บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

ทำการทดลองที่สถานีวิจัยคลองหอยโข่งของคณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา ระยะเวลาการดำเนินการวิจัยเริ่มทำการทดลองตั้งแต่เดือน มิถุนายน พ.ศ. 2541 ถึง พฤษภาคม พ.ศ. 2543

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุ อุปกรณ์

1. ต้นปาล์มน้ำมันที่มีการให้หมายเลขต้นเรียบร้อยแล้ว จำนวน 1,038 ต้น
2. เครื่องชั่งไฟฟ้าแบบละเอียด
3. ตู้อบไฟฟ้า
4. เครื่องบดตัวอย่าง
5. ถุงพลาสติกขนาด 6x9 นิ้ว
6. ปากกาเคมีหรือปากกาเขียนแผ่นใส และสมุดบันทึก
7. เครื่องมือที่ใช้วัด ได้แก่ เวอร์เนีย และตลับเมตร
8. ถุงกระดาษเบอร์ 8
9. กรรไกรตัดกิ่ง
10. น้ำมันเบนซิน สำหรับแยกน้ำมันปาล์ม
11. ตะขอเกี่ยวทะลายปาล์ม

วิธีการ

จากแปลงรวบรวมเชื้อพันธุ์ปาล์มน้ำมัน ซึ่งปลูกที่สถานีวิจัยคลองหอยโข่งของคณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ จำนวน 1,081 ต้น เมื่อปี พ.ศ. 2532 เชื้อพันธุ์ดังกล่าวเป็นลูกผสมชั่วที่ 2 ที่ได้จากการสุ่มเก็บเมล็ดของลูกผสมชั่วที่ 1 (F_1) ของปาล์มน้ำมันชนิดเทเนอรา โดยทำการคัดเลือกจากแต่ละสวน ๆ ละ 1 ทะลาย แต่ละทะลายคัดเลือกไว้ 4 - 6 ผล ซึ่งทะลายที่ทำการคัดเลือกนั้น พิจารณาจากทะลายที่มีขนาดใหญ่ และมีลักษณะกะลาของผลบาง

นำเมล็ดที่คัดเลือกมาปลูกในแปลง และได้ทำการให้หมายเลขต้นทั้งหมด 1,038 ต้น นับถึงเวลาที่เริ่มมีการศึกษา ต้นปาล์มน้ำมันดังกล่าวมีอายุประมาณ 10 ปี ทำการศึกษาดังนี้

1. การศึกษาการกระจายตัวชนิดของปาล์มน้ำมันและลักษณะต่างๆ ในประชากรชั่วที่ 2 ของปาล์มน้ำมัน

1.1. การจำแนกชนิดของปาล์มน้ำมัน

การจำแนกชนิดของปาล์มน้ำมันในประชากรชั่วที่ 2 ของปาล์มน้ำมัน โดยสุ่มต้นปาล์มน้ำมัน 850 ต้น แล้วตรวจสอบชนิดของปาล์มน้ำมันแต่ละต้น จากทะลายปาล์มน้ำมันที่สุกแก่เต็มที่สังเกตได้จากการเปลี่ยนแปลงลักษณะ สีของผลปาล์ม ผลปาล์มสุกจะมีสีเหลืองส้มหรือส้มแดง การหลุดร่วงของผล ทะลายปาล์มที่สุกพร้อมจะเก็บเกี่ยวนั้น ผลทางด้านปลายทะลายจะหลุดออกมา 5-10 ผล และนับอายุการสุกแก่ โดยนับตั้งแต่ปาล์มได้รับการผสมเกสรจนสุกแก่เต็มที่พร้อมจะเก็บเกี่ยว ใช้เวลาประมาณ 5 ½ เดือน (ปันชัย สุขทั้งปี และปรีชา มากทอง, 2533) ทั้งนี้จะผันแปรไปตามฤดูกาลเล็กน้อย ดังนั้นการเก็บเกี่ยวทะลายปาล์มจะไม่สามารถเก็บเกี่ยวได้พร้อมกัน จึงจำเป็นต้องทยอยเก็บไปอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาการศึกษา โดยสุ่มผลสุก 10 ผลโดยเฉลี่ย จากทะลาย 3 จุด คือ ปลายทะลาย กลางทะลาย และฐานทะลาย ผลที่สุ่มมาควรเป็นผลที่มีลักษณะสมบูรณ์ จากนั้นนำผลที่ได้มาชั่งน้ำหนักผลสด แล้วนำไปตรวจชนิดของปาล์มน้ำมัน โดยการผ่าผลตามความยาวของผล และความกว้างของผล วัดความกว้างและความยาวของผลทั้งหมด ความหนาของเนื้อผล (mesocarp) ความหนาของกะลา (shell) และความหนาของเนื้อในเมล็ด (kernel) สังเกตความหนาของกะลา และการเรียงตัวของเส้นใยรอบกะลา แล้วนำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบเกณฑ์มาตรฐานของ Hardon (1976); ธีระ เอกสมทราเมษฐ์ (2528) เพื่อจำแนกชนิดของปาล์มน้ำมัน

2. ศึกษาผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของปาล์มน้ำมันแต่ละชนิด

จากการศึกษาการจำแนกชนิดของต้นปาล์มน้ำมัน คัดเลือกต้นปาล์มโดยพิจารณาจากต้นที่มีลักษณะตรงตามชนิดมากที่สุด และเปอร์เซ็นต์ความหนาของกะลาเป็นเกณฑ์ แล้วสุ่มต้นปาล์มน้ำมันมา 45 ต้น โดยมีต้นปาล์มน้ำมันชนิดดูรา 18 ต้น ปาล์มน้ำมันชนิดเทเนอรา 18 ต้น และ ปาล์มน้ำมันชนิดพิสิเฟอรา 9 ต้น ในแต่ละต้นศึกษาลักษณะต่าง ๆ ดังนี้

2.1. การศึกษาผลผลิต

ทำการเก็บทะลายปาล์มน้ำมันที่มีการสุกแก่เต็มที่ในต้นปาล์มน้ำมันแต่ละต้น ชั่งน้ำหนักทะลายสด บันทึกข้อมูลผลผลิต ได้แก่ น้ำหนักทะลาย (bunch weight) จำนวนทะลาย/ต้น/ปี (number of bunch) น้ำหนักทะลายทั้งหมด/ต้น/ปี (total bunch weight) สำหรับการบันทึกข้อมูลผลผลิตนี้ได้ทำการบันทึกในทุกๆเดือนตลอดระยะเวลา 2 ปีที่มีการศึกษา

2.2. การศึกษาองค์ประกอบผลผลิตในทะลายปาล์มน้ำมัน

การศึกษาองค์ประกอบผลผลิตในทะลายปาล์มน้ำมัน ตามวิธีการของ ฝ่ายวิจัยปาล์มน้ำมัน สำนักวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ โดยมีวิธีการดังต่อไปนี้ (ภาพที่ 3)

1) เก็บเกี่ยวทะลายปาล์มที่สุกแก่เต็มที่จากต้นที่คัดเลือกไว้ โดยพิจารณาการสุกแก่ของทะลายปาล์มเช่นเดียวกับการศึกษาการจำแนกชนิดของปาล์มน้ำมัน แล้วชั่งน้ำหนักทะลายสด

2) สับแยกก้านผลย่อยออกจากแกนทะลาย ชั่งน้ำหนักแกนทะลายสด สับย่อยแกนทะลายอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เพื่อหาเปอร์เซ็นต์ความชื้น

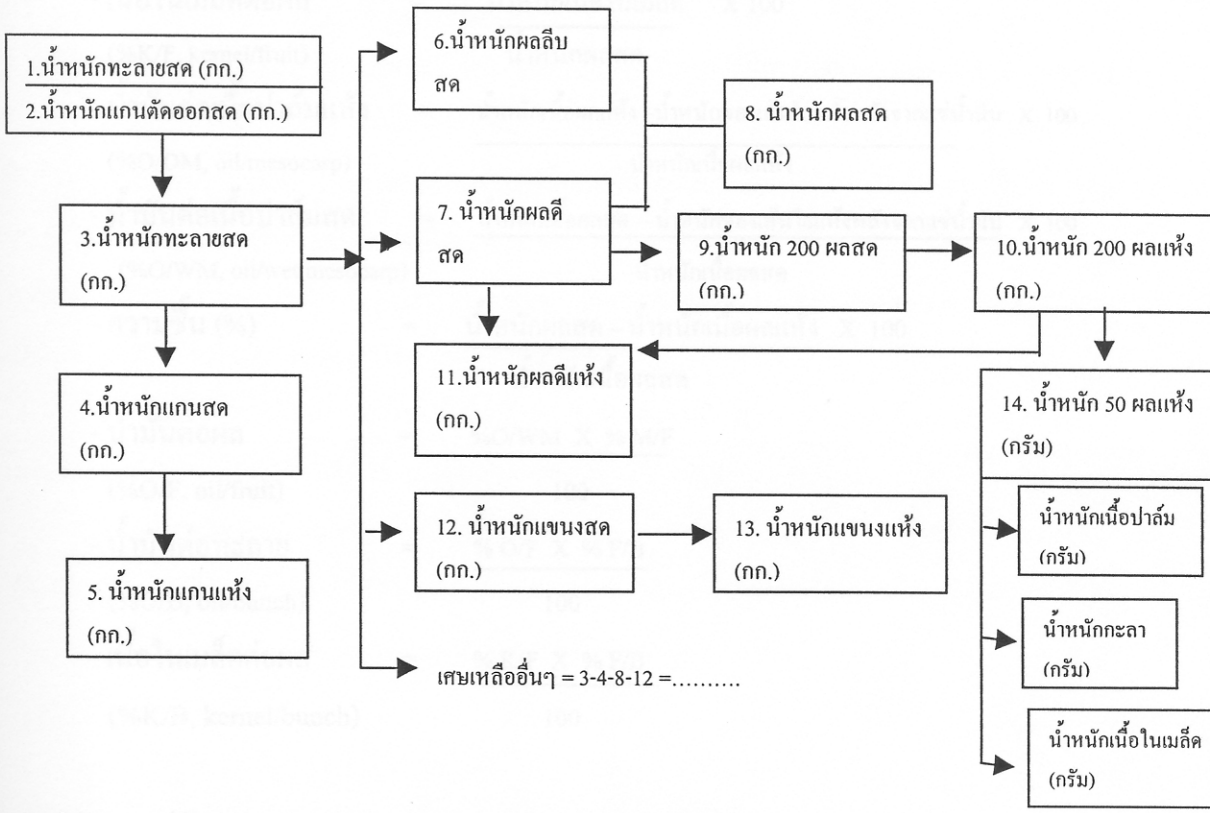
3) บ่มก้านผลย่อยที่มีผลติดอยู่ 2-3 วัน สังเกตการหลุดของผลออกจากก้านผลดีแล้ว แยกผลออกจากก้านผลทั้งหมด โดยแยกผลเป็น 2 ส่วน คือ ผลดี และผลลีบชั่งน้ำหนักก้านผลที่แยกแล้วทั้งหมด ชั่งน้ำหนักผลดี และผลลีบ

4) สุ่มผลดี 20 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก หรือประมาณ 200 ผล ชั่งน้ำหนักผลสด และนำไปอบที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง สุ่มผลดีที่อบแห้งแล้ว 50 ผล ชั่งน้ำหนักผลอบแห้ง

5) จากผลอบแห้ง 50 ผล แยกส่วนของเนื้อปาล์ม ส่วนกะลา และส่วนเนื้อในเมล็ด ชั่งน้ำหนักจากส่วนที่แยกแล้วทั้ง 3 ส่วน

6) นำส่วนของเนื้อผลบดให้ละเอียด เพื่อวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์น้ำมันในเนื้อปาล์ม

ขั้นตอนและวิธีการเก็บตัวอย่างวิเคราะห์ทะลายปาล์มน้ำมัน (bunch analysis) แสดงไว้ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 แผนผังแสดงวิธีการเก็บตัวอย่างวิเคราะห์ทะลายปาล์มน้ำมัน

การวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์น้ำมัน เฉพาะน้ำมันในส่วนของเนื้อปาล์ม โดยนำเนื้อผลที่บดละเอียดแล้วบรรจุลงถุงผ้า ปิดผนึกให้เรียบร้อย ชั่งน้ำหนัก นำมาแช่ในน้ำมันเบนซิน (gasoline) หรือสารเคมีที่อยู่ในกลุ่ม benzene ring ติดต่อกัน 5 วัน โดยต้องเปลี่ยนน้ำมันเบนซินใหม่ทุกๆ วัน เมื่อครบ 5 วัน นำถุงผ้ามาผึ่งแดดให้แห้ง ชั่งน้ำหนัก และบันทึกน้ำหนักเส้นใยแห้งหลังจากแช่น้ำมันเบนซิน นำข้อมูลที่บันทึกมาคำนวณหาองค์ประกอบทะลายปาล์ม (bunch composition) ดังนี้

- ผลต่อทะลาย (%F/B, fruit/bunch) = $\frac{\text{น้ำหนักผลสด} \times \text{น้ำหนักทะลายสด}}{\text{น้ำหนักผลสดติดกับก้านผลย่อย}} - \frac{\text{น้ำหนักแกนทะลายสด}}{\text{น้ำหนักทะลายสด}} \times 100$

- น้ำหนักผล (g) = $\frac{\text{น้ำหนักผลตัวอย่าง}}{\text{จำนวนผล}}$

- เนื้อปาล์มต่อผล (%M/F, mesocarp/fruit) = $\frac{\text{น้ำหนักผลสด} - \text{น้ำหนักเมล็ดสด}}{\text{น้ำหนักผลสด}} \times 100$

- กะลาต่อผล (%S/F, shell/fruit) = $\frac{\text{น้ำหนักเมล็ดสด} - \text{น้ำหนักเนื้อในเมล็ด}}{\text{น้ำหนักผลสด}} \times 100$

- เนื้อในเมล็ดต่อผล (%K/F, kernel/fruit) = $\frac{\text{น้ำหนักเนื้อในเมล็ด}}{\text{น้ำหนักผลสด}} \times 100$

- น้ำมันต่อเนื้อปาล์มแห้ง (%O/DM, oil/mesocarp) = $\frac{\text{น้ำหนักเนื้อผลแห้ง} - \text{น้ำหนักของเส้นใยแห้งหลังจากแช่น้ำมัน}}{\text{น้ำหนักเนื้อผลแห้}} \times 100$

- น้ำมันต่อเนื้อปาล์มสด (%O/WM, oil/wet mesocarp) = $\frac{\text{น้ำหนักเนื้อผลสด} - \text{น้ำหนักของเส้นใยแห้งหลังจากแช่น้ำมัน}}{\text{น้ำหนักเนื้อผลสด}} \times 100$

- ความชื้น (%) = $\frac{\text{น้ำหนักผลสด} - \text{น้ำหนักเนื้อผลแห้ง}}{\text{น้ำหนักเนื้อผลสด}} \times 100$

- น้ำมันต่อผล (%O/F, oil/fruit) = $\frac{\%O/WM \times \%M/F}{100}$

- น้ำมันต่อทะลาย (%O/B, oil/bunch) = $\frac{\%O/F \times \%F/B}{100}$

- เนื้อในเมล็ดต่อผล (%K/B, kernel/bunch) = $\frac{\%K/F \times \%F/B}{100}$

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

3.1 การวิเคราะห์สหสัมพันธ์ (correlation)

ข้อมูลลักษณะน้ำหนักต่อผล เปอร์เซ็นต์เนื้อปาล์มต่อผล เปอร์เซ็นต์กะลาต่อผล เปอร์เซ็นต์เนื้อในเมล็ดต่อผล จำนวนทะลายต่อต้นต่อปี น้ำหนักต่อทะลาย และน้ำหนักทะลายต่อต้นต่อปี ที่ศึกษาจากประชากรชั่วที่ 2 ของปาล์มน้ำมัน นำมาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะโดยการหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (coefficient of correlation) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป MSTAT (1993)

เมื่อให้ X เป็นตัวแปรของลักษณะที่ 1 และ Y เป็นตัวแปรของลักษณะที่ 2 ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่าง ลักษณะที่ 1 และ 2 จะหาได้จากสูตรดังต่อไปนี้ (ไพศาล เหล่าสุวรรณ, 2535)

$$r = \frac{\sum(Xi - \overline{X})(Yi - \overline{Y})}{\sqrt{\sum(Xi - \overline{X})^2 . \sum(Yi - \overline{Y})^2}}$$

$\overline{X}$ = ค่าเฉลี่ยของ X

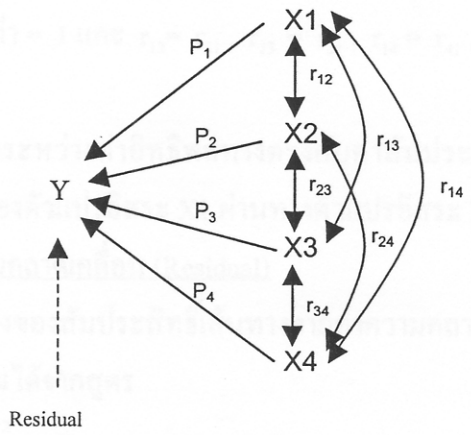
$\overline{Y}$ = ค่าเฉลี่ยของ Y

3.2 การวิเคราะห์เส้นทาง (path analysis หรือ path coefficient analysis)

การศึกษาถึงลักษณะต่าง ๆ ของสิ่งทดลองนั้นมักจะดูความสัมพันธ์ระหว่างลักษณะหรือดูความใกล้ชิดโดยไม่คำนึงถึงว่าตัวแปรใดเป็นสาเหตุและตัวแปรใดเป็นตัวแปรที่ได้รับผลกระทบตามวิธีสหสัมพันธ์ หรือดูความสัมพันธ์ในแง่เหตุและผล โดยวิธีรีเกรสชัน (regression) แต่การศึกษาทั้งสองวิธีข้างต้นไม่สามารถวัดผลได้ชัดเจนหรือสมบูรณ์เท่าที่ควรเนื่องจากผลที่วัดได้บอกถึงอิทธิพลรวม (total effect) ว่าลักษณะในแต่ละคู่มีความสัมพันธ์กันอย่างไร หรือมีความสัมพันธ์กันขนาดไหน ดังนั้นจำเป็นต้องวิเคราะห์เส้นทาง ซึ่งจะบอกได้ว่าอิทธิพลรวมประกอบด้วย อิทธิพลทางตรง และอิทธิพลทางอ้อม ผ่านลักษณะอื่นๆ โดยนำข้อมูลการศึกษาผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต (ต้นปาล์มน้ำมัน 45 ต้น) นำมาวิเคราะห์เส้นทาง

รายละเอียดของวิธีการวิเคราะห์เส้นทาง ศึกษาได้จาก สุรพล อุปดิสสกุล (2526) ; Dabholkar (1992) ; Li (1956) และ Singh และ Chaudhary (1979)

แผนผังแสดงความสัมพันธ์ที่เกี่ยวข้องโดยตรง และโดยอ้อมระหว่างตัวแปรอิสระ (X1, X2, X3 และX4) กับตัวแปรตาม (Y) รูปแบบและความสัมพันธ์ทั้งหมดสามารถเขียนได้ดังภาพที่ 4



โดยที่ r = ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรซึ่งแทนด้วยลูกศร 2 หัว

p = ค่าสัมประสิทธิ์เส้นทาง แสดงอิทธิพลโดยตรงของตัวแปรอิสระที่มีต่อตัวแปรตาม แทนด้วยลูกศรหัวเดียว

ค่าความคลาดเคลื่อน (residual) = อิทธิพลอื่นๆที่มีต่อตัวแปรตาม นอกเหนือจากอิทธิพลของตัวแปรอิสระ

ภาพที่ 4 แผนผังแสดงความสัมพันธ์ที่เกี่ยวข้องโดยตรง และโดยอ้อมระหว่างตัวแปรอิสระ (X1, X2, X3 และX4) กับตัวแปรตาม (Y)

ความสัมพันธ์จากแผนผังนี้ นำมาเขียนเป็นสมการปกติ ได้ดังนี้

$r_{1y} = r_{11}p_1 + r_{12}p_2 + r_{13}p_3 + r_{14}p_4$ .....(1)

$r_{2y} = r_{21}p_1 + r_{22}p_2 + r_{23}p_3 + r_{24}p_4$ .....(2)

$r_{3y} = r_{31}p_1 + r_{32}p_2 + r_{33}p_3 + r_{34}p_4$ .....(3)

$r_{4y} = r_{41}p_1 + r_{42}p_2 + r_{43}p_3 + r_{44}p_4$ .....(4)

หรือเขียนให้อยู่ในรูปเมทริกซ์ได้ดังนี้

$$R_{XY} = R_{XX} \cdot P$$

$$\begin{bmatrix} r_{1y} \\ r_{2y} \\ r_{3y} \\ r_{4y} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} r_{11} & r_{12} & r_{13} & r_{14} \\ r_{21} & r_{22} & r_{23} & r_{24} \\ r_{31} & r_{32} & r_{33} & r_{34} \\ r_{41} & r_{42} & r_{43} & r_{44} \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} p_1 \\ p_2 \\ p_3 \\ p_4 \end{bmatrix}$$

โดยที่ r_{11} , r_{22} , r_{33} และ r_{44} คือค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระแต่ละตัวกับตัวมันเอง ดังนั้นแต่ละตัวมีค่า = 1 และ $r_{12} = r_{21}$, $r_{13} = r_{31}$, $r_{14} = r_{41}$, $r_{23} = r_{32}$, $r_{24} = r_{42}$, $r_{34} = r_{43}$

<u>อิทธิพลทางอ้อม</u>

เป็นผลคูณระหว่างค่าอิทธิพลทางตรงกับค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างตัวแปร เช่น อิทธิพลทางอ้อมของตัวแปรอิสระ X1 ผ่านทางตัวแปรอิสระ X2 ไปสู่ Y จะมีค่า = $r_{12}\, p_2$

<u>อิทธิพลของค่าความคลาดเคลื่อน (Residual)</u>

ค่ากำลังสองของสัมประสิทธิ์เส้นทางจากค่าความคลาดเคลื่อนไปสู่ Y ซึ่งในที่นี้จะใช้สัญลักษณ์ P_E^2 จะประมาณได้จากสูตร

$$P_E^2 = 1 - R^2$$

$$P_E = \sqrt{1 - R^2}$$

P_E คือ อิทธิพลทางตรงของความคลาดเคลื่อน

และค่า R^2 คือค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (coefficient of determination) หรือ ซึ่งเป็นกำลังสองของค่าสัมประสิทธิ์พหุสหสัมพันธ์ (multiple correlation coefficient) จากแผนผังแสดงความสัมพันธ์ จะหาค่า R^2 ได้จากสูตร

$$R^2 = r_{1y}\, p_1 + r_{2y}\, p_2 + r_{3y}\, p_3 + r_{4y}\, p_4$$

หรือ $R^2 = \acute{R}_{xy} \cdot P$

เมื่อ $\acute{R}_{xy}$ คือเมทริกซ์ย้ายรูป (transposed matrix) ของ R_{XY}

3.3 การประมาณอัตราพันธุกรรม

อัตราพันธุกรรมอย่างกว้าง (broad sense heritability, h_b^2) เป็นอัตราส่วนระหว่างความแปรปรวนทางพันธุกรรมต่อความแปรปรวนทั้งหมด (พีระศักดิ์ ศรีนิเวศน์, 2525; Allard, 1960; Falconer, 1981) หาค่าโดยใช้สมการดังต่อไปนี้

$$h_b^2 = \sigma_G^2 / \sigma_P^2$$
$$= \sigma_G^2 / (\sigma_G^2 + \sigma_E^2)$$

เมื่อ σ_G^2 = ความแปรปรวนทางพันธุกรรม (genotypic variance)

σ_P^2 = ความแปรปรวนทั้งหมด (total variance)

σ_E^2 = ความแปรปรวนเนื่องจากสภาพแวดล้อม (environmental variance)

ในการหาค่าองค์ประกอบความแปรปรวนทางพันธุกรรม เมื่อจำนวนของลูก (progeny) ในแต่ละกลุ่มไม่เท่ากัน มีตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนของ Becker (1984) แสดงไว้ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 องค์ประกอบการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางพันธุกรรม

Source of Variance	d.f.	SS	MS	EMS
Between group	$s - 1$	SS_B	MS_B	$\sigma_W^2 + k\sigma_B^2$
Within group	$n. - s$	SS_W	MS_W	σ_W^2

เมื่อ s = จำนวนชนิดของปาล์มน้ำมันที่พบในประชากรชั่วที่ 2 ($s = 3$)

$n.$ = จำนวนต้นปาล์มทั้งหมด ($n. = \sum n_i$)

n_i = จำนวนต้นปาล์มของปาล์มน้ำมันแต่ละชนิด

$$k = \frac{1}{s-1}\left(n. - \frac{\sum n_i^2}{n.}\right)$$

จากตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนนี้ $\sigma_B^2 = (MS_B - MS_W) / k$ และ

$$\sigma_W^2 = MS_W$$
$$\sigma_P^2 = \sigma_B^2 + \sigma_W^2$$

ในการหาค่า $h_b^2 = \sigma_G^2/(\sigma_G^2 + \sigma_B^2)$ โดย $\sigma_G^2 = \sigma_B^2$; $\sigma_E^2 = \sigma_W^2$