

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

งานวิจัยในครั้งนี้ เป็นการศึกษาองค์ประกอบของผลผลิตและปริมาณ amylose ที่เกิดขึ้นในลูกผสมชั่วที่ 3 และชั่วที่ 4 และศึกษาการกระจายตัวของปริมาณ amylose ในชั่วที่ 3 และชั่วที่ 4 และความแปรปรวนของปริมาณ amylose ที่เกิดขึ้นภายในลูกชั่วที่ 4 อีกทั้งยังศึกษาอัตราการถ่ายทอดทางพันธุกรรมจากชั่วที่ 3 ไปสู่ชั่วที่ 4 และการตอบสนองต่อการคัดเลือกในลักษณะต่างๆ ด้วยสถานที่ทดลอง

ได้ดำเนินงานวิจัยที่แปลงปฏิบัติการของภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ใช้ระยะเวลา 2 ปี คือ ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2542 ถึง 2543

พันธุ์กรรม

ได้ใช้ข้าวลูกผสมชั่วที่ 2 ที่ได้จากการผสมพันธุ์ระหว่างพันธุ์ที่มีแป้งชนิด amylose สูง ได้แก่ พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ์ กข 15 ส่วนแป้งชนิด amylopectin สูงนั้น ได้เลือกใช้พันธุ์ ก่ำคอยสะเก็ด ได้ลูกผสม คือ

1. ลูกผสมระหว่าง พันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 × พันธุ์ ก่ำคอยสะเก็ด
2. ลูกผสมระหว่าง พันธุ์ กข 15 × พันธุ์ ก่ำคอยสะเก็ด

จากนั้นนำลูกผสมที่ได้ปลูกเพื่อสร้างลูกผสมชั่วที่ 3 (ปี 2542) จำนวน 250 สายพันธุ์ โดยทำการเก็บเกี่ยวแยกเป็นรายต้น บันทึกข้อมูลของชั่วที่ 3 แล้วคัดเลือกโดยสุ่มให้เหลือ 50 สายพันธุ์ (แบ่งเมล็ดวิเคราะห์หาปริมาณ amylose ครึ่งหนึ่ง ที่เหลือนำไปปลูกเพื่อสร้างลูกผสมชั่วที่ 4) จากนั้นปลูกเพื่อสร้างลูกผสมชั่วที่ 4 (ปี 2543) ที่คัดเลือกจากลูกผสมชั่วที่ 3 โดยคัดเลือกมาคู่ผสมละ 50 สายพันธุ์ แล้วปลูกสายพันธุ์ที่คัดเลือกมาพันธุ์ละ 20 ต้น โดยการปลูก 1 เมล็ดต่อ เมื่อถึงระยะเก็บเกี่ยวเก็บเมล็ดแบบแยกรายต้น บันทึกข้อมูลของชั่วที่ 4

เก็บบันทึกข้อมูล

- จำนวนรวงต่อต้น
- จำนวนเมล็ดต่อรวง
- ผลผลิตต่อต้น
- ปริมาณ amylose ที่วิเคราะห์ได้

การปลูกและดูแลรักษา

ทั้ง 2 ฤดูกาลปลูกการปฏิบัติเหมือนกัน โดยการจัดการปลูกและดูแล ได้ทำดังนี้คือ ปลูกโดยปักดำกอละ 1 ต้นระยะปักดำ 0.25x0.25 เมตร ใส่ปุ๋ย aerophos $[Ca(H_2PO_4)60\%P_2O_5]$ รองพื้นก่อนปลูกอัตรา 25 ก.ก.ต่อไร่ หลังปักดำ 7 วัน หว่านสารเคมีมาเซตเด้ออัตรา 4 ก.ก.ต่อ ไร่ ป้องกันแมลงศัตรูเมื่อข้าวอายุได้ 21 และ 45 วัน ตามลำดับ และฉีดพ่นยาอะโซทรินอัตรา 45 ซีซี ค่อน้ำ 120 ลิตร เพื่อป้องกันแมลงศัตรูข้าวและมีการจัดการดูแลอื่นๆตามความเหมาะสม

การทดลอง

ศึกษาองค์ประกอบของผลผลิตและวิเคราะห์ปริมาณ amylose ที่เกิดขึ้นในลูกข้าวที่ 3 ลูกข้าวที่ 4 และพ่อแม่ที่ปลูกพร้อมกับลูกผสมแต่ละชั่วของคู่ผสมขาวดอกมะลิ $105 \times$ กำคอยสะเกิด และ กข15 \times กำคอยสะเกิด จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณ amylose ที่เกิดขึ้นภายในลูกผสมชั่วที่ 4 และพ่อแม่ที่ปลูกร่วมกันของแต่ละสายพันธุ์ โดยวิเคราะห์รายต้นทั้ง 20 ต้นในแต่ละสายพันธุ์บันทึกผล

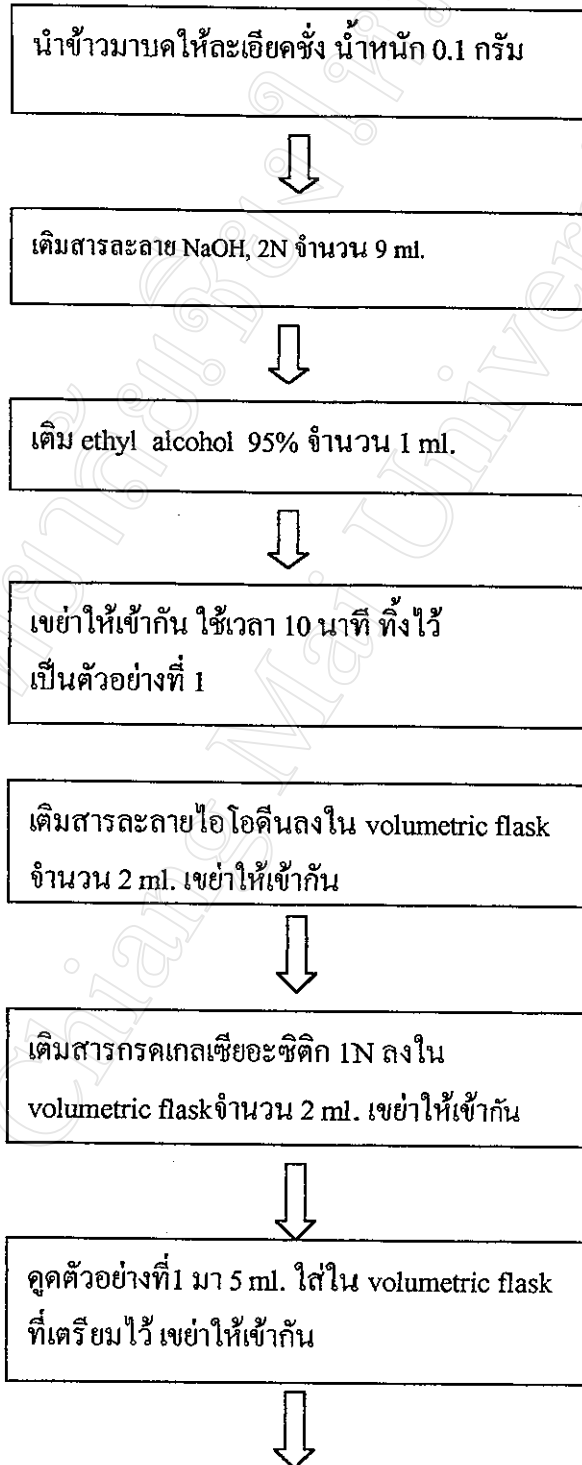
เก็บบันทึกข้อมูล

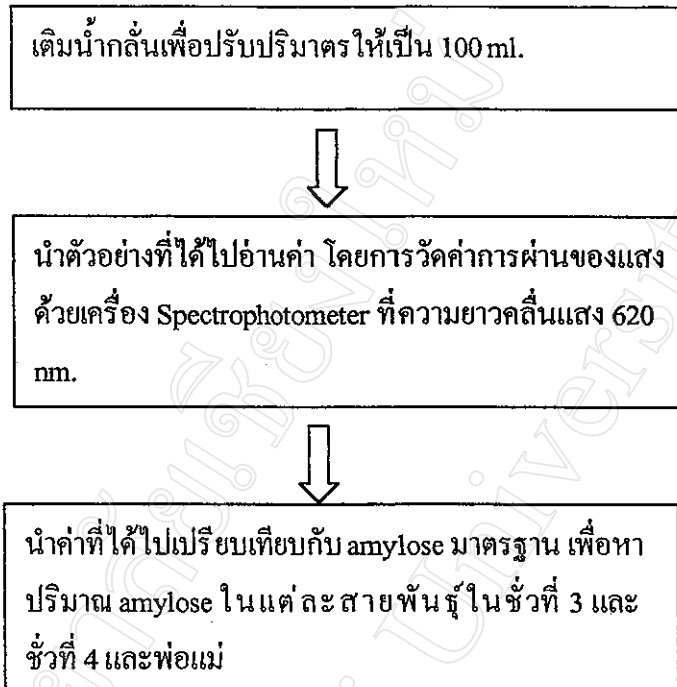
- ปริมาณ amylose ที่เกิดขึ้นในชั่วที่ 3 ของทั้ง 2 คู่ผสมและของพ่อแม่
- ปริมาณ amylose ที่เกิดขึ้นในชั่วที่ 4 ของทั้ง 2 คู่ผสมและของพ่อแม่
- ปริมาณ amylose ที่เกิดขึ้นภายในลูกผสมชั่วที่ 4 ของทั้ง 2 คู่ผสมและของพ่อแม่

การวิเคราะห์ปริมาณ amylose

โดยการนำตัวอย่างข้าว มาบดให้ละเอียด จากนั้นนำไปชั่งให้ได้ 0.1 กรัม ใส่หลอดทดลอง เติมสารละลาย NaOH, 2N จำนวน 9 ml. แล้วเติม ethyl alcohol 95% จำนวน 1 ml. จากนั้นนำไปเขย่าใช้เวลา 10 นาที จากนั้นดูดตัวอย่างที่เตรียมไว้มา 5 ml. ใส่ใน volumetric flask ซึ่งใน volumetric flask จะสารละลายไอโอดีน 2 ml. และกรดเกลือซอสอะซิดิก 2 ml. แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 70 ml. เมื่อนำตัวอย่างใส่ใน volumetric flask แล้วก็เขย่าเล็กน้อยเติมน้ำกลั่นเพื่อให้ได้ปริมาตร 100 ml. หลังจากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปอ่านค่า โดยการวัดการผ่านของแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวแสง 620 nm. จากนั้นนำค่าไปวิเคราะห์และเปรียบเทียบกับพ่อแม่ และเปรียบเทียบกับปริมาณ amylose มาตรฐาน คอไป (งามชื่น, 2541)

แผนภูมิขั้นตอนการทดลอง





วิเคราะห์ผลการทดลอง

1. วิเคราะห์ความแปรปรวนที่เกิดขึ้นภายในประชากรของลูกผสม (F_2) ของแต่ละสายพันธุ์และพ่อแม่
2. การวิเคราะห์ข้อมูลที่ใช้บันทึกโดยวิธี Regression Analysis โดยหาความสัมพันธ์ของลักษณะต่างๆ จากชั่วที่ 3 ถึงชั่วที่ 4 และนำไปวิเคราะห์หาอัตราการถ่ายทอดทางพันธุกรรม (h^2) (พีระศักดิ์, 2525) และหาการตอบสนองต่อการคัดเลือก (R) (คำเนิน, 2541)