

- 1) ขวดกั่นกลมขนาด 250 mL
- 2) โถดูดความชื้น
- 3) Soxhlet extraction apparatus
- 4) Condenser
- 8) Thimble

1.2.2 สารเคมี

ปิโตรเลียมอีเทอร์

1.2.3 วิธีการทดลอง

- 1) อบขวดกั่นกลมในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนัก
- 2) ชั่งตัวอย่างแห้งลงบนกระดาษกรอง นำตัวอย่างใส่ลงใน Thimble อุดสำลีบน Thimble เพื่อป้องกันมิให้ตัวทำละลายหยดถูกตัวอย่างโดยตรง
- 3) ใส่ Thimble ลงใน extraction tube และต่อเข้ากับ condenser
- 4) เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ ลงในขวดกั่นกลมประมาณ 200 mL
- 5) เปิดเตาให้ความร้อน ใช้เวลาในการสกัดไขมันประมาณ 16 ชั่วโมง
- 6) เมื่อครบเวลาแล้วนำขวดไปอบที่อุณหภูมิ 100 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อเป็นการทำให้ปิโตรเลียมอีเทอร์ในขวดกั่นกลมระเหย จากนั้นทำให้เย็นในโถดูดความชื้น
- 7) ชั่งน้ำหนักขวด และคำนวณน้ำหนักของไขมันที่ได้คิดเป็นเปอร์เซ็นต์

$$\text{ปริมาณไขมัน (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักขวดพร้อมไขมัน} - \text{น้ำหนักขวดเปล่า})}{\times 100}$$

น้ำหนักตัวอย่าง

1.3 การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย

จากวิธีของ AOAC 40.1.07, 1995

1.3.1 อุปกรณ์

- 1) เตาเผา
- 2) ตู้อบลมร้อน
- 3) Fibertec system
- 4) Crucible (Fritted crucible-porosity; coarse 40-60 μm)
- 5) Hot plate
- 6) ภาชนะใส่กรดที่ต้มได้

1.3.2 สารเคมี

- 1) สารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.128 โมลาร์
- 2) โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.223 โมลาร์
- 3) n-Octanol
- 4) อะซีโตน

1.3.3 วิธีการทดลอง

- 1) เปิดน้ำเย็นสำหรับระบบ reflux ให้มีอัตราไหลของน้ำประมาณ 1-2 ลิตรต่อนาที
- 2) เปิดสวิตช์เครื่อง
- 3) ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่างที่บดละเอียดจำนวน 1 กรัม ใส่ลงใน crucible
- 4) ถ้าตัวอย่างมีปริมาณไขมันสูงกว่าร้อยละ 5 ให้ทำการสกัดไขมันออกจากตัวอย่างก่อนนำมาวิเคราะห์
- 5) วาง crucible ลงในช่องสำหรับวาง crucible ในเครื่องที่ส่วนสกัดด้วยความร้อน โยกคันล็อกให้เข้าที่
- 6) เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.128 โมลาร์ จำนวน 150 mL เติมลงในคอลัมน์ทางด้านบน
- 7) เติม n-Octanol จำนวน 2-3 หยด เพื่อป้องกันการเกิดฟอง
- 8) ปิดฝาเครื่องให้เรียบร้อย แล้วเริ่มให้ความร้อนจนเดือด ต้มเป็นเวลา 30 นาที
- 9) กรองโดยเลื่อนคั่นโยกมาที่ตำแหน่ง vacuum ถ้ากรองได้ไม่ดีให้ใช้ pressure ช่วย

- 10) ล้างด้วยน้ำร้อน 3 ครั้ง ครั้งละประมาณ 30 mL กรองจนแห้ง
- 11) เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.223 โมลาร์ ปริมาณ 150 mL ทำเช่นเดียวกับกรดซัลฟูริก
- 12) นำ crucible ออกจากเครื่องที่ส่วนสกัดด้วยความร้อน โดยใช้ crucible holder
- 13) ล้างด้วยอะซิโตนอย่างน้อย 3 ครั้ง ครั้งละ 25 mL
- 14) นำ crucible ไปอบแห้งในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 100 °C เป็นเวลานาน 3 ชั่วโมง หรืออบที่อุณหภูมิประมาณ 130 °C นาน 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักบันทึกน้ำหนักที่ได้เป็น W1
- 15) นำ crucible ไปเผาในเตาอบที่อุณหภูมิประมาณ 550 °C นานประมาณ 3 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก และบันทึกน้ำหนักที่ได้เป็น W2

$$\text{ปริมาณเยื่อใย (\%)} = \frac{(W1-W2)}{W} \times 100$$

เมื่อ	W1	=	ปริมาณของ crude fiber กับเถ้า
	W2	=	ปริมาณของเถ้าที่เหลือหลังจากการเผา
	W	=	น้ำหนักตัวอย่าง

1.4 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

จากวิธีของ AOAC 40.1.03, 1995

1.4.1 อุปกรณ์

- 1) เตาเผา
- 2) Hot plate
- 3) ถ้วยกระเบื้องพร้อมฝา
- 4) โถดูดความชื้น
- 5) ตู้อบลมร้อน

1.4.2 วิธีการทดลอง

- 1) ชั่งน้ำหนักถ้วยกระเบื้องพร้อมฝา ซึ่งผ่านการเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 °C เป็นเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักคงที่แล้วบันทึกน้ำหนัก
- 2) ตักตัวอย่างใส่ลงในถ้วยกระเบื้องประมาณ 3-5 กรัม ปิดฝา บันทึกน้ำหนัก
- 3) หยดน้ำกลั่นปริมาณเล็กน้อยลงบนตัวอย่างให้ตัวอย่างที่เป็นผงแห้งมีความชื้น และเกาะกันเพื่อป้องกันการฟุ้งกระจายเมื่อให้ความร้อน

- 4) วางถ้วยตัวอย่างลงบนเตา Hot plate เปิดฝาดู ค่อยๆเพิ่มระดับความร้อนในการเผาไหม้ตัวอย่าง (ขั้นตอนนี้ต้องทำในตู้ดูดควัน) จนกระทั่งเผาไหม้หมดควัน
- 5) นำถ้วยที่ใส่ตัวอย่างที่ปิดฝาไว้ในเตาเผา เผาตัวอย่างที่อุณหภูมิ 550 °C จนกว่าจะได้เถ้าสีขาวหรือเทา
- 6) นำถ้วยตัวอย่างออกมาใส่ในตู้อบลมร้อน 1 ชั่วโมง แล้วนำออกมาวางในโถดูดความชื้นตามลำดับ เพื่อค่อยๆ ลดอุณหภูมิของตัวอย่างลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง
- 7) ชั่งน้ำหนักตัวอย่างพร้อมฝา บันทึกน้ำหนัก
- 8) คำนวณปริมาณเถ้า

$$\text{เถ้าทั้งหมด (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักเถ้า} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

1.5 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

จากวิธีของ AOAC 40.1.04, 1995

1.5.1 อุปกรณ์

- 1) ตู้อบลมร้อน
- 2) ถ้วยอลูมิเนียมพร้อมฝา
- 3) โถดูดความชื้น

1.5.2 วิธีการทดลอง

- 1) ชั่งน้ำหนักถ้วยอลูมิเนียมพร้อมฝาที่ผ่านการอบแห้งจนมีน้ำหนักคงที่แล้ว บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน
- 2) ตักตัวอย่างใส่ลงในถ้วยอลูมิเนียมประมาณ 2 กรัม เกลี่ยให้ตัวอย่างแผ่ด้วยความสม่ำเสมอ ปิดฝา บันทึกน้ำหนัก
- 3) วางตัวอย่างในตู้อบลมร้อนโดยเปิดฝาด้วยอลูมิเนียมบางส่วน อบที่อุณหภูมิ 130 °C นาน 3 ชั่วโมง
- 4) เมื่อครบเวลา ปิดฝาด้วย แล้วนำตัวอย่างใส่ในโถที่มีสารดูดความชื้น ตั้งทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง (ใช้เวลาประมาณ 45 นาที)
- 5) นำตัวอย่างออกมาชั่ง บันทึกน้ำหนัก
- 6) นำตัวอย่างเข้าอบอีกครั้งประมาณ 30 นาที หลังจากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำไปชั่งน้ำหนัก ถ้าน้ำหนักเปลี่ยนแปลงไปจากครั้งแรกน้อยกว่า 0.003 กรัม ให้ยุติการอบ บันทึกน้ำหนักสุดท้าย

7) คำนวณหาปริมาณความชื้นจากน้ำหนักที่หายไป

$$\text{ความชื้น (\%)} = \frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มแรก} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ})}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มแรก}} \times 100$$

2. วิเคราะห์ปริมาณสารอาหารในเมล็ด ได้แก่ ปริมาณกรดอะมิโนไลซีน

2.1 การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน Lysine

จากวิธีของ AOAC 40.1.03, 2005

2.1.1 อุปกรณ์

- 1) Amino acid analyzer
- 2) Analytical balance Readability to ± 0.1 mg
- 3) Balance Top loading
- 4) Polyethylene Bottle 50 mL
- 5) Digestion tubes Boiling flasks
- 6) Digestion block Heating mantle
- 7) Filter units 0.22 μm (Millex GS, Millipore are suitable)
- 8) Magnetic stirring plate
- 9) pH meter ทำมาตรฐานด้วยสารละลายบัฟเฟอร์
pH 2.0, 4.0 and 7.0
- 10) Reflux condensers
- 11) Rotary evaporator
- 12) Vacuum flask 250 mL
- 13) Glassware Glass beakers, 250 and 1000 mL; Erlenmeyer flask, 150 mL; Round-bottom evaporating flask, 1000 mL; Graduated cylinders, 100, 500 and 1000 mL; Volumetric flask, 1000 mL; Volumetric pipets, 10 and 20 mL
- 14) Sintered glass filter Porosity 10-15 μm
- 15) อ่างน้ำแข็ง
- 16) Syringes

2.1.2 สารเคมี

- 1) กรดฟอร์มิก 88 เปอร์เซ็นต์
- 2) ไฮโดรเจน เปอร์ออกไซด์ 30 เปอร์เซ็นต์
- 3) โซเดียม เมตาไบซัลไฟด์
- 4) ดีแอล- นอลิวซีน
- 5) กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น
- 6) โซเดียมไฮดรอกไซด์

- 7) ฟีนอล
- 8) ไธโอไดกลีคอล- 98 เปอร์เซนต์
- 9) ไตร-โซเดียมซิเตรท ไดไฮเดรท
- 10) pH buffer. pH 2.0, 4.0 and 7.0
- 11) Amino acid standard kit. สำหรับทำมาตรฐาน

2.1.3 วิธีการเตรียมสารเคมี

1) Sodium citrate buffer pH 2.20 โดยชั่ง Sodium citrate dehydrate ปริมาณ 19.60 g ในบีกเกอร์ขนาด 1000 mL และละลายในน้ำ 800 mL แล้วทิ้งไว้พักหนึ่ง หลังจากนั้นเติม 10 mL 98 เปอร์เซนต์ ของ thiodiglycol solution และเติม HCL 15 mL แล้วเปลี่ยนย้ายปริมาณสารเคมีดังกล่าวไปใส่ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 1000 mL และเจือจางด้วยน้ำ แล้วนำสารละลายดังกล่าวไปกรองผ่านแก้วกรองชนิดที่ทนต่อการกัดกร่อนของสารเคมี ขนาด 10-15 μm และปรับ pH เท่ากับ 2.20 โดยใช้ HCL หรือ 2M NaOH

2) สารละลาย Hydrochloric acid-phenol เข้มข้น 6 M โดยชั่ง ผลึกคลิสตัล 1 g ลงในบีกเกอร์ขนาด 1000 mL ทำให้ผลึกละลายด้วยน้ำ 500 mL ทิ้งไว้ 10 นาที แล้วค่อยๆเติม HCL ปริมาตร 500 mL

3) Hydrochloric acid solution

3.1) Hydrochloric acid – 1 M เทน้ำ 800 mL ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 1000 mL แล้วเติม HCL ปริมาตร 83.3 mL โดยใช้ pipet และทำให้เจือจางด้วยน้ำ และทำการผสมให้เข้ากัน

3.2) Hydrochloric acid – 0.1 M เทน้ำ 800 mL ลงในขวดวัดปริมาตร ขนาด 1000 mL และหลังจากนั้นเติม HCL ความเข้มข้น 1 M ปริมาตร 100 mL โดยใช้ pipet และทำให้เจือจางด้วยน้ำ และทำการผสมให้เข้ากัน

4) Sodium hydroxide solution

4.1) Sodium hydroxide -7.5 M โดยชั่ง NaOH 300.0 g ลงในบีกเกอร์ขนาด 1000 mL

4.2) Sodium hydroxide -2 M โดยชั่ง NaOH 80.0 g ลงในบีกเกอร์ขนาด 1000 mL

ค่อย ๆ ทำให้ก้อนกลมเล็กๆของ NaOH ละลายให้หมดด้วยน้ำ 600 mL แล้วรอให้สารละลายเย็นตัวลง แล้วเปลี่ยนถ่ายปริมาณสารละลายดังกล่าวใส่ขวดวัดปริมาตร ขนาด 1000 mL และทำให้เจือจางด้วยน้ำ และทำการผสมให้เข้ากัน

5) Norleucine standard solution ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนซึ่งหนักประมาณ 195-200 mg ของ DL-norleucine crystals ลงใน Erlenmeyer flask ขนาด 150 mL และทำให้ผลึกละลายด้วย 1 M HCL ปริมาตร 100 mL แล้วเปลี่ยนถ่ายปริมาณสารละลายดังกล่าวใส่ Volumetric flask, ขนาด 1000 mL และทำให้เจือจางด้วยน้ำ และทำการผสมให้เข้ากัน

6) Performic acid reagent (เตรียมในตู้ดูดควัน) โดยชั่งผลึกคริสตัล 25 mg ลงในหลอดทดลองขนาด 25 mL หลังจากนั้นเติม 0.5 mL 30 เปอร์เซ็นต์ ของ H_2O_2 โดยใช้ไมโครปิเปต และเติม 4.5 mL 88 เปอร์เซ็นต์ ของสารละลาย Formic แล้วปิดฝาหลอดทดลองด้วยจุกปิด แล้วปล่อยส่วนผสมดังกล่าวทิ้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้น 30 นาที นำหลอดทดลองดังกล่าวไปวางไว้ในอ่างน้ำแข็งและทิ้งไว้ให้เย็นเป็นเวลา 15 นาที ก่อนนำไปใช้ในการวิเคราะห์

2.1.4 Performic Acid Oxidation.

บทความที่ใช้ทดสอบให้ละเอียด นำไปผ่านรูตะแกรงร่อนขนาด 0.25 mm ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่แน่นอนหนัก ประมาณ 100-1000 mg โดยแบ่งส่วนที่นำมาทดสอบให้ใกล้เคียงกับ 0.1 mg (ซึ่งมีค่าเท่ากับ 10 mg ของปริมาณความจุไนโตรเจน) ลงในหลอดทดลองที่ใช้เพื่อการย่อยที่ทำการติดฉลากเรียบร้อยแล้ว

สูตรคำนวณปริมาณที่นำมาทดสอบ

$$W_s = \frac{1000}{N_s}$$

เมื่อ N_s = ปริมาณความจุของไนโตรเจนของตัวอย่างส่วนที่นำมา
 W_s = น้ำหนักของตัวอย่างส่วนที่นำมาทดสอบ ใน 10 mg ของปริมาณความจุไนโตรเจน

และนำหลอดทดลองทุกๆ หลอดไปวางไว้บนเครื่องกวน และวางหลอดทดลองที่สำหรับใช้ย่อยไว้ใน อ่างน้ำแข็ง หลังจากหลอดทดลองทั้งสอง (performic acid และ test portion) เย็นลงอย่างน้อย 15 นาที เติม 5 mL ของ performic acid ลงในหลอดสำหรับย่อย ปิดฝาทุกๆ หลอด แล้วนำไปเขย่า 15 นาที ด้วย Magnetic stirring plate หลังจากนั้นนำหลอดทดลองที่ผ่านการย่อยแล้วไปไว้ในอ่างน้ำแข็งอีกครั้ง แล้วปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน 16 ชั่วโมง หลังจากนั้นเอาฝาปิดจุกออก แล้วเติม Sodium metabisulfite 0.84 g เพื่อไปสลาย performic acid คน และ เขย่าสารละลายเป็นระยะเวลา 15 นาที เพื่อไล่แก๊ส SO_2 ออกมา

2.1.5 Hydrolysis

1) เติม 50 mL ของ 6 M HCl phenol solution สำหรับการทดสอบสารละลาย และ เขย่า หลังจากนั้นเอา stirring bar ซึ่งใช้กับเครื่อง magnetic stirring rod และ ล้างรวมกันลงใน 0.1 M HCl ลงในหลอดทดลอง และเติม 2-3 ชิ้นของ boiling chips เพื่อการทดสอบสารละลาย

2) นำไป Hydrolyze ภายใต้ระบบการไหลของน้ำ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ อุณหภูมิ 110 – 120 องศาเซลเซียส เพื่อทำการย่อย (คำแนะนำ: ควรปฏิบัติในตู้ดูดควันซึ่งมีอากาศหมุนเวียนเพียงพอ)

3) นำหลอดที่ผ่านการย่อยแล้วออกจากระบบที่ร้อน เอามาทำให้เย็นที่ อุณหภูมิห้อง แล้วเติม 20 mL ของ norleucine standard solution ลงในทุกๆหลอดที่ผ่านการ Hydrolysate โดยใช้ volumetric pipet แล้วทำให้ส่วนผสมเข้ากันด้วยการหมุนหลอดทดลอง แล้วดำเนินการในข้อ a, b ตามข้างล่างนี้

(Note: ถ้าต้องการให้ Sodium มีความเข้มข้นต่ำ เพื่อใช้ในการ วิเคราะห์กับเครื่อง chromatography ให้ระเหย HCl อย่างระมัดระวัง ให้ดำเนินการตามข้อ 1) และถ้าไม่ต้องการให้ Sodium มีความเข้มข้นต่ำ สำหรับการดำเนินการกับ neutralization ให้ ดำเนินการตามข้อ 2))

1) กรองตัวอย่างที่ผ่านการ Hydrolysates แล้วโดยกรองผ่าน Sintered glass filter ลงใน evaporating flasks ขนาด 100 mL ที่ทำการติดฉลากไว้เรียบร้อยแล้ว แล้ว ต่อเชื่อมกับ rotary evaporators และทำการระเหยแห้งภายใต้ระบบสุญญากาศ ที่ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สำหรับน้ำ 5.0 mL (Note: ไม่ควรทำให้สารละลายแห้งจนหมด) แล้วนำ flasks ออกจากเครื่องระเหยแห้ง แล้วเติม 50 mL ของสารละลาย Sodium citrate ลงในสารละลายที่ผ่านการระเหยแห้ง แล้วทำการผสมให้เข้ากันแล้วทำการถ่ายเปลี่ยนลงขวดที่ทำการติดฉลากไว้แล้ว ซึ่งมี polyethylene 50 mL แล้วนำไปดำเนินการทดสอบต่อไป หรือแช่เยือกแข็งไว้จนกว่าจะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

2) กรองตัวอย่างที่ผ่านการ Hydrolysates ลงในหลอดสุญญากาศ 250 mL โดยกรองผ่าน Sintered glass filter หลังจากนั้นถ่ายสารตัวอย่างที่ผ่านการกรองลงใน ปีกเกอร์ขนาด 250 mL โดยต้องวางปีกเกอร์ไว้ในอ่างน้ำแข็ง แล้วนำบางส่วนไปทำให้เป็นกลาง โดยการ Hydrolysates ด้วย NaOH 7.5 M ปริมาตร 40 mL แล้วเขย่าให้เข้ากัน (Note: ไม่ควร ให้อุณหภูมิเกิน 40 องศาเซลเซียส) ปรับค่า pH เท่ากับ 2.20 โดยเติม 2 M NaOH แล้วนำไป ดำเนินการทดสอบต่อไป

2.1.6 การวิเคราะห์หาปริมาณ โดย Amino acid analyzer

ทำการเจือจางสารที่ผ่านการระเหยแห้งด้วยขบวนการ Hydrolysates (a) ด้วย Sodium citrate และปรับ pH เท่ากับ 2.20 โดยเติม 2 M NaOH ในขณะที่ neutralized hydrolysates (b) ให้เจือจางด้วยน้ำที่ทราบปริมาณแน่นอนแล้วกรองผ่าน Filter unit ลงใน autosampler tube และฉีดลงในเครื่องวิเคราะห์ (Note: ปริมาตรที่ทราบแน่นอนในการเจือจางจะมีผลต่อการวิเคราะห์)

โนทุกตัว

2.1.7 การคำนวณ

คำนวณการตอบสนองของปัจจัย (RF_{aa}) สำหรับการวิเคราะห์กรดอะมิโน

$$RF_{aa} = \frac{P_n \times W_{aa}}{P_{aa} \times W_n}$$

เมื่อ P_{aa} = peak area of amol/Lino acid
 P_n = peak area of norleucine
 W_{aa} = weight of amol/Lino acid, mg
 W_n = weight of norleucine, mg

คำนวณ internal standard (IS)

$$IS = W_n \times 2 \times 10^{-2}$$

เมื่อ mg norleucine = ปริมาณความจุของ norleucine ใน 20 mL

คำนวณปริมาณ Amino acid (AA) ในตัวอย่างที่ทดสอบ

$$AA, \% = \frac{P_{aa} \times RF_{aa} \times IS \times 100}{P_n \times W_s}$$

เมื่อ P_{aa} = peak area of amino acid
 P_n = peak area of norleucine
 W_s = weight of test portion, mg
 RF_{aa} = amino acid response factor
 IS = internal standard factor

3. วิเคราะห์ปริมาณรงควัตถุในใบ

3.1 ปริมาณคลอโรฟิลล์ และ แคโรทีนอยด์

เก็บตัวอย่างใบพืชเพื่อวิเคราะห์ผลในระย V3, R1, R3 และ R5 ของถั่วเหลือง พันธุ์สร.1 ซม.60 และ สจ.5 ซึ่งระยะข้อที่ 3 : V_3 ซึ่งเป็นระยะก่อนพ่นโอโซน อายุ 21, 26 และ 27 วัน ตามลำดับ, ระยะเริ่มออกดอก : R_1 อายุ 29, 36 และ 38 วัน ตามลำดับ, ระยะเริ่มติดฝัก : R_3 อายุ 47, 57 และ 59 วัน ตามลำดับ และ ระยะเริ่มติดเมล็ด : R_5 อายุ 55, 70 และ 73 วัน ตามลำดับ การวิเคราะห์โดยใช้วิธีของ Yoshida (1976) ดังนี้

3.1.1 ชั่งตัวอย่างพืชสดจำนวน 0.5 กรัม บดในโกร่งบดให้ใบพืชละเอียด สกัดตัวอย่างด้วย 80 % acetone 20 mL

3.1.2 กรองตะกอนออกด้วยเครื่อง Bucher funnel กระดาษกรอง Whatman No.1 ค่อยๆเติม acetone จนไม่มีสีเขียวบนกระดาษกรอง

3.1.3 รินสารละลายลงใน Flask และปรับปริมาตรด้วย acetone ใน volumetric flask ให้ได้ 50 mL

3.1.4 นำมาวัดค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) ที่ความยาวคลื่น 663 นาโนเมตร (Chlorophyll A), 645 นาโนเมตร (chlorophyll B), 470 นาโนเมตร (Carotinoid) ด้วยเครื่อง spectrophotometer เปรียบเทียบกับสารละลายเบลงค์ซึ่งใช้ acetone 80 %

3.1.5 คำนวณค่า Chlorophyll A: Chlorophyll B, Carotinoid และปริมาณ chlorophyll A:B ratio

สูตรการคำนวณ

$$\text{Chlorophyll A} = (12.81 \cdot A_{663}) - (2.81 \cdot A_{645})$$

$$\text{Chlorophyll B} = (20.13 \cdot A_{645}) - (5.03 \cdot A_{663})$$

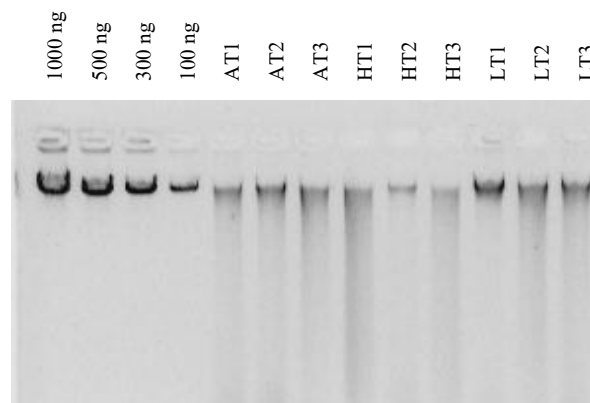
$$\text{Carotinoid} = ((1000 \cdot A_{470}) - (3.27 \cdot \text{Chl a}) - (104 \cdot \text{Chl b}))/229$$

การวิเคราะห์ค่าลักษณะทางพันธุกรรมด้วยวิธี AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

การตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอของตัวอย่างใบถั่วเหลือง AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism)

การตรวจสอบคุณภาพและปริมาณดีเอ็นเอของตัวอย่างใบถั่วเหลือง

ตรวจสอบคุณภาพและปริมาณของดีเอ็นเอ โดยการเปรียบเทียบกับดีเอ็นเอมาตรฐานที่ทราบความเข้มข้น โดยใช้ 1% Agarose Gel Electrophoresis และย้อมแผ่นเจลด้วยสารละลาย ethidium bromide ตรวจสอบแถบดีเอ็นเอบนแผ่น agarose gel โดยส่องด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต บันทึกผลด้วยการถ่ายภาพ



ภาพที่ 1 : การตรวจสอบคุณภาพและปริมาณของดีเอ็นเอของถั่วเหลือง จำนวน 9 ตัวอย่าง

การเตรียม ดีเอ็นเอต้นแบบ

1. Digestion : ใช้ genomic DNA ของถั่วเหลือง ประมาณ 100 ng นำมาตัดด้วยเอนไซม์ตัดจำเพาะ 2 ชนิดคือ *EcoRI* และ *MseI* โดยใช้เอนไซม์ชนิดละ 10 unit ในบัฟเฟอร์ A (Borhringer Mannheim: Roche) (33 mM Tris-HCl pH 7.5, 10 mM KCl, 0.5mM DTT) ในปริมาตร 25 μ l นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 3 ชั่วโมง แบ่ง DNA ที่ผ่านการตัดแล้ว จำนวน 10 μ l ไปตรวจดูว่ามีการตัดที่สมบูรณ์หรือไม่โดยใช้ 1% agarose gel electrophoresis





ภาพที่ 2 : การตรวจสอบสภาพการตัดดีเอ็นเอของหัวเหลียงด้วย เอนไซม์ตัดจำเพาะ

2. Ligation : นำ DNA ที่ตัดสมบูรณ์แล้ว (เหลือปริมาตร 15 μ l) มาต่อด้วย Adapter ที่มีลำดับเบสตรงกับลำดับเบสของตำแหน่งตัดของเอนไซม์ตัดจำเพาะทั้งสองชนิด โดยการเติม 10 μ l ของสารที่ประกอบด้วย 7.5 pmol EcoRI-adapter, 75 pmol MseI-adapter, 1.2 mM ATP, 1X ligase buffer, 1.2 mM ATP และ เอนไซม์ T4- DNA ligase 2 unit จากนั้นจึงนำไปนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 3 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลา นำ DNA ดังกล่าวมาเจือจางลง 100 เท่า ด้วย dH₂O เพื่อใช้เป็น ดีเอ็นเอต้นแบบ (DNA template) ในการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการโดยใช้ คู่ primer ต่างๆ

การเพิ่มปริมาณชิ้นส่วน DNA ที่ต้องการ

1. Preselective : ทำการคัดเลือกชิ้นส่วน DNA โดยใช้ primer ที่มีเบสคัดเลือกว่าจำนวน 1-1 base คือ ER-A : MS-A และ ER-A : MS-C

นำ DNA template มาทำการเพิ่มปริมาณ โดยมี PCR condition ดังนี้ : ในปฏิกิริยาการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการนั้นจะประกอบไปด้วย DNA ที่เจือจางแล้ว 3 μ l, primer (forward&reward) สายละ 0.25 μ M, 1X Taq buffer, 1.5 mM $MgCl_2$, 200 μ M dNTPs, และ เอนไซม์ Taq DNA polymerase 0.3 unit ในปริมาตรทั้งหมด 10 μ l

เมื่อผสมองค์ประกอบต่างๆเข้าด้วยกันแล้ว จึงนำไปใส่ในเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (GeneAmp^R PCR System 9700 (Applied Biosystem)) ซึ่งมีอุณหภูมิต่างๆดังนี้คือ

50 °C	5 นาที	} 24 รอบ
94 °C	3 นาที	
94 °C	30 วินาที	
56 °C	1 นาที	
72 °C	1 นาที	
72 °C	5 นาที	

เมื่อเสร็จสิ้นปฏิกิริยา PCR ให้นำ PCR product ที่ได้มาเจือจางด้วย dH_2O 100 เท่า แล้วจึงเก็บไว้เป็น DNA template สำหรับขั้นตอนต่อไป

2. Selective : ทำการคัดเลือกชิ้นส่วน DNA โดยใช้ primer ที่มีเบสคัดเลือกว่าจำนวน 3-3 base โดยใช้จำนวน primer ทั้งหมด 6 คู่ primer ดังนี้
 1. AAC-ACT
 2. AGG-AAA
 3. AGG-AAC
 4. AAC-CAA
 5. AAC-CTT
 6. AGG-CAC

ในปฏิกิริยาการเพิ่มปริมาณชิ้นส่วนดีเอ็นเอที่ต้องการนั้นจะประกอบไปด้วย DNA ที่เจือจางแล้ว (จากขั้นตอนที่ 1) ปริมาตร 2 μl , primer (forward & reward) สายละ 0.25 μM , 1X Taq buffer, 1.5 mM MgCl_2 , 200 μM dNTPs, และเอนไซม์ Taq DNA polymerase 0.3 unit ในปริมาตรทั้งหมด 10 μl เมื่อผสมองค์ประกอบต่างๆเข้าด้วยกันแล้ว จึงนำไปใส่ในเครื่องควบคุมอุณหภูมิ (GeneAmp^R PCR System 9700 (Applied Biosystem)) ซึ่งมีอุณหภูมิต่างๆดังนี้คือ

94 °C	30 วินาที	}	9 รอบ โดยลด Annealing Temperature ลง 1 °C ทุกรอบ
65 °C	30 วินาที		
72 °C	1 นาที		
94 °C	30 วินาที	}	30 รอบ
56 °C	30 วินาที		
72 °C	1 นาที		
4 °C	hold		

หลังเสร็จสิ้นปฏิกิริยา หยดปฏิกิริยาด้วย 5 μl Loading buffer (10 mM EDTA (pH 8.0), 98% formamide, Bromophenol Blue & Xylene cyanol)

ตรวจสอบผลการทำ PCR โดยใช้ 4.5 % Polyacrylamide Gel Electrophoresis : silver staining

การวิเคราะห์ผล

ทำการให้คะแนนแถบดีเอ็นเอที่ปรากฏในแผ่นเจลเปรียบเทียบกับระหว่างตัวอย่าง ถั่วเหลือง 9 ตัวอย่างในตำแหน่งเดียวกัน ถ้าปรากฏแถบดีเอ็นเอ ให้คะแนน 1 ถ้าไม่ปรากฏแถบ ดีเอ็นเอ ให้คะแนน 0 โดยจะเลือกให้คะแนนเฉพาะแถบดีเอ็นเอที่เห็นชัดเจน

นำผลการให้คะแนนแถบดีเอ็นเอดังกล่าวไปวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างตัวอย่าง ถั่วเหลือง ทั้ง 9 ตัวอย่าง โดยใช้ program NTSYSpc for Windows Version 2.01e รายงานผลเป็น Phylogenetic tree ของตัวอย่างถั่วเหลือง

บทความที่ได้ตีพิมพ์เผยแพร่แล้ว จำนวน 2 ผลงาน

