

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. พันธุ์ข้าวโพดที่ใช้ทำการศึกษาในครั้งนี้มี 5 สายพันธุ์ดังนี้

พันธุ์	ลักษณะที่สำคัญ
พันธุ์ มข.#1 (KKU #1)	เป็นข้าวโพดที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์โดยคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น มีอายุการเก็บเกี่ยวสั้น สามารถเก็บเกี่ยวเสร็จภายใน 45 วันนับจากวันหยอดเมล็ด
พันธุ์รังสิต 1 - มข. (R1-KKU SRC6)	เป็นข้าวโพดที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์โดยคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ให้ผลผลิตทั้งก่อนปลูกเปลือกและหลังปลูกเปลือกสูงเก็บผลผลิตได้ทั้งสองฝักพร้อมกัน ฝักอ่อนมีคุณภาพตามมาตรฐานทนต่อโรคราน้ำค้างทนต่อการปลูกได้ดี
Baby corn composite #1 DMR (BC#1 DMR)	เป็นพันธุ์ที่ได้รับการปรับปรุงโดยภาควิชาพืชสวนมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์เพื่อใช้เป็นข้าวโพดฝักอ่อน โดยเฉพาะ มีอายุสั้น ฝักดกทนต่อโรคราน้ำค้าง
พันธุ์สุวรรณ 2 (SW2)	เป็นข้าวโพดที่ได้รับการปรับปรุงโดยศูนย์วิจัยข้าวโพด ข้าวฟ่างแห่งชาติ ลักษณะเด่นคือเป็นข้าวโพดไร่ เจริญเติบโตได้รวดเร็ว ความ

พันธุ์เชียงใหม่ (CMB) กว้างฝักไม่เกิน 1.5 ซม. ผลผลิตสูง เก็บเกี่ยว
ได้เมื่ออายุ 47 วัน
เป็นข้าวโพดที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์โดย
กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสห
กรณ์ผลผลิตก่อนปลูกเปลือกสูง มีฝัก 2 - 3
ฝักต่อต้น เก็บเกี่ยวผลผลิตได้พร้อมกัน อายุ
เก็บเกี่ยว 45 วัน

2. ปุ๋ยเคมี สูตร 46 - 0 - 0 และ สูตร 15 - 15 - 15
3. สารเคมีที่ใช้ป้องกันและกำจัดศัตรูพืช
4. อุปกรณ์ที่ใช้ผสมข้าวโพด มีดักเตอร์ ของและถุงคลุมเกสรตัวเมีย - ตัวผู้
5. งดตาข่ายพลาสติกใสเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด
6. ป้ายบันทึกข้อมูล

วิธีการ

2. การสร้างพันธุ์ลูกผสมเดี่ยวและการทดสอบพันธุ์ลูกผสม

2.1 สร้างลูกผสมเดี่ยว (F₁)

ปลูกข้าวโพด 5 สายพันธุ์ เป็นประชากร ประชากรละ 8 แถว แถวละ 100 ต้น ปลูกเว้นช่วง ตามอายุการออกดอก เพื่อให้ดอกออกพร้อมกัน ทำการผสมแบบ พบกันหมด (diallel crosses) โดย 1 ประชากร (1 แถว) ใช้ทั้งพ่อและแม่ ในการผสมข้ามระหว่างคู่ผสมดังกล่าวจะได้ทั้งลูกผสมตรงและลูกผสมกลับ รวมทั้งสิ้น 20 คู่ ซึ่งรวมกับสายพันธุ์พ่อแม่อีก 5 สายพันธุ์ นำไปปลูกทดสอบตามแผนการทดลองต่อไป การผลิตผสม (F₁) ได้ดำเนินการที่หมวดพืชผัก คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ระหว่างเดือน มกราคม - มีนาคม 2533

2.2 การทดสอบลูกผสม

ปลูกลูกผสมชั่วที่หนึ่งจำนวน 20 คู่ และสายพันธุ์พ่อแม่อีก 5 สายพันธุ์ ปลูกทดสอบ 2 ฤดู คือต้นฤดูฝน 20 กรกฎาคม 2533 - 30 กันยายน 2533 และต้นฤดูแล้ง ระหว่าง 15 มกราคม - 20 มีนาคม 2534 โดยวางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) ทำ 4 ซ้ำ 25 สิ่งทดลอง มีแปลงย่อยรวม 100 แปลง แปลงขนาดย่อย 3 x 6.5 เมตร เว้นร่องน้ำในแต่ละซ้ำ 1 เมตร ใช้พื้นที่ในการทดลอง

1,867 ตารางเมตร แต่จะแปลงย่อยปลูกข้าวโพด 4 แถวๆ ละ 26 หลุม หยอด 4 เมล็ดต่อหลุม ใช้ระยะปลูก 25 x 65 เซนติเมตร

การดูแลรักษา ถอนแยกให้เหลือหลุมละ 2 ต้นหลังจากข้าวโพดงอกได้ 10 วัน ใส่ปุ๋ย สูตร 15 - 15 - 15 อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ แบ่งใส่ 2 ครั้ง คือ รองพื้นหลุมก่อนปลูก และใส่อีกครั้งหนึ่งเมื่อข้าวโพดอายุ 28 - 30 วัน หลังจากกำจัดวัชพืชแล้วใส่โรยเป็นแถบพร้อมกับพรวนดินกลบโคนต้น สำหรับปุ๋ยยูเรีย สูตร 46 - 0 - 0 ใส่ในอัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ ใส่เพียงครั้งเดียวหลังจากกำจัดวัชพืชแล้วเมื่อข้าวโพดมีอายุได้ 14 วัน การเก็บเกี่ยว เก็บเฉพาะ 2 แถวกลางในแต่ละแปลงย่อย โดยเว้นหลุมหัวและหลุมท้ายของแต่ละแถว ทำการเก็บเกี่ยวเมื่อเห็นไหมที่ปลายฝักมีความยาวประมาณ 1 - 2 เซนติเมตร ทำการเก็บเกี่ยวทุกวันในช่วงเช้า และทำการชั่งน้ำหนัก

3. การบันทึกข้อมูล

2.1 ข้อมูลทั่วไป

วันปลูก	: วันที่หยอดเมล็ด
วันถอยยอด 50 เปอร์เซ็นต์	: วันถอยยอดซึ่งดอกตัวผู้ยังไม่ โผล่พ้นใบธง 50 เปอร์เซ็นต์
จำนวนต้นที่เก็บเกี่ยว	: จำนวนต้นที่ทำการเก็บเกี่ยวผลผลิต เฉพาะ 2 แถวกลาง ยกเว้นต้นที่อยู่ หัวและท้ายแถวกลาง
ความสูงต้น	: วัดจากโคนต้นจนถึงข้อสุดท้ายของ ใบธง
ความสูงฝักแรก	: วัดจากโคนต้นจนถึงข้อที่เกิดฝักแรก
อายุเก็บเกี่ยว	: นับจากวันปลูกจนถึงวันที่ไหมโผล่ ยาว 1 - 2 เซนติเมตร 50 เปอร์เซ็นต์ ของแปลง
อายุเก็บเกี่ยวฝักที่ 2	: นับจากวันปลูกถึงวันเก็บเกี่ยวฝักที่ 2 หมด

4. ข้อมูลผลผลิต

จำนวนฝักรวม	: จำนวนฝักรวมทั้งหมดที่ทำการเก็บเกี่ยว
จำนวนฝักเฉลี่ยต่อหลุม	: จำนวนฝักรวมทั้งหมดหารด้วยจำนวนหลุม
จำนวนฝักเฉลี่ยต่อดัน	: จำนวนฝักรวมทั้งหมดหารด้วยจำนวนต้นที่เก็บเกี่ยว
น้ำหนักรวมฝักก่อนปอกเปลือก	: น้ำหนักรวมทั้งหมดของฝักที่ยังไม่ได้ปอกเปลือก
น้ำหนักรวมฝักหลังปอกเปลือก	: น้ำหนักรวมทั้งหมดของฝักที่ปอกเปลือก
อัตราส่วนน้ำหนักฝักก่อนปอก / น้ำหนักฝักหลังปอกเปลือก	: น้ำหนักฝักก่อนปอกเปลือกหารด้วยน้ำหนักฝักหลังปอกเปลือก
จำนวนและน้ำหนักรวมของฝักที่ใช้เป็นการค้าได้	: จำนวนและน้ำหนักฝักที่มีขนาดอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานสามารถใช้เป็นการค้าได้
จำนวนและน้ำหนักรวมของฝักที่ใช้เป็นการค้าไม่ได้	: จำนวนและน้ำหนักรวมของฝักที่มีขนาดไม่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานไม่สามารถใช้เป็นการค้าได้
จำนวนและน้ำหนักรวมของฝักที่มีขนาดไม่ได้มาตรฐาน	: จำนวนและน้ำหนักรวมของฝักที่มีขนาดเกินกว่าเกณฑ์มาตรฐานกำหนด
จำนวนและน้ำหนักรวมของฝักที่เสียรูปทรง	: จำนวนและน้ำหนักรวมของฝักที่มีรูปทรงผิดปกติ

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

3.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ข้อมูลความแปรปรวนลักษณะต่างๆ ของลูกผสมชั่วที่ 1 และ สายพันธุ์พ่อแม่ หากพบว่ามีนัยสำคัญจึงแยกความแปรปรวนของสิ่งทดลองออกเป็น ส่วนต่างๆ แล้วจึงทดสอบนัยสำคัญของลูกผสมกลับ (reciprocal cross) หากไม่พบนัยสำคัญ จึงรวบรวมข้อมูลลูกผสมตรงกับลูกผสมกลับเข้าด้วยกันหากพบนัยสำคัญจะแยกวิเคราะห์ ลักษณะดังกล่าวออกเป็นแบบผสมตรงกับแบบผสมกลับอย่างละชุด ส่วนการทดสอบ ความแปรปรวนตาม Model ของแผนการทดลอง Randomized Complete Block Design มี Model ดังนี้

$$Y_{ij} = \mu + R_j + T_i + E_{ij}$$

โดยที่ i = จำนวนพันธุ์ตั้งแต่ 1 ... i

j = จำนวนซ้ำตั้งแต่ 1 ... r

Y_{ij} = ค่าสังเกตของพันธุ์ที่ i ซ้ำที่ j

μ = ค่าเฉลี่ยของประชากร

R_j = อิทธิพลของพันธุ์โดยซ้ำที่ j

T_i = อิทธิพลของพันธุ์ที่ i

E_{ij} = ค่าความคาดเคลื่อนของพันธุ์ที่ i ซ้ำ j

ตารางที่ 1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของลักษณะต่างๆ ตามแผนการทดลอง
แบบ RCBD

Source		df
Replication	$r - 1$	3
Treatment	$t - 1$	24
Reciprocal	$n(n - 1) / 2$	10
Residual	$n(n + 1) - 2 / 2$	14
Error	$(r - 1)(t - 1)$	72
เมื่อ	$r =$ จำนวนซ้ำ	$= 4$
	$t =$ จำนวนสิ่งทดลองทั้งหมด	$= 25$
	$n =$ จำนวนพันธุ์ที่ทดลอง	$= 5$

6. การทดสอบความเป็นเอกภาพ (homogeneity) ก่อนวิเคราะห์ความแปรปรวนเนื่องจาก การทดลอง 2 ฤดูปลูก เอกภาพของ variance ดูจากความแตกต่างของ Error Mean Squares ทั้งสองฤดูปลูก ถ้าแตกต่างกันไม่เกิน 3 เท่า ถือว่าได้ variance เป็นเอกภาพโดยใช้สูตรคำนวณดังนี้ (Gomez and Gomez , 1984)

$$F = \text{larger error MS} / \text{smaller error MS}$$

ผลจากการทดลอง ถ้าข้อมูลใดไม่เป็นเอกภาพจะแปลงข้อมูลโดยวิธีล็อก (Logarithmic Transformation)

ตารางที่ 2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนรวม (combine analysis)

Source	df	MS	EMS
Season (s)	(s - 1)	M_1	$\sigma_e^2 + l\sigma_{r/s}^2 + rl\sigma_s^2$
Replication / S	s(s - 1)	M_2	$\sigma_e^2 + l\sigma_{r/s}^2$
Varieties (L)	(l - 1)	M_3	$\sigma_e^2 + rsK_l^2$
S x L	(s - 1) (l - 1)	M_4	$\sigma_e^2 + r\sigma_{sl}^2$
Pooled error	s(r - 1) (l - 1)	M_5	σ_e^2
Total	srl - 1		

หมายเหตุ	n	=	จำนวนสถานที่
	r	=	จำนวนซ้ำ
	l	=	จำนวนพันธุ์
	σ_e^2	=	Variance Component of error
	$\sigma_{r/e}^2$	=	Variance Component due to replication
	σ_s^2	=	Variance Component due to season
	σ_{sl}^2	=	Variance Component of season and varieties interaction
	K_l^2	=	$\sum_i (T_i - T)^2 / (l - 1)$, เมื่อ T_i เป็น Population Effect ของพันธุ์ ที่ i และ T เป็น Population Mean (สุรพล , 2526)

8. การวิเคราะห์หาความสามารถในการรวมตัว (combining ability)

การวิเคราะห์ทางพันธุกรรมโดยใช้วิธีวิเคราะห์แบบ variety cross diallel แบบ Analysis II และ Analysis II (Gardner and Eberhart , 1966) มีวิธีการดังนี้

8.1 Analysis II ใช้แผนการทดลองที่ปลูกพ่อแม่และลูกผสมโดยมีพารามิเตอร์

$$\begin{aligned}\mu_v &= \text{ค่าเฉลี่ยของพ่อแม่ที่ใช้} \\ V_j &= \text{อิทธิพลของพ่อแม่สายพันธุ์ที่ } j \\ \bar{h} &= \text{ค่าเฉลี่ย heterosis ของลูกผสมทั้งหมด} \\ h_j &= \text{heterosis เฉพาะเมื่อพันธุ์ที่ } j \text{ แสดงในรูปค่า} \\ &\quad \text{เบี่ยงเบนไปจาก } \bar{h} \quad \sum h_j = 0 \\ s_{jj'} &= \text{heterosis เฉพาะเมื่อพันธุ์ที่ } j \text{ ผสมกับพันธุ์ที่ } j' \\ &\quad (\sum s_{jj'} = \sum s_{j'j} = 0)\end{aligned}$$

จากพารามิเตอร์ที่ได้ นำมาสร้างข้อมูลชุดใหม่ได้ 4 Model ดังนี้

$$\text{Model 1 } Y_{jj'} = \mu_v + 1/2 (V_j + V_{j'})$$

แสดงอิทธิพลของสายพันธุ์ (V_j) ได้ค่า Uncorrected Total Sum of Squares เป็น $(B'G)_1$

$$\text{Model 2 } Y_{jj'} = \mu_v + 1/2 (V_j + V_{j'}) + r\bar{h}$$

แสดงค่า heterosis ของลูกผสมทั้งหมด ($\bar{h}$) ได้ค่า Uncorrected Total Sum of Squares เป็น $(B'G)_2$

$$\text{Model 3 } Y_{jj'} = \mu_v + 1/2 (V_j + V_{j'}) + r\bar{h} + r(h_j + h_{j'})$$

แสดง heterosis เฉพาะเมื่อพันธุ์ที่ j ผสมกับพันธุ์ที่ j' ได้ค่า Uncorrected Total Sum of squares เป็น $(B'G)_3$

$$\text{Model 4 } Y_{jj'} = \mu_v + 1/2 (V_j + V_{j'}) + r\bar{h} + r(h_j + h_{j'}) + r s_{jj'}$$

แสดงค่า heterosis เฉพาะเมื่อพันธุ์ที่ j (h_j) ได้ค่า Uncomplete Total Sum of Squares เป็น $(B'G)_4$

$$\text{โดยที่ } r = 0 \text{ เมื่อ } j = j'$$

$$r = 1 \text{ เมื่อ } j \neq j' \text{ และ } h_{jj'} = \bar{h} + h_j + h_{j'} + s_{jj'}$$

ตารางที่ 3 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมโดยวิธี variety cross

Diallel ใน Analysis II

Source	df	SS
Population	$[n(n+1)/2] - 1$	$S' = (B'G)_4 - CF$
Varieties (V_j)	$n - 1$	$S'_1 = (B'G)_1 - CF$
Heterosis ($h_{jj'}$)	$n - (n - 1) / 2$	$S'_2 = (B'G)_4 - (B'G)_1$
Average ($\bar{h}$)	1	$S'_{21} = (B'G)_2 - (B'G)_1$
Variety (h_j)	$n - 1$	$S'_{22} = (B'G)_3 - (B'G)_2$
Specific ($S_{jj'}$)	$n(n-3)/2$	$S'_{23} = (B'G)_4 - (B'G)_3$

n = จำนวนพันธุ์พ่อแม่ที่ใช้

ทดลองนัยสำคัญโดยประมาณค่าแต่ละพารามิเตอร์ด้วย Pooled error

8.2 Analysis III ใช้วิเคราะห์ลูกผสม โดยมีพารามิเตอร์ดังนี้

$$\mu_c = \text{ค่าเฉลี่ยของลูกผสม} = \mu_v + \bar{h} \quad (\text{ใน Analysis II})$$

$$g_j = \text{อิทธิพลของพันธุ์ในคู่ผสม} = 1/2 V_j + h_j \quad (\text{ใน Analysis III})$$

$$S_{jj'} = \text{ความสามารถในการรวมตัวเฉพาะ}$$

Model ที่ใช้มีเพียง Model เดียว คือ

$$C_{jj'} = \mu_c + g_j + g_{j'} + s_{jj'}$$

$$\text{โดยที่ } \sum_{j \neq j'} g_j = 0 \text{ และ } \sum_{j \neq j'} s_{jj'} = 0$$

Analysis III มีความสัมพันธ์กันกับ Analysis II

Analysis II		Analysis III
S'_{21}	=	S''_2
S'_{23}	=	S''_{32}
$S'_1 + S'_{23}$	=	$S''_1 + S''_{31}$

ตารางที่ 4 แสดงการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรมโดยวิธี variety cross diallel ใน Analysis III

Source	SS
Variety	S''_1
Varieties x Crosses	S''_2
Crosses	S''_3
General Combining Ability (g j)	S''_{31}
Specific Combining Ability (S jj')	S''_{32}

n = จำนวนพันธุ์พ่อแม่ที่ใช้ทดสอบนัยสำคัญ โดยประมาณค่าแต่ละพารามิเตอร์

Pooled error

วิธีการหาค่าต่างๆ ของการวิเคราะห์ variety cross diallel ทำโดยใช้ Matrix Operation แสดงไว้ในภาคผนวก

9. การศึกษาความดีเด่นที่เกิดในลูกผสมชั่วแรก

ในลักษณะคุณภาพของ ผลผลิต คำนวณได้จากสูตรดังนี้

$$\text{Mid - parent (\%)} = [(F1 - MP) / MP] \times 100$$

$$\text{High - parent (\%)} = [(F1 - HP) / HP] \times 100$$

เมื่อ $F1$ = ค่าเฉลี่ยของลูกผสมชั่วที่หนึ่ง

MP = ค่าเฉลี่ยของสายพันธุ์พ่อแม่และแม่

HP = ค่าเฉลี่ยของสายพันธุ์พ่อหรือแม่ที่ดี