

บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 สายพันธุ์ทดลอง

ใช้สายพันธุ์คัดจากสายพันธุ์ก้าวหน้า F₉ ในข้อมูลการทดลองของโครงการทดสอบพันธุ์สายพันธุ์ก้าวหน้าปี พ.ศ. 2552 โดย เบญจวรรณ (2553) ได้สายพันธุ์เด่นเป็นข้าวเจ้าก่ำ จำนวน 17 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ประยุกต์ (derived line) จากสายพันธุ์ 107 จำนวน 9 สายพันธุ์ คือ 107/25, 107/42, 107/44, 107/46, 107/48, 107/52, 107/68, 107/72, 107/73 และ สายพันธุ์ประยุกต์ (derived line) จากสายพันธุ์ 173 จำนวน 8 สายพันธุ์ คือ 173/1, 173/2, 173/4, 173/16, 173/17, 173/38, 173/48, 173/52 จากนั้นได้ปลูกขยายพันธุ์เมล็ดเป็นข้าวเจ้าก่ำสายพันธุ์เด่น F₁₀ เพื่อให้เพียงพอต่อการใช้ทดสอบพันธุ์ทั้ง 5 จังหวัด

3.2 สถานที่ใช้ในการดำเนินการวิจัยและรวบรวมข้อมูล

ปลูกทดสอบใน 5 ท้องที่ คือ

- 1) แปลงเกษตรกร ต.แม่หล่าย อ.เมือง จ.แพร่
- 2) แปลงเกษตรกร ต.ห้วยค้อน อ.เมือง จ.ชัยภูมิ
- 3) แปลงเกษตรกร ต.วังหิน อ.สามชุก จ.สุพรรณบุรี
- 4) แปลงสาธิตเกษตร โรงเรียนบ้านวัดศิรีวง ต. ปากแพรก อ. คอนสัก จ. สุราษฎร์ธานี
- 5) สถานีวิจัยและอบรมการเกษตรไร่แม่เหิยะ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

โดยการวิเคราะห์ แอนโทไซยานิน ดำเนินการที่ห้องปฏิบัติการวิจัยกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

3.3 วิธีการทดลอง

การปลูกและดูแลรักษา

นำข้าวทั้ง 17 สายพันธุ์ไปปลูกในฤดูนาปี เดือน กรกฎาคม-พฤศจิกายน 2554 ปักดำจำนวน 1 ต้นต่อหลุม สายพันธุ์ละ 40 ต้น ระยะปลูก 25 x 25 ซม. ปลูกเปรียบเทียบกับพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวเจ้าคอกยสะเก็ด ณ แปลง ใน 5 ท้องที่ดังกล่าว ดูแลรักษา และป้องกันกำจัดโรคและแมลงตามความเหมาะสม หลังจากต้นกล้าอายุได้ 25 วัน ย้ายต้นกล้าปลูกในท้องที่ทดลอง 5 จังหวัดแตกต่างกันดังนี้

สถานที่ปลูก	วันปลูก
1. จังหวัดแพร่	18 กรกฎาคม 2554
2. จังหวัดชัยภูมิ	20 กรกฎาคม 2554
3. จังหวัดสุพรรณบุรี	26 พฤษภาคม 2554
4. จังหวัดสุราษฎร์ธานี	30 กรกฎาคม 2554
5. จังหวัดเชียงใหม่	6 สิงหาคม 2554

การเก็บบันทึกข้อมูล

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และสรีรวิทยา ของสายพันธุ์ F_{10} ตามแบบบันทึก Descriptors for Rice ของ IRRI (1980) โดยบันทึกข้อมูลต่างๆดังนี้

1. ระยะแตกกอเต็มที่ 7 ลักษณะ ได้แก่ การมีขนบนแผ่นใบ สีแผ่นใบ สีกาบใบ สีเขียวใบ สีเยื่อชั้นน้ำฝน และสีข้อต่อใบ
2. ระยะออกทรง 6 ลักษณะ ได้แก่ สีปล้อง ทรงกอ จำนวนวันตกกล้าถึงออกดอก 50% สียอดเกสรตัวเมีย สียอดดอก และสีกลีบรองดอก
3. ระยะออกทรงแล้ว 20 วัน 7 ลักษณะ ได้แก่ ความสูงลำต้น จำนวนหน่อต่อกอ จำนวนรวงต่อกอ ลักษณะรวง การยัดคอรวง และการแตกกระแจะ
4. ระยะเก็บเกี่ยว 2 ลักษณะ ได้แก่ การแก่ของใบ และความยาวรวง
5. ระยะหลังเก็บเกี่ยว 12 ลักษณะ ได้แก่ การมีขนบนเปลือกเมล็ด สีเปลือกเมล็ด สีเยื่อหุ้มเมล็ด น้ำหนัก 1,000 เมล็ด (ข้าวเปลือก) ความยาวของเมล็ดข้าวกล้อง ความกว้างของเมล็ดข้าวกล้อง ความหนาของเมล็ดข้าวกล้อง อัตราส่วนความกว้างต่อความยาวเมล็ดข้าวกล้อง เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี และลักษณะองค์ประกอบผลผลิต

6. ข้อมูลผลวิเคราะห์ดิน (ตารางภาคผนวก 1) และสภาพภูมิอากาศของ ของทั้ง 5 พื้นที่ปลูก (ตารางภาคผนวก 2)

7. วิเคราะห์ปริมาณ C3G และปริมาณ P3G โดยเก็บตัวอย่างเมล็ดทุกต้นแล้วทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดในแต่ละพันธุ์ โดยนำเมล็ดข้าวกล้องไปบดให้ละเอียด สกัดไซยานินดิน Cyanidin 3-glucoside และ Peonidin-3-o-glucoside ในส่วนของเมล็ด โดยวิธีของ (Ryu *et al.*, 1998) นำตัวอย่างของข้าวเหนียวกำแพงพื้นที่เมือง 1 กรัม มาสกัดในสารสกัด 0.5%TFA-95% EtOH ปริมาตร 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำเข้าเครื่องเขย่าเป็นเวลา 9 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 25 องศาเซลเซียส) ตัวอย่างที่สกัดได้นำมากรองเอากากเบื้องต้นโดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 4 จากนั้นกรองซ้ำอีกครั้งโดยใช้ C_{18} cartridge (กรองสารสกัดเก็บไว้ประมาณ 10 มิลลิลิตร นำสารสกัดที่กรองเสร็จไปวิเคราะห์ในเครื่อง HPLC เพื่อวัดปริมาณไซยานินดิน โดยใช้ Allure C_{18} คอลัมน์ ตรวจวัดที่ความยาว

คลื่น 280 nm ที่ mobile phase A คือ 0.1%TFA-H₂O และ mobile phase B คือ 0.1%TFA-MeOH เปลี่ยน mobile phase A ไปเป็น B โดยใช้สมการเส้นตรงจาก 0.1%TFA-H₂O ไปเป็น 0.1%TFA-MeOH ใช้เวลา 30 นาที ที่อัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตร/นาที จากนั้นนำไปวิเคราะห์และเปรียบเทียบไอโซนิตินมาตรฐานต่อไป

การวิเคราะห์ปฏิสัมพันธ์ของพันธูกรรมกับสภาพสิ่งแวดล้อม

ทำการวิเคราะห์ปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างพันธูกรรมกับสิ่งแวดล้อม ความสามารถในการปรับตัว ด้านผลผลิต เปอร์เซ็นต์เมล็ดดี น้ำหนัก 1,000 เมล็ด ปริมาณ C3G และปริมาณ P3G โดยวิธีการของ Finlay and Wilkinson (1963)

การวิเคราะห์ความแตกต่างของข้อมูล

วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน ของแต่ละข้อมูล โดยเปรียบเทียบพันพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และพันธุ่งำค้อยสะเก็ด และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Difference (LSD) $P < 0.05$ (Gomez and Gomez, 1984)

การคัดเลือกสายพันธุ์

นำเอาข้อมูลในด้าน ปฏิสัมพันธ์ร่วมระหว่างพันธูกรรม สิ่งแวดล้อม ความสามารถในการปรับตัว องค์ประกอบผลผลิตและปริมาณแอนโทไซยานิน และปริมาณแอนโทพิโอนิติน แต่ละพื้นที่ปลูก เพื่อใช้พิจารณาคัดเลือกสายพันธุ์ ที่สามารถปรับตัวได้ดี มีความเสถียร ต่อสภาพแวดล้อมที่ต่างกัน ในแต่ละภูมิภาค โดยคัดเลือกแบบ Directional selection คือ คัดเลือกตามวัตถุประสงค์เพื่อเป็นสายพันธุ์ที่ใช้สำหรับขอยื่นจดทะเบียนพันธุ์และส่งเสริมเกษตรกรต่อไป