บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. พันธุ์และการสร้างลูกผสม : ข้าวบาร์เลย์ที่ใช้ศึกษามีจำนวนทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ BCMU36-6, BCMU36-24, BCMU36-26 และ BRB9 ซึ่งข้าวบาร์เลย์ทั้ง 4 สายพันธุ์นี้ มีการศึกษาพันธุกรรมที่แตกต่างกันได้แก่ ลักษณะผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต (ลักษณะประจำพันธุ์ได้แสดงไว้ในภาคผนวก) ได้ทดลองปลูกทั้ง 4 พันธุ์ในเดือนพฤศจิกายน 2547 และผสมแบบพบกันหมดและไม่มีการผสมกลับ (half diallel cross) เพื่อสร้างเมล็ดลูกผสมชั่วที่ 1 ได้จำนวน 6 คู่ผสมดังต่อไปนี้

1. BCMU36-6 X BCMU 36-24
2. BCMU36-6 X BCMU36-26
3. BCMU36-6 X BRB9
4. BCMU36-24 X BCMU36-26
5. BCMU36-24 X BRB9
6. BCMU36-26 X BRB9

เมื่อได้เมล็ดลูกผสมชั่วที่ 1 แล้ว ในเดือนพฤศจิกายน 2548 นำเมล็ดของแต่ละคู่ผสมมาปลูกเพื่อสร้างลูกผสมชั่วที่ 2 และลูกผสมกลับไปหาพันธุ์พ่อและพันธุ์แม่ (BC_1F_1, BC_2F_1) ขณะเดียวกันปลูกพันธุ์พ่อแม่ทั้ง 4 พันธุ์ เพื่อใช้ผสมพันธุ์สร้างลูกผสมชั่วที่ 1 เพิ่มเติมอีกด้วย

2. การดำเนินการทดลอง : ได้ทำการปลูกทดลองระหว่างเดือนพฤศจิกายน 2549 – มีนาคม 2550 ณ แปลงทดลองภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เพื่อศึกษาลักษณะการถ่ายทอดทางพันธุกรรมโดยนำเมล็ดพันธุ์ข้าวบาร์เลย์ชั่วพ่อ-แม่ ลูกผสมชั่วที่ 1 และ 2 และลูกผสมกลับของทั้ง 6 คู่ผสม ปลูกโดยวางแผนการทดลองแบบ Randomize Complete Block Design (RCB) จำนวน 3 ซ้ำ ปลูกบนแปลงขนาด 2 X 5 เมตร โดยมีระยะระหว่างแถว 25 เซนติเมตร ระยะระหว่างต้น 10 เซนติเมตร ปลูกแปลงละ 12 แถว ปลูกหลุมละ 1 ต้น ในแต่ละแปลงประกอบด้วยพ่อ-แม่อย่างละ 2 แถว ลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน 1 แถว ลูกผสมชั่วที่ 2 จำนวน 5 แถว และลูกผสมกลับ 2 แถว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การปฏิบัติการดูแลรักษา :

ได้ทำการเตรียมดิน 1 ครั้งก่อนปลูก พร้อมทั้งใส่ปุ๋ยคอก 20 กิโลกรัมต่อแปลง ก่อนปลูกคลุกเมล็ดด้วยไดเทนเอ็ม-45 (Dithane M-45) และโรยฟูราดานที่แปลงปลูกเพื่อป้องกันหนอนเจาะลำต้น (Stem borer) และการทำลายของไส้เดือนฝอยในระยะออกดอกและออกรวง นอกจากนั้นมีการจัดการเพาะปลูก เช่น รดน้ำ ใส่ปุ๋ย กำจัดวัชพืช โรคและแมลงศัตรูพืชตามความเหมาะสม

4. การเก็บตัวอย่างและบันทึกลักษณะ :

ได้ทำการเก็บตัวอย่างพันธุ์พ่อ-แม่ ลูกผสมชั่วที่ 1 ลูกผสมชั่วที่ 2 และลูกผสมกลับทุกต้น ยกเว้นขอบแปลง ลักษณะพันธุกรรมที่มีการศึกษาและการบันทึกได้แก่ ลักษณะอายุออกดอก (75%) อายุสุกแก่ (75%) ความสูง (เซนติเมตร) ความยาวรวง (เซนติเมตร) จำนวนรวงต่อต้น จำนวนเมล็ดต่อรวง น้ำหนักเมล็ดต่อรวง (กรัม) น้ำหนักเมล็ดต่อต้น (กรัม) และน้ำหนัก 1,000 เมล็ด (กรัม)

5. การวิเคราะห์ผลการทดลอง : นำข้อมูลที่บันทึกได้มาวิเคราะห์ ผลการทดลองดังต่อไปนี้

1. การวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) เพื่อหาความแตกต่างของลักษณะพันธุกรรมต่างๆ ระหว่างพันธุ์พ่อ-แม่และลูกผสม และเปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Difference (LSD) (Gomez and Gomez, 1984)

2. การวิเคราะห์หาค่าความดีเด่นของลูกผสม (Heterosis) ตามวิธีการของ Chen *et al*. (2003)

$$\%Heterosis(H) = \left(\overline{F_1} - \overline{MP}\right) \times 100 / \overline{MP}$$

$$\%Heterobeltiosis(H_b) = \left(\overline{F_1} - \overline{P_i}\right) \times 100 / \overline{P_i}$$

โดย $\overline{F_1}$ = ค่าเฉลี่ยของลูกผสมชั่วที่ 1 จำนวน n_1 ต้น

$\overline{MP}$ = ค่าเฉลี่ยของพันธุ์พ่อและแม่จำนวน $n_2 + n_3$ ต้น

$\overline{P_i}$ = ค่าเฉลี่ยที่ได้มาจากพันธุ์แม่ (P_1) จำนวน n_2 ต้น หรือพันธุ์พ่อ (P_2) จำนวน n_3 ต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดย t-tests ดังนี้

$$H = \frac{\overline{F_1} - \overline{MP}}{S_H}$$

$$H_b = \frac{\overline{F_1} - \overline{P_i}}{S_{Hb}}$$

เมื่อ $$H = \overline{F_1} - \left(\frac{\overline{P}_1 + \overline{P}_2}{2} \right)$$

$$= \overline{F_1} - \frac{\overline{P_1}}{2} - \frac{\overline{P_2}}{2}$$

Variance of $$H = Var\left(\overline{F_1} - \frac{\overline{P_1}}{2} - \frac{\overline{P_2}}{2} \right)$$

$$= V\overline{F_1} + \frac{V\overline{P_1}}{4} + \frac{V\overline{P_2}}{4}$$

$$= \frac{VF_1}{n_1} + \frac{VP_1}{4n_2} + \frac{VP_2}{4n_3}$$

$$= \frac{SSF_1}{n_1(n_1 - 1)} + \frac{SSP_1}{4n_2(n_2 - 1)} + \frac{SSP_2}{4n_3(n_3 - 1)}$$

ดังนั้น $$S_H = \sqrt{VarianceH}$$

Variance of $$H_b = Var\left(\overline{F_1} - \overline{P_i}\right)$$

$$= \frac{VF_1}{n_1} + \frac{VP_i}{n_i}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

$$= \frac{SSF_1}{n_i(n_1 - 1)} + \frac{SSP_i}{n_i(n_i - 1)}$$

ดังนั้น $S_{Hb} = \sqrt{VarianceH_b}$

โดย $V\overline{F_1}$, $V\overline{P_1}$, $V\overline{P_2}$ และ $V\overline{P_i}$ คือ Variance of mean ของแต่ละชั่ว

SSF_1, SSP_1, SSP_2 และ SSP_i คือ Sum of square ของแต่ละชั่ว

Degree of freedom (*df*)

$$H = (n_1 - 1) + (n_2 - 1) + (n_3 - 1)$$

$$H_b = (n_1 - 1) + (n_i - 1); \qquad \text{i = 2 หรือ 3}$$

3. การศึกษาอัตราพันธุกรรม (Heritability : h^2) ของลักษณะต่างๆที่ศึกษา โดยวิธีการประเมินของ Kearsey and Pooni (1996) มี 2 วิธีดังนี้

3.1. ประเมินค่าอัตราพันธุกรรมแบบกว้าง (Broad-sense heritability : h_{bs}^2)

$$h_{bs}^2 = \left(\frac{V_A + V_D}{V_A + V_D + V_E} \right)$$

3.2. ประเมินค่าอัตราพันธุกรรมแบบแคบ (Narrow-sense heritability : h_{ns}^2)

$$h_{ns}^2 = \frac{V_A}{(V_A + V_D + V_E)}$$

เมื่อ $V_A = 2\sigma^2 F_2 - \sigma^2 B_1 - \sigma^2 B_2$

$$V_D = \sigma^2 B_1 + \sigma^2 B_2 - \sigma^2 F_2 - V_E$$

$$V_{AD} = \frac{1}{2}(\sigma^2 B_2 - \sigma^2 B_1)$$

$$V_E = \frac{1}{3}(\sigma^2 P_1 + \sigma^2 P_2 + \sigma^2 F_1)$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

V_A = ความแปรปรวนที่เกิดจากการกระทำของยีนแบบเป็นผลบวก

V_D = ความแปรปรวนที่เกิดจากการกระทำของยีนแบบไม่เป็นผลบวก

V_{AD} = ความแปรปรวนที่เกิดจากปฏิกิริยาสัมพันธ์ของยีนแบบเป็นผลบวกและไม่เป็นผลบวก

V_E = ความแปรปรวนที่เกิดจากอิทธิพลของสิ่งแวดล้อม

4. การวิเคราะห์หาค่าความแปรปรวนของสมรรถนะในการผสม (combining ability) ตามวิธีการของ Griffing (1956) Method 2 Model 1 (fixed effects) โดยใช้โปรแกรม Diallel-SAS และมี Mathematical model ดังนี้

$$X_{ij} = \mu + g_i + g_j + s_{ij} + \frac{1}{bc}\sum\sum e_{ijkl}$$

โดยที่ i, j = 1, 2, 3,…,p = พันธุ์พ่อ-แม่ (parent)

k = 1, 2, 3,…,b = ซ้ำ (block)

μ = ค่าเฉลี่ยประชากร

g_i, g_j = อิทธิพลของ g.c.a. (general combining ability) ของพันธุ์พ่อ-แม่ i หรือ j

s_{ij} = อิทธิพลของ s.c.a. (specific combining ability) ของการผสมระหว่างพันธุ์พ่อ i กับพันธุ์แม่ j

$\frac{1}{bc}\sum\sum e_{ijk}$ = mean error effect

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved