# บทที่ 3
# อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การทดลองได้ดำเนินการ ที่แปลงทดลองภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ในระหว่างเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2545 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ. 2546 มีรายละเอียดของการศึกษาดังนี้

**1. พันธุ์และการสร้างลูกผสม** : ข้าวบาร์เลย์ที่ใช้ในการศึกษามีจำนวนทั้งหมด 4 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ SMG-1 (ทนต่อสภาพน้ำขัง), FNBLS#140 (ทนปานกลางต่อสภาพน้ำขัง), CMU96-9 (ทนต่อสภาพน้ำขัง) และ BRB9 (อ่อนแอต่อสภาพน้ำขัง) (Meechoui, 2001 และพันธิภา, 2544) ได้ทำการทดลองปลูกข้าวบาร์เลย์ทั้ง 4 พันธุ์ในเดือนพฤศจิกายน 2544 และผสมพันธุ์เพื่อสร้างเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 1 โดยวิธี Half diallel cross ได้จำนวน 6 คู่ผสม ดังต่อไปนี้

1. SMG-1 x FNBLS#140
2. SMG-1 x CMU96-9
3. SMG-1 x BRB9
4. FNBLS#140 x CMU96-9
5. FNBLS#140 x BRB9
6. CMU96-9 x BRB9

เมื่อได้เมล็ดลูกผสมชั่วที่ 1 แล้ว ในเดือนกันยายน 2545 นำเมล็ดของแต่ละคู่ผสมปลูกเพื่อสร้างเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 2

**2. การดำเนินการทดลอง** : เมื่อได้เมล็ดลูกผสมชั่วที่ 1 และ 2 แล้ว ทำการปลูกทดลองศึกษาลักษณะการถ่ายทอดพันธุกรรมโดยการนำเมล็ดพันธุ์ข้าวบาร์เลย์ชั่วพ่อ-แม่ ลูกผสมชั่วที่ 1 และ 2 ของทั้ง 6 คู่ผสม ปลูกเปรียบเทียบในกระถางก้นปิดขนาดใหญ่ใช้ดินร่วนผสมปุ๋ยคอกในอัตราส่วน 3 : 1 ประมาณ ¾ ของกระถาง โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design จำนวน 3 ซ้ำ ซ้ำละ 6 กระถาง ทำการปลูกแต่ละชุดลูกผสม (Family) ในหนึ่งกระถางประกอบด้วยพ่อ-แม่ ลูกผสมชั่วที่ 1 อย่างละ 3 ต้น และลูกผสมชั่วที่ 2 จำนวน 10 ต้น โดยปลูกลึกประมาณ 2-3 เซนติเมตร

การให้น้ำขังช่วงแรกให้น้ำปกติจนถึงระยะข้าวบาร์เลย์มีใบที่สามจึงให้น้ำขัง 1 นิ้วจากผิวดินเท่ากันหมดทุกชุดลูกผสมเป็นระยะเวลา 3 วันแล้วระบายออก จากนั้นให้น้ำขังอีกครั้งเมื่อถึงระยะแตกกอโดยทำเหมือนกับครั้งแรกทุกประการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**การจัดการและดูแลรักษา**

ใส่ปุ๋ยแต่งหน้าแอมโมเนียมซัลเฟต (21-0-0) อัตรา 20 กก./ไร่ ในระยะที่ข้าวบาร์เลย์มีอายุประมาณ 20 วันหลังงอก และใช้เคมีป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูข้าวบาร์เลย์ด้วย ไดเทนเอ็ม-45 (Dithane M-45) และ Azodrin ส่วนการกำจัดวัชพืชทำโดยวิธีการถอนด้วยมือ

**3. บันทึกข้อมูลและลักษณะที่ศึกษา** : บันทึกข้อมูลต่าง ๆ จากต้นข้าวบาร์เลย์ทุกกอ ดังนี้

1. อัตราการเหลืองของใบเมื่อให้น้ำในช่วงระยะการเจริญเติบโตที่มี 3-4 ใบ
2. น้ำหนักแห้งรวมทั้งต้น (กรัม/ต้น)
3. น้ำหนักแห้งส่วนเหนือดิน (กรัม/ต้น)
4. น้ำหนักแห้งส่วนราก (กรัม/ต้น)
5. ความสูง (เซนติเมตร)(วัดจากโคนต้นจนถึงคอรวงโดยทำการวัดจากหน่อที่สูงที่สุด)
6. จำนวนหน่อต่อต้น
7. จำนวนหน่อที่ให้รวงต่อต้น
8. อายุการออกดอก

**4. การวิเคราะห์ผลการทดลอง** : นำข้อมูลที่บันทึกได้มาวิเคราะห์ผลการทดลองดังต่อไปนี้

4.1 การวิเคราะห์หาสายพันธุ์ข้าวบาร์เลย์ที่ทนต่อสภาวะน้ำขัง

4.1.1 การวัดอัตราการเหลืองของใบจากใบล่างขึ้นด้านบนของพื้นที่ใบทั้งต้น โดยใช้หลักการประเมินของ Standard Evaluation System for Rice (International Rice Research Institution, 1980) ให้คะแนนเป็นเปอร์เซ็นต์ความเหลืองจากฐานของใบเป็น 9 ระดับ ดังนี้

คะแนน 1. ใบข้าวบาร์เลย์ที่มีอาการเหลืองน้อยกว่า 30 %
2. ใบข้าวบาร์เลย์ที่มีอาการเหลือง 30-39%
3. ใบข้าวบาร์เลย์ที่มีอาการเหลือง 40-49%
4. ใบข้าวบาร์เลย์ที่มีอาการเหลือง 50-59%
5. ใบข้าวบาร์เลย์ที่มีอาการเหลือง 60-69%
6. ใบข้าวบาร์เลย์ที่มีอาการเหลือง 70-79%
7. ใบข้าวบาร์เลย์ที่มีอาการเหลือง 80-89%
8. ใบข้าวบาร์เลย์ที่มีอาการเหลือง 90-99%
9. ใบข้าวบาร์เลย์มีอาการเหลืองทั้งใบ 100%

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ทำการบันทึกคะแนนของพันธุ์พ่อ-แม่และลูกผสมของแต่ละพันธุ์แล้วหาค่าเฉลี่ย โดยอธิบายผลของระดับการให้คะแนนดังนี้ คะแนน 1-3 = กลุ่มพันธุ์ทนทาน (tolelance), คะแนน 4-6 = กลุ่มสายพันธุ์ทนทานปานกลาง (moderate tolerance) และคะแนน 7-9 = กลุ่มสายพันธุ์อ่อนแอ (susceptible)

4.1.2. การคำนวณดัชนีทนน้ำขัง (Flooding Tolerance Index) โดยการประยุกต์ วิธีการของ อาวุธ (2530) มีสูตรการคำนวณดังนี้ คือ

Flooding Tolerance Index (FI) = Yield (stress) / Yield (non stress)

หากสายพันธุ์ใดมีค่า FI มากกว่า 1.0 หรือไม่แตกต่างไปจาก 1.0 จะเป็นสายพันธุ์ที่ทน หรือมีความสามารถในการปรับตัวต่อสภาพน้ำขังได้ดี ส่วนสายพันธุ์ที่มีค่า FI น้อยกว่า 1.0 อย่างมีนัยสำคัญ จะเป็นสายพันธุ์ที่ไม่ทนต่อสภาพน้ำขังโดยจะให้น้ำหนักแห้งทั้งต้นลดลง

4.2 การวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) เพื่อหาความแตกต่างระหว่างลักษณะพันธุกรรมของพันธุ์พ่อ แม่ และระหว่างลูกผสม เปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Difference (LSD) (Steel and Torrie, 1960)

4.3 การศึกษาอัตราพันธุกรรม (heritability : $h^2$) ของลักษณะต่าง ๆ โดยวิธีการประเมิน 2 วิธี ดังนี้ คือ

4.3.1. 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 $V_{P1}$ = ค่าลักษณะความแปรปรวนของพ่อ

$V_{P2}$ = ค่าลักษณะความแปรปรวนของแม่

$V_{F2}$ = ค่าลักษณะความแปรปรวนของลูกผสมชั่วที่ 2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

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

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

โดยที่ b = สัมประสิทธิ์รีเกรชชั่น

4.4 การศึกษาความสามารถในการรวมตัว (combining ability) ของลักษณะต่างๆ ของข้าวบาร์เลย์ทั้ง 4 พันธุ์ โดยวิธีการของ Griffing (1956) Method 2 Model I

4.4.1 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 Square (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 | $\sigma^2_e$ |

4.4.2 การวิเคราะห์ผลทางพันธุกรรม (genetic analysis)

การวิเคราะห์หาความสามารถในการรวมตัว (Combining ability analysis) ของลักษณะต่างๆ ที่ศึกษาโดยใช้วิธีการของ Griffing (1956) Method 2 Model I ซึ่งมี mathematical model ดังนี้

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

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

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. (general combining ability) ของพันธุ์พ่อแม่ i หรือ j

$s_{ij}$ = อิทธิพลของ s.c.a. (specific combining ability) 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 | Sum of squre | Mean squre | 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 | $\sigma^2 + \frac{2}{p(p-1)}\sum_i\sum_j s_{ij}^2$ |
| Error | m | Se | Me' | $\sigma^2$ |

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

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

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สำหรับการทดสอบ F- test ของการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความสามารถในการรวมตัวของลักษณะต่างๆ ที่ศึกษา ทำได้ดังนี้

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

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

ค่าอิทธิพลต่างๆทำการประมาณค่าดังนี้

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

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

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

ค่าความแปรปรวนของอิทธิพลต่างๆ และความแปรปรวนของความแตกต่างระหว่างอิทธิพลต่างๆได้ประมาณค่าดังนี้

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

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

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

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

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

การหาความแตกต่างที่น้อยที่สุดของค่าต่างๆได้ดังนี้

$LSD_\alpha$ ของความแตกต่างจาก 0 ของความสามารถในการรวมตัวทั่วไป

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

$LSD_\alpha$ ของการเปรียบเทียบความสามารถในการรวมตัวทั่วไปของพ่อ-แม่ 2 พันธุ์

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

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

$LSD_{\alpha}$ ของความแตกต่างจาก 0 ของความสามารถในการรวมตัวเฉพาะที่เกิดจากพ่อ i และแม่ j

$$= t_{\alpha} \sqrt[x]{\text{var}(\hat{s}_{ij})}$$

$LSD_{\alpha}$ ของการเปรียบเทียบความสามารถในการรวมตัวเฉพาะที่เกิดจากพ่อ i แม่ j

$$= t_{\alpha} \sqrt[x]{\text{var}(\hat{s}_{ii} - \hat{s}_{jj})}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved