บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

ได้แบ่งการศึกษาความแตกต่างทางพันธุกรรมในการตอบสนองต่อธาตุโบรอนของข้าวบาร์เลย์ ออกเป็น 2 การทดลอง การทดลองแรกเป็นการศึกษาความแตกต่างของสายพันธุ์ข้าวบาร์เลย์ในการตอบสนองต่อระดับธาตุโบรอน และการทดลองที่ 2 ศึกษาการตอบสนองของลูกผสมชั่วที่ 1 โดยเปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อแม่ การทดลองที่ 1 ทำที่แปลงทดลองและการทดลองที่ 2 ทำในเรือนทดลองของภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน 2541 ถึง เดือนมีนาคม 2543 มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

การทดลองที่ 1 ศึกษาความแตกต่างของข้าวบาร์เลย์ในการตอบสนองต่อระดับโบรอน

วางแผนการทดลองแบบ Split plot จำนวน 3 ซ้ำ จัดให้ระดับโบรอนเป็นปัจจัยหลัก (main plot) ได้แก่ ระดับโบรอน 3 ระดับ คือ ไม่ใส่โบรอนและปูนขาว (B0) ใส่ปูนขาวในอัตรา 2,000 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ (BL) เพื่อเพิ่มความรุนแรงในการขาดโบรอน (เบญจวรรณและศันสนีย์, 2532) และใส่โบรอนในรูปบอแรกซ์ในอัตรา 10 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ (B+) และปัจจัยย่อย (sub plot) ได้แก่ พันธุ์ข้าวบาร์เลย์ชนิดสองแถว จำนวน 6 พันธุ์/สายพันธุ์ ประกอบด้วย BRB 9, BRB 9624, BCMU 96-9, CMBL 92029, SMGBL 94003 และ Stirling ปลูกด้วยวิธีการโรยเป็นแถว แต่ละแปลงย่อยปลูกข้าวบาร์เลย์พันธุ์ละ 2 แถว ระยะระหว่างแถว 25 เซนติเมตร แถวยาว 2 เมตร ใช้อัตราเมล็ดพันธุ์ 125 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์

การจัดการและการดูแลรักษา ก่อนปลูกใส่ปุ๋ยยูเรีย ($CO(NH_2)_2$) ในอัตรา 50 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ เป็นปุ๋ยรองพื้นเมื่อหยอดเมล็ดแล้วพ่นสารเคมีป้องกันวัชพืชก่อนงอก การให้น้ำทำโดยวิธีปล่อยน้ำท่วมแปลงทุกๆ 10-15 วัน และทำการกำจัดวัชพืชและศัตรูพืชเมื่อพบการระบาดในแปลง เมื่อถึงระยะเก็บเกี่ยวทำการสุ่มเก็บรวงจากต้นหลักจำนวน 20 รวงในแต่ละแปลงปลูก นำมาตรวจนับจำนวนช่อดอกย่อยต่อรวง (spikelets $spike^{-1}$) จำนวนเมล็ดต่อรวง (grains $spike^{-1}$) และดัชนีการติดเมล็ด (Barley Grain Set Index; BGSI%) โดยวัดจากเปอร์เซ็นต์การติดเมล็ดของช่อดอกบริเวณกลางรวง จำนวน 10 ช่อดอกของแต่ละรวง (Jamjod and Rerkasem, 1999) หลังจากนั้นนวดและชั่งน้ำหนัก 1,000 เมล็ด และน้ำหนักผลผลิตเมล็ดจากพื้นที่ปลูก 0.5 ตารางเมตร

การผลิตลูกผสมชั่วที่ 1

วางแผนการผลิตลูกผสมชั่วที่ 1 โดยใช้สายพันธุ์ข้าวบาร์เลย์ที่มีการตอบสนองต่อการขาดโบรอนแตกต่างกัน 4 สายพันธุ์ (ศันสนีย์และคณะ, 2543) ประกอบด้วย

1. สายพันธุ์ BRB 9604 (ทนทานต่อการขาดโบรอน (Efficient, E)) ซึ่งมีสรรถภาพการทนทานต่อการขาดโบรอนใกล้เคียงกับสายพันธุ์ BRB 9624
2. สายพันธุ์ BRB 9 (ทนทานต่อการขาดโบรอนปานกลาง (Moderate efficient, ME))
3. สายพันธุ์ BCMU 96-9 (ไม่ทนทานต่อการขาดโบรอนปานกลาง (Moderate inefficient, MI))
4. สายพันธุ์ Stirling (ไม่ทนทานต่อการขาดโบรอน (Inefficient, I))

ปลูกในแปลงขนาด 1 x 1.6 ตารางเมตร ระยะระหว่างแถว 25 เซนติเมตร แถวยาว 1.6 เมตร โดยจัดให้วันปลูกต่างกัน 10 วัน จำนวน 5 วันปลูก ทำการผสมข้ามสายพันธุ์ ได้ลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 5 คู่ ได้แก่

1. BRB 9604 x BRB 9
2. BRB 9 x BRB 9604
3. BRB 9 x BCMU 96-9
4. BCMU 96-9 x BRB 9
5. BRB 9604 x Stirling

เมล็ดของลูกผสมชั่วที่ 1 และสายพันธุ์พ่อแม่ที่ได้เก็บเกี่ยวแยกแต่ละคู่ผสม และนำไปปลูกทดสอบในการทดลองที่ 2 ต่อไป

การทดลองที่ 2 ประเมินการตอบสนองของลูกผสมชั่วที่ 1 เปรียบเทียบกับสายพันธุ์พ่อแม่

งานทดลองนี้ปลูกใน sand culture โดยใช้ทรายแม่น้ำนำมาล้างสิ่งเจือปนออกด้วยน้ำ ใส่ในกระถางขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 30 เซนติเมตร ลึก 30 เซนติเมตร รองก้นกระถางด้วยถุงพลาสติกที่เจาะรูระบายน้ำ เพื่อป้องกันสิ่งปนเปื้อนจากกระถางเข้าสู่ทราย ปลูกถั่วเขียวสายพันธุ์ Regur เพื่อทดสอบปริมาณของธาตุโบรอนที่ตกค้างอยู่ในทราย โดยสังเกตจากการเกิดยอดของถั่วเขียวเมื่อมีอายุประมาณ 1 สัปดาห์ ถ้าต้นถั่วเขียวไม่เกิดใบประกอบชุดแรก (trifoliate) แสดงว่าในทรายมีโบรอนอยู่ในระดับต่ำสามารถนำมาใช้ในการทดลองได้ หลังจากนั้นถอนต้นถั่วเขียวออก และปลูกข้าวบาร์เลย์โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial ประกอบด้วย 2 ปัจจัย จำนวน 2 ซ้ำ ปัจจัยแรก ได้แก่ สายพันธุ์พ่อแม่ 4 สายพันธุ์ คือ BRB 9604, BRB 9, BCMU 96-9 และ Stirling และลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 5 คู่ คือ BRB 9604 x BRB 9, BRB 9 x BRB 9604, BRB 9 x BCMU 96-9, BCMU 96-9 x BRB 9 และ BRB 9604 x Stirling โดยปลูกข้าวบาร์เลย์สายพันธุ์พ่อแม่และลูกผสมชั่วที่ 1 อย่างละ 3 ต้นรวมกันในหนึ่งกระถาง ดังนั้นแต่ละกระถางจะมีข้าวบาร์เลย์จำนวน 9 ต้นต่อกระถาง หลังปลูกรดด้วยสารละลายธาตุอาหาร

พืชซึ่งมีโบรอนแตกต่างกัน 2 ระดับ คือ 0 μM และ 10 μM ซึ่งจัดให้เป็นปัจจัยที่สอง โดยสารละลายอาหารพืชดังกล่าวมีส่วนผสมของธาตุอาหารอื่นๆ ที่มีความเข้มข้นดังนี้ คือ $CaCl_2$ 1000 μM, $MgSO_4$ 250 μM, KH_2PO_4 500 μM, FeEDTA 10 μM, K_2SO_4 250 μM, $MnSO_4$ 1 μM, $ZnSO_4$ 0.5 μM, $CuSO_4$ 0.2 μM, $CoSO_4$ 0.1 μM, $NaMoO_4$ 0.1 μM (Broughton and Dilworth, 1971) และ KNO_3 5,000 μM รดสารละลายธาตุอาหารพืชครั้งละ 1 ลิตรต่อกระถางทุกวันเวลาเช้าและเย็น และกำจัดแมลงศัตรูพืชเมื่อพบการระบาด

การบันทึกข้อมูลการทดลอง ตรวจวัดการเจริญเติบโตทางลำต้นและใบในลักษณะต่อไปนี้ คือ ความสูง จำนวนใบต่อต้น และจำนวนหน่อต่อต้น โดยในลักษณะความสูงจะวัดความสูงของต้นหลักจากโค่นต้นจนถึงปลายใบที่มีอายุน้อยที่สุดที่คลี่เต็มที่แล้ว (Youngest Emerged Blade, YEB) ทุกอาทิตย์ตั้งแต่เริ่มปลูกจนถึงออกรวง ลักษณะจำนวนใบต่อต้น นับเฉพาะจำนวนใบของต้นหลักเท่านั้นโดยเริ่มนับทุกอาทิตย์ตั้งแต่เริ่มแตกกอจนถึงออกรวง และในลักษณะจำนวนหน่อต่อต้นเริ่มนับทุกอาทิตย์ตั้งแต่เริ่มแตกกอไปจนถึงเก็บเกี่ยวผลผลิต และบันทึกอายุเมื่อข้าวบาร์เลย์ถึงระยะดอกบานของรวงแรก เมื่อถึงระยะเก็บเกี่ยวได้ตรวจนับจำนวนรวงต่อต้น (spike plant^{-1}) แต่ละต้นแยกเก็บรวงที่ 1 และ 2 ของต้น นับจำนวนช่อดอกย่อยต่อรวง (spikelets spike^{-1}) จำนวนเมล็ดต่อรวง (grains spike^{-1}) และดัชนีการติดเมล็ด (BGSI%) หลังจากนั้นนวดและชั่งหาน้ำหนักผลผลิตเมล็ดต่อต้น

การวิเคราะห์ผลการทดลอง

นำข้อมูลที่ได้แต่ละลักษณะมาวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของสิ่งทดลองโดยวิธี Least Significant Difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%