

อุปกรณ์และวิธีการ

1. พันธุ์ที่ใช้และการปลูกปฏิบัติดูแลรักษา

พันธุ์ถั่วลิสงที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ ประกอบด้วยพันธุ์พ่อแม่ (P) จำนวน 8 พันธุ์ ลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) จำนวน 4 คู่ผสม ลูกผสมย้อนพันธุ์แม่ (BC_{11}) จำนวน 4 คู่ผสม ลูกผสมย้อนพันธุ์พ่อ (BC_{12}) จำนวน 4 คู่ผสม และลูกผสมชั่วที่ 2 (F_2) จำนวน 16 คู่ผสม ซึ่งได้มาจากการผสมแบบ $M \times N$ mating design (Simmonds, 1981) พันธุ์แม่เป็นพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง และปรับตัวได้ดีกับสภาพแวดล้อมของประเทศไทย แต่อ่อนแอต่อโรคราสนิม ได้แก่ พันธุ์ Khon Kaen 60-1, Khon Kaen 60-2, Lampang และ Tainan 9 (กรมวิชาการเกษตร, 2536) พันธุ์พ่อเป็นพันธุ์ที่มีความต้านทานต่อโรคราสนิม ได้แก่ พันธุ์ DHT 200, ICG(FDRS)-24, (M145 x NCAC 17090)-B₂-B₁-B₂-2B₁-39C-2 และ NCAC 17090 (Wongkaew and Kantrong, 1988) จากลูกผสมชั่วแรกที่ได้ 16 คู่ผสม (16 F_1) แบ่งเมล็ดออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 ปลูกให้ผสมตัวเองทั้ง 16 คู่ผสม เพื่อผลิตลูกผสมชั่วที่ 2 (16 F_2) ส่วนที่ 2 คัดเลือกไว้ 4 คู่ผสม คือ Khon Kaen 60-1 x NCAC 17090, Khon Kaen 60-2 x NCAC 17090, Lampang x NCAC 17090 และ Tainan 9 x NCAC 17090 ทำการผสมย้อน (backcross) กลับไปหาพันธุ์พ่อแม่ทั้งสองเพื่อผลิตลูกผสมย้อน (4 BC_{12} และ 4 BC_{11} ตามลำดับ)

สายพันธุ์ที่นำมาใช้ในการประเมินลักษณะความต้านทานต่อโรคราสนิม และลักษณะทางเกษตรประกอบด้วย ลูกผสมชั่วที่ 2, ลูกผสมย้อนพันธุ์พ่อแม่, ลูกผสมชั่วที่ 1 และพันธุ์พ่อแม่ รวมทั้งสิ้น 36 สายพันธุ์ ใช้แผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block มี 4 ซ้ำ ขนาดแปลงย่อย 1 x 5 ตร.ม. ระยะปลูก 50 x 20 ซม. 1 เมล็ดต่อหลุม เว้นระยะห่างระหว่างแปลงย่อย 1 แถว

ก่อนปลูกใส่ปุ๋ยขาวอัตรา 100 กิโลกรัมต่อไร่ โดยวิธีหว่านพร้อมการไถเตรียมดิน และใส่ปุ๋ยเคมีอัตรา 3-9-6 กิโลกรัมต่อไร่ของ N-P₂O₅-K₂O พร้อมการเตรียมดินครั้งสุดท้ายโดยวิธีหว่านแล้วพรวนดินกลับ คลุกเมล็ดพันธุ์ก่อนปลูกด้วย benomyl ผสม carboxin

อัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนัก ประมาณ 3 กรัมต่อเมล็ดพันธุ์ 1 กิโลกรัม คายหญ้า กำจัดวัชพืชเมื่อถั่วลิสงอายุประมาณ 20 วัน และเมื่อถั่วลิสงอายุประมาณ 35 วัน ใส่ ยิบซัมอัตรา 40 กิโลกรัมต่อไร่ และ carbofuran 3% G อัตรา 5 กิโลกรัมต่อไร่ โดย โรยข้างแถวพร้อมการกลบดิน ใช้สารเคมี monocrotophos อัตรา 20 ซีซีต่อน้ำ 20 ลิตร ฉีดพ่นเมื่อพบแมลงศัตรูพืชระบาด ใช้สารเคมี benomyl และ captan ตามอัตราที่ แนะนำ ฉีดพ่นสลับกันทุก 15 วัน เพื่อควบคุมโรคใบจุด เก็บเกี่ยวถั่วลิสงแต่ละสายพันธุ์ เมื่อถึงอายุเก็บเกี่ยวของสายพันธุ์นั้นๆ ตากฝักถั่วลิสงกลางแจ้งบนลานซีเมนต์เป็นเวลา 5-7 วัน

2. การบันทึกข้อมูล

2.1 ลักษณะความต้านทานโรคราสนิม

- คะแนนการเป็นโรค วัดจากถั่วลิสงทุกต้นในแปลงปลูกเมื่อถั่วลิสงอายุ 70 และ 80 วัน ใช้ค่าคะแนนตามระบบของ ICRISAT (ภาพผนวกที่ 1) คือ มีคะแนน 1-9 โดยที่ 1 = ไม่เป็นโรค และ 9 = เป็นโรครุนแรงที่สุด (Subrahmanyam *et al.*, 1983b)
- ขนาดของแผลเฉลี่ย (มิลลิเมตร) หลังจากวัดค่าคะแนนการเป็นโรคเมื่อ ถั่วลิสงอายุ 80 วันแล้ว ตัดใบที่ 4 หรือ 5 ที่แผ่เต็มที่แล้ว (fully expanded leaf) ของลำต้นหลักของถั่วลิสงทุกต้นมาสุ่มวัดขนาดแผล 4 แผลต่อใบถั่วลิสง ภายใต้อุปกรณ์ stereomicroscope ที่มี micrometer อยู่ภายใน แล้วหาค่าเฉลี่ยของขนาดแผลแต่ละใบ

2.2 ลักษณะทางเกษตร วัดจากถั่วลิสงทุกต้นในแต่ละแปลงย่อย โดยหลังจากเก็บเกี่ยวถั่วลิสงแล้วคัดเฉพาะฝักแก่ (mature pod) เพื่อวัดลักษณะต่างๆ ได้แก่

- จำนวนฝักต่อต้น
- น้ำหนักฝักแห้งต่อต้น (กรัม)
- ความยาวฝักเฉลี่ย (เซนติเมตร) โดยวัดจากความยาวของ 10 ฝัก แล้ว นำมาหาค่าเฉลี่ย

- น้ำหนักเมล็ดต่อต้น (กรัม)
- ขนาดเมล็ด โดยวัดจากน้ำหนัก (กรัม) ต่อ 100 เมล็ด
- เปอร์เซ็นต์การกะเทาะ ซึ่งคำนวณได้จาก

$$\text{เปอร์เซ็นต์การกะเทาะ (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักเมล็ด}}{\text{น้ำหนักฝักแห้ง}} \times 100$$

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

3.1 การวิเคราะห์ความสามารถในการรวมตัว (combining ability analysis)

ในการวิเคราะห์ความสามารถในการรวมตัวในแต่ละลักษณะ ทำโดยใช้ข้อมูลของพันธุ์พ่อแม่และลูกผสมซ้ำที่ 2 แต่ละต้น มาวิเคราะห์ข้อมูลลูกผสมแบบ M x N mating design หรือ North Carolina Design II ทดสอบความแตกต่างระหว่างพันธุ์โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) และคำนวณค่าสัมประสิทธิ์ความแปรปรวน (coefficient of variation; C.V.) ทุกลักษณะ (ตารางที่ 1)

Statistical model ที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ

$$Y = M + G_i + G_j + S_{ij}$$

เมื่อ Y = ค่าเฉลี่ยของคู่ผสมที่ ij

M = ค่าเฉลี่ยของประชากรที่ใช้ในการศึกษา

G_i, G_j = อิทธิพลที่เนื่องมาจากความสามารถในการรวมตัวทั่วไป
(general combining ability effect) ของพันธุ์ที่ i
หรือพันธุ์ที่ j

S_{ij} = อิทธิพลที่เนื่องมาจากความสามารถในการรวมตัวเฉพาะ
(specific combining ability effect) ของคู่ผสม
ที่ ij

ตารางที่ 1 Analysis of variance และ expected mean square (EMS) ของ
การวิเคราะห์ความสามารถในการรวมตัว

Source of variation	df	MS	EMS
Replications	(r-1)		
Among parents	(mn-1)	M5	
Males	(m-1)	M4	$\sigma^2 + rnK^2_m$
Females	(n-1)	M3	$\sigma^2 + rmK^2_n$
Females x Males	(m-1)(n-1)	M2	$\sigma^2 + rK^2_{mn}$
Error	(mn-1)(r-1)	M1	σ^2
Total	rmn-1		

3.2 การประเมินค่าความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะ (heritability)

ทำการประเมินค่าความสามารถในการถ่ายทอดลักษณะแบบแคบ (narrow sense heritability; h^2_n) ของลักษณะต่างๆในแต่ละคู่ผสม โดยคำนวณจากสูตร

$$h^2_n = \left[\frac{2 \sigma^2_{F_2} - (\sigma^2_{BC_{11}} + \sigma^2_{BC_{12}})}{\sigma^2_{F_2}} \right] \times 100$$

เมื่อ $\sigma^2_{F_2}$ = ความแปรปรวนระหว่างต้นในลูกผสมชั่วที่ 2 ซึ่งเป็นความแปรปรวนที่เนื่องมาจาก genotype และสภาพแวดล้อม

$\sigma^2_{BC_{11}}$, $\sigma^2_{BC_{12}}$ = ความแปรปรวนระหว่างต้นในลูกผสมย้อนพันธุ์พ่อแม่ ซึ่งเป็นความแปรปรวนที่เนื่องมาจาก genotype และสภาพแวดล้อม

ค่า $\sigma^2 F_2$ และ $\sigma^2 BC_{11}$, $\sigma^2 BC_{12}$ ประมาณได้จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนของแต่ละลักษณะของลูกผสมชั่วที่ 2 และของลูกผสมย้อนพันธุ์พ่อแม่ โดยใช้ข้อมูลที่ได้จากแต่ละต้น แยกวิเคราะห์แต่ละคู่ผสม ใช้วิธีการวิเคราะห์ตามแผนการทดลองแบบ Completely Randomized โดยใช้ซ้ำ (block) เป็น classes หากข้อมูลที่ใช้ในการวิเคราะห์เป็นข้อมูลลูกผสมคู่ใด error mean square ก็คือความแปรปรวน (variance) ของลูกผสมคู่นั้น (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 Analysis of variance ที่ใช้ในการหาค่า variance ของแต่ละคู่ผสม

Source	df	MS
Among classes (blocks)	(t-1)	MST
Among plants within classes	t(r-1)	MSE = $\sigma^2 F_2$ หรือ $\sigma^2 BC_{11}$, $\sigma^2 BC_{12}$

เมื่อ t = จำนวนซ้ำในการทดสอบแต่ละคู่ผสม

r = จำนวนต้นในแต่ละซ้ำ