บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเปรียบเทียบสายพันธุ์ถั่วเหลืองอายุสั้น

3.1.1 การทดสอบสายพันธุ์ถั่วเหลืองอายุสั้นใน 2 สถานที่

การทดลองนี้เป็นการทดลองต่อเนื่องจากการปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองอายุสั้นให้มีอายุออกดอกยาว จากการปลูกทดสอบ 24 สายพันธุ์ในหลายท้องที่ แล้วพบว่ามี 11 สายพันธุ์ที่มีลักษณะอายุออกดอกยาว และมีอายุเก็บเกี่ยวใกล้เคียงกับถั่วเหลืองอายุสั้นที่ปลูกในปัจจุบัน (ฐิติพร มะชิโกวา และไพศาล เหล่าสุวรรณ, 2550) โดยมีวิธีการทดลองดังนี้

1. นำสายพันธุ์ถั่วเหลืองอายุสั้นที่ผ่านการปลูกทดสอบจำนวน 11 สายพันธุ์ ได้แก่ C-2101, C-2109, M-2209, C-3105, C-3108, C-3110, C-3117, M-3202, M-3213, M-3215 และ M-3217 ปลูกทดสอบร่วมกับพันธุ์เปรียบเทียบ 4 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์อายุสั้น 3 พันธุ์ คือ พันธุ์เชียงใหม่ 2 (ชม 2), นครสวรรค์ 1 (นว 1) และศรีสำโรง 1 และพันธุ์อายุปานกลางที่นิยมปลูก คือ พันธุ์ สจ 5 ปลูกเปรียบเทียบในเดือนกันยายน 2551 โดยปลูกทดสอบ 2 สถานที่ คือฟาร์มมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบลอก (Randomized Complete Block Design: RCBD) จำนวน 4 ซ้ำ

2. วิธีการปลูก นำเมล็ดถั่วเหลืองทั้ง 11 สายพันธุ์ คลุกเชื้อไรโซเบียมที่ใช้สำหรับถั่วเหลือง จากนั้นปลูกแปลงละ 5 แถว แถวยาว 5 เมตร มีระยะปลูกระหว่างแถวและระหว่างต้น 50 × 20 ซม. ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 12-24-12 อัตรา 15 กก./ไร่ แล้วให้น้ำทันทีหลังจากปลูก จากนั้นฉีดพ่นสารเคมีควบคุมวัชพืชก่อนงอก เมื่อต้นถั่วเหลืองมีอายุ 15 วัน ถอนแยกให้เหลือ 2 ต้นต่อหลุม พร้อมทั้งกำจัดวัชพืช และใส่ปุ๋ยเคมีครั้งที่ 2 สูตร 12-24-12 อัตรา 15 กก./ไร่ ในระยะออกดอกมีการระบาดของหนอนม้วนใบ ทำการฉีดพ่นสารเคมีป้องกันกำจัดแมลง

3. การบันทึกลักษณะ ทำการบันทึกลักษณะต่าง ๆ ดังนี้

1) อายุออกดอก บันทึกโดยนับจากวันปลูกถึงวันออกดอกแรกของถั่วเหลือง 10 ต้น ภายในแต่ละแปลงย่อยของแต่ละสายพันธุ์แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

2) อายุเก็บเกี่ยว บันทึกอายุตั้งแต่วันปลูกถึงวันฝักเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีน้ำตาล 95% ของแต่ละแปลงย่อย

3) ความสูง ในระยะเก็บเกี่ยววัดความสูงต้นถั่วเหลืองโดยสุ่มวัดจาก 10 ต้น ทำการวัดจากระดับพื้นดินจนถึงยอดของลำต้นหลักเป็นเซนติเมตร จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ย

4) จำนวนกิ่งต่อต้น สุ่มวัดถั่วเหลือง 10 ต้น จากแต่ละซ้ำของแต่ละสายพันธุ์ นับจำนวนกิ่งบนลำต้นหลัก จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ยของจำนวนกิ่งต่อต้น

5) จำนวนฝักต่อต้น สุ่มถั่วเหลือง 10 ต้น จากแต่ละแปลงย่อยของแต่ละสายพันธุ์ นับจำนวนฝักต่อต้น จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ยของจำนวนฝักต่อต้น

6) ขนาดเมล็ด หรือน้ำหนัก 100 เมล็ด หลังจากนวดเมล็ดและลดความชื้นจนเหลือ 12% สุ่มเมล็ดจากแต่ละซ้ำ โดยสุ่ม 3 ซ้ำ ซ้ำละ 100 เมล็ด นำไปชั่งแล้วหาค่าเฉลี่ยของแต่ละซ้ำ

7) ผลผลิต ในระยะสุกแก่ทำการเก็บเกี่ยวถั่วเหลืองเฉพาะต้นใน 3 แถวกลางของแต่ละแปลงย่อย ต้นที่เก็บเกี่ยวมาแล้วนำมาตากแดดให้แห้งสนิท แล้วนวดเมล็ดแล้วนำมาอบลดความชื้นให้เหลือ 12% จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักเป็นกรัมต่อพื้นที่แล้วคำนวณเป็นกิโลกรัมต่อไร่

8) น้ำหนักแห้ง (กรัม/แปลงย่อย) ในระยะเก็บเกี่ยวทำการสุ่มตัดต้นถั่วเหลือง 10 ต้น นำมาอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 48 ชั่วโมง จากนั้นชั่งน้ำหนักแห้งรวมของแต่ละแปลงย่อย

9) ดัชนีเก็บเกี่ยว (Harvest Index; HI) นำตัวอย่างจากข้อ 10 มานวดแล้ว แยกชั่งระหว่างน้ำหนักเมล็ด และน้ำหนักต้นแห้ง (น้ำหนักแห้งทั้งต้นในระยะเก็บเกี่ยว ไม่ได้รวมใบที่ร่วงในระยะเจริญเติบโต) โดยใช้สมการ

$$\text{Harvest Index (HI)} = (\text{Seed Yield} / \text{Biological Yield}) \times 100$$

นำข้อมูลที่ทำการบันทึกจากทั้ง 2 สภาพแวดล้อม มาวิเคราะห์วาเรียนซ์ โดยวิเคราะห์วาเรียนซ์ร่วมทั้งสองสถานที่ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของลักษณะต่าง ๆ ของ 11 สายพันธุ์ โดยใช้โปรแกรม SPSS V. 13 (Levesque and SPSS Inc, 2006) แล้วคัดเลือกพันธุ์อายุสั้นที่ตรงตามลักษณะที่ต้องการไว้ 9 สายพันธุ์เพื่อทำการทดสอบใน regional yield trial ต่อไป

3.1.2 การทดสอบสายพันธุ์ถั่วเหลืองอายุสั้นหลายท้องที่

จากการปลูกทดสอบใน 2 สถานที่ พบว่ามีหลายสายพันธุ์ที่มีลักษณะทางการเกษตรดี และมีศักยภาพในการให้ผลผลิตสูงจำนวน 9 สายพันธุ์ จากนั้นนำมาปลูกทดสอบในหลายท้องที่ (regional yield trial) เพื่อทดสอบศักยภาพของสายพันธุ์ในพื้นที่หลังเก็บเกี่ยวข้าว 5 สถานที่ ได้แก่ ขอนแก่น สุรินทร์ เลย อุบล และนครราชสีมา โดยในการปลูกแต่ละท้องที่ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก (Randomized complete block design; RCBD) จำนวน 4 ซ้ำ มีวิธีการปลูกคือ ปลูกแปลงละ 6 แถว แถวยาว 5 เมตร ระยะปลูกระหว่างแถวและระหว่างต้น 50 × 20 ซม. ก่อนปลูกนำเมล็ดมาคลุกเชื้อไรโซเบียม ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 12–24–12 อัตรา 15 กก./ไร่ พร้อมปลูก เมื่อปลูกแล้วให้น้ำทันที จากนั้นฉีดพ่นสารเคมีควบคุมวัชพืชก่อนงอก เมื่อต้นถั่วเหลืองมีอายุ 15 วัน ทำการถอนแยกให้เหลือจำนวน 2 ต้นต่อหลุม พร้อมกับให้ปุ๋ยสูตร 12–24–12 อีกครั้ง อัตรา 15 กก./ไร่ พร้อมกำจัดวัชพืช ฉีดพ่นสารเคมีป้องกันและกำจัดแมลงในช่วงก่อนออกดอก เนื่องจากมีการระบาดของหนอนม้วนใบ

การบันทึกลักษณะต่าง ๆ ทำการบันทึก 3 ลักษณะ ได้แก่ อายุออกดอก น้ำหนัก 100 เมล็ด และผลผลิต ซึ่งวิธีการเก็บข้อมูลแสดงในการทดลองที่ 3.1.1

การวิเคราะห์ข้อมูลโดยนำลักษณะต่าง ๆ ที่เก็บข้อมูลมาวิเคราะห์ร่วม 5 สถานที่ เพื่อวิเคราะห์วาเรียนซ์ วิเคราะห์วาเรียนซ์ร่วมทั้ง 5 สถานที่ พร้อมทั้งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของอายุออกดอก น้ำหนัก 100 เมล็ด และผลผลิต ของ 9 สายพันธุ์ โดยใช้โปรแกรม SPSS V. 13 (Levesque and SPSS Inc., 2006) เพื่อทดสอบการปรับตัว ลักษณะทางการเกษตร และศักยภาพในการให้ผลผลิตของถั่วเหลืองสายพันธุ์อายุสั้น หากสายพันธุ์ใดมีลักษณะอายุสั้น ลักษณะทางพืชไร่ดี และให้ผลผลิตสูงในทุกสถานที่ คัดเลือกเพื่อทดสอบเพิ่มเติม และขยายพันธุ์ต่อไป

3.2 การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองอายุสั้นให้มีลักษณะองค์ประกอบผลผลิตสูง

นำพันธุ์หรือสายพันธุ์อายุสั้น อายุปานกลาง และอายุยาว มาปรับปรุงให้อายุสั้นโดยวิธีการคัดหนึ่งเมล็ดต่อต้นร่วมกับวิธีการผสมกลับ ซึ่งแบ่งเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

3.2.1 การปรับปรุงถั่วเหลืองอายุสั้นโดยวิธีการคัดหนึ่งเมล็ดต่อต้นและวิธีการผสมกลับ

1. พันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ พันธุ์อายุสั้น : เชียงใหม่ 2 (ชม 2), นครสวรรค์ 1 (นว 1) พันธุ์อายุปานกลาง : สจ 5 และพันธุ์อายุยาว : LJ 4 นำทั้ง 4 พันธุ์มาทำการผสมข้ามพันธุ์จำนวน 2 คู่ผสมคือ คู่ผสม ชม 2 × สจ 5 และ นว 1 × LJ4

2. เมื่อได้เมล็ดชั่วที่ 1 (F_1) ปลูกให้ผสมตัวเองได้เมล็ดในชั่วที่ 2 (F_2) จากนั้นนำเมล็ด F_2 ของทั้งสองคู่ผสมมาปลูกในแปลงปลูก โดยคู่ผสมที่ 1 มีจำนวน 1,190 ต้น คู่ผสมที่ 2 จำนวน 1,325 ต้น เพื่อคัดเลือกโดยวิธีการ single seed descent โดยมีพันธุ์อายุสั้นเป็นพันธุ์เปรียบเทียบ และมีเกณฑ์ในการคัดเลือกคือ คัดเลือกต้นที่มีอายุเก็บเกี่ยวสั้น มีทรงพุ่มใหญ่กว่าพันธุ์อายุสั้นที่เป็นพ่อ-แม่พันธุ์ (ชม 2 และ นว 1) และมีจำนวนกิ่งต่อต้นสูง ทำการคัดเลือกเช่นนี้จำนวน 2 ชั่วอายุ ซึ่งเมล็ดที่ได้จากการคัดเลือกจะเป็นเมล็ดในชั่วที่ 4 (F_4) แสดงดังรูปที่ 1

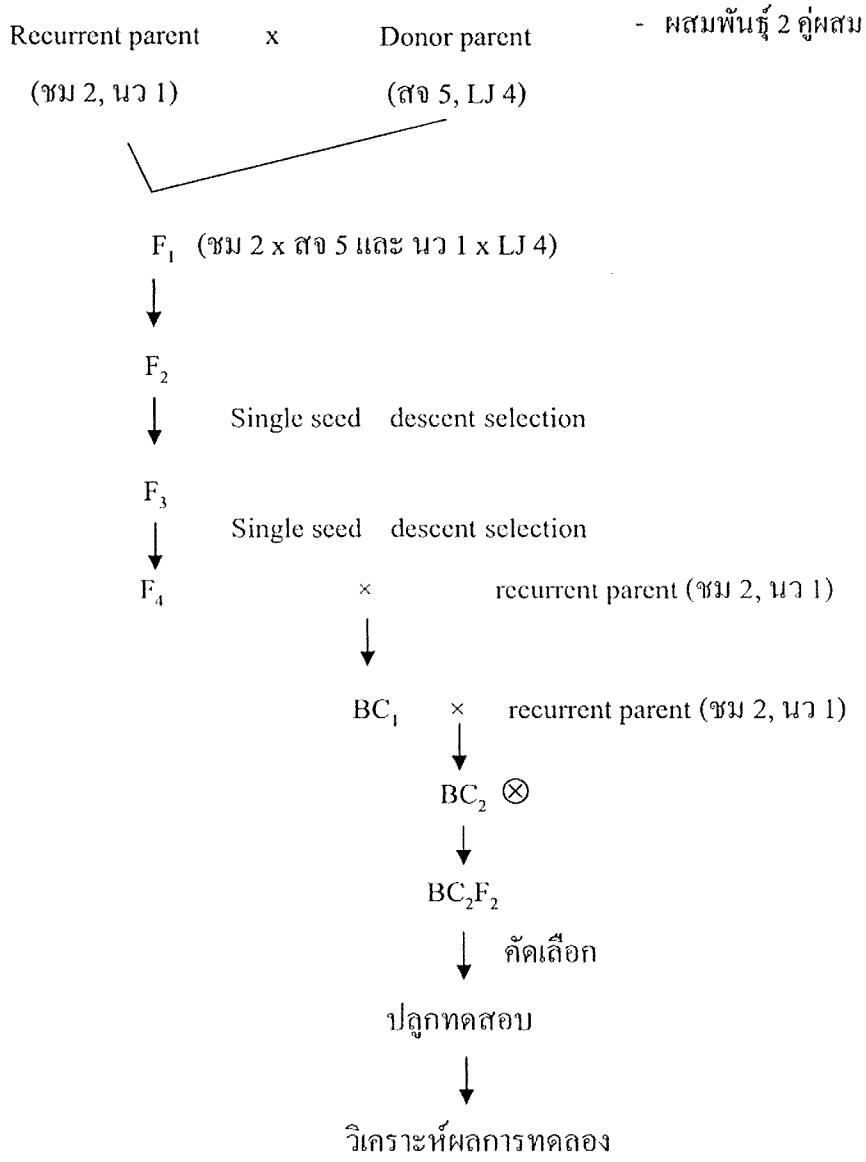
3. นำเมล็ดในชั่วที่ 4 ที่ผ่านการคัดเลือกปลูกในแปลง แล้วคัดเลือกถั่วเหลืองต้นที่มีทรงพุ่มใหญ่และมีกิ่งต่อต้นสูง แล้วทำการผสมกลับไปยังพันธุ์อายุสั้น 2 รอบ โดยให้พันธุ์อายุสั้น (ชม 2, นว 1) เป็นพันธุ์รับ ในการคัดเลือกแต่ละรอบจะใช้หลักเกณฑ์ในการพิจารณาเช่นเดียวกับการคัดเลือกที่ผ่านมาคือ คัดเลือกต้นที่มีทรงพุ่มใหญ่ จำนวนกิ่งต่อต้นสูง และมีอายุเก็บเกี่ยวสั้น จนได้เมล็ด BC_2

4. นำเมล็ด BC_2 มาปลูกแล้วคัดเลือกต้นที่ตรงตามความต้องการ ปล่อยให้ผสมตัวเอง จะได้เมล็ด BC_2F_2 ซึ่งจะมีจำนวนเมล็ดมากพอที่จะนำไปทดสอบ ดังแสดงในรูปที่ 1

5. นำเมล็ดที่ได้จากข้อ 4. ปลูกทดสอบในสภาพแปลงโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบลอค (RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำปลูก 3 แถว แถวละ 5 เมตร ก่อนปลูกนำเมล็ดมาคลุกเชื้อไรโซเบียม และใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 12–24–12 อัตรา 15 กก./ไร่ พร้อมปลูก เมื่อปลูกแล้วให้น้ำทันที จากนั้นฉีด

243957

พ่นสารเคมีควบคุมวัชพืชก่อนงอก เมื่อต้นถั่วเหลืองมีอายุ 15 วัน ทำการถอนแยกให้เหลือจำนวน 2 ต้นต่อหลุม พร้อมกับให้ปุ๋ยสูตร 12–24–12 อีกครั้ง อัตรา 15 กก./ไร่ พร้อมกำจัดวัชพืช



รูปที่ 3.1 แผนการคัดเลือกเพื่อปรับปรุงพันธุ์อายุสั้นให้มีทรงพุ่มใหญ่ และมีจำนวนกิ่งต่อต้นสูงขึ้น

6. การบันทึกลักษณะต่าง ๆ ได้แก่ อายุออกดอก อายุเก็บเกี่ยว ความสูง จำนวนกิ่งต่อต้น จำนวนฝักต่อต้น และผลผลิตต่อไร่ (คำนวณจากพื้นที่ 7.5 ตรม.) โดยมีวิธีการเก็บข้อมูลของลักษณะต่าง ๆ ดังการทดลองที่ 3.1.1

7. การวิเคราะห์ข้อมูล โดยนำลักษณะต่าง ๆ ที่เก็บข้อมูลมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ โดยใช้

โปรแกรม SPSS V.13 (Levesque and SPSS Inc., 2006) พร้อมทั้งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของลักษณะต่าง ๆ ระหว่างสายพันธุ์ที่ได้จากการคัดเลือกกับพันธุ์เปรียบเทียบ โดยวิธี DMRT หากสายพันธุ์ใดให้ลักษณะอายุเก็บเกี่ยวสั้น มีทรงพุ่มใหญ่ มีจำนวนกิ่ง และให้ผลผลิตสูง เก็บไว้เพื่อทดสอบสายพันธุ์ต่อไป

3.2.2 การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองอายุยาวให้มีอายุเก็บเกี่ยวสั้นโดยวิธีการผสมกลับ

การปรับปรุงพันธุ์นี้มีวัตถุประสงค์เพื่อให้ได้ถั่วเหลืองที่มีลักษณะ ใกล้เคียงพันธุ์อายุยาว แต่มีอายุเก็บเกี่ยวใกล้เคียงกับพันธุ์อายุสั้น โดยใช้ สจ 5 × ชม 2, มข 35 × ชม 2 แล้วผสมกลับไปยังพันธุ์อายุยาวทุกรอบของการผสมกลับ ทำการคัดเลือกต้นที่มีอายุเก็บเกี่ยวสั้น ทรงต้นใหญ่ มีกิ่ง และผลผลิตสูงไว้ ดังรายละเอียดดังนี้

1. พันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ พันธุ์อายุสั้น : เชียงใหม่ 2 (ชม 2) และพันธุ์ที่มีลักษณะต่าง ๆ ดีอยู่แล้วคือ มีต้นสูงใหญ่ จำนวนกิ่งต่อต้น และผลผลิตสูง แต่มีอายุค่อนข้างยาว ได้แก่ พันธุ์อายุปานกลาง (สจ 5) และพันธุ์อายุยาว (มข 35) นำ 3 พันธุ์มาผสมข้ามพันธุ์ได้ 2 คู่ผสมคือ ชม 2 × สจ 5 และ ชม 2 × มข 35

2. เมื่อได้เมล็ดชั่วที่ 1 (F_1) นำมาปลูกแล้วในระยะออกดอกทำการผสมกลับไปยังพันธุ์อายุยาว (สจ 5 และ มข 35) จำนวน 2 รอบ โดยให้พันธุ์อายุยาวทั้งสองพันธุ์นี้เป็นพันธุ์รับ และในการคัดเลือกแต่ละรอบจะใช้หลักเกณฑ์ในการพิจารณาคือ คัดเลือกต้นที่มีต้นโต จำนวนกิ่งต่อต้นสูง ใกล้เคียงกับพันธุ์รับ และมีอายุเก็บเกี่ยวสั้น ทำการผสมกลับจำนวน 2 รอบ จะได้เมล็ด BC_2

3. นำเมล็ด BC_2 มาปลูกแล้วคัดเลือก 2 ขั้นตอน คือในขั้นแรกระยะออกดอกคัดเลือกต้นสูงใหญ่ มีกิ่งจำนวนมาก แล้วปล่อยให้ผสมตัวเอง ในขั้นที่สองต้นที่ได้รับการคัดเลือกหากต้นใดมีอายุเก็บเกี่ยวสั้นทำการคัดเลือกไว้จะได้เมล็ด BC_2F_2

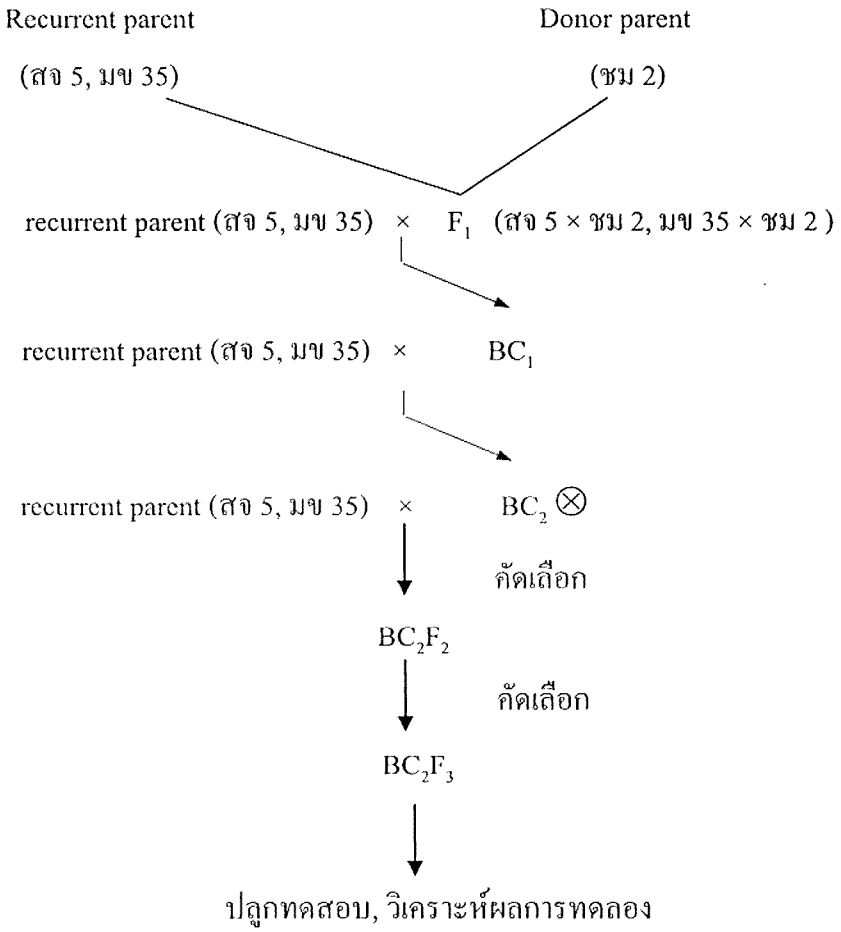
4. นำเมล็ด BC_2F_2 จากข้อ 3 มาปลูกขยายพันธุ์เพื่อให้ได้เมล็ดจำนวนมากสำหรับนำไปปลูกทดสอบ ซึ่งเมล็ดที่ได้คือ BC_2F_3

5. นำเมล็ดที่ได้จากข้อ 4. ปลูกทดสอบในสภาพแปลงโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบลอค (RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำปลูก 3 แถว แถวละ 5 เมตร ก่อนปลูกนำเมล็ดมาคลุกเชื้อไรโซเบียม และใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 12–24–12 อัตรา 15 กก./ไร่ พร้อมปลูก เมื่อปลูกแล้วให้น้ำทันที จากนั้นฉีดพ่นสารเคมีควบคุมวัชพืชก่อนงอก เมื่อต้นถั่วเหลืองมีอายุ 15 วัน ทำการถอนแยกให้เหลือจำนวน 2 ต้นต่อหลุม พร้อมกับให้ปุ๋ยสูตร 12–24–12 อีกครั้ง อัตรา 15 กก./ไร่ พร้อมกำจัดวัชพืช ให้น้ำสัปดาห์ละครั้ง

6. การบันทึกลักษณะต่าง ๆ ได้แก่ อายุออกดอก อายุเก็บเกี่ยว ความสูง จำนวนกิ่งต่อต้น จำนวนฝักต่อต้น และผลผลิตต่อไร่ (7.5 ตรม.) โดยมีวิธีการเก็บข้อมูลของลักษณะดังการทดลองที่ 3.1.1

7. การวิเคราะห์ข้อมูล โดยนำลักษณะต่าง ๆ ที่เก็บข้อมูลมาวิเคราะห์วาเรียนซ์ หาความแตกต่างทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม SPSS V.13 (Levesque and SPSS Inc., 2006) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี

DMRT หากสายพันธุ์ใดให้ลักษณะอายุเก็บเกี่ยวสั้น มีทรงพุ่มใหญ่ มีกิ่งจำนวนมาก และให้ผลผลิตสูง เก็บไว้เพื่อทดสอบสายพันธุ์ต่อไป



รูปที่ 3.2 แผนการปรับปรุงพันธุ์อายุยาวมีอายุเก็บเกี่ยวสั้น แต่มีลักษณะทางการเกษตรเหมือนพันธุ์อายุยาว

3.3 การปรับปรุงพันธุ์ถั่วเหลืองให้มีโปรตีนสูง

3.3.1 การปรับปรุงเปอร์เซ็นต์โปรตีนโดยให้พันธุ์โปรตีนสูงเป็นพันธุ์รับ

การทดลองนี้ใช้พันธุ์ที่มีโปรตีนสูง (high protein, HP) ซึ่งนำเข้ามาจากต่างประเทศ ซึ่งจากรายงานการปลูกในสหรัฐอเมริกาให้โปรตีน 48–50 เปอร์เซ็นต์ เป็นพันธุ์รับ ใช้พันธุ์ปลูกที่ปรับตัวได้ดี ต้นสูง ผลผลิตสูง ฯลฯ เป็นพันธุ์ให้ (donor parent) ได้แก่ สายพันธุ์ LJ4 และพันธุ์ มข 35 ทำการผสมข้ามระหว่างพันธุ์ แล้วผสมกลับไปยัง Prolina เพื่อรักษาลักษณะของพันธุ์ให้ ผสมตัวเองเลือกสายพันธุ์ที่มีลักษณะทางพืชไร่ดีแล้ววิเคราะห์เปอร์เซ็นต์น้ำมัน จากนั้นผสมกลับไปยังพันธุ์รับ 2 ครั้ง หลังจากนั้นผสมตัวเอง พร้อมทั้งคัดเลือกสายพันธุ์ที่ให้ปริมาณโปรตีน และให้ผลผลิตสูง แสดงดังรูปที่ 3 ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. พันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ พันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูง (Prolina) และพันธุ์ที่มีลักษณะทางการเกษตรดี ปรับตัวได้ดี มีผลผลิตสูง แต่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนต่ำ (LJ 4 และ มข 35) นำ 3 พันธุ์มาผสมข้ามพันธุ์ได้ 2 คู่ผสมคือ LJ 4 × Prolina และ มข 35 × Prolina

2. เมื่อได้เมล็ดชั่วที่ 1 (F_1) นำมาปลูกแล้วในระยะออกดอกทำการผสมกลับไปยังพันธุ์รับคือ Prolina ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีโปรตีนสูง จะได้เมล็ด BC_1

3. นำเมล็ด BC_1 ปลูกในแปลง ปล่อยให้ผสมตัวเอง ในระยะสุกแก่เก็บเกี่ยวเป็นรายต้น จะได้เมล็ด BC_1F_2จากนั้นนำเมล็ดไปวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์โปรตีนเป็นรายต้น โดยใช้วิธี Kjeldahl (AOAC, 1970) คัดเลือกเฉพาะต้นที่มีโปรตีนสูง

4. นำเมล็ด BC_1F_2ที่ผ่านการคัดเลือกมาปลูก ในระยะออกดอกเลือกต้นที่มีลักษณะทางการเกษตรดีแล้วผสมกลับไปยัง Prolina ซึ่งเป็นพันธุ์รับอีกรอบ เมล็ดที่ได้จะเป็น BC_2

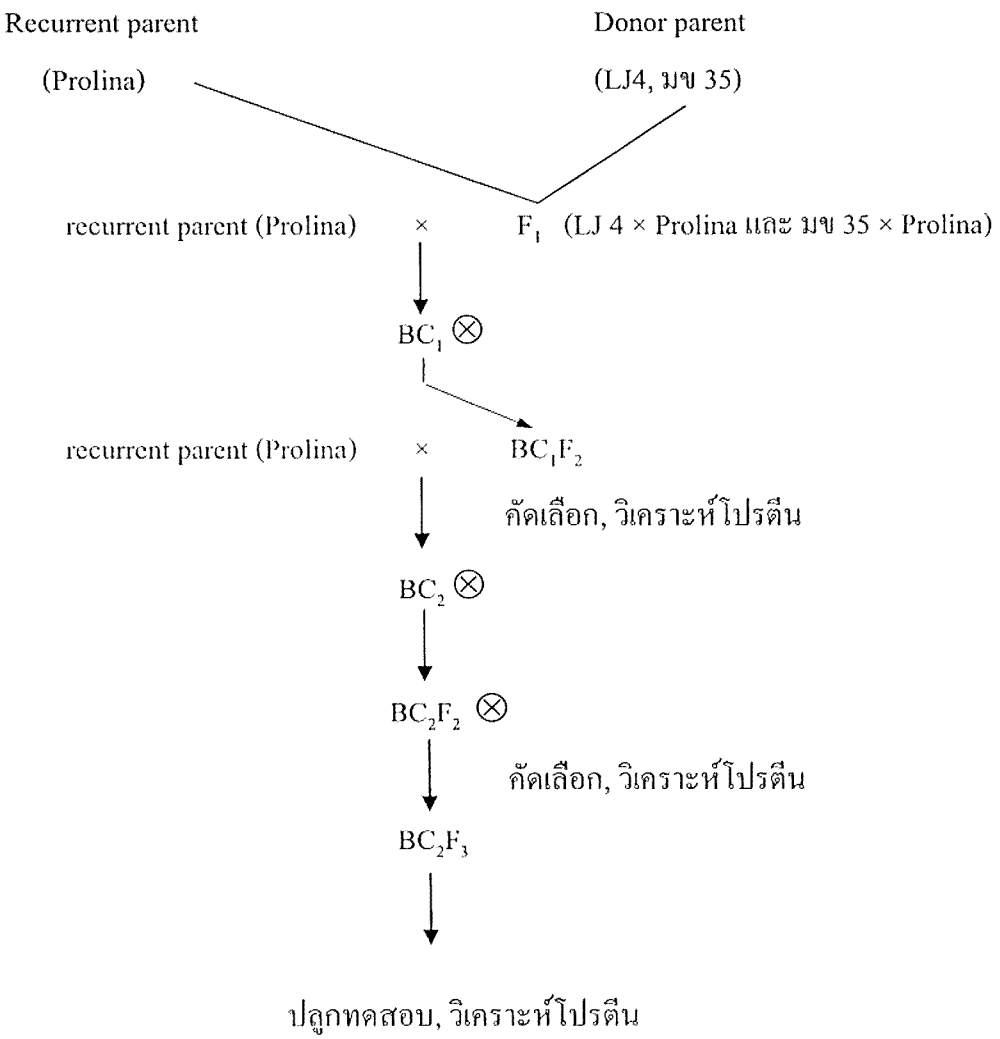
5. นำเมล็ด BC_2 ปลูกในแปลง ปล่อยให้ผสมตัวเองจะได้เมล็ด BC_2F_2 ในระยะสุกแก่ทำการคัดเลือกและเก็บเกี่ยวเป็นรายต้น จากนั้นนำเมล็ดไปวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์โปรตีนเป็นรายต้น คัดเลือกเฉพาะต้นที่มีโปรตีนสูง

6. นำเมล็ด BC_2F_2 มาปลูกแล้วปล่อยให้ผสมตัวเอง เพื่อเพิ่มปริมาณเมล็ด ซึ่งเมล็ดที่ได้คือ BC_2F_3 สำหรับนำไปปลูกทดสอบ

7. นำเมล็ดที่ได้จากข้อ 6. ปลูกทดสอบในสภาพแปลงโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบลอค (RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำปลูก 3 แถว แถวละ 5 เมตร ให้น้ำสัปดาห์ละครั้ง ก่อนปลูกนำเมล็ดมาคลุกเชื้อไรโซเบียม และใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 12–24–12 อัตรา 15 กก./ไร่ พร้อมปลูก เมื่อปลูกแล้วให้น้ำทันที จากนั้นฉีดพ่นสารเคมีควบคุมวัชพืชก่อนงอก เมื่อต้นถั่วเหลืองมีอายุ 15 วัน ทำการถอนแยกให้เหลือจำนวน 2 ต้นต่อหลุม พร้อมกับให้ปุ๋ยสูตร 12–24–12 อีกครั้ง อัตรา 15 กก./ไร่ พร้อมกำจัดวัชพืช

8. จากนั้นทำการบันทึกลักษณะต่าง ๆ ได้แก่ อายุเก็บเกี่ยว ผลผลิตต่อไร่ (คำนวณจากพื้นที่ 7.5 ตรม.) และวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์โปรตีน

9. การวิเคราะห์ข้อมูล โดยนำลักษณะต่าง ๆ ที่เก็บข้อมูลมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม SPSS V.13 (Levesque and SPSS Inc., 2006) วิเคราะห์สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตและเปอร์เซ็นต์โปรตีน และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT หากสายพันธุ์ใดให้ลักษณะทรงพุ่มใหญ่ และให้ผลผลิตใกล้เคียงกับพันธุ์ปลูก และให้เปอร์เซ็นต์โปรตีนสูง เก็บไว้เพื่อทดสอบสายพันธุ์ต่อไป



รูปที่ 3.3 แผนการปรับปรุงพันธุ์ให้มีโปรตีนสูงขึ้นโดยมีพันธุ์โปรตีนสูงเป็นพันธุ์รับ

3.3.2 การปรับปรุงเปอร์เซ็นต์โปรตีนโดยให้พันธุ์ผลผลิตสูงเป็นพันธุ์รับ

วิธีนี้ให้พันธุ์ที่มีผลผลิตสูง ปรับตัวได้ดี (ชม 60, สจ 5) เป็นพันธุ์รับ ส่วนพันธุ์ Prolina ที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูงเป็นพันธุ์ให้ โดยทำการผสมถั่วเหลืองพันธุ์ ชม. 60 × Prolina, สจ. 5 × Prolina จากนั้นนำลูก F_1 ผสมกลับไปยังพันธุ์รับ ชม 60 และ สจ 5 จำนวน 2 ครั้ง วิธีนี้ก่อนผสมกลับแต่ละครั้งต้องสุ่มวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์โปรตีน เมื่อผสมกลับแล้วปลูกเพื่อให้ผสมตัวเอง วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์โปรตีนแล้วทำการคัดเลือก ดังแสดงในรูปที่ 4 และมีรายละเอียดดังนี้

1. พันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ พันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูง (Prolina) และพันธุ์ที่มีลักษณะทางการเกษตรดี ปรับตัวได้ดี ให้ผลผลิตสูง แต่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนต่ำ (ชม 60, สจ 5) นำ 3 พันธุ์มาผสมข้ามพันธุ์ได้ 2 คู่ผสมคือ ชม. 60 × Prolina และ สจ. 5 × Prolina

2. เมื่อได้เมล็ดชั่วที่ 1 (F_1) นำมาปลูกแล้วในระยะออกดอกทำการผสมกลับไปยังพันธุ์รับคือ ชม 60 และ สจ 5 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีผลผลิตสูง และมีลักษณะทางการเกษตรดีจะได้เมล็ด BC_1

3. นำเมล็ด BC_1 ปลูกในแปลง ปล่อยให้ผสมตัวเองจะได้เมล็ด BC_1F_2 ในระยะสุกแก่เก็บเกี่ยวเป็นรายต้น จากนั้นนำเมล็ดไปวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์โปรตีนเป็นรายต้น โดยใช้วิธี Kjeldahl (AOAC, 1970) คัดเลือกเฉพาะต้นที่มีโปรตีนสูง

4. นำเมล็ด BC_1F_2 ที่ผ่านการคัดเลือกมาปลูก ในระยะออกดอกเลือกต้นที่มีลักษณะทางการเกษตรดีแล้วผสมกลับไปยัง ชม 60 และ สจ 5 ซึ่งเป็นพันธุ์รับอีกรอบ เมล็ดที่ได้จะเป็น BC_2

5. นำเมล็ด BC_2 ปลูกในแปลง ปล่อยให้ผสมตัวเองพร้อมทั้งบันทึกลักษณะทางการเกษตร และในระยะสุกแก่เก็บเกี่ยวเป็นรายต้น จะได้เมล็ด BC_2F_2 จากนั้นนำเมล็ดไปวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์โปรตีนเป็นรายต้น คัดเลือกต้นที่มีโปรตีนสูง

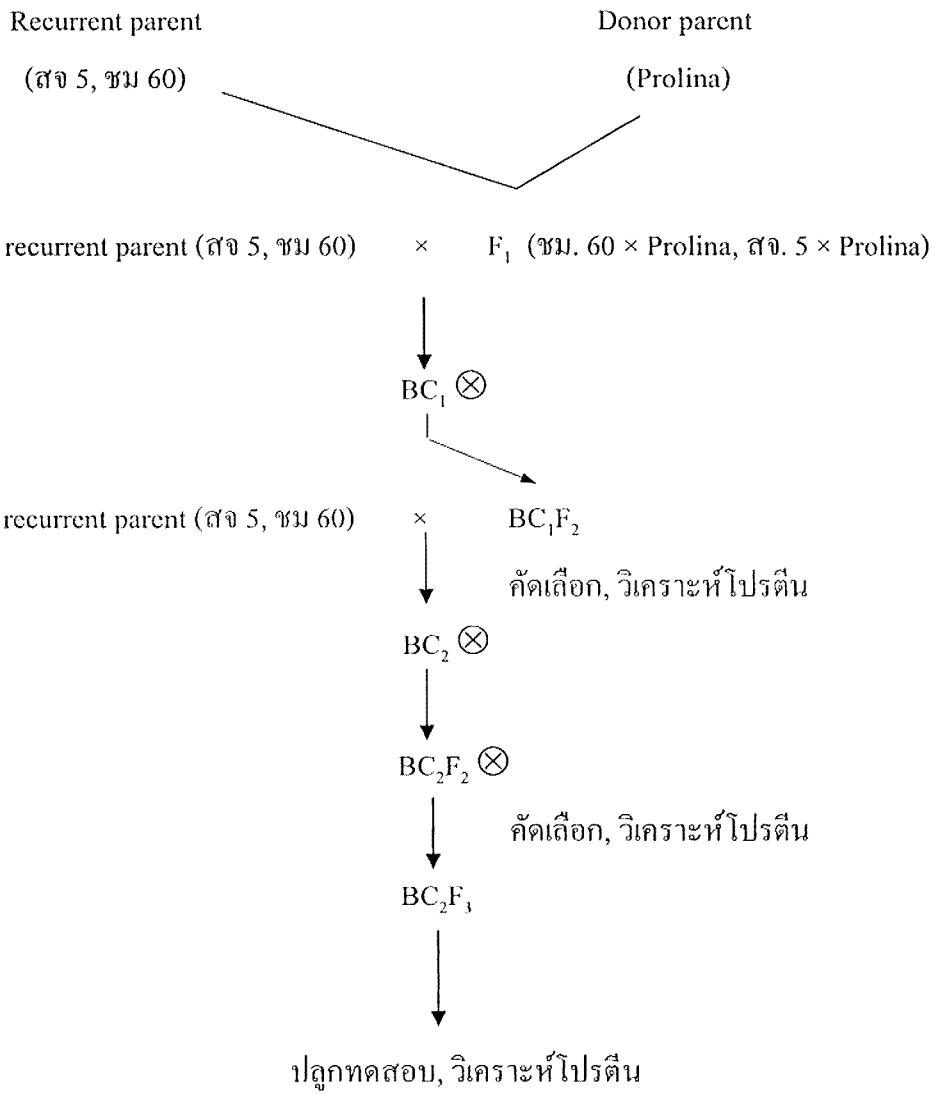
6. นำเมล็ด BC_2F_2 ที่ผ่านการคัดเลือกมาปลูกแล้วปล่อยให้ผสมตัวเอง เพื่อเพิ่มปริมาณเมล็ด ซึ่งเมล็ดที่ได้คือ BC_2F_3 สำหรับนำไปปลูกทดสอบ

7. นำเมล็ดที่ได้จากข้อ 6. ปลูกทดสอบในสภาพแปลงโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบลอค (RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำปลูก 3 แถว แถวละ 5 เมตร ให้น้ำสัปดาห์ละครั้ง ก่อนปลูกนำเมล็ดมาคลุกเชื้อไรโซเบียม และใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 12–24–12 อัตรา 15 กก./ไร่ พร้อมปลูก เมื่อปลูกแล้วให้น้ำทันที จากนั้นฉีดพ่นสารเคมีควบคุมวัชพืชก่อนงอก เมื่อต้นถั่วเหลืองมีอายุ 15 วัน ทำการถอนแยกให้เหลือจำนวน 2 ต้นต่อหลุม พร้อมกับให้ปุ๋ยสูตร 12–24–12 อีกครั้ง อัตรา 15 กก./ไร่ พร้อมกำจัดวัชพืช

8. การบันทึกลักษณะต่าง ๆ ได้แก่ อายุเก็บเกี่ยว ผลผลิตต่อไร่ (จาก 7.5 ตรม.) และเปอร์เซ็นต์โปรตีน จากนั้น คัดเลือกไว้เฉพาะสายพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์โปรตีนสูง และมีลักษณะทางการเกษตรที่ดี

9. การวิเคราะห์ข้อมูล โดยนำลักษณะต่าง ๆ ที่เก็บข้อมูลมาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม SPSS V.13 (Levesque and SPSS Inc., 2006) วิเคราะห์สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตและเปอร์เซ็นต์โปรตีน พร้อมทั้งเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT หากสายพันธุ์ใดให้ลักษณะ

ใกล้เคียงพันธุ์รับ ได้แก่ ต้นใหญ่ กิ่งต่อต้นสูง และผลผลิตให้โปรตีนสูง เก็บไว้เพื่อทดสอบสายพันธุ์ต่อไป พร้อมทั้งวิเคราะห์เพื่อเปรียบเทียบวิธีการคัดเลือกกับวิธีในข้อ 3.3.1



รูปที่ 3.4 แผนการปรับปรุงพันธุ์ให้มีโปรตีนสูงขึ้นโดยให้พันธุ์ผลผลิตสูงเป็นพันธุ์รับ