บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

การศึกษาทดลองในครั้งนี้ เป็นการศึกษาความแปรปรวนและสัดส่วนทางพันธุกรรมของการสะสมไขมันโดยรวมในข้าว 4 พันธุ์ ลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) และลูกชั่วที่ 2 (F_2) ทดลองที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาพืชไร่ และแปลงทดลองของภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตั้งแต่เดือนมิถุนายน พ.ศ.2544 ถึงเดือนมีนาคม พ.ศ.2547

1. พันธุกรรม

1.1 <u>พันธุ์พ่อแม่</u> พันธุ์พ่อแม่ที่ใช้ในการศึกษาทดลองครั้งนี้เป็นเมล็ดพันธุ์ที่เก็บรวบรวมมาจากหลายแหล่งในประเทศไทยและปลูกขยายพันธุ์ในปี พ.ศ.2543 ที่ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ประกอบด้วย

ลำดับที่	ชื่อพันธุ์	แหล่งที่มา	% ไขมัน
1.	กข 6 (Gau Kau 6)	จังหวัดเชียงใหม่	3.561
2.	ก่ำดอยมูเซอ (Kumdoimooser)	จังหวัดเชียงใหม่	3.842
3.	ก่ำ 88073 (Kum 88073)	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	2.475
4.	ก่ำ 88063 (Kum 88063)	ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	2.494

ที่มา: คำเนินและคณะ (2543)

<u>1.2 ลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกชั่วที่ 2</u>

ในฤดูนาปี พ.ศ.2544 ปลูกข้าวพันธุ์พ่อแม่ทั้ง 4 พันธุ์ในกระถาง แล้วผสมพันธุ์เพื่อสร้างลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1 seed) ได้ทั้งหมด 4 คู่ผสม ดังนี้คือ

- ข้าวกข6 x ข้าวก่ำ (88073)
- ข้าวกข6 x ข้าวก่ำ (88063)
- ข้าวก่ำดอยมูเซอ x ข้าวก่ำ (88073)
- ข้าวก่ำดอยมูเซอ x ข้าวก่ำ (88063)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ในฤดูนาปีต่อมา พ.ศ.2545 นำเมล็ดส่วนหนึ่งของลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) ของแต่ละคู่ผสมปลูกเพื่อสร้างลูกชั่วที่ 2 (F_2) ที่เกิดจากการผสมตัวเอง โดยปลูกร่วมกับพันธุ์พ่อแม่ทั้ง 4 พันธุ์

2. วิธีการทดลอง

2.1 การปลูกและการดูแลรักษา

ปลูกพันธุ์พ่อแม่ และเมล็ดลูกชั่วที่ 2 (F_2) ในฤดูนาปี เดือนกรกฎาคม พ.ศ.2546 ถึงเดือนพฤศจิกายนปีเดียวกัน ในกระถางพลาสติกสีดำขนาด 10 นิ้วจำนวน 6 ต้นต่อกระถาง พันธุ์ละ 20 กระถาง การจัดการและดูแลรักษาในระดับปกติ ก่อนปักดำใส่ปุ๋ยสูตร 16-20-0 อัตรา 25 ก.ก./ ไร่ ก่อนข้าวออกดอกใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 20 ก.ก./ ไร่ การจัดการโรคและแมลงตามความเหมาะสม

2.2 <u>การเก็บข้อมูล</u> เก็บผลผลิตแต่ละต้นแยกกันเป็นรายต้น บันทึกข้อมูลของพันธุ์พ่อแม่ ลูกผสมชั่วที่ 1 และลูกชั่วที่ 2 ดังนี้

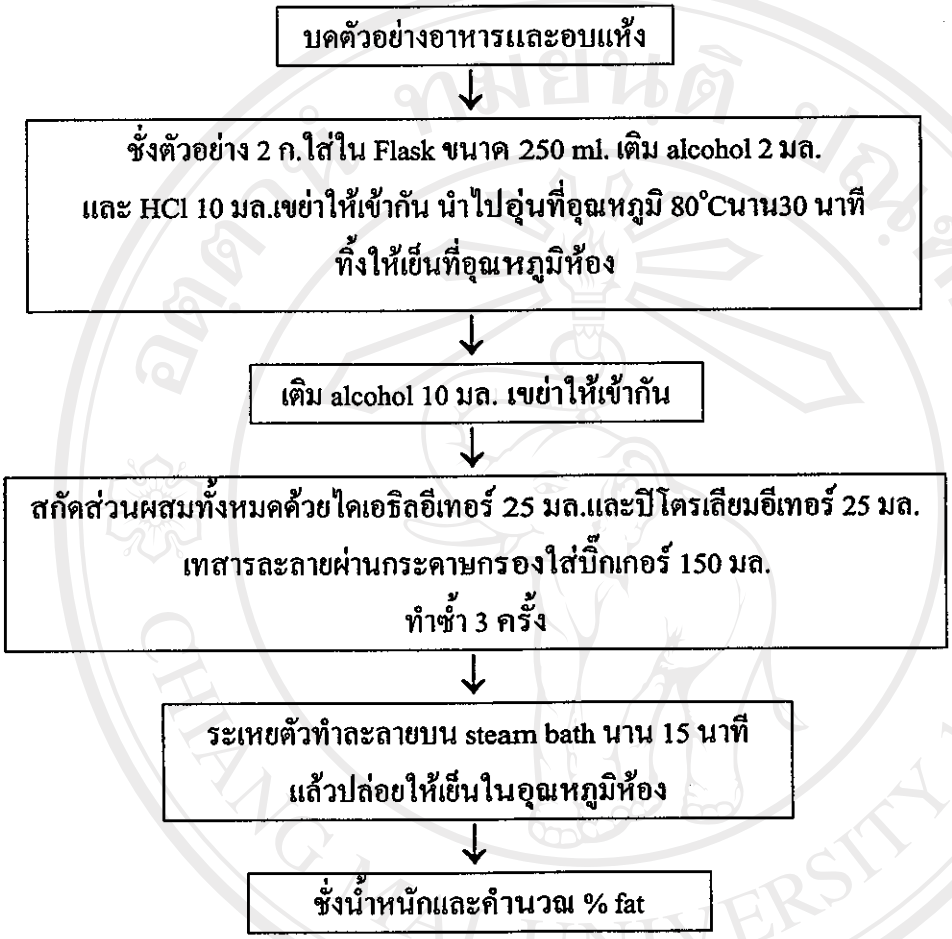
- จำนวนรวงต่อต้น
- จำนวนเมล็ดต่อรวง
- ผลผลิตต่อต้น
- ปริมาณ fat ที่ได้จากการวิเคราะห์

3. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (fat)

นำตัวอย่างเมล็ดข้าวทั้งเมล็ดมาบดให้ละเอียดและอบตัวอย่าง จากนั้นชั่งตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ใน Flask ขนาด 250 ml. เติม alcohol 2 ml.เขย่าให้เข้ากัน เติม HCl 10 ml.เขย่าให้เข้ากัน นำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 80°C นาน30 นาที ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติม alcohol 10 ml. เขย่าให้เข้ากัน เติม diethyl ether 25 ml. ปิดฝาแล้วเขย่า เติม petroleum ether 25 ml.ปิดฝาให้แน่น นำไปปั่นที่ 600 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที เทสารละลายที่ได้ผ่านกระดาษกรองลงในบีกเกอร์ขนาด 150 ml. สกัดตัวอย่างซ้ำอีกครั้งด้วย ether แต่ละชนิด 15 ml. เทสารละลายผ่านกระดาษกรองลงในบีกเกอร์เดิม ระเหยตัวทำละลายบน steam bath จนกระทั่งตัวทำละลายระเหยหมดตั้งทิ้งไว้อีกนาน 15 นาที ปล่อยให้เย็นในอุณหภูมิห้อง ทำละลายไขมันในบีกเกอร์อีกครั้งด้วย ethyl ether เพียง 10 ml. กรองสารละลายที่ได้ผ่านกระดาษกรองลงบีกเกอร์ขนาด 100 ml. ที่สะอาดและชั่งน้ำหนักแล้ว ระเหยตัวทำละลายบน steam bath ปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ชั่งน้ำหนักพร้อมคำนวณปริมาณ fat ที่ได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Ether Extract ในเมล็ดข้าว (AOAC INTERNATIONAL, 2000)



4. วิธีการวิเคราะห์ข้อมูล

4.1 นำข้อมูลที่ได้จากพันธุ์พ่อแม่และลูกผสมชั่วที่ 1 มาวิเคราะห์หาค่า Mean, sd, se และ Variance

4.2 คำนวณค่าประมาณ ค่า mid-parent (m), ค่าความต่างระหว่างค่า m กับ แม่ (P_1)หรือพ่อ (P_2) (d), ค่าเบี่ยงเบนของลูกผสมชั่วที่ 1 จากค่า m (h) และค่า Average degree of dominance (ADD) ดังนี้

$$m = (P_1 + P_2)/2$$

$$d = (P_1 \text{ or } P_2) - m$$

$$h = F_1 - m$$

$$ADD = (h / d)$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

4.3 วิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหา Broad-sense heritability (h^2_b) ของปริมาณไขมันในเมล็ด, จำนวนรวงต่อต้น, จำนวนเมล็ดต่อรวง และผลผลิตต่อต้น ในลูกชั่วที่ 2 ทั้งสี่คู่ผสมโดยใช้สูตรดังนี้ (Mather and Jinks, 1971)

$$h^2_b = (V_{F2} - V_E)/V_{F2}$$

โดย $V_E = \frac{1}{4} V_{P1} + \frac{1}{4} V_{P2} + \frac{1}{2} V_{F1}$

แต่ $V_{F1} = \frac{1}{2}(V_{P1} + V_{P2})$

ดังนั้น $V_E = \frac{1}{2}V_{P1} + \frac{1}{2} V_{P2}$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved