บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศเพื่อความต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ ได้แบ่งออกเป็น 5 การทดลองใหญ่ โดยในแต่ละการทดลองประกอบด้วย การทดลองย่อย ที่ทดลองในห้องปฏิบัติการและแปลงทดลองของบริษัท เจียไต๋ จำกัด อ. หางดง จ. เชียงใหม่ และศูนย์วิจัยฯ เทคโนโลยีชีวภาพด้านพืช มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ โดยมีขั้นตอนและการดำเนินงานอย่างละเอียดดังนี้

การทดลองที่ 1 การรวบรวมและศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ของมะเขือเทศ

1.1 การศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ของมะเขือเทศ

ศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ของมะเขือเทศ โดยปลูกทดสอบพันธุ์ของมะเขือเทศ เพื่อศึกษาลักษณะประจำพันธุ์ การเจริญเติบโตและลักษณะผลผลิต ในช่วงเดือน พฤษภาคม-กันยายน พ.ศ. 2547 มีขั้นตอนการทำงานตามแผนภูมิการดำเนินงานและวิธีการทดลอง (ภาพที่ 6) โดยรวบรวมสายพันธุ์มะเขือเทศ จำนวน 4 สายพันธุ์ ซึ่งได้มาจาก 2 แหล่ง คือ สายพันธุ์แท้ที่รับมาจากบริษัท เจียไต๋ จำกัด 2 สายพันธุ์ ได้แก่ ซีที1 และ ซีที2 ซึ่งอ่อนแอต่อโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ สายพันธุ์ที่ได้รับมาจากศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อนแห่งเอเชีย (Asian Vegetable Research and Development Center : AVRDC) 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์เอช24 และพันธุ์ซีแอลเอ็น 2026ดี โดยพันธุ์เอช 24 (*Lycopersicon esculentum* Mill.) เป็นพันธุ์ต้านทานต่อโรคไวรัสใบหงิกเหลือง ที่ได้รับการถ่ายทอดความต้านทานมาจากมาจากพันธุ์ป่า *L. hirsutum* f. *glabatum* accession B 6013 มียีนต้านทาน ตั้งอยู่บนโครโมโซมที่ 11 (Hansan , 2000) นำมาใช้เป็นพันธุ์เพื่อถ่ายยีนต้านทาน และพันธุ์ซีแอลเอ็น 2026ดี (*L. esculentum* Mill.) เป็นพันธุ์อ่อนแอต่อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ ใช้เป็นพันธุ์ควบคุม นำพันธุ์ทั้ง 4 พันธุ์ มาปลูกทดสอบและวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (randomized complete block design : RCBD) หน่วยทดลอง คือ พันธุ์พืช ปลูก 30 ต้นต่อพันธุ์ แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ซ้ำ เก็บข้อมูล 10 ต้นต่อซ้ำ วิธีการทดลองคือ นำมะเขือเทศทั้ง 4 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ ซีที 1 พันธุ์ ซีที 2 พันธุ์ เอช24 และพันธุ์ ซีแอลเอ็น 2026ดี เพาะกล้าในถาดขนาด 50 หลุม โดยใช้วัสดุเพาะกล้า พีชมอส : เวอร์มิคูไลท์ อัตรา 3 : 1 เมื่อต้นกล้าอายุ 25 วันหลังย้ายหยอด จึงย้ายลงแปลง การเตรียมแปลงเพาะปลูกโดยไถตากดินไว้ 1 สัปดาห์ ใส่ปูนขาว 100 กิโลกรัมต่อไร่ ขี้วัว 1 ตันต่อไร่ และ ปุ๋ย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สูตร 15-15-15 อัตรา 50 กิโลกรัมต่อไร่ จากนั้นไถพรวน ยกร่อง และเตรียมแปลงขนาดแปลงกว้าง 1 เมตร ระยะระหว่างแปลง 0.5 เมตร คลุมแปลงด้วยพลาสติกสีเทาเงิน และเจาะหลุมระยะระหว่างต้น 40 เซนติเมตร ระยะระหว่างแถว 40 เซนติเมตร ปักค้างแบบกระโจมสามเหลี่ยม นำต้นกล้าอายุ 25 วัน ย้ายลงปลูกตามแผนการทดลองที่วางไว้ หลังจากนั้น 3 สัปดาห์ ทำการตัดแต่งแขนงโดยตัดแต่งตั้งแต่โคนต้นจนถึงง่าม ส่วนแขนงข้างบนง่ามขึ้นไปปล่อยทิ้งไว้ให้เจริญเติบโต โดยตัดแต่งอาทิตย์ละ 1 ครั้ง การให้น้ำและการใส่ปุ๋ย โดยให้ปุ๋ยตามระบบน้ำหยด ใช้ปุ๋ยสูตรดังนี้ ระยะการเจริญเติบโต ใช้ปุ๋ยสูตร 20-20-20 + TE อัตรา 0.11 กรัมต่อต้นต่อวัน ระยะการออกดอกและเริ่มติดผลอ่อน ใช้ปุ๋ยสูตร 14-7-21 + TE อัตรา 0.41 กรัมต่อต้นต่อวัน และระยะการติดผลจนกระทั่งเก็บเกี่ยว ใช้ปุ๋ยสูตร 14-7-28 + TE อัตรา 0.41 กรัมต่อต้นต่อวัน พ่นธาตุอาหารรองแคลเซี่ยมโบร่อน อัตรา 20-50 กรัมต่อน้ำ 20 ลิตร โดยพ่นทุกสัปดาห์ การพ่นสารเคมีป้องกันและกำจัดเชื้อราและแมลง พ่นสัปดาห์ละ 1 ครั้ง สารเคมีป้องกันและกำจัดเชื้อรา ได้แก่ เมตาแลกซิลและแมนโคเซป สารเคมีป้องกันและกำจัดแมลง ได้แก่ อะบาแม็กตินและเมโทมิล

การผลิตเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 1

ทำการผสมพันธุ์มะเขือเทศ แบบ Reciprocal cross โดยผสมข้ามพันธุ์ระหว่างสายพันธุ์ต้านทานต่อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ คือ เอช24 กับพันธุ์ ซีที 1 และ ซีที 2 ตามแผนผังการผสม

ตารางที่ 1 แผนผังการผสมพันธุ์มะเขือเทศแบบ Reciprocal cross ระหว่างพันธุ์ต้านทานเอช 24 กับพันธุ์ซีที 1 และพันธุ์ซีที 2

พันธุ์ต้านทานโรค / พันธุ์อ่อนแอ	เอช24
ซีที 1	ซีที1 x เอช24
	เอช24 x ซีที1
ซีที 2	ซีที2 x เอช24
	เอช24 x ซีที2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยมีขั้นตอนในการปรับปรุงพันธุ์ แสดงไว้ตามแผนผังการปรับปรุงพันธุ์ (ภาพที่ 7) วิธีการผสมข้ามพันธุ์ โดยทำการตอนดอก (emasculation) ในระยะดอกตูมของสายพันธุ์ ซีที 1

และสายพันธุ์ ซีที 2 ไว้ 1 วัน จากนั้นนำเกสรของสายพันธุ์ เอช24 มาผสมเพื่อผลิตลูกผสมใหม่ ทำสัญญาลักษณ์ไว้ เพื่อป้องกันการเก็บเมล็ดปนกัน

การผสมตัวเอง โดยให้คลุมดอกตูมด้วยถุงคลุมดอกขนาด 2 x 4 เซนติเมตร จากนั้นอีก 1-2 วัน จึงเปิดถุงคลุมดอกและใช้คีมแคะแต้มเกสรตัวผู้บนยอดของเกสรตัวเมีย คลุมดอกไว้เช่นเดิม ทำสัญญาลักษณ์ไว้ เมื่อเริ่มติดผลอ่อนให้เปิดถุงคลุมออก รอจนผลสุกแก่ จึงเก็บเมล็ด

การบันทึกข้อมูล

การบันทึกข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ตามแบบบันทึกลักษณะทางพืชสวนของมะเขือเทศ (IBPGR, 1981) ดังนี้

1. ลักษณะการเจริญเติบโต (growth habit) โดยจำแนกออกเป็น 4 กลุ่ม คือ

คะแนน	
1	แบบพุ่มเตี้ย (dwarf)
2	แบบพุ่ม (determinate)
3	แบบกึ่งเลื้อย (semi-determinate)
4	แบบเลื้อย (indeterminate)

2. ขนาดทรงพุ่ม (plant size)

คะแนน		สายพันธุ์อ้างอิง
3	ขนาดเล็ก	ยูซี 82บี
5	ขนาดปานกลาง	
7	ขนาดใหญ่	

3. ความหนาแน่นของใบ (leaf density)

คะแนน	
3	หนาแน่นน้อย
5	หนาแน่นปานกลาง
7	หนาแน่นมาก

4. ลักษณะใบ

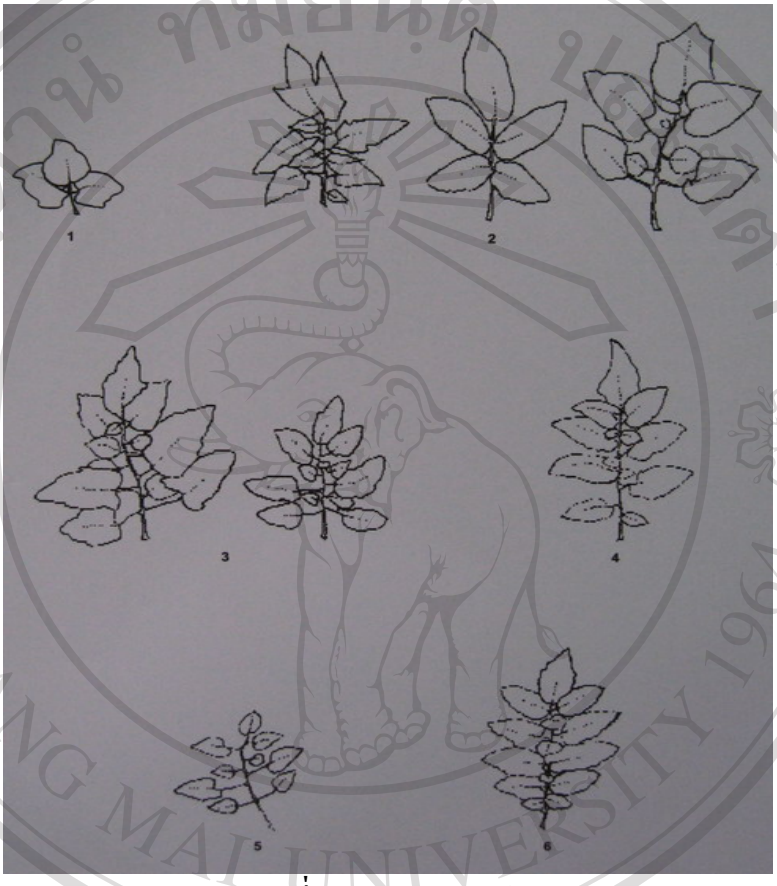
คะแนน	
1	ใบเล็ก (dwarf)
2	ใบมันฝรั่ง (potato leaf)
3	ใบมาตรฐาน (standard)
4	ใบแบบ Peruvianum

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5 ใบแบบ Pimpinellifolium

6 ใบแบบ Hirsutum

7 อื่นๆ



ภาพที่ 4 ลักษณะของใบ

5. ความหนาแน่นขนตามลำต้น (stem pubescence density)

คะแนน

3 หนาแน่นน้อย

5 หนาแน่นปานกลาง

7 หนาแน่นมาก

6. อายุดอกบาน 50 % (วัน) นับจากวันย้ายกล้าจนถึงวันที่ดอกบานครึ่งหนึ่งของจำนวนต้นปลูก

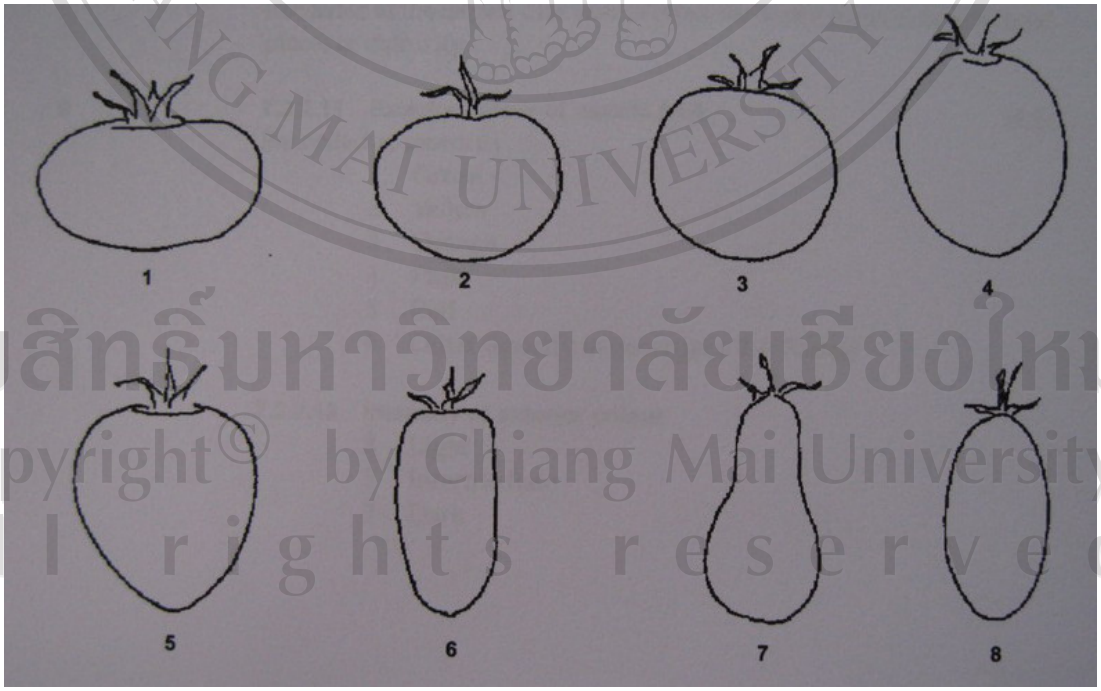
7. อายุเก็บเกี่ยว (วัน) นับจากวันย้ายกล้าจนถึงวันที่เริ่มผลสุกครึ่งหนึ่งของจำนวนต้นปลูก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

8. ผล (fruit) ได้แก่ ลักษณะผล ขนาดผล ประกอบด้วย ความกว้างผล ความยาวผล (เซนติเมตร) น้ำหนักต่อผล (กรัม) ความหนาเนื้อ (เซนติเมตร) จำนวนช่อง (ช่อง)

8.1 ลักษณะผล (fruit shape)

คะแนน	
1	กลมแบน (flattened or oblate)
2	กลมแบนเล็กน้อย (slightly flattened)
3	กลม (rounded)
4	กลมสูง (high rounded)
5	หัวใจ (heartshaped)
6	ทรงกระบอก (cylindrical or long oblong)
7	รูปแพร์ (pyriform)
8	รูปพรัม (ellipsoid or plum shaped)
9	อื่นๆ



ภาพที่ 5 ลักษณะผล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

8.2 ขนาดผล

คะแนน		สายพันธุ์อ้างอิง
1	ผลขนาดเล็กมาก (< 3 ซม.)	Cerise
2	ผลขนาดเล็ก (3-5 ซม.)	Freued
3	ผลขนาดปานกลาง (5.1-8 ซม.)	Vollendung
4	ผลขนาดใหญ่ (8.1-10 ซม.)	Bonset
5	ผลขนาดใหญ่มาก (> 10 ซม.)	Grosse rote

8.3 น้ำหนักผล (กรัม)

8.4 ความกว้างผล (มม.)

8.5 ความยาวผล (มม.)

8.6 ความหนาเนื้อ (มม.)

8.7 จำนวนช่องในผล (ช่อง)

โดยสุ่มเก็บข้อมูลผลของมะเขือเทศ จำนวน 10 ผลต่อต้น 10 ต้นต่อซ้ำ และเก็บข้อมูลจากการเก็บผลผลิตครั้งที่ 2

9. ลักษณะผลผลิต

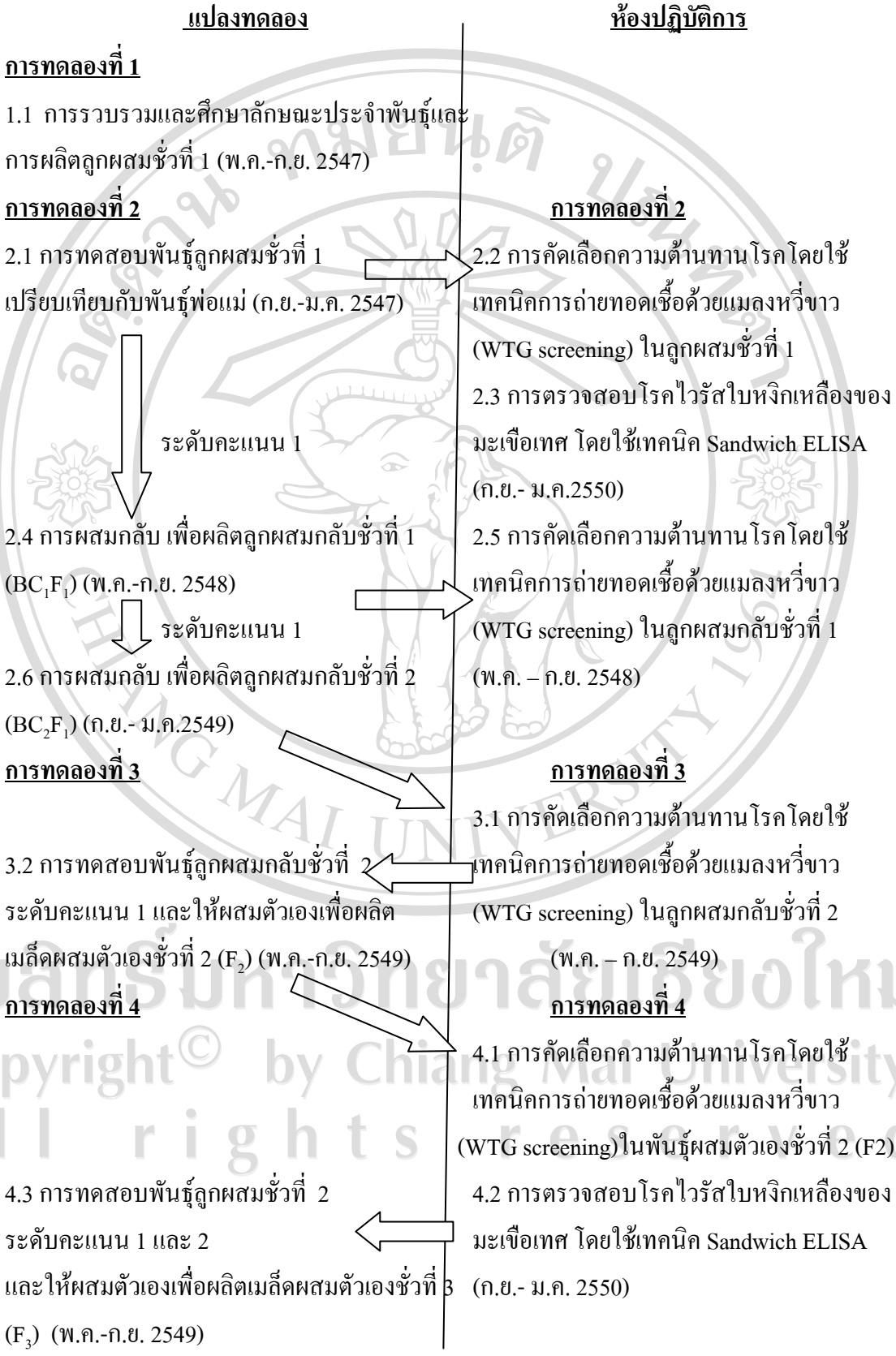
9.1 จำนวนผลต่อต้น (ผล)

9.2 น้ำหนักผลต่อต้น (กิโลกรัม)

โดยเริ่มเก็บเกี่ยวเมื่อผลของมะเขือเทศเริ่มเปลี่ยน เป็นสีแดง 70 % หรือเมื่อมะเขือเทศอายุ 45 วันหลังดอกบาน โดยเก็บข้อมูล 5 ครั้ง แต่ละครั้งห่างกัน 5 วัน และครั้งสุดท้าย เก็บผลผลิตทั้งต้น

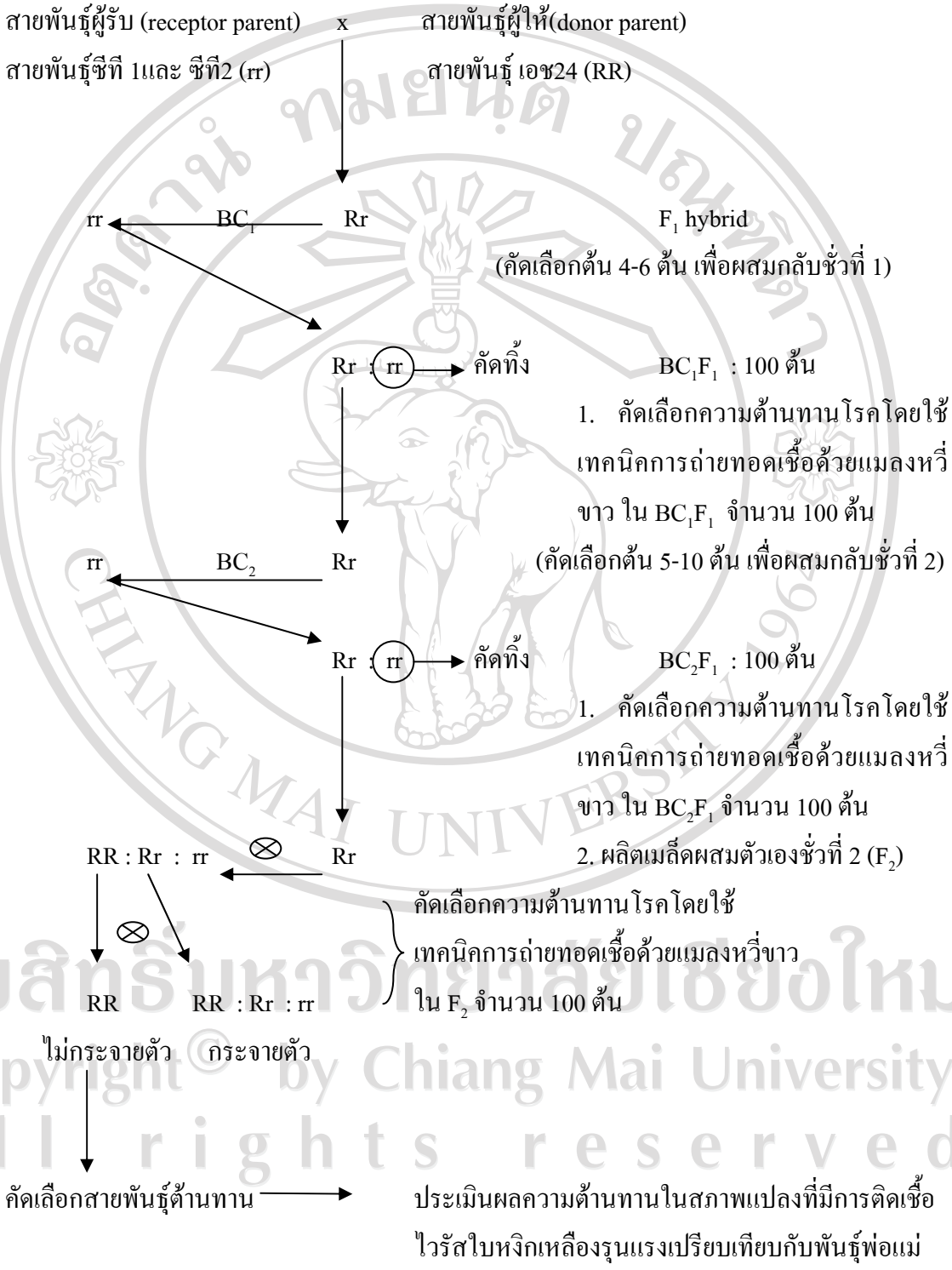
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 6 แผนภูมิการดำเนินงานและวิธีการทดลอง



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 7 แผนภูมิการปรับปรุงพันธุ์



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 2 การศึกษาเปรียบเทียบพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) กับสายพันธุ์พ่อแม่

ในการปลูกทดสอบพันธุ์ แบ่งการศึกษาออกเป็น 4 การทดลองย่อย ดังนี้

2.1 การศึกษาลักษณะผลผลิตของลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) เปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่

โดยปลูกทดสอบพันธุ์ เดือนกันยายน – มกราคม พ.ศ. 2547 (ภาพที่ 6) แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ชุด ดังนี้ ชุดที่ 1 ประกอบด้วย มะเขือเทศ 4 พันธุ์ ได้แก่มะเขือเทศลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) ซีที1 x เอช24 เอช24 x ซีที1 พันธุ์ ซีที 1 และพันธุ์เอช24 ชุดที่ 2 ประกอบด้วย มะเขือเทศ 4 พันธุ์ ได้แก่ ลูกผสมชั่วที่ 1(F_1) ซีที2 x เอช24 เอช24 x ซีที2 พันธุ์ ซีที 1 และพันธุ์ เอช24 โดยแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (randomized complete block design : RCBD) หน่วยทดลอง คือ พันธุ์พืช แต่ละชุดการทดลองปลูก 30 ต้นต่อพันธุ์ แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ซ้ำ โดยเก็บข้อมูล 5 ต้นต่อซ้ำ การเตรียมต้นกล้า การปลูกและดูแลรักษา เช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 การประเมินผลและบันทึกข้อมูลลักษณะผลผลิต ดังนี้ ความกว้างผล ความยาวผล น้ำหนักต่อผล ความหนาเนื้อ จำนวนช่องในผล ผลผลิตต่อต้น จำนวนผลต่อต้น

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ เช่นเดียวกันกับการทดลองที่ 1

2.2 ศึกษาความดีเด่น (heterosis) ของลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1)

โดยนำค่าเฉลี่ยของลักษณะผลผลิตมาคำนวณหาค่าความดีเด่น (heterosis) ของลูกผสมชั่วที่ 1 โดยเปรียบเทียบ 2 แบบ คือ เปรียบเทียบความดีเด่นของลูกผสมชั่วแรกกับค่าเฉลี่ยพ่อแม่ (mid parent : MP) และเปรียบเทียบกับพ่อแม่ที่ดีกว่า (high parent : HP) ในแต่ลักษณะค่าแสดงความดีเด่นของลูกผสมแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีทั้งค่าบวกคือมีความดีเด่นเหนือกว่าพ่อแม่และมีค่าลบเมื่อมีค่าน้อยกว่าพ่อแม่

คำนวนโดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของพันธุ์พ่อแม่

$$\text{heterosis} = \overline{F_1} - MP \qquad (1)$$

หรือ

$$\%\ \text{heterosis} = \frac{(\overline{F_1} - MP)}{MP} \times 100 \qquad (2)$$

หรือ

$\overline{F_1}$ = ค่าเฉลี่ยของลูกผสม (3)

MP = ค่าเฉลี่ยของพันธุ์พ่อแม่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

คำนวนโดยเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของพันธุ์พ่อและแม่ที่ดีกว่า

$$\text{heterobeltiosis (\%)} = \frac{[(\bar{F}_1 - HP)]}{HP} \times 100$$

$\bar{F}_1$ = ค่าเฉลี่ยของลูกผสม 10 คู่

HP = ค่าเฉลี่ยของพ่อแม่ที่มีลักษณะที่ดี

ผลิตลูกผสมกลับชั่วที่ 1 (BC_1F_1) ทำการผสมกลับระหว่างลูกผสมชั่วที่ 1 กับพันธุ์ซีที1 และพันธุ์ ซีที2 โดยปลูกพันธุ์แม่ คือ ซีที1 และ ซีที2 และลูกผสมชั่วที่ 1 ซีที1 x เอช24 และ ซีที2 x เอช24 โดยทำการตอนดอก (emasculation) พันธุ์แม่ คือซีที1 และซีที2 ไว้ 1 วัน โดยตอนในระยะดอกตูมก่อนดอกบาน 1 วัน จากนั้นนำเกสรของสายพันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 ซีที1 x เอช24 และ ซีที2 x เอช24 ผสมกับสายพันธุ์แม่ ซีที1 และ ซีที2 ตามลำดับ เพื่อผลิตลูกผสมกลับ (backcrossing) (ภาพที่ 7)

การบันทึกข้อมูล

วิเคราะห์ค่าความดีเด่นที่เกิดในลูกผสมชั่วที่ 1

2.3 การศึกษาความต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ โดยใช้เทคนิคการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาวในมะเขือเทศลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) เปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่และพันธุ์ควบคุม

โดยทำการศึกษาความต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ โดยใช้เทคนิคการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาว เดือนกันยายน – มกราคม พ.ศ. 2549 (ภาพที่ 6) โดยศึกษาในมะเขือเทศ 6 พันธุ์ ดังนี้ พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) ซีที1 x เอช24 และซีที2 x เอช24 พันธุ์ ซีที1 พันธุ์ซีที2 พันธุ์ เอช24 และพันธุ์ควบคุม นำมะเขือเทศทั้ง 6 พันธุ์ มาเพาะกล้าในโรงเรือนตาข่ายกันแมลงขนาดช่อง 40 ช่องต่อมิลลิเมตร โดยเพาะกล้าในกระถางขนาด 2 นิ้ว โดยใช้วัสดุพีชมอส ปลูกจำนวน 30 ต้นต่อพันธุ์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (randomized complete block design : RCBD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำๆ เก็บข้อมูลซ้ำละ 10 ต้น

การเตรียมแมลงหวี่ขาวที่ติดเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ นำแมลงหวี่ขาวมาเลี้ยงบนต้นมันเทศที่ปลูกในกรงตาข่าย ขนาด 40 ช่องต่อมิลลิเมตร ปล่อยให้แมลงหวี่ขาวผสมพันธุ์และวางไข่บนต้นมันเทศ จากนั้นย้ายต้นมันเทศที่มีไข่และตัวอ่อนของแมลงหวี่ขาวเกาะอยู่

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ใต้ใบย้ายเข้าไปในโรงเรือนตาข่ายขนาด 40 ช่องต่อมิลลิเมตร เพื่อให้แมลงหวี่ที่เกิดออกมาใหม่เพิ่มจำนวนในโรงเรือนตาข่าย ซึ่งจะได้แมลงหวี่ขาวที่ปลอดเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ

การปลูกเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศในสายพันธุ์ทดสอบ โดยนำแมลงหวี่ขาวที่ปลอดเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ ที่เลี้ยงไว้บนต้นมันเทศในโรงเรือนเลี้ยงแมลงหวี่ขาว มาไว้บนต้นมะเขือเทศเพื่อให้ดูดกินน้ำเลี้ยงจากต้นที่ติดเชื้อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ ซึ่งแสดงอาการ ใบด่างเหลือง หงิกงอ ขอบใบเหลือง ขอบใบห่อขึ้น ขนาดใบลด รูปบิดเบี้ยว และต้นแคระแกร็น เมื่อตรวจสอบวินิจฉัยโรคด้วยเทคนิค ELISA พบว่าสามารถตรวจพบการติดเชื้อ ไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ ปล่อยให้ดูดกินน้ำเลี้ยงในกรงตาข่ายเลี้ยงแมลงหวี่ขาวนาน 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นย้ายแมลงมาไว้บนต้นกล้ามะเขือเทศสายพันธุ์ทดสอบ ซึ่งเตรียมไว้ อายุ 14 วันหลังหยอดเมล็ด โดยใช้แมลงหวี่ขาวจำนวน 10-15 ตัวต่อต้น ให้ดูดกินน้ำเลี้ยงนาน 8 ชั่วโมง จากนั้นจึงพ่นยาฆ่าแมลง ได้แก่ อะบาแม็กตินและเมโทมิล เก็บรักษาต้นกล้ามะเขือเทศไว้ 3 สัปดาห์ จึงประเมินผลความรุนแรงของการเกิดโรค

การบันทึกข้อมูล

บันทึกผลความรุนแรงของการเกิดโรค โดยแบ่งการให้คะแนนออกเป็น 5 ระดับ ดังนี้ (Pico *et al*., 1997)

คะแนน

0 = ไม่แสดงอาการเลย (ภาพที่ 8)

1 = แสดงอาการเล็กน้อย (ขอบใบเหลืองและม้วนเล็กน้อย (ภาพที่ 9)

2 = แสดงอาการปานกลาง (ขอบใบและระหว่างเส้นใบเหลืองเล็กน้อย ใบม้วนปานกลาง (ภาพที่ 10)

3 = แสดงอาการรุนแรง (ขอบใบและระหว่างเส้นใบเหลืองมาก ใบม้วน (ภาพที่11)

4 = แสดงอาการรุนแรงมาก (ขอบใบและระหว่างเส้นใบเหลืองมาก ใบม้วน ใบมีขนาดเล็กลง แคระแกร็น) (ภาพที่ 12)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 8 มะเขือเทศปกติไม่แสดงอาการของโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ

ภาพที่ 9 มะเขือเทศที่เป็นโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ ระดับคะแนน 1 แสดงอาการใบด่างเหลืองและม้วนเล็กน้อย

ภาพที่ 10 มะเขือเทศที่เป็นโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ ระดับคะแนน 2 แสดงอาการขอบใบและระหว่างเส้นใบเหลืองเล็กน้อย ใบม้วนปานกลาง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ภาพที่ 11 มะเขือเทศที่ของโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ ระดับคะแนน 3 แสดงอาการขอบใบและระหว่างเส้นใบเหลืองมาก ใบม้วน

ภาพที่ 12 มะเขือเทศที่เป็นโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ ระดับคะแนน 4 แสดงอาการขอบใบและระหว่างเส้นใบเหลืองมาก ใบม้วน ใบมีขนาดเล็กลง แคระแกร็น

2.4 การตรวจวินิจฉัยโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ โดยใช้เทคนิค sandwich ELISA ในมะเขือเทศลูกผสมชั่วที่ 1 เปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่และพันธุ์ควบคุม

การตรวจวินิจฉัยโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ ในห้องปฏิบัติการ โดยนำเทคนิค sandwich ELISA (อรประไพและคณะ, 2549) มาใช้ในการตรวจสอบและวินิจฉัย โรคของมะเขือเทศ 6 พันธุ์ โดยมีหลักการคือให้แอนติเจนทำปฏิกิริยากับแอนติบอดีที่ติดฉลากด้วยเอนไซม์ และตรวจสอบปฏิกิริยาโดยเติมสับสเตรท (substrate) ของเอนไซม์นั้น ผลที่เกิดขึ้นคือการเปลี่ยนสีของสับสเตรท ซึ่งสามารถอ่านได้ด้วยเครื่อง ELISA reader เปรียบเทียบกับสารควบคุม (control) ความเข้มสีของปฏิกิริยาเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณของแอนติเจนในตัวอย่าง ทำการทดลองเดือนกันยายน – ตุลาคม พ.ศ. 2549 (ภาพที่ 6) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (randomized complete block design : RCBD) มีหน่วยทดลอง คือ พันธุ์พืช

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ซ้ำๆ ละ 5 ตัวอย่าง โดยนำตัวอย่างใบอ่อนมะเขือเทศ ได้แก่ พันธุ์ลูกผสมชั่วที่ 1 ซีที1 x เอช24 และ ซีที2 x เอช24 ระดับคะแนน 1 และ 2 พันธุ์ ซีที1 พันธุ์ ซีที2 พันธุ์ เอช24 พันธุ์ ควบคุม และมะเขือเทศปกติ (healthy plant) มาสกัดโปรตีน วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการทดลอง ดังนี้

การสกัดโปรตีน

นำใบอ่อนมะเขือเทศที่ทำความสะอาดแล้ว 0.05 กรัม บดใน extraction buffer ปริมาตร 500 มิลลิลิตร (มล.) จนละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน ทิ้งไว้ให้ตกตะกอน 5 นาที หรือนำไปเหวี่ยงให้ตกตะกอน ที่ 10,000 รอบต่อนาที นาน 5 วินาที ดูดย้ายสารละลายใสใส่หลอดไมโครทิวป์ใหม่

การเคลือบเพลท (coat plate)

เคลือบเพลท ขนาด 96 หลุม ด้วยโพลีโคนอลแอนติบอดีที่สกัดมาจากกระต่ายต่อเชื้อเจมิไนไวรัสที่เข้าทำลายฟักทอง (rabbit polyclonal antibody to pumpkin yellow leaf puckering virus : PYLPV) มีวิธีการดังนี้ เติมแอนติบอดีที่สกัดมาจากกระต่ายต่อเชื้อเจมิไนไวรัสที่เข้าลายทำฟักทอง เจือจางด้วย coating buffer อัตรา 1: 5000 ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง จากนั้นเทสารละลายในเพลททิ้ง เติมด้วย washing buffer ปริมาตร 400 มิลลิลิตร ต่อหลุม ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วล้างออก ทำซ้ำ 3 ครั้ง นำเพลทที่ผ่านการล้างแล้วมาบล็อกเพลท (blocked plate) ด้วย blocking solution (2% BSA ใน washing buffer) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง เทสารละลายใสในเพลททิ้งเติมด้วย washing buffer ปริมาตร 400 มิลลิลิตรต่อหลุม ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วล้างออก ทำซ้ำ 3 ครั้ง จากนั้นนำเพลทที่ผ่านการล้างแล้ว เติมด้วยน้ำคั้นจากพืช (plant sap) ที่เตรียมจากขั้นตอนการสกัดโปรตีน ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง เทสารละลายในเพลททิ้ง เติมด้วย washing buffer ปริมาตร 400 มิลลิลิตรต่อหลุม ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วล้างออก ทำซ้ำ 3 ครั้ง นำเพลทที่ผ่านการล้างแล้วมาเติมด้วยโมโนโคนอลแอนติบอดีจากโคลน M1 (mouse monoclonal antibody M1) ที่เฉพาะ เจาะจงต่อไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศที่เจือจางใน 0.5% BSA ใน washing buffer อัตรา 1 : 2000 (mouse monoclonal antibody ปริมาตร 50 ไมโครลิตร : 0.5% BSA ใน washing buffer 100 มิลลิลิตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง เทสารละลายในเพลททิ้ง เติมด้วย washing buffer ปริมาตร 400 มิลลิลิตรต่อหลุม ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วล้างออก ทำซ้ำ 3 ครั้ง นำเพลทที่ผ่านการล้างแล้วเติมด้วย alkaline phosphatase conjugated goat anti-mouse IgG+A+M (H+L) เจือจางด้วย 0.5 % BSA ใน washing buffer อัตรา 1 : 20000 (alkaline phosphatase conjugated

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

goat anti-mouse IgG+A+M (H+L) ปริมาตร 5 ไมโครลิตร : 0.5% BSA ใน washing buffer ปริมาตร 100 มิลลิลิตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง เท สารละลายในเพลททิ้ง เติมด้วย washing buffer ปริมาตร 400 มิลลิลิตรต่อหลุม ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วล้างออก ทำซ้ำ 3 ครั้ง นำเพลทที่ผ่านการล้างแล้วมาเติมด้วยสารละลายสับสเตรท p-nitrophenyl phosphate : PNPP (100X PNPP stock ปริมาตร 100 ไมโครลิตร : Diethanolamine buffer ปริมาตร 10 มิลลิลิตร) ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง สังเกตปฏิกิริยาการเปลี่ยนสีของสับสเตรท เมื่อ positive control เริ่มเปลี่ยนสีเป็นสีเหลือง ให้เติม 3N NaOH ปริมาตร 25 ไมโครลิตรต่อหลุม เพื่อหยุดปฏิกิริยา อ่านค่าของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นด้วยเครื่อง ELISA reader ที่ 405 นาโนเมตร

การบันทึกข้อมูล

บันทึกข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง ELISA reader

การทดลองที่ 3 การศึกษาเปรียบเทียบพันธุ์ลูกผสมกลับชั่วที่ 2 (BC_2F_1) เปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่และพันธุ์ควบคุม

แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 การทดลอง โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบพันธุ์ ณ สถานีวิจัยและพัฒนาพันธุ์พืชเชียงใหม่ บริษัทเจียไต๋ จำกัด อ.หางดง จ. เชียงใหม่ เดือนกันยายน – มกราคม พ.ศ. 2549 (ภาพที่ 6)

3.1 การศึกษาความต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ โดยใช้เทคนิคการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาว ในมะเขือเทศลูกผสมกลับชั่วที่ 2 ซีที1 x เอช24 และ ซีที2 x เอช24 เปรียบเทียบกับพันธุ์ต้านทาน เอช24 และพันธุ์ควบคุม ซีแอลเอ็น 2026ดี

โดยศึกษาความต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ ในพันธุ์ลูกผสมกลับชั่วที่ 2 (BC_2F_1) ซีที1 x เอช24 3 คู่ผสม คือ ต้นที่ 1 2 และ 3 พันธุ์ลูกผสมกลับชั่วที่ 2 (BC_2F_1) ซีที2 x เอช24 3 คู่ผสม คือ ต้นที่ 1 2 และ 3 พันธุ์เอช24 และพันธุ์ ควบคุม ซึ่งแบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ชุด ชุดละ 5 พันธุ์ ดังนี้ คือ ชุดที่ 1 ประกอบด้วย สายพันธุ์ลูกผสมกลับชั่วที่ 2 (BC_2F_1) ซีที1 x เอช24-1 ซีที1 x เอช24-2 ซีที1 x เอช24-3 พันธุ์ เอช24 และพันธุ์ควบคุม ชุดที่ 2 ประกอบด้วย สายพันธุ์ลูกผสมกลับชั่วที่ 2 (BC_2F_1) ซีที2 x เอช24-1 ซีที2 x เอช24-2 ซีที2 x เอช24-3 พันธุ์เอช24 และพันธุ์ควบคุม นำมะเขือเทศทั้ง 2 ชุด มา

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เพาะกล้าในโรงเรือนตาข่ายกันแมลงขนาดช่อง 40 ช่องต่อมิลลิเมตร โดยเพาะกล้าในกระถางขนาด 2 นิ้ว ด้วยวัสดุพีชมอส โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design : CRD) ปลูกสายพันธุ์ลูกผสมกลับชั่วที่ 2 จำนวน 90 ต้นต่อพันธุ์ พันธุ์เอช24 และพันธุ์ควบคุม จำนวน 20 ต้นต่อพันธุ์ แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ซ้ำ ขั้นตอนการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาวและบันทึกผลความรุนแรงของการเกิดโรค เช่นเดียวกันกับการทดลองที่ 2.2

3.2 การศึกษาและเปรียบเทียบพันธุ์ของมะเขือเทศลูกผสมกลับชั่วที่ 2 (BC_2F_1) ระดับคะแนน 1 พันธุ์ เอช24 และพันธุ์ควบคุม

โดยนำมะเขือเทศพันธุ์ลูกผสมกลับชั่วที่ 2 ระดับคะแนน 1 ซึ่งผ่านการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาว ทั้ง 2 ชุด จากการทดลองที่ 3.1 มาปลูกเปรียบเทียบลักษณะผลผลิตในกระถาง โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อกซ์ มีพันธุ์พืช จำนวน 8 พันธุ์ ดังนี้ พันธุ์ลูกผสมกลับชั่วที่ 2 ซีที1xเอช24-1 ซีที1xเอช24-2 ซีที1xเอช24-3 ซีที2 xเอช24-1 ซีที2xเอช24-2 และ ซีที2 xเอช24-3 ระดับคะแนน 1 พันธุ์เอช24 และพันธุ์ควบคุม แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ซ้ำ เก็บข้อมูลซ้ำละ10 ต้น รวมทั้งหมด 240 ต้น การปลูกและการดูแลรักษาเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1

บันทึกผลการทดลอง

บันทึกผลลักษณะประจำพันธุ์เช่นเดียวกันกับการทดลองที่ 1

3.3 การผลิตเมล็ดผสมตัวเองชั่วที่ 2 (F_2)

โดยคัดเลือกต้นของสายพันธุ์ลูกผสมกลับชั่วที่ 2 ซีที1 x เอช24 และ ซีที2 x เอช24 ระดับคะแนน 1 ที่มีการออกดอกและการติดผลดี มีลักษณะผลตรงตามความต้องการผลผลิตดี ให้ผสมตัวเองเพื่อผลิตเมล็ดผสมตัวเองชั่วที่ 2 (F_2) (ภาพที่ 7) ดังนี้ คือ พันธุ์ ซีที1 x เอช24 จำนวน 5 ต้น คือ ต้นที่ 1-12 1-24 2-15 2-20 และ 3-4 พันธุ์ ซีที2 xเอช24 จำนวน 5 ต้น คือ ต้นที่ 1-9 1-12 2-6 3-1 และ 3-4 การผสมตัวเอง โดยให้คลุมดอกตูมด้วยถุงคลุมดอกขนาด 2 x 4 เซนติเมตร จากนั้น อีก 1-2 วัน จึงเปิดถุงคลุมดอกและใช้คีมแคะแต้มเกสรตัวผู้บนยอดของเกสรตัวเมีย คลุมดอกไว้เช่นเดิม ทำสัญญาลักษณ์ไว้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

การทดลองที่ 4 การศึกษาเปรียบเทียบพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ระดับคะแนน 1 และ 2 เปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่และพันธุ์ควบคุม

แบ่งการศึกษาออกเป็น 2 การทดลอง ดังนี้

4.1 การศึกษาความต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ โดยใช้เทคนิคการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาวในพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 (F_2) เปรียบเทียบกับพันธุ์แม่ ซีที1 และ ซีที 2 พันธุ์ต้านทานเอช24 และพันธุ์ควบคุม

โดยทำการศึกษาความต้านทานโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ เดือน กันยายน –มกราคม พ.ศ. 2549 (ภาพที่ 6) โดยศึกษาในสายพันธุ์มะเขือเทศ จำนวน 14 ตัวอย่าง ซึ่งพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ซีที1 x เอช24 และ ซีที2 x เอช24 ได้คัดเลือกต้นที่ดีมาจากการทดลองที่ 3.3 ดังนี้

ที1 = พันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ของ ซีที1 x เอช24-1-12
ที2 = พันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ของ ซีที1 x เอช24-1-24
ที3 = พันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ของ ซีที1 x เอช24-2-15
ที4 = พันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ของ ซีที1 x เอช24-2-20
ที5 = พันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ของ ซีที1 x เอช24-3-4
ที6 = พันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ของ ซีที2 x เอช24-1-9
ที7 = พันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ของ ซีที2 x เอช24-1-12
ที8 = พันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ของ ซีที2 x เอช24-2-6
ที9 = พันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ของ ซีที2 x เอช24-3-1
ที10 = พันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ของ ซีที2 x เอช24-3-4
ที11 = พันธุ์แม่ ซีที 1
ที12 = พันธุ์แม่ ซีที 2
ที13 = พันธุ์ต้านทาน เอช24
ที14 = พันธุ์ควบคุมซีแอลเอ็น 2026ดี

โดยการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (randomized complete block design : RCBD) 3 ซ้ำๆละ 15 ต้น รวม 45 ต้นต่อพันธุ์ สำหรับขั้นตอนการปลูกเชื้อด้วยแมลงหวี่ขาว ทำเช่นเดียวกันกับการทดลองที่ 2

การบันทึกผลการทดลอง

บันทึกผลความรุนแรงของการเกิดโรค เช่นเดียวกันกับการทดลองที่ 2.3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.2 การตรวจวินิจฉัยโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ ในมะเขือเทศพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 (F_2) โดยใช้เทคนิค sandwich ELISA เปรียบเทียบกับพันธุ์พ่อแม่และพันธุ์ควบคุม

โดยทำการตรวจวินิจฉัยโรคไวรัสใบหงิกเหลืองของมะเขือเทศ เดือนกันยายน – ตุลาคม พ.ศ. 2549 (ภาพที่ 6) โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (randomized complete block design : RCBD) มีหน่วยทดลอง คือ พันธุ์พืช จำนวน 8 พันธุ์ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ๆ ละ 5 ตัวอย่าง รวม 40 หน่วยทดลอง ดังนี้

เอ็น1 = พันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ของ ซีที1 x เอช24 –BS ระดับคะแนน 1
เอ็น2 = พันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ของ ซีที1 x เอช24 –BS ระดับคะแนน 2
เอ็น3 = พันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ของ ซีที2 x เอช24 –BS ระดับคะแนน 1
เอ็น4 = พันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ของ ซีที2 x เอช24 –BS ระดับคะแนน 2
เอ็น5 = พันธุ์แม่ ซีที 1 ระดับคะแนน 3
เอ็น6 = พันธุ์แม่ ซีที 2 ระดับคะแนน 4
เอ็น7 = พันธุ์ เอช24 ระดับคะแนน 1
เอ็น8 = พันธุ์ควบคุม ระดับคะแนน 4

อุปกรณ์และวิธีการทดลองเช่นเดียวกันกับการทดลองที่ 2.4

การบันทึกผลการทดลอง

บันทึกข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง ELISA reader

4.3 การวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (coefficient of correlation , r)

วิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับความรุนแรงของอาการโรคกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร ในมะเขือเทศลูกผสมชั่วที่ 2 โดยคำนวณจากโปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS version 3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.4 การศึกษาและเปรียบเทียบพันธุ์ของมะเขือเทศพันธุ์ผสมตวเองชั่วที่ 2 ระดับคะแนน 1 และ 2 กับพันธุ์แม่ ซีที1 และ ซีที 2 พันธุ์ต้านทาน เอช24 และพันธุ์ควบคุมซีแอลเอ็น 2026ดี

โดยทำการศึกษาเดือนกันยายน – มกราคม พ.ศ. 2549 การวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (randomized complete block design : RCBD) มีหน่วยทดลอง คือ พันธุ์พืช ทำการทดลอง 3 ซ้ำๆ ละ 10 ต้น รวม 30 ต้นต่อพันธุ์ วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลองดังนี้ คือ พันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ของ ซีที1 x เอช24 ระดับคะแนน 1 และ 2 พันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ของ ซีที2 x เอช24 ระดับคะแนน 1 และ 2 ปลูกเพื่อประเมินผลความรุนแรงของโรคเปรียบเทียบกับสายพันธุ์แม่ พันธุ์ เอช24 และพันธุ์ ควบคุม ดังนี้

เอ็น1 = พันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ของ ซีที1 x เอช24 ระดับคะแนน 1
เอ็น2 = พันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ของ ซีที1 x เอช24 ระดับคะแนน 2
เอ็น3 = พันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ของ ซีที2 x เอช24 ระดับคะแนน 1
เอ็น4 = พันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ของ ซีที2 x เอช24 ระดับคะแนน 2
เอ็น5 = พันธุ์แม่ ซีที 1 ระดับคะแนน 3
เอ็น6 = พันธุ์แม่ ซีที 2 ระดับคะแนน 4
เอ็น7 = พันธุ์ เอช24 ระดับคะแนน 1
เอ็น8 = พันธุ์ ควบคุม ระดับคะแนน 4

วิธีการเตรียมแปลงเพาะปลูก การย้ายกล้า การดูแลรักษา การให้น้ำ การใส่ปุ๋ยและการพ่นยา เช่นเดียวกันกับการทดลองที่ 1

การบันทึกผลการทดลอง

บันทึกข้อมูลลักษณะประจำพันธุ์ เช่นเดียวกันกับการทดลองที่ 1

การผลิตเมล็ดพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 3 คัดเลือกต้นที่ทนทานต่อโรคไวรัสใบหงิกเหลืองและสามารถติดผลได้ โดยให้ผสมตัวเอง เพื่อผลิตพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2 การวิเคราะห์ข้อมูล

3.2.1 การวิเคราะห์ข้อมูลผลผลิตและลักษณะการเจริญเติบโต

3.2.1.1 การวิเคราะห์ข้อมูลผลผลิตและลักษณะการเจริญเติบโตตามการทดลองที่ 2 และที่ 4 ตามแผนการทดลองสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (randomized complete block design : RCBD) โดยมีสายพันธุ์เป็นสิ่งทดลองและเปรียบ เทียบค่าเฉลี่ย โดยใช้ F-test ตามวิธีการของ Least significant Difference (LSD) การวิเคราะห์ข้อมูลในแต่ละฤดูปลูกตามโมเดลของแผนการทดลองสุ่มสมบูรณ์ (randomized complete block design : RCBD) โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS version 3

3.2.1.2 การวิเคราะห์ข้อมูลผลผลิตและลักษณะการเจริญเติบโต ตามงานทดลองที่ 3 ตามแผนการทดลอง CRD โดยมีสายพันธุ์เป็นสิ่งทดลอง และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยใช้ F-test ตามวิธีการของ Least significant Difference (LSD) การวิเคราะห์ข้อมูลในแต่ละฤดูปลูกตามโมเดลของแผนการทดลอง CRD โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS version 3

3.2.2 การศึกษาความดีเด่นที่เกิดในลูกผสมชั่วที่ 1 (heterosis)

วัดโดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของพันธุ์พ่อแม่

$$\text{heterosis} = \overline{F_1} - MP \qquad (1)$$

หรือ

$$\%\ \text{heterosis} = \frac{(\overline{F_1} - MP)}{MP} \times 100 \qquad (2)$$

หรือ

$$\overline{F_1} = \text{midparent} + \text{heterosis} \qquad (3)$$

MP = ค่าเฉลี่ยของพันธุ์พ่อแม่

วัดโดยเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของพันธุ์พ่อและแม่ที่ดีกว่า

$$\text{heterobeltiosis}\ (\%) = \frac{[(\overline{F_1} - HP)]}{HP} \times 100$$

$\overline{F_1}$ = ค่าเฉลี่ยของลูกผสม 10 คู่

HP = ค่าเฉลี่ยของพ่อแม่ที่มีลักษณะที่ดี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3.2.3 การประเมินความรุนแรงของการเกิดโรค (seviarity)

การประเมินความรุนแรงของการเกิดโรค ของงานทดลองที่ 2 และ 4 ตามแผนการทดลองสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (randomized complete block design : RCBD) โดยมีสายพันธุ์เป็นสิ่งทดลองและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของการเกิดโรค โดยใช้ F-test ตามวิธี Least significant difference (LSD)

การประเมินความรุนแรงของการเกิดโรคของงานทดลองที่ 3 ตามแผนการทดลอง CRD โดยมีสายพันธุ์เป็นสิ่งทดลองและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของการเกิดโรค โดยใช้ F-test ตามวิธี Least significant difference (LSD)

3.2.4 การวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (coefficient of correlation , r)

การวิเคราะห์หาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระดับความรุนแรงของอาการโรคกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 405 นาโนเมตร ในมะเขือเทศพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 2 ในการทดลองที่ 4.3 โดยใช้โปรแกรมวิเคราะห์ทางสถิติ SPSS version 3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved