บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. **พันธุ์** พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษามีจำนวน 4 พันธุ์ ประกอบด้วย พันธุ์ข้าวไร่ 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์เจ้าฮ่อ และอาร์258 และพันธุ์ข้าวนาสวน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์กข7 และปทุมธานี1

สำหรับประวัติและรายละเอียดลักษณะประจำพันธุ์ของพันธุ์ข้าวทั้งหมดเรียบเรียงไว้ในภาคผนวก ข

2. **การสร้างเมล็ดพันธุ์ลูกผสม** ในฤดูนาปีระหว่างเดือนพฤษภาคม ถึง เดือนตุลาคม พ.ศ. 2544 ได้ปลูกข้าวทั้ง 4 พันธุ์ ในกระถาง ทำการผสมพันธุ์ข้าวเพื่อสร้างเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1 seeds) โดยวิธีผสมแบบ half diallel cross แต่ไม่มีการผสมกลับ (reciprocal cross) ได้ทั้งหมดจำนวน 6 คู่ผสม ดังนี้

2.1 เจ้าฮ่อ x กข7

2.2 เจ้าฮ่อ x ปทุมธานี1

2.3 เจ้าฮ่อ x อาร์258

2.4 กข7 x ปทุมธานี1

2.5 กข7 x อาร์258

2.6 ปทุมธานี1x อาร์258

ในฤดูนาปรังต่อมา ระหว่างเดือนมกราคม ถึง เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2545 นำเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 1 ทุกคู่ผสม ปลูกลงในกระถางแล้วปล่อยให้ต้นข้าวออกดอกผสมตัวเอง เพื่อสร้างลูกผสมชั่วที่ 2 (F_2 seeds) โดยในการสร้างเมล็ดพันธุ์ข้าวลูกผสมชั่วที่ 1 และชั่วที่ 2 ทำการปลูกที่แปลงปฏิบัติการภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3. **การดำเนินการทดลอง** ในระหว่างเดือนกรกฎาคม 2545 ถึง เดือนมกราคม พ.ศ. 2546 ได้นำเมล็ดพันธุ์ข้าวชั่วพ่อ-แม่ และลูกผสมชั่วที่ 2 ทุกคู่ผสม ปลูกเพื่อศึกษาสมรรถนะการผสมและการถ่ายทอดลักษณะของผลผลิตและองค์ประกอบของผลผลิต ปลูกในสภาพไร่ ที่แปลงทดลองของภาควิชาพืชไร่ สถานีวิจัยและศูนย์ฝึกอบรมการเกษตรแม่เหียะ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เชียงใหม่ วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design จำนวน 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำประกอบด้วยประชากรชั่วพ่อ-แม่ จำนวน 4 พันธุ์ และลูกผสมชั่วที่ 2 จำนวน 6 คู่ผสม โดยปลูกแถวยาวแถวละ 3.0 เมตร หยอดเมล็ดหลุมละ 3 เมล็ด แล้วถอนแยกให้เหลือหลุมละ 1 ต้น ระยะระหว่างแถว 25 ซม. ระยะระหว่างหลุม 25 ซม. ชั่วพ่อ-แม่ ปลูกพันธุ์ละ 2 แถว และลูกผสมชั่วที่ 2 ปลูกประชากรละ 6 แถว

การจัดการและดูแลรักษา หลังหยอดเมล็ดข้าวเสร็จใช้สารป้องกันกำจัดวัชพืชประเภทก่อนงอกฉีดพ่นเพื่อควบคุมเมล็ดหญ้า โดยใช้ butachlor (60%) ตามอัตราแนะนำ ช่วงที่ข้าวเจริญเติบโตทำการกำจัดวัชพืชโดยวิธีเขตกรรม หลังปลูกข้าว 20 วัน ใช้ปุ๋ย 16-20-0 อัตรา 25 กิโลกรัมต่อไร่ หว่านแล้วพรวนกลบ ครั้งที่ 2 ใช้ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) อัตรา 10 กิโลกรัมต่อไร่ ก่อนข้าวออกรวง 30 วัน ส่วนการป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูข้าวใช้ carbendazim (50% w/v sc) และ chlorpyrifos ตามอัตราแนะนำ และทำการป้องกันการเข้าทำลายของนกโดยการคลุมด้วยตาข่ายไนล่อนทั้งแปลงเมื่อข้าวเข้าสู่ระยะออกรวงจนถึงสิ้นฤดูการเก็บเกี่ยว

4. **การบันทึกข้อมูลและลักษณะที่ศึกษา** ทำการบันทึกลักษณะผลผลิต องค์ประกอบผลผลิต และลักษณะที่สำคัญอื่นๆ ในแต่ละซ้ำของพันธุ์พ่อ-แม่ และลูกผสมชั่วที่ 2 โดยเก็บข้อมูลทุกกอ ซึ่งลักษณะที่ศึกษามีดังต่อไปนี้

4.1 อายุออกดอก (วัน)

4.2 ความสูงของต้น (วัดจากระดับดินถึงปลายรวงที่สูงที่สุด) (ซม.)

4.3 จำนวนรวงต่อกอ

4.4 จำนวนเมล็ดดีต่อรวง

4.5 น้ำหนักเมล็ดดีต่อกอ (กรัม)

4.6 น้ำหนัก 1,000 เมล็ด (กรัม)

5. **การวิเคราะห์ผลการทดลอง** นำข้อมูลที่บันทึกได้มาวิเคราะห์ ผลการทดลองดังต่อไปนี้

5.1 การวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) เพื่อหาความแตกต่างระหว่างลักษณะพันธุกรรมต่างๆของพ่อ-แม่ และระหว่างลูกผสมชั่วที่ 2 เปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Difference (LSD) (Steel and Torrie, 1960)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5.2 การศึกษาสมรรถนะการผสมของลักษณะต่างๆ ของข้าวทั้ง 4 พันธุ์ โดยวิธีการของ Griffing (1956) Method 2 Model I

5.2.1 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ (Statistical analysis)

วิเคราะห์ผลการทดลองแบบ Randomized Complete Design มี Model คือ

$$X_{ij} = u + v_i + b_j + e_{ij}$$

โดยที่ u = ค่าเฉลี่ยของประชากร

v_i = อิทธิพลของ genotype i

b_j = อิทธิพลของ block j

e_{ij} = ความคาดเคลื่อนโดยสุ่ม

ใน Model I (Fixed Model) (Griffing, 1956) โดยแสดงรายละเอียดในตาราง 1

ตาราง 1 Analysis of variance and expected mean quare (EMS) ของการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

Source	df	MS	EMS
Block	b-1	Mb	$\sigma^2_e + bcK^2(b)$
Genotype	a-1	Mv	$\sigma^2_e + acK^2(v)$
Error	(b-1)(a-1)	Me	σ^2_e

5.2.2 การวิเคราะห์ผลทางพันธุกรรม (genetical analysis)

การวิเคราะห์หาสมรรถนะการผสมของลักษณะต่างๆ ที่ศึกษาโดยใช้วิธีการของ Griffing (1956) Method 2 Model I ซึ่งมี Mathematical model ดังนี้

$$X_{ij} = u + g_i + g_j + s_{ij} + \frac{1}{bc}\sum_k\sum_l e_{ijkl}$$

โดย i, j = $1,\ldots,p$ = จำนวนพ่อแม่ (parents)

k = $1,\ldots,b$ = จำนวนซ้ำ

l = $1,\ldots,c$ = จำนวนต้นต่อแปลง

g_i, g_j = อิทธิพลของ g.c.a. ของพันธุ์พ่อแม่ i หรือ j

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

s_{ij} = อิทธิพลของ s.c.a. ของการผสมระหว่างพันธุ์ i กับพันธุ์ j

e_{ijkl} = อิทธิพลของสภาพแวดล้อมต่อค่าสังเกต ijkl

และได้แสดงการวิเคราะห์ค่า variance และค่า EMS ดังนี้

ตาราง 2 Analysis of variance for Method 2 giving expections of mean squres for the assumption of Model I (Griffing, 1956)

Source	df	SS	MS	EMS
General combining ability	p-1	Sg	Mb	$\sigma^2 + (p+2)\left(\frac{1}{p-1}\right)\sum g_i^2$
Specific combining ability	p(p-1)/2	Ss	Mv	$\sigma^2 + 2\frac{\sum_i\sum_j s_{ij}^2}{p(p-1)}$
Error	m	Se	Me'	σ^2

โดยที่ $Sg = \frac{1}{p+2}\{\sum_i(X_{i.} + x_{ii}) - \frac{4}{p}X_{..}^2\}$

$$Ss = \sum_{i\le j}\sum x_{ij}^2 - \frac{1}{p+2}\sum_I (X_{i.} + x_{ii})^2 + \frac{2}{(p+1)(p+2)}X_{..}^2$$

สำหรับการทดสอบ F- test ของการวิเคราะห์ความแปรปรวนของสมรรถนะการผสมของลักษณะต่างๆ ที่ศึกษา ทำได้ดังนี้

การทดสอบ g.c.a. effect ใช้ $F_{[(p-1),m]} = Mg/Me'$

การทดสอบ s.c.a. effect ใช้ $F_{[p(p-1)/2,m]} = Ms/Me'$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ค่าอิทธิพลต่างๆ ทำการประมาณค่าดังนี้

$$\hat{u} = \frac{2}{p(p+1)} X..$$

$$\hat{g} = \frac{1}{p+2}\left[X_{i.} + x_{ii} - \frac{2}{p} X..\right]$$

$$\hat{S}_{ij} = x_{ij} - \frac{1}{p+2}\left[X_{i.} + x_{ii} + X_{j.} + x_{ii}\right] + \frac{2}{(p+1)(p+2)} X..$$

ค่าความแปรปรวนของอิทธิพลต่างๆ และความแปรปรวนของความแตกต่างระหว่างอิทธิพลต่างๆได้ประมาณค่าดังนี้

$$\text{var}(\hat{u}) = \frac{2}{p(p+1)} \hat{\sigma}^2$$

$$\text{var}(\hat{g}) = \frac{p-1}{p(p+2)} \hat{\sigma}^2$$

$$\text{var}(\hat{S}_{ij}) = \frac{p^2+p+2}{(p+1)(p+2)} \hat{\sigma}^2 \quad (i \neq j)$$

$$\text{var}(\hat{g}_i - \hat{g}_j) = \frac{2}{p+2} \hat{\sigma}^2 \quad (i \neq j)$$

$$\text{var}(\hat{S}_{ii} - \hat{S}_{jj}) = \frac{2(p-2)}{p+2} \hat{\sigma}^2 \quad (i \neq j)$$

การหาความแตกต่างที่น้อยที่สุดของค่าต่างๆได้ดังนี้

LSD_α ของความแตกต่างจาก 0 ของสมรรถนะการผสมทั่วไป

$$= t_\alpha \times \sqrt{\text{var}(\hat{g}_i)}$$

LSD_α ของการเปรียบเทียบสมรรถนะการผสมทั่วไปของพ่อ-แม่ 2 พันธุ์

$$= t_\alpha \times \sqrt{\text{var}(\hat{g}_i - \hat{g}_j)}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

LSD_{α} ของความแตกต่างจาก 0 ของสมรรถนะการผสมเฉพาะที่เกิดจากพ่อ i และแม่ j

$$= t_{\alpha} x \sqrt{var(\hat{S}_{ij})}$$

LSD_{α} ของการเปรียบเทียบสมรรถนะการผสมเฉพาะที่เกิดจากพ่อ i แม่ j

$$= t_{\alpha} x \sqrt{var(\hat{S}_{ii} - \hat{S}_{jj})}$$

5.3 การศึกษาอัตราพันธุกรรม (heritability : h^2) ของลักษณะต่าง ๆ โดยวิธีการประเมิน 2 วิธีดังนี้

5.3.1. การประเมินค่าอัตราพันธุกรรมแบบกว้าง (broad-sense heritability : h^2_{bs}) โดยวิธีการ Mammud and Karmer (1951) อ้างโดย เปรมฤดี (2540)

$$h^2_{bs} = \frac{V_{F2} - \sqrt{((V_{P1})(V_{P2}))}}{V_{F2}}$$

โดยที่ V_{P1} = ค่าลักษณะความแปรปรวนของพันธุ์พ่อ

V_{P2} = ค่าลักษณะความแปรปรวนของพันธุ์แม่

V_{F2} = ค่าลักษณะความแปรปรวนของลูกผสมชั่วที่ 2

5.3.2. การประเมินค่าอัตราพันธุกรรมแบบแคบ (narrow-sense heritability : h^2_{ns}) โดยวิธีการ Offspring and mid-parent regression (Falconer, 1989)

$$h^2_{ns} = b$$

โดยที่ b = สัมประสิทธิ์รีเกรสชัน

5.3.3 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตโดยวิธีการ Simple correlation (Steel and Torrie, 1960) และศึกษาความสัมพันธ์ของแต่ละลักษณะที่มีอิทธิพลทางตรงและมีอิทธิพลทางอ้อมต่อผลผลิตโดยวิธี Path coefficient method (Wright, 1921)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved