การประชุมทางวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 62

The 62nd Kasetsart University Annual Conference

วันที่ 5-7 มีนาคม 2567 ณ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

"ศาสตร์แห่งแผ่นดิน เพื่อเป้าหมายการพัฒนาอย่างยั่งยืนและความเป็นกลางทางคาร์บอน"
"Knowledge of the Land for SDGs and Carbon Neutrality"

Proceedings No. 1

AGRICULTURAL SCIENCES

- สาขาพืช
  Plants
- สาขาสัตว์
  Animals
- สาขาสัตวแพทยศาสตร์
  Veterinary Medicine
- สาขาประมง
  Fisheries
- สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์
  Agricultural Extension and Home Economics

เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 62

The Proceedings of the 62nd Kasetsart University Annual Conference

5-7 มีนาคม 2567 (March 5-7, 2024)

เล่มที่ 1

สาขาพืช

(Subject: Plants)

สาขาสัตว์

(Subject: Animals)

สาขาสัตวแพทยศาสตร์

(Subject: Veterinary Medicine)

สาขาประมง

(Subject: Fisheries)

สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์

(Subject: Agricultural Extension and Home Economics)

การประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 62

The 62nd Kasetsart University Annual Conference

5-7 มีนาคม 2567 (March 5-7, 2024)

จัดโดย (Organized by)

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (Kasetsart University)

ร่วมกับ (in cooperation with)

กระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

กระทรวงศึกษาธิการ

กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

กระทรวงดิจิทัลเพื่อเศรษฐกิจและสังคม

สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

สำนักงานการวิจัยแห่งชาติ

เครือข่ายวิจัยประชาชื่น

สมาคมเมล็ดพันธุ์แห่งประเทศไทย

สมาคมนักวิชาการอ้อยและน้ำตาลแห่งประเทศไทย

สมาคมวิทยาศาสตร์เกษตรในพระบรมราชูปถัมภ์

สมาคมดินและปุ๋ยแห่งประเทศไทย

สมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย

สมาคมสภาวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร

สมาคมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทางอาหารแห่งประเทศไทย

สัตวแพทยสภา

สัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์

เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 62

The Proceedings of the 62nd Kasetsart University Annual Conference

วันที่ 5-7 **มีนาคม** 2567 (March 5-7, 2024)

เล่ม 1

จัดโดย

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พิมพ์ครั้งที่ 1 **เดือน เมษายน** 2567

จัดทำโดย

สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ลิขสิทธิ์เป็นของ

สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

50 ถนนงามวงศ์วาน แขวงลาดยาว เขตจตุจักร กรุงเทพฯ 10900

โทรศัพท์ 02-579-5548

ISBN (e-book) (**ชุด**): 978-616-278-834-5

คำนำ

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ได้จัดการประชุมวิชาการอย่างต่อเนื่องเป็นประจำทุกปี โดยร่วมกับกระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กระทรวงศึกษาธิการ กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม กระทรวงดิจิทัลเพื่อเศรษฐกิจและสังคม สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม สำนักงานการวิจัยแห่งชาติ และเครือข่ายวิจัยประชาชื่น จัดให้มีการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 62 ระหว่างวันที่ 5-7 มีนาคม พ.ศ. 2567 ภายใต้หัวข้อ “ศาสตร์แห่งแผ่นดินเพื่อเป้าหมายการพัฒนาอย่างยั่งยืนและความเป็นกลางทางคาร์บอน” (Knowledge of the Land for SDGs and Carbon Neutrality) เพื่อมุ่งส่งเสริมให้นักวิชาการและคณาจารย์จากสาขาต่างๆ นำเสนอผลงานวิจัย แลกเปลี่ยนความคิดเห็น ประสบการณ์ และความชำนาญ ระหว่างนักวิชาการ คณาจารย์ของภาครัฐและภาคเอกชน ซึ่งจะนำไปสู่ความร่วมมือทางการวิจัยและยังเปิดโอกาสให้นิสิต นักศึกษา ได้แสดงผลงานทางวิชาการ โดยความรู้และวิทยาการใหม่ ๆ ดังกล่าว ยังได้ถ่ายทอด เผยแพร่สู่สาธารณชน อันจะนำมาซึ่งความกินดี อยู่ดี และการพัฒนาประเทศอย่างยั่งยืน

การนำเสนอผลงานวิชาการประกอบด้วยภาคบรรยายจำนวน 114 เรื่อง และภาคโปสเตอร์จำนวน 66 เรื่อง รวม 180 เรื่อง แบ่งออกเป็น 12 สาขา ได้แก่ สาขาพืช สาขาสัตว์ สาขาสัตวแพทยศาสตร์ สาขาประมง สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์ สาขาวิศวกรรมศาสตร์และสถาปัตยกรรมศาสตร์ สาขาอุตสาหกรรมเกษตร สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม สาขาศึกษาศาสตร์ สาขาเศรษฐศาสตร์และบริหารธุรกิจ สาขามนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์ โดยได้รับการพิจารณาให้ตีพิมพ์ผลงานวิจัยเรื่องเต็มใน E-Proceedings จำนวน 158 เรื่อง

เอกสารฉบับนี้เป็นการรวบรวมผลงานวิจัยเรื่องเต็ม ภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ทั้งภาคบรรยายและภาคโปสเตอร์ เล่มที่ 1 ประกอบด้วย **สาขาพืช** จำนวน 26 เรื่อง **สาขาสัตว์** จำนวน 9 เรื่อง **สาขาสัตวแพทยศาสตร์** จำนวน 2 เรื่อง **สาขาประมง** จำนวน 14 เรื่อง และ**สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์** จำนวน 2 เรื่อง ซึ่งได้ผ่านการคัดเลือกจากคณะกรรมการผู้ทรงคุณวุฒิประจำสาขา

ในนามของคณะกรรมการดำเนินงานจัดการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 62 ขอขอบคุณ คณาจารย์ นักวิจัย นักวิชาการ และนิสิต นักศึกษา ที่ได้ร่วมนำเสนอผลงานวิจัย และผู้ที่สนใจเข้าร่วมการประชุมทางวิชาการในครั้งนี้ ขอขอบคุณคณะกรรมการทุกฝ่ายที่สละเวลา แรงกาย แรงใจและความคิด ร่วมมือกันจัดเตรียมการประชุม จนทำให้การประชุมทางวิชาการครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

(ดร.จงรัก วัชรินทร์รัตน์)

อธิการบดีมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประธานคณะกรรมการอำนวยการจัดการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 62

ความสมบูรณ์ของการเสนอผลงาน
ในการประชุมทางวิชาการ
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 62
ประกอบด้วย หนังสือรับรองการมาเสนอผลงาน
และการได้ตีพิมพ์ลงในเอกสารบทคัดย่อ

สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

E-mail: kuannualconf@gmail.com

Website: http://annualconference.ku.ac.th

https://www3.rdi.ku.ac.th/

สารบัญ

สาขาพืช (Oral Presentation)

ลำดับ	รหัสผลงาน	ชื่อผลงาน	หน้า
1	120	การประเมินประชากรข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่พัฒนาจากเชื้อพันธุกรรมเขตอบอุ่นและเขตร้อน ศุภวรรณ อรุณศรีมรกต, สุจินต์ เจนวีรวัฒน์, จุฑามาศ ร่มแก้ว, บุบผา คงสมัย	2
2	209	การจัดกลุ่มเฮเทอโรซีสแก่สายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 1 (S_1 lines) ที่สกัดได้จากข้าวโพดลูกผสมพันธุ์การค้าด้วยตัวทดสอบ เจษฎา จันทร์ตระกูล, ชูศักดิ์ จอมพุก, พีรนุช จอมพุก	10
3	107	การเพิ่มปริมาณยอดรวมจากตาข้างของไผ่เฉียงรุน (*Dendrocalamus* sp.) ในหลอดทดลอง สุภลักษณ์ สุดสอาด, วงศกร ขวัญดี, เยาวพรรณ สนธิกุล	19
4	144	การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและผลผลิตของมะเขือเทศเชอรี่ 4 พันธุ์ที่ปลูกภายใต้โรงเรือนหลังคาพลาสติกในช่วงฤดูฝน วรันธร ทรัพย์บุญธรรม, วิไลวรรณ มุยคำ, ปริยานุช จุลกะ, จุติภรณ์ ทัสสกุลพนิช, อัครชัย โสมกุล	25
5	33	ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเลือกบริหารจัดการใบอ้อยหลังการเก็บเกี่ยวของเกษตรกร สุดารินทร์ รอดมณี, อนุพงศ์ วงศ์ไชย, ลักษณา โชติคุต, ศักดา ทวิชศรี, เอื้อมพร ลอยประดิษฐ์	33
6	210	การประเมินอิทธิพลของตะกอนของเหลวจากกระบวนการหมักย่อยสลายขยะอาหารแบบไร้ออกซิเจนต่อผลผลิตและปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ของขมิ้นชัน ธันยพัฒน์ เอมะวัจนะ, วรรณสิริ วรรณรัตน์, ธัญญพร วงศ์เนตร, เฉลิมพล ภูมิไชย์, เอ็จ สโรบล, สุตเขตต์ นาคะเสถียร, จีราพัชร ศุภวัฒน์กร	46
7	230	ผลการปรับปรุงดินกรดกำมะถันชุดดินรังสิต และการปลดปล่อยแคลเซียมและแมกนีเซียมของวัสดุโดโลไมต์ที่ปรับสภาพด้วยการบดและการใช้คลื่นอัลตราโซนิกในการบ่มดินระดับห้องปฏิบัติการ อารีรัตน์ โสระดา, ภัทรา เพ่งธรรมกีรติ, มณีกาญจน์ อยู่เอี่ยม, พัชริยา เวลุตัง	55
8	147	การวิเคราะห์เมตาจีโนมิกส์ของกลุ่มประชากรแบคทีเรียผิวใบและรอบรากพืชของถั่วเหลืองฝักสดและข้าวโพดหวาน ชูศักดิ์ แข็งแรง, วิศรุต เพิ่มพูล, วุฒิชัย เหมืองทอง, อุษาวดี ชัยพรม, นุชจรินทร์ แฮวอู, ณัฐกร คุณเจริญ, สวิตา สุวรรณรัตน์, วราภรณ์ บุญเกิด, สุพจน์ กาเซ็ม, ติยากร ฉัตรนภารัตน์	65
9	146	ลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนมของแบคทีเรียบริเวณรอบรากพืช *Pseudomonas* sp. KnCo4 และกลไกการแข่งขันระหว่างแบคทีเรียในการยับยั้งแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช นุชจรินทร์ แฮวอู, ธาณิกานต์ เนียมแตง, ชูศักดิ์ แข็งแรง, ณัฐกร คุณเจริญ, สุพจน์ กาเซ็ม, ติยากร ฉัตรนภารัตน์	75

สาขาสัตว์ (Oral Presentation)

ลำดับ	รหัสผลงาน	ชื่อผลงาน	หน้า
1	160	คุณภาพน้ำเชื้อของไก่เบตง (สายเคยู) สีน้ำตาล สีขาว และพันธุ์สังเคราะห์ ศศิธร สุ่มทา, นพภัสสร กลิ่นรอด, อัญชลี บวดขุนทด, สมบัติ ประสงค์สุข, พนัดดา บึงศรีสวัสดิ์, พรรณวดี โสพรรณรัตน์	85
2	228	การประเมินค่าโภชนะและพลังงานใช้ประโยชน์ได้ของกากช่อดอกกัญชงในไก่ไข่ หทัยรัตน์ แสงสุวรรณ, ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์, เชาว์วิทย์ ระฆังทอง, กนกพร พ่วงพงษ์	94
3	32	ผลของการเสริมเบต้ากลูแคนและแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์จากผนังเซลล์ยีสต์ ต่อปริมาณการกินได้ น้ำหนักตัวและค่าเมแทบอไลต์ของเลือดในสุนัข ศกุนตลา จันทร์แสนตอ, พงศ์ธร คงมั่น, อรรถวิทย์ โกวิทวที	102
4	139	ผลของอุณหภูมิต่อการฟักและการพัฒนาของไข่แมลงวันลาย กัญญาณัฐ แขกระโทก, อัญชนา ท่านเจริญ, ปาริฉัตร ลักษณะวิมล, ชามา อินซอน	112
5	186	ค่าโภชนะและการย่อยได้ของโปรตีนในหลอดทดลองของหนอนแมลงวันลายสำหรับสุกร นวลจรี แจ้งคำ, นนทวุฒิ จันทรา, สุปรีย์ยา เทพรักษ์, หทัยภัทธ ทองถึง, ชัชชนม์ ชายเขียวบุญวงศ์, เชาว์วิทย์ ระฆังทอง, ชาญวิทย์ แก้วตาปี	119
6	211	การพัฒนาแบบจำลองจำแนกคุณภาพน้ำนมโคดิบตามจำนวนโซมาติกเซลล์โดยใช้การวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์และโครงข่ายประสาทเทียม กรณีศึกษา: เกษตรกรฟาร์มโคนมในจังหวัดสระบุรี โอม ศรีนวกรณ์, เกรียงไกร แก้วตระกูลพงษ์, สมพงษ์ เจษฎาธรรมสถิต, รักศักดิ์ เสริมศักดิ์, ยุพดี ฟูประเสริฐ, ถวัลย์ศักดิ์ เผ่าสังข์, อาณัติ จันทร์ถิระติกุล	129
7	200	การสำรวจความหลากชนิดและการแพร่กระจายปูนาในประเทศไทย กมลชนก วงศ์อิสรกุล, รัชนีวรรณ สุมิตรากิจ, พันธุ์ทิพย์ วิเศษพงษ์พันธ์, เรืองฤทธิ์ พรหมดำ	138

สาขาสัตวแพทยศาสตร์ (Oral Presentation)

ลำดับ	รหัสผลงาน	ชื่อผลงาน	หน้า
1	44	การตรวจหาและศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสในไก่ไข่ในจังหวัดฉะเชิงเทราและนครปฐม ณัฐชยา สัตยะพงษ์พันธุ์, สุดารัตน์ วรรณรัตน์, ฉัตรนภา จันทร์มีเทศ, นันทนา โสดา, วิไลรัตน์ ฉ่ำสิงห์, มานะกร สุขมาก, เกรียงไกร วิฑูรย์เสถียร	147

สาขาประมง (Oral Presentation)

ลำดับ	รหัสผลงาน	ชื่อผลงาน	หน้า
1	37	การทำการประมงลอบหมึกสายและการศึกษาด้านความตระหนักในการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสาย ของชาวประมงในพื้นที่หาดเจ้าสำราญ จังหวัดเพชรบุรี ภาวิดา ประสพสุข, จรวย สุขแสงจันทร์, เยาวลักษณ์ มั่นธรรม, นิภา กุลานุจารี, สนธยา ผุยน้อย, แพรวา คงมีผล	155
2	125	ผลของระยะเวลาการขนส่งต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพหัวเชื้อ *Isochrysis* aff. *galbana* (T-Iso) ชลดา ลีอร่าม, รุ่งทิวา คนสันทัด, วาสนา อากรรัตน์	164

สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์ (Oral Presentation)

ลำดับ	รหัสผลงาน	ชื่อผลงาน	หน้า
1	60	Factors affecting the success in carrying out the Khok Nongna, Mea Yao Chiang Rai Province: Case study Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) Anupong Wongchai, Piyata Bunbun, Sudarin Rodmanee, Luksana Chotikut	172
2	176	ปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ธนาคารเพื่อการเกษตรและสหกรณ์การเกษตรของลูกค้า สาขามีนบุรี กรุงเทพมหานคร วรกานต์ แสงสร้อย, ปัญญา หมั่นเก็บ	180

สาขาพืช (Poster Presentation)

ลำดับ	รหัสผลงาน	ชื่อผลงาน	หน้า
1	71	Effects of water deficit on physiological processes, growth, and yield of sugarcane Pennapa Srisawat, Sodchol Wonprasaid, Thitiporn Machikowa	190
2	93	ผลของไกลโฟเซตต่อปริมาณจุลินทรีย์ดินและแนวทางในการใช้ย่อยสลายทางชีวภาพ อำนาจ เอี่ยมวิจารณ์, จิตรา เกาะแก้ว, บุณฑริก ฉิมชาติ, กนกอร บุญพา, มนต์ชัย มนัสสิลา, สนธยา ขำติ๊บ	200

ลำดับ	รหัสผลงาน	ชื่อผลงาน	หน้า
3	94	การศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ดินในการย่อยสลายสารกำจัดวัชพืช atrazine จิตรา เกาะแก้ว, สนธยา ขำติ๊บ, มนต์ชัย มนัสสิลา, บุณฑริก ฉิมชาติ, อำนาจ เอี่ยมวิจารณ์, กนกอร บุญพา, ปภัสรา คุณเลิศ	209
4	104	การพัฒนาและขยายเครือข่ายผู้ผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงในอำเภอเสริมงาม จังหวัดลำปาง ชนันทวัฒน์ ศุภสุทธิรางกูล, นิภาภรณ์ พรรณรา, สุมนา จำปา, อมรรัตน์ ใจยะเสน, วราลักษณ์ บุญมาชัย, วิสุทธิดา ศรีดวงโชติ, ระพีพันธุ์ ชั่งใจ	218
5	114	ผลของปุ๋ยไนโตรเจนต่อการสังเคราะห์ด้วยแสง การกักเก็บคาร์บอน และผลผลิตของอ้อยที่ปลูกในดินร่วนเหนียว จังหวัดสุพรรณบุรี สายน้ำ อุดพ้วย, วลัยพร ศะศิประภา, นุชนาฏ ตันวรรณ	226
6	115	ผลของโคลชิซินต่อการรอดชีวิตและการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานของกระชายดำในสภาพปลอดเชื้อ วรชาติ ชัยสมบูรณ์พันธ์, เฌอมาลย์ วงศ์ชาวจันท์	238
7	117	ผลของความเร็วรอบและระยะเวลาพ่นสารเคลือบต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์เชียงใหม่ 84-2 พรนิภา ถาโน, ศิรากานต์ ขยันการ, วราลักษณ์ บุญมาชัย, สุมนา จำปา	246
8	118	ผลของระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่มีต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม SG1×NSG2 ชัญญภัทร น้อยผา, ประเสริฐ ถาหล้า, ชัยสิทธิ์ ทองจู, กนกวรรณ เที่ยงธรรม, จุฑามาศ ร่มแก้ว	254
9	130	ผลของอัตราปุ๋ยฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 3 ที่ปลูกในดินเหนียว จังหวัดชัยนาท นุชนาฏ ตันวรรณ, สายน้ำ อุดพ้วย, สมฤทัย ตันเจริญ, ชัชธนพร เกื้อหนุน, วิลัยรัตน์ แป้นแก้ว	262
10	133	การประเมินลักษณะทางการเกษตรและผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ที่พัฒนาโดยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ณัฏฐนันท์ ศิระสรวงศุกล, ประเสริฐ ถาหล้า, ชูศักดิ์ จอมพุก , ชัยสิทธิ์ ทองจู, จุฑามาศ ร่มแก้ว	272
11	135	การคัดแยกและจำแนกชนิดแบคทีเรียที่สามารถละลายโพแทสเซียมและสร้างเอนไซม์ ACC deaminase จากดินในพื้นที่แล้งภาคตะวันออกเฉียงเหนือ กนกอร บุญพา, สนธยา ขำติ๊บ, อำนาจ เอี่ยมวิจารณ์, มนต์ชัย มนัสสิลา	279
12	136	การประเมินลักษณะทางการเกษตรและผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ที่พัฒนาโดยภาครัฐในฤดูแล้ง อาทิตยา มีสัตย์, สุจินต์ เจนวีรวัฒน, กนกวรรณ เที่ยงธรรม, ชัยสิทธิ์ ทองจู, จุฑามาศ ร่มแก้ว	289

ลำดับ	รหัสผลงาน	ชื่อผลงาน	หน้า
13	145	การใช้ประโยชน์ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วันในการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวในพื้นที่จังหวัดชัยนาท กัลยกร โปร่งจันทึก, สรัตนา เสนาะ, วีระพงษ์ เย็นอ่วม	298
14	174	ประสิทธิภาพของสารเคมีในการควบคุมโรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพด อุดมศักดิ์ เลิศสุชาตวนิช	306
15	181	ศึกษาความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอก (ไกลโฟเซต กลูโฟซิเนต และไดควอต) ในกล้วยหอมทอง เอกรัตน์ ธนูทอง, จรัญญา ปิ่นสุภา, ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย, ปรัชญา เอกฐิน, เทอดพงษ์ มหาวงศ์, อุษณีย์ จินดากุล	313
16	212	ผลของกรดซาลิไซลิกต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของผลพริกขี้หนูหลังเก็บเกี่ยว พันธุ์ซุปเปอร์ฮอทและการชักนำความต้านทาน วีรภรณ์ เดชนำบัญชาชัย, บุญญวดี จิระวุฒิ, รัตตา สุทธยาคม	322
17	213	การใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus amyloliquefaciens* DL9 ควบคุมโรคขั้วหวีเน่าของกล้วยหอม บุญญวดี จิระวุฒิ, รัตตา สุทธยาคม, วีรภรณ์ เดชนำบัญชาชัย, กัลยลักษณ์ เสนาะสำเนียง, ณัฐกานต์ สาตราภัย	330

สาขาสัตว์ (Poster Presentation)

ลำดับ	รหัสผลงาน	ชื่อผลงาน	หน้า
1	204	Effect of density on developmental duration of *Aedes aegypti* larvae under insect growth regulator insecticide susceptibility testing condition following the WHO's recommendations Nachareeya Kanchanaromon, Sungsit Sungvornyothin, Waraporn Juntarajumnong	339
2	141	การศึกษาการเจริญเติบโตของปลิงทะเลขาว (*Holothuria scabra*) ในโรงเพาะฟักของสถานีวิจัยเพื่อการพัฒนาชายฝั่งอันดามัน จังหวัดระนอง กิตติพศ คุ้มรักษา, ฤทธิชัย คงสบาย, ปิยะวัฒน์ พรหมรักษา, นัทธพงศ์ ชุมเชื้อ, ไชยธวัฒน์ ทองนอก	347

สาขาสัตวแพทยศาสตร์ (Poster Presentation)

ลำดับ	รหัสผลงาน	ชื่อผลงาน	หน้า
1	220	กรณีศึกษา: การตรวจยืนยันภาวะรังไข่คงค้างโดยการเหนี่ยวนำด้วยฮอร์โมนเอชซีจี ในสุนัข พรรณธิภาภรณ์ จันทร์ควง, ภาคภูมิ บุศยพลากร, ปิยทิพย์ ชูเฉลิมพร, ชื่นสุมน ลิ้มมานนท์	354

สาขาประมง (Poster Presentation)

ลำดับ	รหัสผลงาน	ชื่อผลงาน	หน้า
1	81	In Vitro efficacy of povidone-iodine and hydrogen peroxide in controlling *Vibrio parahaemolyticus* (AHPND) Pakawat Poldetch, Akira Wongwannaraksa	365
2	87	Functional identification of molt-inhibiting hormone receptor as G-protein coupled receptor by RNAi in mud crab *Scylla olivacea* Thatsaphon Khanleg, Sanit Piyapattanakorn, Sirinart Techa	374
3	116	Lethal concentration 50 of Glutaraldehyde and Trichlorfon: Differential concentration on zebrafish (*Danio rerio)* Chaluch Limpasontipong, Tanwarat Choojit, Tasneem Tosaman, Janista Jamnong, Thanakrit Ratanaprapaporn, Thanakrit Manujantarat, Suwaree Kitikiew, Sahabhop Dokkaew, Phunsin Kantha	382
4	119	Efficacy of Trichlorfon and Glutaraldehyde baths against ornamental fish parasites Tanwarat Choojit, Chaluch Limpasontipong, Janista Jamnong, Tasneem Tosaman, Thanakrit Ratanaprapaporn, Thanakrit Manujantarat, Sahabhop Dokkaew, Suwaree Kitikiew, Phunsin Kantha	391
5	142	การเปลี่ยนแปลงความลาดชันชายหาดในช่วงมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือและมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ บริเวณชายหาดประพาส อำเภอสุขสำราญ จังหวัดระนอง วรวิช ป้านนาค, อภิษฎา ทองเปี่ยม, นันทพงศ์ กิมไพ	404
6	164	ดัชนีความสมบูรณ์ของหอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) ต่อการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาล บริเวณชายฝั่งศรีราชา อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี ประเทศไทย ปุณณภา เดชาทองน้อย, อลงกต อินทรชาติ, อรรถวุฒิ กันทะวงศ์, กนกวรรณ ขาวด่อน, สาโรจน์ เริ่มดำริห์	414

ลำดับ	รหัสผลงาน	ชื่อผลงาน	หน้า
7	171	การใช้ครีมยีสต์ (cream yeast) จากเศษเหลือต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในระดับห้องปฏิบัติการ แก้วตา ลิ้มเฮง, สาธิต บุญน้อม, เสาวภา เขียนงาม	422
8	188	การคัดเลือกแบคทีเรียสังเคราะห์แสง และการบำบัดน้ำจากการเพาะเลี้ยงปลานิลด้วย *Rhodopseudomonas palustris* PB6-2 เสาวภา เขียนงาม, แก้วตา ลิ้มเฮง, สาธิต บุญน้อม, กรกมล เครือสุวรรณ์, สมบูรณ์ ธนาศุภวัฒน์	431
9	214	ผลของสารสกัดจากใบมังคุดสดต่อการแปลงเพศปลานิล อนวัช บุญญภักดี, คุณาดล ศิลาฤดี, สมฤดี ศิลาฤดี	441
10	216	ความชุกชุมและการกระจายตัวของปูเสฉวนขาเหลือง (*Clibanarius virescens*) ภายใต้การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วงวันในหาดหินบริเวณหาดอ่าวโฉลกบ้านเก่า เกาะเต่า สุราษฎร์ธานี พันธุ์ทิพย์ วิเศษพงษ์พันธ์, ณัฐพร ดวงศรี, ธารวิมล มักทา	449
11	222	การศึกษาโรคกุ้งขาวแวนนาไมในพื้นที่ตำบลลีเล็ต อำเภอพุนพิน จังหวัดสุราษฎร์ธานี วิรัญญา สวนพลอย, ถิรวัฒน์ รายรัตน์, อรุโณทัย คีตะนนท์, พุธสุชา พันธ์สวัสดิ์, นิติ ชูเชิด	458
12	225	สมบัติบางประการของดินตะกอนและการแพร่กระจายปูแสมในป่าชายเลนบ้านบางบ่อ จังหวัดสมุทรสงคราม นฤชล ภัทราปัญญาวงศ์, กรณ์รวี เอี่ยมสมบูรณ์, วิสัย คงแก้ว	467

สาขาพืช

(Subject: Plants)

ภาคบรรยาย

(Oral Presentation)

การประเมินประชากรข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่พัฒนาจากเชื้อพันธุกรรมเขตอบอุ่นและเขตร้อน

Evaluation of Maize Populations Developed from Tropical and Temperate Germplasm

ศุภวรรณ อรุณศรีมรกต[a], **สุจินต์ เจนวีรวัฒน์**[b], **จุฑามาศ ร่มแก้ว**[a], **บุบผา คงสมัย**[a,*]

Suphawan Aroonsrimorakot[a], Sujin Jenweerawat[b], Jutamas Romkaew[a], Buppa Kongsamai[a,*]

[a]ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

[b]ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[a]Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

[b]Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: agrbuk@ku.ac.th

บทคัดย่อ

การประเมินประชากรข้าวโพดที่ผ่านการคัดเลือกแบบวงจรแล้วอย่างน้อย 2 รอบคัดเลือก จำนวน 20 ประชากร สร้างประชากรลูกผสมด้วยวิธีการผสมแบบ North Carolina Design II โดยใช้ประชากรฝ่ายแม่ 9 ประชากร และฝ่ายพ่อ 11 ประชากร ปลูกทดสอบประชากรลูกผสม ประชากรพ่อแม่จำนวน 119 ประชากร ร่วมกับพันธุ์เปรียบเทียบ 11 พันธุ์ โดยวางแผนการทดลองแบบ 10,13 alpha-lattice จำนวน 2 ซ้ำ ปลูกต้นฤดูฝนระหว่างเดือนพฤษภาคมถึงเดือนสิงหาคม 2566 พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในประชากรพ่อแม่ ประชากรลูกผสมและพันธุ์เปรียบเทียบในลักษณะของผลผลิตเมล็ดและองค์ประกอบผลผลิต โดยประชากรพ่อแม่มีผลผลิตเมล็ดเฉลี่ยอยู่ในช่วง 939 ถึง 1,209 กก./ไร่ ขณะที่ประชากรลูกผสมให้ผลผลิตอยู่ในช่วง 1,141 ถึง 1,522 กก./ไร่ ซึ่งประชากรลูกผสมส่วนมากมีค่าดีเด่นของลูกผสมที่เหนือกว่าพ่อหรือแม่ที่ให้ผลผลิตสูงเป็นบวก ดังนั้นประชากรที่ผ่านการปรับปรุงนี้มีศักยภาพในการพัฒนาสายพันธุ์และสร้างลูกผสมได้

คำสำคัญ: ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์, ความดีเด่นของลูกผสม, เชื้อพันธุกรรม, ประชากร

Abstract

This study was evaluated 20 breeding populations which were developed through recurrent selection at least 2 cycles of selection. Nine populations were crossed as female with eleven populations following the North Carolina Design II mating scheme. Population crosses were generated. The 20 population *per se*, 99 population crosses and 11 check cultivars were evaluated based on the 10,13 alpha-lattice design with two replications in rainy season during May and August in 2023. Populations and population crosses were significantly different on grain yield and yield components. The average yield of parent ranged from 939 to 1,209 kg/rai, whereas their crosses ranged from 1,141 to 1,522 kg/rai. Most of their crosses have positive value of high parent heterosis. Thus, some of the improved populations show great potential sources for further line and hybrid development.

Keywords: Germplasm, Heterosis, Maize, Populations

คำนำ

การเพิ่มฐานพันธุกรรมของเชื้อพันธุกรรมในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เขตร้อนเพื่อเพิ่มศักยภาพของผลผลิตเป็นแนวทางหนึ่งที่มีความสำคัญในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพด (Eberhart, 1971; Holley and Good man, 1988) รวมถึงการจัดกลุ่มทางเฮเทอโรติกที่เหมาะสมก็เป็นอีกวิธีการในการเพิ่มประสิทธิภาพของโครงการปรับปรุงพันธุ์ (Hallauer and Miranda, 1988; Fan et al., 2015) การใช้เชื้อพันธุกรรมนอกเขตภูมิอากาศโดยเฉพาะเชื้อพันธุกรรมจากเขตอบอุ่นได้รับความสนใจจากนักปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เขตร้อนเป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นแหล่งรวมของยีนซึ่งควบคุมลักษณะที่ต้องการของนักปรับปรุงพันธุ์เพื่อสร้างลูกผสมที่ให้ผลผลิตและให้ลักษณะความดีเด่นของลูกผสมสูง รวมถึงข้าวโพดในเขตอบอุ่นนั้นยังมีการแบ่งกลุ่มทางเฮเทอโรติก อย่างชัดเจน เช่น Reid และ Lancaster group ที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมอย่างชัดเจนและเป็นที่นิยมใช้มากในเขตอบอุ่น โดยการแบ่งกลุ่มนี้สามารถคาดคะเนได้ว่าสายพันธุ์หรือพันธุ์ที่มาจากคนละกลุ่มสามารถให้ลูกผสมที่ดีเด่นได้ อย่างไรก็ตามการใช้เชื้อพันธุกรรมจากเขตอบอุ่นนั้นยังคงมีข้อจำกัดจากการที่สภาพแวดล้อมของเขตร้อนที่แตกต่างจากของเขตอบอุ่น ทั้งช่วงแสง อุณหภูมิ โรคและแมลงศัตรูและปัจจัยอื่น ๆ ที่บดบังลักษณะที่ดีของข้าวโพดจากเขตอบอุ่นทำให้ยากต่อการคัดเลือก อย่างไรก็ตามการปรับปรุงเชื้อพันธุกรรมโดยนำเชื้อพันธุกรรมจากนอกเขตภูมิอากาศมารวมกับประชากรที่ผ่านการปรับปรุงนั้นยังขาดข้อมูลอีกมาก ซึ่งอาจเป็นผลให้สูญเสียความแตกต่างทางพันธุกรรม (loss of heterotic pattern) (Echandi and Hallauer, 1996)

ทั้งนี้การปรับปรุงประชากรพื้นฐานนั้นไม่เพียงแต่สร้างสายพันธุ์ที่ดีเด่นแต่เป็นหนึ่งในวิธีการเพื่อสร้างลูกผสมที่ดีเด่นเช่นกัน เมื่อใช้วิธีการคัดเลือกแบบวงจรสลับ (Reciprocal recurrent selection) ระหว่างประชากรพื้นฐานในแต่ละกล่มเฮเทอโรติก หรือกลุ่มพ่อและกลุ่มแม่ (Keeratinijakal and Lamkey, 1993) ซึ่งความสำเร็จในการสร้างประชากรพื้นฐานคือการสร้างความหลากหลายของสายพันธุ์ ดนื่องจากยิ่งมีความหลายหลายมากก็จะยิ่งเป็นประโยชน์มาก (Dudley, 1982) โดยการใช้เชื้อพันธุกรรมจากต่างเขตภูมิอากาศก็เป็นอีกปัจจัยที่ช่วยเพิ่มความหลากหลาย รวมถึงเพิ่มอัตราความดีเด่นของลูกผสม (heterosis) และผลผลิตได้ (Paterniani and Lonnquist, 1963; Troyer and Hallauer, 1968)

อีกทั้งการใช้เชื้อพันธุกรรมจากเขตอบอุ่นในการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เขตร้อนนั้นยังไม่มีการศึกษามากนัก ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินประชากรข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่มีการปรับปรุงโดยใช้เชื้อพันธุกรรมจากเขตอบอุ่นและเขตร้อน และผ่านการคัดเลือกแบบวงจรแล้วอย่างน้อย 2 รอบคัดเลือก จำนวน 20 ประชากรจากทั้งสองกลุ่มเฮเทโรติก

อุปกรณ์และวิธีการ

ประชากรพื้นฐานที่ใช้สร้างประชากรพ่อแม่

ประชากรพ่อแม่ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์จำนวน ประชากร 20 ประชากรได้รับการอนุเคราะห์จากบริษัท สวีทซีดส์ จำกัดได้รับการพัฒนามาจากประชากรข้าวโพดเขตร้อนและข้าวโพดเขตอบอุ่นด้วยวิธีการผสมกลับ ดังนี้ ประชากรข้าวโพดเขตร้อนมี 2 กลุ่มเฮเทอโรติก คือ กลุ่ม A ประกอบด้วย พันธุ์ BIG99, DK888 และ NK48 นำมาสร้างประชากรพื้นฐานชื่อ ThComA และกลุ่ม B ประกอบด้วย พันธุ์ PIO87, PAC220, NS-2 และ KU4452 นำมาสร้างเป็นประชากรพื้นฐานชื่อ ThComB ส่วนเชื้อพันธุกรรมของข้าวโพดเขตอบอุ่นตามการแบ่งตามความหลากหลายทางพันธุกรรมของ Nelson (2008) ออกเป็น 7 กลุ่มได้ผ่านการปลูกทดสอบเพื่อประเมินลักษณะเบื้องต้นที่บริษัท สวีทซีดส์ จำกัด อำเภอ

พระพุทธบาท จังหวัดสระบุรี และมีการแบ่งกลุ่มเฮเทอโรติก 2 กลุ่ม ดังนี้ กลุ่ม A ประกอบด้วย กลุ่ม A632, B37 และ B73 กลุ่ม B ประกอบด้วย กลุ่ม Mo17, Oh43 , PH207 และ Va35

การสร้างประชากรพ่อแม่

ประชากรพ่อแม่จำนวน 20 ประชากรถูกพัฒนาขึ้นจากการผสมระหว่างประชากรข้าวโพดเขตร้อนและประชากรข้าวโพดจากเขตอบอุ่นในแต่ละกลุ่มเฮเทอโรติกได้ประชากรข้าวโพดดีเด่นที่มีสัดส่วนทางพันธุกรรมของข้าวโพดเขตอบอุ่นต่อเขตร้อนเป็น 50 ต่อ 50 จำนวน 9 ประชากรดังนี้ กลุ่ม A: TSRA635050, TSRB375050, TSRB735050 และ ThABSS5050 ซึ่งเกิดจากการผสมข้ามประชากรภายในกลุ่ม A และกลุ่ม B: TSRMo175050, TSROh435050, TSRPH205050, TSRVa355050 และ ThBNSS5050 ซึ่งเกิดจากการผสมข้ามประชากรภายในกลุ่ม B สร้างกลุ่มของประชากรพ่อแม่ที่มีสัดส่วนทางพันธุกรรมของข้าวโพดเขตอบอุ่นต่อเขตร้อนเป็น 75 ต่อ 25 จำนวน 9 ประชากร โดยการผสมกลับไปหาประชากรพื้นฐานจากเขตอบอุ่นในแต่ละกลุ่มเฮเทอโรติก ได้ประชากรในกลุ่ม A คือ TSRA637525, TSRB377525, TSRB737525 และ ThABSS7525 และกลุ่ม B คือ TSRMo177525, TSROh437525, TSRPH207525, TSRVa357525 ThBNSS7525

กลุ่มของประชากรข้าวโพดดีเด่นในเขตร้อน จำนวน 2 ประชากร ได้แก่ ThAGCA20 ถูกพัฒนาโดยการผสมข้ามจากสายพันธุ์แท้ 14 สายพันธุ์ที่มีสมรรถนะการผสมดี และ ThBGCA20 ถูกพัฒนาโดยการผสมข้ามจากสายพันธุ์แท้ 17 สายพันธุ์ที่มีสมรรถนะการผสมดี

การสร้างประชากรลูกผสม

สร้างประชากรลูกผสม โดยการผสมแบบพบกันหมดระหว่างกลุ่มเฮเทอโรติก A จำนวน 9 ประชากร และกลุ่ม B จำนวน 11 ประชากร ตามวิธีการผสมแบบ North Carolina design II ปลูกแต่ละประชากรเป็นแถวยาว 8.0 เมตร จำนวน 20 แถวต่อประชากร ในการเก็บละอองเกสรใช้วิธีเก็บละอองเกสรแบบเก็บรวม (bulk) จากทุกต้นภายในประชากร นำมาผสมแบบพบกันหมดระหว่างกลุ่ม ได้ประชากรลูกผสมทั้งหมด 99 คู่ผสม

การทดสอบผลผลิตประชากรและประชากรลูกผสม

นำพันธุ์เปรียบเทียบจำนวน 130 พันธุ์ประกอบด้วยประชากรพ่อแม่จำนวน 20 ประชากร ประชากรลูกผสมจำนวน 99 คู่ผสม ปลูกทดสอบร่วมกับใช้พันธุ์ผสมเปิดหรือประชากรที่ใช้ร่วมทดสอบ จำนวน 3 ประชากร (มนัสนันท์, 2552) คือ Suwan1(S)C14 และ KS23(S)C5 และลูกผสม Suwan1×KS23 ใช้พันธุ์ลูกผสมการค้า จำนวน 8 พันธุ์ ประกอบด้วย TS8491, TS9522, DK9979, Pac789, Pio4163, NK7328, KU5720 และ KU5821 เป็นพันธุ์ตรวจสอบ (checker)

การเก็บข้อมูลและการวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ 10,13 alpha-lattice จำนวน 2 ซ้ำ ปลูกทดสอบต้นฤดูฝน (พฤษภาคมถึงสิงหาคม 2566) ที่แปลงทดลองของบริษัท สวีทซีดส์ จำกัด จังหวัดสระบุรี ปลูกโดยยกร่องด้วยระยะระหว่างแถว 70 เซนติเมตร ระยะระหว่างหลุม 20 เซนติเมตร แถวยาว 5 เมตร จำนวน 4 แถวต่อทรีตเมนต์ มีการทำเขตกรรมตามวิธีมาตรฐาน เก็บข้อมูลผลผลิตเมล็ด (กก./ไร่) ที่ความชื้น 15 เปอร์เซ็นต์ และลักษณะทางการเกษตร เช่น เปอร์เซ็นต์กะเทาะ น้ำหนัก 1000 เมล็ด

วันออกไหม 50 เปอร์เซ็นต์ ความสูงต้นและความสูงฝัก 20 วันหลังออกดอก และนับจำนวนต้นหักล้มก่อนการเก็บเกี่ยว คำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การหักล้ม

วิเคราะห์ทางสถิติและค่าทางพันธุกรรม

วิเคราะห์ข้อมูลตามแผนการทดลองแบบ Alpha lattice ตามวิธีการของ Patterson et al. (1976) และประเมินค่าความเหนือกว่าของลูกผสมที่ค่าเหนือกว่าพ่อหรือแม่ที่ให้ผลผลิตสูง (high parent heterosis, HPH) คำนวณจากค่าเฉลี่ยของคู่ผสม (F1) และประชากรพ่อแม่ที่ดีกว่า (HP) ตาม Equation 1

$$HPH = \frac{(F_1 - HP)}{HP} \times 100 \quad (1)$$

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนพบว่าพันธุ์ที่ทดสอบจำนวน 130 พันธุ์ (ประชากรพ่อแม่ 20 พันธุ์, ประชากรลูกผสม 99 พันธุ์ และพันธุ์ตรวจสอบ 11 พันธุ์) พบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในลักษณะของผลผลิตเมล็ด วันออกไหม 50 เปอร์เซ็นต์ ความชื้นเมล็ด เปอร์เซ็นต์กะเทาะ และน้ำหนัก 1000 เมล็ด (Table 1) โดยคู่ผสมที่ให้ผลผลิตสูงที่สุด 10 อันดับแรกแสดงดัง Table 2 โดยทั้ง 10 อันดับไม่แตกต่างทางสถิติเมื่อพิจารณาจากค่าวิกฤต แต่ให้ผลผลิตต่ำกว่าผลผลิตเฉลี่ยของพันธุ์การค้าที่ร่วมทดสอบ อย่างไรก็ตามในลักษณะของเปอร์เซ็นต์กะเทาะและน้ำหนัก 1000 เมล็ดนั้นมีแนวโน้มที่ดีเมื่อเทียบกับพันธุ์การค้า โดยคู่ผสม TSRPH205050×ThAGCA20 ที่ให้ผลผลิตสูงที่สุดให้ผลผลิต 1523 กก./ไร่ รองลงมาคือคู่ผสม TSRPH207525×ThAGCA20 และ TSRPH205050×ThABSS7525 ให้ผลผลิต 1513 กก./ไร่ และ 1485 กก./ไร่ ตามลำดับ

Table1 Mean sum of squares from analysis of variance for grain yield and yield components in maize (general analysis of all entries include populations, population crosses and checks)

Source of Variance	df	Mean of squares				
		Days to 50 % silking	Moisture content	Shelling percentage	Grain yield (kg/rai)	1000-kernel weight
REP	1	0.1885	5.88**	2180.8	98748**	2180.8**
ENTRY.unadj	129	5.3829**	4.38**	515.06**	64511**	515.06**
BLK/REP	24	0.5349	0.39	157.46	4357	157.46
Residual	105	0.5759	0.42	111.19	7428	111.19

** Significant at $p < 0.01$

ทั้งนี้ประชากรลูกผสมที่ให้ผลผลิตสูง (Table 2) นั้นมีอายุวันออกไหม 50 เปอร์เซ็นต์สั้นกว่าพันธุ์ลูกผสมการค้า โดยคู่ผสม ThBNSS5050 / ThABSS7525 มีอายุวันออกไหม 50 เปอร์เซ็นต์น้อยที่สุดเฉลี่ย 44 วัน และให้ผลผลิตสูงเป็นอันดับที่ 4 โดยมีผลผลิตเฉลี่ย 1472 กก./ไร่ นอกจากนี้ประชากรลูกผสมดังกล่าวยังมีความชื้นเมล็ดต่ำกว่าพันธุ์ลูกผสมการค้าเฉลี่ยเมื่อเปรียบเทียบที่ค่าวิกฤต และมีเปอร์เซ็นต์กะเทาะไม่แตกต่างจากค่าเฉลี่ยของพันธุ์ลูกผสมทางการค้า

เมื่อพิจารณาค่าความเหนือกว่าของลูกผสมที่ค่าเหนือกว่าพ่อหรือแม่ที่ให้ผลผลิตสูง (high parent heterosis, HPH) ในลักษณะของผลผลิตเมล็ดมีค่าอยู่ในช่วง -1.4–43.7% โดยลูกผสมที่เกิดจากประชากรพ่อแม่นั้น ๆ พบว่ามีความ

แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในประชากรพ่อแม่กลุ่ม B โดยประชากร TSROh435050 ให้ค่าเฉลี่ยสูงที่สุด เท่ากับ 32.7 เปอร์เซ็นต์ โดยให้ลูกผลผลิตเฉลี่ย 1406 กก./ไร่ รองลงมาคือประชากร TSRPH205050 มีค่า HPH เฉลี่ย เท่ากับ 26.36 เปอร์เซ็นต์ โดยคู่ผสมที่เกิดจากประชากร TSROh435050 ให้ค่า HPH สูงมีค่าเท่ากับ 43.7% (TSROh435050×TSRA6327525), 41.3% (TSROh435050×TSRB377525), 40.9% (TSROh435050×ThABSS7525) และ 40.4% (TSROh435050×TSRB737525) ซึ่งให้ผลผลิตเฉลี่ยของลูกผสมเท่ากับ 1440 กก./ไร่, 1390 กก./ไร่, 1453 กก./ไร่ และ 1412 กก./ไร่ ตามลำดับ มีเพียง 3 คู่ผสมที่ให้ค่า HPH เป็นลบ ได้แก่ ThBNSS7525×TSRA6327525 (-4.5%), ThBNSS7525×TSRB377525 (-1.4%) และ TSRPH207525×TSRB377525 (-0.8%)

Table 2 Top ten crosses obtain in the study based on grain yield and yield contributing traits in the population crosses and check

Population crosses	Day to 50% silking	Moisture content (%)	Shelling percentage (%)	Grain yield (kg/rai)	1000-kernel weight (g)
TSRPH205050 / ThAGCA20	46	21.7	82.6	1523	303.0
TSRPH207525 / ThAGCA20	47	21.7	81.7	1513	318.4
TSRPH205050 / ThABSS7525	46	20.1	84.0	1485	310.5
ThBNSS5050 / ThABSS7525	44	21.3	84.3	1472	306.8
ThBNSS5050 / TSRA6327525	46	21.2	81.6	1472	327.7
ThBNSS5050 / ThAGCA20	46	23.0	81.4	1464	306.0
TSRMo175050 / ThAGCA20	46	21.5	79.8	1457	318.4
TSROh435050 / ThABSS7525	46	21.8	83.7	1453	307.5
TSRPH205050 / TSRB375050	47	21.5	81.8	1453	323.0
TSROh435050 / ThAGCA20	47	23.0	82.0	1451	303.4
Average of commercial hybrids	51	25.6	81.4	1798	326.0
LSD (0.05)	1.50	1.29	2.94	170.89	20.9
CV, %	1.62	1.39	3.17	6.53	22.51

เมื่อพิจารณาประชากรพ่อแม่ (Table 3) จากทั้งสองกลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม A และกลุ่ม B พบว่าลักษณะผลผลิตเมล็ด อายุวันออกไหม 50 เปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์กะเทาะ และน้ำหนัก 1000 เมล็ด นั้นไม่แตกต่างกันทางสถิติแสดง Table 3 ลักษณะของวันออกไหม 50 เปอร์เซ็นต์ทั้งสองกลุ่มมีวันออกไหม 50 เปอร์เซ็นต์เฉลี่ยเท่ากับ 47 วัน ลักษณะเปอร์เซ็นต์กะเทาะในทั้งสองกลุ่มมีเปอร์เซ็นต์กะเทาะของกลุ่ม A และ B เฉลี่ยเท่ากับ 81 และ 82 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ลักษณะของผลผลิตเมล็ดให้ผลผลิตกลุ่ม A ให้ผลผลิตเฉลี่ย 1058 กก./ไร่ และกลุ่ม B ให้ผลผลิตเฉลี่ย 1127 กก. /ไร่ และลักษณะของน้ำหนัก 1000 เมล็ดทั้งสองกลุ่มมีน้ำหนัก 1000 เมล็ดเฉลี่ยเท่ากับ 300 กรัม

Table 3 *Per se* performance of populations for yield, yield contributing traits and average of high parent heterosis

Population	Day to 50% silking	Shelling percentage	Grain yield (kg/rai)	1000-kernel weight (g)	Average high parent heterosis
Group A					
ThAGCA20	48	79.8	1191	304.7	17.43
ThABSS5050	46	85.4	1128	313.9	15.14
ThABSS7525	47	79.2	1031	284.7	21.15
TSRA6325050	47	79.4	1095	313.5	16.79
TSRA6327525	48	78.7	1002	314.6	18.84
TSRB375050	49	82.8	1012	303.8	18.29
TSRB377525	48	78.8	939	301.9	15.33
TSRB735050	46	79.2	1123	299.7	14.75
TSRB737525	47	84.0	1005	261.6	15.08
	ns	ns	ns	ns	ns
Group B					
ThBGCA20	48	81.1	1168	313.0	21.24[c]
ThBNSS5050	46	82.9	1209	288.1	14.30[c]
ThBNSS7525	46	85.3	1195	305.7	5.88[e]
TSRMo175050	48	79.0	1090	263.3	17.15[c]
TSRMo177525	48	79.5	1168	302.2	12.67[d]
TSROh435050	50	80.2	983	296.6	32.70[a]
TSROh437525	48	83.8	1082	283.8	18.99[c]
TSRPH205050	48	82.1	1077	284.6	26.36[b]
TSRPH207525	48	82.3	1198	327.7	10.44[d]
TSRVa355050	47	80.8	1151	307.3	15.75[c]
TSRVa357525	48	81.6	1119	328	17.27[c]
	ns	ns	ns	ns	**

*, ** Significant at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively

Table 4 Estimates of high-parent heterosis (HPH) for grain yield (kg rai^{-1}) of twenty maize populations

Male	Female								
	ThAGCA20	ThABSS5050	ThABSS7525	TSRA6325050	TSRA6327525	TSRB375050	TSRB377525	TSRB735050	TSRB737525
ThBGCA20	11.3	9.3	16.3	10.5	22.9	15.2	13.5	17.5	20.6
ThBNSS5050	21.1	12.6	21.8	7.2	21.8	4.3	15.1	18.2	6.8
ThBNSS7525	14.2	4.7	14.9	6.9	-4.5	10.9	-1.4	2.8	4.3
TSRMo175050	22.3	23.8	18.2	20.1	11.3	11.1	19.4	9.4	18.7
TSRMo177525	12.5	9.2	8.9	11.8	20.7	12.8	11.7	20.0	6.5
TSROh435050	21.9	17.3	40.9	30.6	43.7	30.7	41.3	27.3	40.4
TSROh437525	2.7	22.2	18.9	28.6	16.1	27.4	21.2	14.6	19.2
TSRPH205050	27.9	20.7	37.8	26.7	29.0	34.9	23.8	14.9	21.4
TSRPH207525	26.3	14.0	11.0	12.1	11.7	13.5	-0.8	4.1	2.0
TSRVa355050	14.8	16.7	17.3	14.3	25.0	20.8	4.1	12.9	15.8
TSRVa357525	16.8	16.0	26.7	15.8	9.5	19.5	20.7	20.5	9.9

สรุป

ผลการศึกษานี้พบว่าการเพิ่มความหลากหลายของยีนโดยใช้เชื้อพันธุกรรมนอกเขตภูมิอากาศนั้นลูกผสมที่ได้ให้ผลผลิตสูงกว่าประชากรพ่อแม่ถึง 43.7% ซึ่งสูงกว่าลูกผสมที่เกิดจากประชากรเขตร้อน ดังนั้นเชื้อพันธุกรรมจากเขตอบอุ่นสามารถเพิ่มความแตกต่างทางพันธุกรรมซึ่งสามารถใช้ในการพัฒนาประชากรข้าวโพดเขตร้อนได้ดี ทั้งนี้ประชากรทั้ง 20 ประชากรนี้มีแนวโน้มที่จะพัฒนาเป็นสายพันธุ์พ่อแม่และลูกผสมทางการค้าในอนาคตที่ให้ผลผลิตสูงละมีลักษณะทางการเกษตรที่ดีได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคำแนะนำที่ดีและทุนสำหรับงานวิจัยนี้จาก ดร. ทวีศักดิ์ ภู่หล่ำ และบริษัท สวีทซีดส์ จำกัด

เอกสารอ้างอิง

มนัสนันท์ ถุงเงิน. 2552. การประเมินสมรรถนะการผสมของข้าวโพดดีเด่น 10 ประชากร. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Dudley, J.W. 1982. Theory for transfer of alleles[1]. Crop sci. 22(3): 631–637. doi.org/10.2135/cropsci1982.0011183 X002200030049x

Eberhart, S.A. 1971. Regional maize diallels with US and semi-exotic varieties. Crop Sci. 11(6): 911–914. doi.org/10.2135/cropsci1971.0011183X001100060045x

Echandi, C.R., Hallauer, A.R. 1996. Evaluation of US corn belt and adapted tropical maize cultivars and their diallel crosses. Maydica. 41(4): 317–324.

Fan, X.M., Bi, Y.Q., Zhang, Y.D., Jeffers, D.P., Yao, W.H., Chen, H.M., Zhao, L.Q., Kang, M.S. 2015. Use of the Suwan1 heterotic group in maize breeding programs in southwestern China. J. Agron. 107(6): 2353–2362. doi.org/10.2134/agronj15.0122

Hallauer, A.R., Miranda, J.B. 1988. Quantitative genetics in maize breeding, 2nd ed. Iowa state Univ. Press, Ames, Iowa, IA, USA.

Holley, R., Goodman, M.M. 1988. Yield potential of tropical hybrid maize derivatives. Crop. Sci. 28(2): 213–218.

Keeratinijakal, V., Lamkey K.R. 1993. Responses to reciprocal recurrent selection in BSSS and BSCB1 maize populations. Crop Sci. 33(1): 73–77. doi.org/10.2135/cropsci1993.0011183X003300010012x

Paterniani, E., Lonnquist, J.H. 1963. Heterosis in interracial crosses of corn (*Zea mays* L.). Crop. Sci. 3(6): 504–507. doi.org/10.2135/cropsci1963.0011183X000300060014x

Troyer, A.F., Hallauer, A.R. 1968. Analysis of a diallel set of early flint varieties of maize. Crop. Sci. 8(5): 581–584. doi.org/10.2135/cropsci1968.0011183X000800050022x

การจัดกลุ่มเฮเทอโรซีสแก่สายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 1 (S_1 lines) ที่สกัดได้จากข้าวโพดลูกผสมพันธุ์การค้าด้วยตัวทดสอบ

Heterotic grouping for S_1 lines extracted from commercial corn hybrid using different testers

เจษฎา จันทร์ตระกูล[a], **ชูศักดิ์ จอมพุก**[a,*], **พีรนุช จอมพุก**[b]

Chetsada Chantrakun[a], Choosak Jompuk[a,*], Peeranuch Jompuk[b]

[a]ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

[b]ภาควิชารังสีประยุกต์และไอโซโทป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[a]Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

[b]Department of Applied Radiation and Isotope, Faculty of Science, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: choosak.j@ku.th

บทคัดย่อ

การพัฒนาสายพันธุ์ข้าวโพดเพื่อใช้ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดลูกผสม จำเป็นต้องจัดกลุ่มพันธุกรรมของสายพันธุ์ตามกลุ่มเฮเทอโรซีส การศึกษานี้ได้จัดกลุ่มเฮเทอโรซีสของสายพันธุ์ S_1 ของลูกผสมดับเบิลครอสจากข้าวโพดลูกผสมเดี่ยวพันธุ์การค้าจำนวน 8 พันธุ์ โดยนำสายพันธุ์รุ่น S_1 กลุ่ม A (10 สายพันธุ์) ผสมข้ามสายพันธุ์ PMI2008 และ PMI21106 ส่วนสายพันธุ์ S_1 กลุ่ม B (10 สายพันธุ์) ผสมข้ามสายพันธุ์ PMI1015 และ PMI21049 การปลูกทดสอบผลผลิตแบ่งเป็น 2 ชุด ชุด A (กลุ่ม A มี 20 คู่ผสม และลูกผสมพันธุ์การค้า 5 พันธุ์) และชุด B (กลุ่ม B มี 20 คู่ผสม และลูกผสมพันธุ์การค้า 5 พันธุ์) วางแผนการทดลองแบบ 5×5 ซิมเพิลแลททิซ จำนวน 2 ซ้ำ พบว่า สายพันธุ์รุ่น S_1 จำนวน 3 สายพันธุ์ จากคู่ผสม PAC777×PAC278, PAC278×PAC779 และ NK8257×9950C มีค่า GCA สำหรับผลผลิตเมล็ดสูงกว่า 100 และแตกต่างทางสถิติ สามารถจัดกลุ่มเฮเทอโรซีสของสายพันธุ์รุ่น S_1 ได้ 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มสายพันธุ์ PMI2008 (7 สายพันธุ์) PMI21106 (3 สายพันธุ์) PMI21015 (5 สายพันธุ์) และPMI21049 (5 สายพันธุ์)

คำสำคัญ: การปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพด, ความสามารถในการรวมตัว, เชื้อพันธุกรรม, สายพันธุ์ทดสอบ

Abstract

Development of corn varieties for use in hybrid corn breeding projects. It is necessary to genetically group lines according to heterotic groups. This study classified the heterotic groups of S_1 lines of double-cross hybrids from eight commercial single-cross hybrids of corn. The S_1 lines of group A (10 lines) were crossed with testers PMI2008 and PMI21106, while the S_1 lines of group B (10 lines) were crossed with testers PMI21015 and PMI21049. The hybrid yield trial was divided into two sets, A and B. In set A, 20 crosses were from group A and 5 commercial hybrids, while in set B, there were 20 crosses from group B and 5 commercial hybrids. Each set was planted in a 5×5 simple lattice design with 2 replications. It was found that three S_1 lines from the cross of PAC777×PAC278, PAC278×PAC779, and NK8257×9950C had GCA values for grain yield higher than 100 and were statistically different. The S_1 lines can be grouped into four heterotic groups, including group PMI2008 (7 lines), group PMI21106 (3 lines), group PMI21015 (5 lines) and group PMI21049 (5 lines).

Keywords: Corn breeding, Combining ability, Germplasm, Tester lines

คำนำ

ลูกผสมเดี่ยว (single cross) เกิดจากการผสมระหว่างสายพันธุ์แท้ 2 สายพันธุ์ โดยลูกผสมเดี่ยวจะแสดงลักษณะความดีเด่น (hybrid vigor) สูงสุด มีเสถียรภาพและความสม่ำเสมอของลักษณะต่าง ๆ สูงสุดเปรียบเทียบกับลูกผสมสามทาง (three-way cross) หรือลูกผสมคู่ (double cross) (สุทัศน์, 2553) ดังนั้นการพัฒนาข้าวโพดพันธุ์ลูกผสมเดี่ยวจึงเป็นเป้าหมายสูงสุดในการพัฒนาพันธุ์ข้าวโพด โดยเชื้อพันธุกรรมเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อความสำเร็จในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ลูกผสม การใช้เชื้อพันธุกรรมที่ปรับตัวได้ดีในแต่ละท้องถิ่นมีโอกาสประสบความสำเร็จสูงกว่าการใช้เชื้อพันธุกรรมที่แตกต่างกันมากแต่มีการปรับตัวต่ำ (กฤษฎา, 2556) การพัฒนาประชากรพื้นฐานสำหรับใช้ในโครงการปรับปรุงข้าวโพดลูกผสมจำเป็นต้องมีแหล่งเชื้อพันธุกรรมที่ดีเพื่อใช้ในการพัฒนาสายพันธุ์ที่ดีเด่นเพื่อเพิ่มศักยภาพของผลผลิตซึ่งเป็นวิธีในการเพิ่มประสิทธิภาพของโครงการปรับปรุงพันธุ์ จากการศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของข้าวโพดลูกผสมพันธุ์การค้าในประเทศไทยแสดงให้เห็นว่าข้าวโพดลูกผสมพันธุ์การค้าสามารถใช้เป็นแหล่งเชื้อพันธุกรรมในการพัฒนาสายพันธุ์ที่ดีเพื่อใช้ในโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดได้ (Jompuk et al., 2000) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Suwanatape et al. (2020) รายงานว่าข้าวโพดลูกผสมเดี่ยวพันธุ์การค้าสามารถใช้เป็นแหล่งในการสกัดสายพันธุ์อินเบรดเพื่อใช้สร้างพันธุ์ลูกผสมผลผลิตสูงได้

ความแตกต่างทางพันธุกรรมของสายพันธุ์และกลุ่มพันธุกรรมของสายพันธุ์เป็นอีกปัจจัยที่สำคัญในการพัฒนาพันธุ์ลูกผสม เนื่องจากการปรับปรุงพันธุ์ลูกผสมเป็นการใช้ประโยชน์จากเฮเทอโรซีส (heterotic) โดยเฮเทอโรซีสสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตได้ (Tesfaye and Sime, 2021) เฮเทอโรซีสถูกนำมาใช้มากในการผลิตพืชเป็นเวลาเกือบศตวรรษเพื่อพัฒนาพันธุ์ให้มีความแข็งแรง ผลผลิตสูง และมีประสิทธิภาพดีขึ้น (Fu et al., 2014) เฮเทอโรซีสมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชตลอดวงจรชีวิต (Smith et al., 2016) ในการเริ่มต้นของโครงการปรับปรุงพันธุ์ลูกผสมการจัดกลุ่มเฮเทอโรซีสเชื้อพันธุกรรมเป็นสิ่งที่สำคัญ (Reif et al., 2003) การทดสอบความสามารถในการรวมตัวของสายพันธุ์ (combining ability) สามารถช่วยระบุกลุ่มพันธุกรรมและประเมินระดับของเฮเทอโรซีสได้ เพื่อช่วยในการคัดเลือกสายพันธุ์และลูกผสมการประเมินความสามารถในการรวตัวของสายพันธุ์ทำได้โดยการประเมินลูกผสม แบ่งเป็น 2 รูปแบบ คือความสามารถในการรวมตัวทั่วไป (GCA) และความสามารถในการรวมตัวเฉพาะ (SCA)

การทดสอบความสามารถในการผสมรุ่น S_2 มีประสิทธิภาพในการแยกสายพันธุ์และมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการผสมรุ่น S_8 ที่พัฒนาจากสายพันธุ์รุ่น S_1 โดยคัดเลือกและผสมตัวเองต่อเนื่อง 7 ชั่ว จำนวน 2 ประชากร พบว่าความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมของลักษณะผลผลิตเมล็ดระหว่างสายพันธุ์รุ่น S_2 และรุ่น S_8 มีความสัมพันธ์กันสูง โดยประชากร BS13(S)C1 และ BSCB1(RC7) มีค่าเท่ากับ 0.97 และ 0.86 ตามลำดับ (Lile et al., 1994) ดังนั้นจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อจัดกลุ่มเฮเทอโรซีสของสายพันธุ์ผสมตัวเองรุ่น S_1 ของลูกผสมดับเบิลครอสจากข้าวโพดลูกผสมพันธุ์การค้าด้วยตัวทดสอบที่ได้จากต่างกลุ่มเฮเทอโรซีส เพื่อจะใช้ในการพัฒนาข้าวโพดลูกผสมเดี่ยว (single cross) ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ข้าวโพดลูกผสมพันธุ์การค้าที่ใช้ในการพัฒนาประชากรพื้นฐานและตัวทดสอบ (tester)

1. ข้าวโพดลูกผสมเดี่ยวพันธุ์การค้าจำนวน 8 พันธุ์ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ตามแหล่งที่มาของพันธุ์ ได้แก่ กลุ่ม A ประกอบด้วยพันธุ์ Pac278, Pac392, Pac777 และ Pac779 และกลุ่ม B ประกอบด้วยพันธุ์ NK8257, DK6818, 9950C และ 9979C

2. สายพันธุ์แท้ที่ใช้เป็นสายพันธุ์ทดสอบ (tester) จำนวน 4 สายพันธุ์ จากโครงการปรับปรุงพันธุ์ บริษัท พรีเมียร์ เมล็ดพันธุ์ จำกัด ได้แก่สายพันธุ์ PMI2008 สกัดได้จากลูกผสมการค้าพันธุ์ NK6253 บริษัท ซินเจนทาซีสด์, สายพันธุ์ PMI21106 สกัดได้จากลูกผสมการค้าพันธุ์ P3875 บริษัท ไพโอเนีย ไฮ-เบรด (ไทยแลนด์) จำกัด, สายพันธุ์ PMI21015 และ PMI21049 สกัดได้จากลูกผสมการค้าพันธุ์ Pac339 และ Pac779 ตามลำดับ บริษัท แปซิฟิค เมล็ดพันธุ์

การสร้างเชื้อพันธุกรรมและการพัฒนาสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 1 (S_1)

สร้างเชื้อพันธุกรรมเริ่มต้นโดยการสร้างลูกผสมดับเบิลครอส (double cross hybrid) จากข้าวโพดลูกผสมเดี่ยวพันธุ์การค้าได้กลุ่มละ 12 คู่ผสม แล้วนำลูกผสมดับเบิลครอสปลูกผสมตัวเองเพื่อสกัดสายพันธุ์โดยปลูกคู่ผสมละ 108 ต้น ระยะปลูก 70×40 ซม. คัดเลือกผสมตัวเองต้นที่แสดงลักษณะการถดถอยทางพันธุกรรม (inbreeding depression) แต่มีลักษณะทางการเกษตรที่ดี เช่น ขนาดช่อดอกเกสรเพศผู้ใหญ่หรือสามารถผลิตละอองเกสรได้เยอะ มีความต้านทานโรคทางใบที่ดี ระบบรากและลำต้นแข็งแรง เพื่อสกัดสายพันธุ์ผสมตัวเองชั่วที่ 1 (S_1) คู่ผสมละ 40–50 ต้น ระยะเก็บเกี่ยวการคัดเลือกโดยพิจารณาฝักที่มีขนาดใหญ่และยาว มีจำนวนแถวมากกว่า 14 แถว จำนวนเมล็ดต่อฝักมาก และเปอร์เซ็นต์กะเทาะสูง เป็นต้น ทำการเก็บเกี่ยวเมล็ดแบบแยกฝัก

การผสมเพื่อสร้างลูกผสมแบบสายพันธุ์×ตัวทดสอบ (line×tester)

นำสายพันธุ์ผสมตัวเองรุ่น S_1 ปลูกแบบฝักต่อแถว (ear to row) โดยปลูกจำนวน 4 แถว แถวยาว 8 เมตร ระยะปลูก 70×40 ซม. จำนวน 20 ต้นต่อแถว คัดเลือกสายพันธุ์ผสมตัวเองรุ่น S_1 ที่มีลักษณะทางการเกษตรที่ดีจำนวน 2 แถว ใช้เป็นพันธุ์แม่ (female) ผสมข้ามกับตัวทดสอบ (testers) โดยสายพันธุ์ผสมตัวเองรุ่น S_1 กลุ่ม A จำนวน 10 สายพันธุ์ ผสมข้ามกับตัวทดสอบ PMI2008 และ PMI21106 ส่วนสายพันธุ์ผสมตัวเองรุ่น S_1 กลุ่ม B จำนวน 10 สายพันธุ์ ผสมข้ามกับสายตัวทดสอบ PMI21015 และ PMI21049 ได้ลูกผสมทดสอบกลุ่มละ 20 คู่ผสม

การปลูกทดสอบผลผลิต

ปลูกทดสอบในเดือนมีนาคมถึงเดือนกรกฎาคม 2566 ที่แปลงทดลองบริษัท พรีเมียร์ เมล็ดพันธุ์ จำกัด จังหวัดกำแพงเพชร แบ่งการทดลองเป็น 2 ชุด โดยชุด A ประกอบด้วยลูกผสมทดสอบกลุ่ม A จำนวน 20 คู่ผสม และชุด B ประกอบด้วยลูกผสมทดสอบกลุ่ม B จำนวน 20 คู่ผสม โดยแต่ละชุดใช้ข้าวโพดลูกผสมเดี่ยวพันธุ์การค้าร่วมปลูกทดสอบจำนวน 5 พันธุ์ ประกอบด้วย พันธุ์ 9979C จากบริษัท มอนซานโต้ ไทยแลนด์ จำกัด, พันธุ์ S7328, NK6253, พันธุ์ NK6848 จากบริษัท ซินเจนทาซีสด์ จำกัด, และพันธุ์ Pac999 จากบริษัท แปซิฟิค เมล็ดพันธุ์ จำกัด วางแผนการทดลองแบบ 5×5 ซิมเพิลแลททิซ (simple lattice designs) จำนวน 2 ซ้ำ ขนาดแปลงย่อยปลูก 1 แถว แถวยาว 5 เมตร ใช้ระยะปลูก 70×20 ซม. ลักษณะข้อมูลที่บันทึก เช่น วันออกดอกเพศเมีย (day to silk, วัน) วันออกดอกเพศผู้ (day to Anthesis, วัน) การติดเมล็ดถึงปลายฝัก (tip fill, 1–5) ผลผลิตฝัก (ear yield, กิโลกรัมต่อไร่) คำนวนเปอร์เซ็นต์กะเทาะ (shelling percentage, %) จากสูตรเปอร์เซ็นต์กะเทาะ = น้ำหนักเมล็ด×100/น้ำหนักฝัก และคำนวณผลผลิตเมล็ด (grain yield, กิโลกรัม/ไร่) ของแต่ละแปลงย่อยที่ความชื้น 15% จากสูตร Grain yield (kg/rai) = [field weight×(100-%grain moisture) ×%grain shelling×1,600]/[85×harvested area×100]

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ใช้การวิเคราะห์ข้อมูลตามแผนการทดลองแบบ Simple Lattice Design โดยใช้ R-Program version R 4.3.2 วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี LSD (Least Significant Different) และวิเคราะห์การผสมพันธุ์ระหว่างสายพันธุ์กับตัวทดสอบ (line×tester)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดสอบผลผลิตลูกผสมชุด A (ลูกผสมทดลองกลุ่ม A จำนวน 20 คู่ผสม และลูกผสมเดี่ยวพันธุ์การค้าจำนวน 5 พันธุ์)

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนพันธุ์ลูกผสมจำนวน 25 พันธุ์ พบว่าวันออกดอกเพศเมีย วันออกดอกเพศผู้ เปอร์เซ็นต์ คะแนนการติดเมล็ดถึงปลายฝัก เปอร์เซ็นต์กะเทาะ ผลผลิตฝัก และผลผลิตเมล็ดมีความแตกต่างทางสถิติ ($p < 0.01$) แสดงใน Table 1 โดยลักษณะที่น่าสนใจและมีมีแนวโน้มที่ดีได้แก่ ลักษณะการติดเมล็ดถึงปลายฝัก เปอร์เซ็นต์กะเทาะ ผลผลิตฝัก และผลผลิต

Table 1 Top eight crosses from group A obtain in the study based on grain yield and agronomic character of S_1 line crosses and best check (show mean±SD)

Crosses group A	Day to silking	Day to anthesis	Tip fill (1–5)	Shelling (%)	Ear yield (kg/rai)	Grain yield (kg/rai)
(PAC392 x PAC777)-S_1-2×PMI21106	57±1.4	56±2.1	2.9±0.7	80.9±0.9	2531±122	1756±40
(PAC392 x PAC777)-S_1-20×PMI21106	56±0.7	55±3.5	3.1±0.7	83.1±0.4	2389±120	1687±29
(PAC777 x PAC278)-S_1-14×PMI21106	60±0.7	58±1.4	2.9±0.7	81.9±1.3	2345±205	1663±136
(PAC278 x PAC779)-S_1-11×PMI21106	55±0.7	55±0	2.3±1.4	83.7±0.1	2252±93	1661±86
(PAC777 x PAC779)-S_1-11×PMI2008	55±0.7	56±0	1.5±0.7	84.1±0.3	2253±252	1631±221
(PAC392 x PAC779)-S_1-8×PMI21106	55±0	54±0.7	2.4±0.7	83.1±0.1	2298±578	1611±417
(PAC777 x PAC779)-S_1-4×PMI21106	52±0.7	53±1.4	2.9±0	83.1±0.4	2201±429	1597±293
(PAC392 x PAC777)-S_1-19×PMI21106	55±0.7	55±0.7	2.5±0.7	81.7±1.6	2174±183	1558±165
9979C (best check)	57±0.7	57±0	1.2±0.7	83.3±0.2	2443±65	1732±74
Mean of line×tester (20)	57	57	2.3	82.6	1876	1325
Mean of commercial hybrids (5)	58	57	1.3	83.3	1997	1423
Trial mean (25)	57	57	2.1	82.8	1900	1345
F-test	**	**	**	**	**	**
$LSD_{0.01}$	3.4	4.8	2.0	3.6	686.6	483.9
CV (%)	1.4	2.1	24.2	1.0	8.7	8.7

Rating 1–5; 1 = All pods are full of seeds attached to the tip of the pod and 5 = The end of the cob with no seeds attached is about 5 centimeters long., ** Significant at 0.01 probability levels

เมื่อเปรียบเทียบลูกผสมทดลองระหว่างสายพันธุ์ S_1 กับสายพันธุ์ทดสอบ PMI2008 และ PMI21106 จำนวน 20 คู่ผสม กับลูกผสมพันธุ์การค้าที่ให้ผลผลิตเมล็ดสูงสุด (พันธุ์ 9979C) พบว่าลูกผสมทดลองจำนวน 8 คู่ผสม ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.01$) กับลูกผสมการค้าพันธุ์ 9979C แสดงใน Table 1 ของลักษณะวันออกดอกเพศผู้

การติดเมล็ดถึงปลายฝัก เปอร์เซ็นต์กะเทาะ ผลผลิตฝัก และผลผลิตเมล็ด โดยคู่ผสมทดลองมีจำนวนวันออกดอกเพศผู้อยู่ระหว่าง 53–58 วัน การติดเมล็ดถึงปลายฝักอยู่ระหว่าง 1.5–3.1 คะแนน เปอร์เซ็นต์กะเทาะอยู่ระหว่าง 80.9–84.1 เปอร์เซ็นต์ ผลผลิตฝักอยู่ระหว่าง 2,174–2,531 กิโลกรัมต่อไร่ และผลผลิตเมล็ดอยู่ระหว่าง 1,558–1,756 กิโลกรัมต่อไร่ ส่วนลูกผสมการค้าพันธุ์ 9979C มีจำนวนวันออกดอกเพศผู้เฉลี่ย 57 วัน การติดเมล็ดถึงปลายฝักเฉลี่ย 1.2 คะแนน เปอร์เซ็นต์กะเทาะเฉลี่ย 83.3 เปอร์เซ็นต์ ผลผลิตฝักเฉลี่ย 2,443 กิโลกรัมต่อไร่ และผลผลิตเมล็ดเฉลี่ย 1,732 กิโลกรัมต่อไร่

Table 2 Top eleven crosses from group B obtain in the study based on grain yield and agronomic character of S_1 line crosses and best check (show mean±SD)

Crosses group B	Day to silking	Day to anthesis	Tip fill (1–5)	Shelling (%)	Ear yield (kg/rai)	Grain yield (kg/rai)
(9950C x 9979C)-S_1-5×PMI21015	55±0	54±1.4	1.3±0.7	84.0±1.4	2051±46	1528±66
(NK8257 x 9950C)-S_1-6×PMI21015	52±0.7	52±0.7	1.3±0.7	84.0±1.4	2081±174	1522±129
(NK8257 x NK6818)-S_1-18×PMI21015	52±0.7	52±2.1	1.0±1	83.5±0.7	1958±121	1443±55
(NK8257 x 9979C)-S_1-8×PMI21015	52±0	50±0.7	0.9±0	85.0±0	1910±124	1443±76
(NK8257 x 9950C)-S_1-6×PMI21049	52±0	50±0	0.9±0	83.5±0.7	1921±220	1427±154
(NK8257 x NK6818)-S_1-1×PMI21015	52±0	51±0.7	1.1±0	84.5±0.7	1930±246	1420±182
(NK8257 x 9950C)-S_1-4×PMI21015	52±0	53±1.4	1.1±0	86.5±0.7	1834±280	1392±203
(NK8257 x NK6818)-S_1-13×PMI21049	53±0.7	51±0.7	1.3±0.7	85.5±0.7	1783±9	1334±1277
(NK8257 x 9979C)-S_1-4×PMI21015	51±0.7	51±0.7	1.0±0	85.9±0	1743±230	1309±158
(NK6818 x 9950C)-S_1-4×PMI21015	52±0	50±1.4	1.1±0	84.0±1.4	1718±168	1250±79
(NK8257 x 9979C)-S_1-11×PMI21015	53±0.7	50±2.1	1.3±0	85.6±0.7	1567±301	1208±186
9979C (best check)	56±0.7	57±0.7	2.5±0.7	78.9±0	2110±507	1458±333
Mean of line × tester (20)	53	52	1.3	84.2	1666	1239
Mean of commercial hybrids (5)	58	56	1.6	81.6	1815	1302
Trial mean (25)	54	53	1.3	83.7	1696	1251
F-test	**	**	*	**	**	**
$LSD_{0.05}$	2.1	3.3	1.1	2.6	460.5	329.5
CV (%)	1.3	2.1	28.4	1.0	9.1	8.8

Rating 1–5; 1 = All pods are full of seeds attached to the tip of the pod and 5 = The end of the cob with no seeds attached is about 5 centimeters long.

* and ** Significant at 0.05, and 0.01 probability levels, respectively

การทดสอบผลผลิตลูกผสมชุด B (ลูกผสมทดลองกลุ่ม B จำนวน 20 คู่ผสม และลูกผสมเดี่ยวพันธุ์การค้าจำนวน 5 พันธุ์)

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนพันธุ์ลูกผสมจำนวน 25 พันธุ์ พบว่าวันออกดอกเพศเมีย วันออกดอกเพศผู้ คะแนนการติดเมล็ดถึงปลายฝัก เปอร์เซ็นต์กะเทาะ ผลผลิตฝัก และผลผลิตเมล็ดมีความแตกต่างทางสถิติแสดงใน Table 2 และพบว่าลูกผสมทดลองส่วนใหญ่มีค่าเฉลี่ยวันออกดอกเพศเมียและวันออกดอกเพศผู้เร็วกว่าค่าเฉลี่ยลูกผสมพันธุ์การค้าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยลูกผสมทดสอบมีค่าเฉลี่ยวันออกดอกเพศเมียและวันออกดอกเพศผู้เท่ากับ 53 และ 52 วัน ตามลำดับ ส่วนลูกผสมพันธุ์การค้ามีค่าเฉลี่ยวันออกดอกเพศเมียและวันออกดอกเพศผู้เท่ากับ 58 และ 56 วันตามลำดับ ซึ่งลูกผสมทดสอบมีแนวโน้มเป็นพันธุ์สุกแก่เร็ว Pswarayi and Vivek (2008) กล่าวว่าการรักษาสมดุล

ระหว่างการสุกแก่เร็วและผลผลิตที่สูงขึ้นเป็นสิ่งที่สำคัญ นอกจากนี้เปอร์เซ็นต์กะเทาะมีแนวโน้มที่ดีโดยลูกผสมทดสอบมีค่าเฉลี่ย 84.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยลูกผสมพันธุ์การค้าซึ่งมีค่าเฉลี่ย 81.6 เปอร์เซ็นต์

เมื่อเปรียบเทียบลูกผสมทดลองระหว่างสายพันธุ์ S_1 กับสายพันธุ์ทดสอบ PMI21015 และ PMI21049 จำนวน 20 คู่ผสม กับลูกผสมพันธุ์การค้าที่ให้ผลผลิตเมล็ดสูงสุด (พันธุ์ 9979C) พบว่าลูกผสมทดลองจำนวน 11 คู่ผสม ให้ผลผลิตเมล็ดสูงไม่แตกต่างทางสถิติ ($p > 0.01$) กับลูกผสมการค้าพันธุ์ 9979C แสดงใน Table 2 โดยลูกผสมทดลองจำนวน 11 คู่ผสม มีผลผลิตเมล็ดอยู่ระหว่าง 1,208–1,528 กิโลกรัมต่อไร่ ลูกผสมการค้าพันธุ์ 9979C มีผลผลิตเมล็ดเฉลี่ย 1,458 กิโลกรัมต่อไร่ และพบว่าลักษณะการติดเมล็ดถึงปลายฝักระหว่างลูกผสมทดลอง 11 คู่ผสม เปรียบเทียบกับลูกผสมการค้าพันธุ์ 9979C มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยลูกผสมทดลอง 11 คู่ผสม มีคะแนนการติดเมล็ดถึงปลายฝักอยู่ระหว่าง 0.9–1.3 คะแนน อยู่ในเกณฑ์ที่ดีกว่าลูกผสมการค้าพันธุ์ 9979C ที่มีคะแนนการติดเมล็ดถึงปลายฝักเฉลี่ย 2.5 คะแนน นอกจากนี้เปอร์เซ็นต์กะเทาะลูกผสมทดลองนั้นมีแนวโน้มที่ดี โดยลูกผสมทดลองทั้ง 11 คู่ผสม มีเปอร์เซ็นต์กะเทาะอยู่ระหว่าง 83.5–86.5 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าเปอร์เซ็นต์กะเทาะเฉลี่ยลูกผสมการค้าพันธุ์ 9979C ซึ่งค่าเฉลี่ยเท่ากับ 78.9 เปอร์เซ็นต์ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ความสามารถในการรวมตัวทั่วไป (GCA) และความสามารถในการรวมตัวเฉพาะ (SCA) สำหรับลักษณะผลผลิตเมล็ด

จากการวิเคราะห์ความสามารถในการรวมตัวของสายพันธุ์ในกลุ่ม A แสดงใน Table 3 ไม่พบความแตกต่างระหว่างตัวทดสอบ (tester) โดยตัวทดสอบ PMI2008 และ PMI21106 โดยมีค่า GCA เท่ากับ -128.9 และ 128.9 ตามลำดับ แต่พบความแตกต่างระหว่างสายพันธุ์ S_1 โดยมีค่า GCA อยู่ระหว่าง -272.0 ถึง 151.7 โดยสายพันธุ์ (PAC777×PAC278)-S_1-14 (GCA = 151.7**) และ (PAC278×PAC779)-S_1-11 (GCA = 117.7*) เป็นสายพันธุ์ที่มีค่า GCA สูง หากพิจารณาค่า SCA ลูกผสมทดลองที่มีความแตกต่างทางสถิติ (Table 3) พบว่าสายพันธุ์ (PAC777×PAC779)-S_1-11 และสายพันธุ์ (PAC777×PAC779)-S_1-15 มีค่า SCA สูงเมื่อผสมข้ามกับตัวทดสอบ PMI2008 โดยมีค่า SCA เท่ากับ 388.3** และ 213.8* ตามลำดับ อย่างไรก็ตามสายพันธุ์ (PAC777×PAC278)-S_1-14 และสายพันธุ์ (PAC278×PAC779)-S_1-11 ที่มีค่า GCA สูงและให้ผลผลิตสูงเมื่อผสมข้ามกับตัวทดสอบ PMI21106 โดยให้ผลผลิตเท่ากับ 1,663 และ 1,661 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติของค่า SCA คู่ผสมที่มีความสามารถในการรวมตัวเฉพาะ (SCA) ของลักษณะผลผลิตเมล็ดที่ดีจะมีพ่อหรือแม่อย่างน้อยหนึ่งตัวที่มีความสามารถในการรวมตัวทั่วไป (GCA) ที่ดี (Haddadi et al., 2014) นอกจากนี้มีลูกผสมทดลองจำนวน 2 คู่ผสม ที่ให้ผลผลิตเมล็ดสูงกว่าลูกผสมทดลองตัวอื่นๆ แต่ไม่พบความแตกต่างทางสถิติของค่า GCA และ SCA ได้แก่ลูกผสมทดลอง (PAC392×PAC777)-S_1-2×PMI21106 และลูกผสมทดลอง (PAC392×PAC777)-S_1-20×PMI21106 โดยมีผลผลิตเมล็ดเท่ากับ 1,756 และ 1,687 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ

Table 3 Means of grain yield general combining ability (GCA) and specific combining ability (SCA) from 10 S_1 lines×2 testers of group A

S_1 lines	Grain yield (kg/rai)					
	PMI2008		PMI21106		Female	
	Mean±SD	SCA	Mean±SD	SCA	Mean	GCA
(PAC777×PAC278)-S_1-14	1405±339	19.2	1663±136	-19.2	1477	151.7**
(PAC278×PAC779)-S_1-11	1234±37	-0.3	1661±86	0.3	1443	117.7*
(PAC392×PAC777)-S_1-2	1106±329	-159.6	1756±40	159.6	1391	65.9
(PAC392×PAC777)-S_1-19	982±15	-112.5	1558±165	112.5	1277	-48.3
(PAC392×PAC777)-S_1-20	953±34	-159.3	1687±29	159.3	1307	-18.2
(PAC392×PAC779)-S_1-8	1172±199	-59.5	1611±417	59.5	1371	46.2
(PAC777×PAC779)-S_1-4	1162±39	-22.9	1597±293	22.9	1393	68.3
(PAC777×PAC779)-S_1-11	1631±221	388.3**	967±146	-388.3**	1332	7.1
(PAC777×PAC779)-S_1-15	1333±80	213.8*	1031±140	-213.8*	1206	-118.4*
(PAC777×PAC779)-S_1-18	726±48	-107.4	1262±81	107.4	1053	-272.0**
Mean	1195.971	0	1453.729	0	1325	0
GCA (tester)	-128.9		128.9			

*, ** Significant at 0.05 and 0.01 probability levels, respectively

นอกจากนี้การวิเคราะห์ความสามารถในการรวมตัวของสายพันธุ์แสดงใน Table 4 ไม่พบความแตกต่างระหว่างตัวทดสอบ (tester) โดยตัวทดสอบ PMI21015 และ PMI21049 มีค่า GCA เท่ากับ 104.9 และ -104.9 ตามลำดับ แต่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ระหว่างสายพันธุ์ S_1โดยมีค่า GCA อยู่ระหว่าง -112.7 ถึง 218.4 โดยสายพันธุ์ (NK8257×9950C)-S_1-6 เป็นสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการรวมตัวทั่วไปที่ดี (GCA = 218.4*) เมื่อพิจารณาค่า SCA ลูกสมทดสอบที่มีความแตกต่างทางสถิติและมีค่าเป็นบวกมีจำนวน 2 คู่ผสม ได้แก่ลูกผสมทดลอง (NK8257×NK6818)-S_1-13×PMI21049 (SCA = 307.4**) และ (9950C×9979C)-S_1-5×PMI21015 (SCA = 219.9*) ให้ผลผลิตเมล็ด 1,334 กิโลกรัมต่อไร่ และ 1,528 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ การผสมข้ามพ่อ-แม่ที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมสูงลูกผสมจะแสดงค่าเฮเทอโรซีสสูงกว่าการผสมข้ามพ่อ-แม่ที่มีความแตกต่างทางพันธุกรรมต่ำ (Moll et al., 1965)

การจัดกลุ่มเฮเทอโรซีส

การผสมข้ามระหว่างกลุ่มเฮเทอโรซีสของสายพันธุ์พ่อ-แม่ที่แตกต่างกันลูกผสมจะแสดงความสามารถในการรวมตัวเฉพาะ (SCA) เป็นบวกในทางตรงข้ามความสามารถในการรวมตัวเฉพาะที่เป็นลบแสดงว่าสายพันธุ์พ่อ-แม่อยู่ในกลุ่มเฮเทอโรซีสเดียวกัน (Pswarayi and Vivek, 2008) โดยจัดกลุ่มเฮเทอโรซีสสายพันธุ์รุ่น S_1 ที่ผสมข้ามกับตัวทดสอบ PMI2008 และ PMI21106 โดยประเมินจากค่า SCA แสดงใน Table 3 สามารถจัดเข้า 2 กลุ่มเฮเทอโรซีสตามตัวทดสอบ ดังนี้กลุ่มที่ 1 กลุ่มเฮเทอโรซีสเดียวกับตัวทดสอบ PMI2008 จำนวน 7 สายพันธุ์ ประกอบด้วยสายพันธุ์ (PAC278×PAC779)-S_1-11, (PAC392×PAC777)-S_1-2, (PAC392×PAC777)-S_1-19, (PAC392×PAC777)-S_1-20, (PAC392×PAC779)-S_1-8, (PAC777×PAC779)-S_1-4 และสายพันธุ์ (PAC777×PAC779)-S_1-18 และกลุ่มที่ 2

กลุ่มเฮเทอโรซีสเดียวกับตัวทดสอบ PMI21106 จำนวน 3 สายพันธุ์ ประกอบด้วยสายพันธุ์ (PAC777×PAC278)-S_1-14, (PAC777×PAC779)-S_1-11 และ (PAC777×PAC779)-S_1-15

Table 4 Means of grain yield, general combining ability (GCA) and specific combining ability (SCA) from 10 S_1 lines×2 testers of group B

Lines	Grain yield (kg/rai)					
	PMI21015		PMI21049		Female	
	Mean±SD	SCA	Mean±SD	SCA	Mean	GCA
(NK8257×NK6818)-S_1-1	1420±182	58.3	1101±219	-58.3	1243	4.3
(NK8257×NK6818)-S_1-13	955±281	-307.4**	1334±7	307.4**	1126	-112.7
(NK8257×NK6818)-S_1-18	1443±55	19.5	1172±129	-19.5	1288	49.1
(NK8257×9950C)-S_1-4	1392±203	135.7	911±38	-135.7	1210	-28.8
(NK8257×9950C)-S_1-6	1522±129	-57.5	1427±154	57.5	1457	218.4*
(NK8257×9979C)-S_1-4	1309±158	-69.2	1196±104	69.2	1290	51.9
(NK8257×9979C)-S_1-8	1443±76	27.7	1161±163	-27.7	1293	54.4
(NK8257×9979C)-S_1-11	1208±186	-24.2	1072±31	24.2	1148	-90.9
(NK6818×9950C)-S_1-4	1250±79	-2.7	1033±136	2.7	1134	-104.4
(9950C×9979C)-S_1-5	1528±66	219.9*	894±220	-219.9*	1197	-41.2
Mean	1343.5	0	1133.7	0	1239	0
GCA (tester)	104.9		-104.9			

*, ** Significant at 0.05 and 0.01 probability levels, respectively

นอกจากนี้สายพันธุ์รุ่น S_1 ที่ผสมกับข้ามกับตัวทดสอบ PMI21015 และ PMI21049 โดยประเมินจากค่า SCA แสดงใน Table 4 สามารถจัดเข้า 2 กลุ่มเฮเทอโรซีสตามตัวทดสอบได้ดังนี้ กลุ่มที่ 1 กลุ่มเฮเทอโรซีสเดียวกับตัวทดสอบ PMI21015 จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ (NK8257×NK6818)-S_1-13, (NK8257×9950C)-S_1-6, (NK8257×9979C)-S_1-4, (NK8257×9979C)-S_1-11 และ (NK6818×9950C)-S_1-4 และกลุ่มที่ 2 กลุ่มเฮเทอโรซีสเดียวกับตัวทดสอบ PMI21049 จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่สายพันธุ์ (NK8257×NK6818)-S_1-1, (NK8257×NK6818)-S_1-18, (NK8257×9950C)-S_1-4, (NK8257×9979C)-S_1-8 และ (9950C×9979C)-S_1-5

สรุป

สายพันธุ์ผสมตัวเองรุ่น S_1 ที่สกัดจากลูกผสมดับเบิลครอส 24 คู่ผสม ระหว่างข้าวโพดลูกผสมเดี่ยวพันธุ์การค้า 8 พันธุ์ สามารถคัดเลือกจัดเข้า 4 กลุ่มเฮเทอโรซีสตามสายพันธุ์ทดสอบได้ 20 สายพันธุ์ จากลูกผสมดับเบิลครอส 10 คู่ผสม ได้แก่ คู่ผสม PAC777×PAC278, PAC278×PAC779, PAC392×PAC777, PAC392×PAC779, PAC777×PAC779, NK8257×NK6818, NK8257×9950C, NK8257×9979C, NK6818×9950C และ 9950C×9979C เมื่อประเมินจากความสามารถในการรวมตัวเฉพาะ (SCA) ในด้านผลผลิตเมล็ด โดยมีสายพันธุ์รุ่น S_1 จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่สายพันธุ์ (PAC777×PAC278)-S_1-14, (PAC278×PAC779)-S_1-11 และ (NK8257×9950C)-S_1-6 มีค่า GCA สำหรับผลผลิตเมล็ดสูงกว่า 100 ซึ่งต้องตัดสินใจคัดเลือกใช้พัฒนาสายพันธุ์แท้และสร้างพันธุ์ลูกผสมเดี่ยวต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนสำหรับงานวิจัยนี้จาก นายสุกฤษฎิ์ เต๊ะเปีย และบริษัท พรีเมียร์ เมล็ดพันธุ์ จำกัด

เอกสารอ้างอิง

กฤษฎา สัมพันธารักษ์. 2556. ปรับปรุงพันธุ์ลูกผสม ฉบับแก้ไข. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน, กรุงเทพฯ.

สุทัศน์ ศรีวัฒนพงศ์. 2553. การปรับปรุงพันธุ์พืช. พิมพ์ครั้งที่ 3. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Fu, D., Xiao, M., Hayward, A., Fu, Y., Liu, G., Jiang, G., Zhang, H. 2014. Utilization of crop heterosis: A review. Euphytica. 197: 161–173. doi: 10.1007/s10681-014-1103-7

Haddadi, M.H., Esmaeilov, M., Choukan, R., Rameeh, V. 2014. Gene action and combing ability of some agronomic traits in corn using diallel analysis. Afr. J. Agric. Res. 6(3): 693–703. doi: 10.5897/AJAR10.646

Jompuk, C., Samphantharak, K., Chowchong, S. 2000. Genetic diversity of corn hybrids from different sources in Thailand as verified by their heterotic pattern and inbreeding depression. Kasetsart J. (Nat. Sci.) 34: 205–209

Lile, S.M., Hallauer, A.R. 1994. Relation between S2 and later generation testcrosses of two corn populations. Jour. Iowa Acad. Sci. 101(1): 19–23.

Moll, R.H., Lonnquist, J.H., Fortuno, V.J., Johnson, E.C. 1965. The relationship of heterosis and genetic divergence in maize. Genetics 52: 139–144.

Pswarayi, A., Vivek, B.S. 2008. Combining ability amongst CIMMYT's early maturing maize (*Zea mays* L.) germplasm under stress and non-stress conditions and identification of testers. Euphytica. 162: 353—362.

Reif, J.C., Melchinger, A.E., Xia, X.C., Warburton, M.L., Hoisington, D.A., Vasal, S.K., Srinivasan, G., Bohn, M., Frisch, M. 2003. Genetic distance based on simple sequence repeats and heterosis in tropical Maize populations. doi: 10.2135/cropsci2003.1275

Smith, N.C., Lee, E.A. 2016. Heterosis and growth in a developing maize plant. Maydica. 61(3): 1–9.

Suwannatape, T., Jampatong, S., Jompuk, C. 2020. Genetic diversity of commercial field corn hybrids in Thailand as verified by SSR markers and their inbreeding depression. Current Applied Science and Technology, 429–439.

Tesfaye, S., Sime, B. 2021. Heterosis of highland maize (*Zea mays* L.) hybrids for grain yield and yield related components. doi: 10.36349/easjbg.2021.v03i02.003

การเพิ่มปริมาณยอดรวมจากตาข้างของไผ่เฉียงรุน (*Dendrocalamus* sp.) ในหลอดทดลอง

Multiple shoot induction from axillary bud culture of Cheng roon bamboo (*Dendrocalamus* sp.)

สุภลักษณ์ สุดสอาด[a], **วงศกร ขวัญดี**[b], **เยาวพรรณ สนธิกุล**[b,*]

Suphalak Sutsaart[a], Wongsakorn Kwandee[b], Yaowaphan Sontikun[b,*]

[a]สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี 84000

[b]สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร โครงการจัดตั้งคณะนวัตกรรมการเกษตรและประมง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี 84000

[a]Faculty of Science and Industrial Technology, Prince of Songkla University Surat Thani Campus, Surat Thani 84000, Thailand

[b]Faculty of Innovative Agriculture and Fisheries Establishment Prince of Songkla University Surat Thani Campus, Surat Thani 84000, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: suphalak.s.oil@hotmail.com

บทคัดย่อ

ไผ่เฉียงรุน (*Dendrocalamus* sp.) พบในเขตพื้นที่อุทยานแห่งชาติคลองพนม ตำบลคลองศก อำเภอพนม และเขาพนมผรา อำเภอกาญจนดิษฐ์ ในจังหวัดสุราษฎร์ธานี เป็นไผ่ที่มีลำต้นขนาดใหญ่และค่อนข้างตรง เหมาะแก่การทำโครงสร้าง และเฟอร์นิเจอร์ จึงเป็นที่สนใจของกลุ่มเกษตรกร ทั้งนี้ต้นพันธุ์ไผ่ที่ปลูกมีความสำคัญต่อการสร้างสวนไผ่คุณภาพดี งานวิจัยนี้ศึกษาการเพิ่มปริมาณยอดไผ่เฉียงรุนในสภาพปลอดเชื้อ โดยนำชิ้นส่วนตาข้างต้นไผ่ในธรรมชาติมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.0–5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดไม่แตกต่างกัน มีจำนวนยอดเฉลี่ย 18.2±1.75 และ 15.7±2.26 ยอดต่อชิ้นส่วน ในส่วนความยาวยอด พบว่า ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความยาวยอด 35.70±7.69, 31.52±4.81 และ31.21±4.32 มิลลิเมตร จากการศึกษานี้พบว่า สารควบคุมการเจริญเติบโต BA สามารถเพิ่มปริมาณยอดรวมในไผ่เฉียงรุนได้

คำสำคัญ: การเพิ่มจำนวนยอด, เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ, อาหารเหลว

Abstract

Chiang roon bamboo (*Dendrocalamus* sp.) in the area of Khlong Phanom National Park, specifically Khlong Sok Subdistrict, Phanom District, and Phanom Phra Mountain in Kanchanadit District, Surat Thani Province. It is a bamboo with a large trunk and is quite straight, making it suitable for constructing structures and furniture. However, the bamboo species planted is crucial for creating a high-quality bamboo garden. The study aimed to examine the increase in the number of bamboo shoots under sterile conditions. Side bud parts were extracted from natural bamboo plants and cultivated in liquid MS medium with BA at concentrations ranging from 0.0-5.0 mg/l for a period of 4 weeks. The results revealed that parts grown in MS medium supplemented with BA concentrations of 5.0 and 4.0 milligrams per liter showed no significant difference in the number of shoots, with an average of 18.2±1.75 and 15.7±2.26 shoots per piece, respectively. Regarding shoot length, parts grown in MS medium with BA concentrations of 4.0, 2.0, and 3.0 mg/l exhibited shoot lengths of 35.70±7.69, 31.52±4.81, and 31.21±4.32 mm, respectively. In conclusion, this study suggests that the use of the growth regulator BA can effectively increase the total number of shoots in Chiang roon bamboo.

Keywords: Liquid culture, Multiple shoot induction, Plant tissue culture

คำนำ

ไผ่เฉียงรุน (*Dendrocalamus* sp.) เป็นไผ่ที่พบในจังหวัดสุราษฎร์ธานี ในเขตพื้นที่อุทยานแห่งชาติคลองพนม ตำบลคลองศก อำเภอพนม จังหวัดสุราษฎร์ธานี และเขาพนมผรา อำเภอกาญจนดิษฐ์ จังหวัดสุราษฎร์ธานี ซึ่งจัดอยู่ในไม้ไผ่ที่มีขนาดใหญ่ ทั้งนี้ยังไม่พบการรายงานการจำแนกสายพันธุ์ไผ่เฉียงรุนอย่างชัดเจน ลักษณะทั่วไปของไผ่เฉียงรุนเมื่ออายุ 40 ปี มีลำต้นตรงสูงขนาดเส้นรอบวงของต้นที่โตเต็มที่โดยเฉลี่ย 58–60 เซนติเมตร ความยาวลำ 32–36 เซนติเมตร ลำต้นที่โตเต็มที่จะมีความสูงประมาณ 35 เมตร ลำต้นอายุน้อยจะมีขนอ่อนนุ่มคล้ายกำมะหยี่ สีน้ำตาลทองขึ้นอยู่บริเวณโคนของต้นไผ่ประมาณ 3–4 ข้อจากพื้นดิน หากอายุมากขึ้นขนอ่อนกำมะหยี่จะหลุดออกไป หน่อมีสีน้ำตาลเข้ม สามารถนำมารับประทานได้ กาบหุ้มลำต้นจะใหญ่กว่าและยาวกว่าลำไผ่ กาบ หนาแข็งด้านในเกลี้ยงไม่มีขน บริเวณขอบปลายกาบด้านนอกจะมีขนสีน้ำตาลติดอยู่เล็กน้อย ใบเป็นใบเดี่ยวยาวแคบลักษณะคล้ายรูปหอกขอบใบเรียบ และไม่มีขนอ่อนบริเวณใบ ขนาดความหนาของเนื้อไม้ประมาณ 1 นิ้ว ไผ่เฉียงรุนมีจำนวนต้นเฉลี่ยต่อก่อประมาณ 60–70 ลำ จึงเหมาะแก่การส่งเสริมให้ปลูกเป็นไผ่เศรษฐกิจอีกหนึ่งชนิด ซึ่งไผ่มีประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรม เช่น อาหาร การก่อสร้าง การทำเฟอร์นิเจอร์ เป็นต้น การเพาะขยายพันธุ์ไผ่เฉียงรุนตามธรรมชาติยังมีข้อจำกัดทางสภาพแวดล้อมอยู่มาก ทั้งสภาพแวดล้อมทางธรรมชาติ เช่น ภัยแล้ง ไฟป่า หรือมนุษย์มีการตัดไปใช้ประโยชน์แต่ไม่มีการขยายพันธุ์เพิ่ม และยังไม่มีรายงานการสร้างเมล็ดของไผ่เฉียงรุน เนื่องจากการออกดอกของไผ่แต่ละชนิดนั้นไม่มีความแน่นอน และใช้ระยะเวลานาน 30-100 ปี เมื่อไผ่ออกดอกครบทุกลำไผ่จะตายทั้งกอ (อนันต์, 2534) จากสาเหตุดังกล่าวส่งผลให้ไผ่เฉียงรุนในธรรมชาติมีปริมาณลดลง ปัจจุบันมีการขยายพันธุ์ไผ่แบบอาศัยเพศ และไม่อาศัยเพศ ได้แก่ การเพาะเมล็ด ชำกิ่ง ตอนกิ่ง เหง้า และข้อปล้องติดกับลำไผ่ ถึงแม้ว่าการขยายพันธุ์ด้วยวิธีดังกล่าวสามารถทำได้อย่างรวดเร็ว แต่สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการขนย้าย ต้องใช้เวลา พื้นที่ และและการดูแลเป็นอย่างมาก ทำให้ไม่สามารถขยายพันธุ์ให้มีจำนวนมากเพียงพอต่อความต้องการ (กัณยารัตน์, 2534) ทำให้ต้นพันธุ์ขาดแคลน ต้นกล้ามีราคาสูง ไม่เพียงพอต่อความต้องการของเกษตรกร การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจึงเป็นทางเลือกในการผลิตต้นพืชให้ได้ปริมาณมากและมีลักษณะตรงตามต้นแม่พันธุ์ (Sandhu et al., 2018) เทคนิคนี้ได้ประสบความสำเร็จในการขยายพันธุ์ไผ่หลายชนิดในสกุล *Dendrocalamus* เช่น *D. Sinicus* (Zailiu and Chaomao, 2006) *D. hamiltonii* (Zhang et al., 2010), *D. asper* (Schult. &Schult. F.) (Singh et al., 2012), *D. sericeus* Munro (Duangruethai, 2019) การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อจำเป็นต้องใช้สูตรอาหารที่มีความเหมาะสม ซึ่งสูตรอาหารจะแตกต่างกันไปในไผ่แต่ละชนิด เช่น ไผ่จีน (*D. sinicus*) ที่ใช้อาหาร MS ที่เติม BA 2.5 มิลลิกรัมต่อลิตร และน้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตรต่อลิตร มีอัตราการเกิดยอดมากถึง 8.27 เท่า และมีความยาวยอด 4.02 เซนติเมตร (Zailiu and Chaomao, 2006) ไผ่ซาง (*D. strictus*) ใช้อาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้เกิดยอดจากตาข้างได้ 5.12 ยอด และ TDZ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร ชักนำให้เกิดยอดจากข้างได้ 5.62 ยอด (Kapruwan et al.,2014) ไผ่ซางหม่น (*D. sericeus*) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวและบนอาหารแข็งสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าว พบว่า อาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ร่วมกับน้ำมะพร้าวความเข้มข้น 8% ส่งผลดีต่อการเพิ่มจำนวนยอดของไผ่ซางหม่น โดยมียอดใหม่พัฒนาสูงสุด 4.67±0.02 ยอด และมีความยาวยอด 2.51±0.35 เซนติเมตร (กนกวรรณ และคณะ, 2565) และไผ่ดำ (*Phyllostachys nigra* (Lodd. exLindl.) Munro) พบว่าอาหารเหลวสูตร MS ที่ประกอบด้วย TDZ ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และ BA ความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เหมาะสมต่อการชักนำให้เกิดยอดจำนวนมากจากกลุ่มยอดโดยให้จำนวนยอดสูงสุด 18.2 ยอดต่อกลุ่มยอด ซึ่งจากการศึกษางานวิจัยข้างต้นได้มีการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต 6-benzyladenine (BA), Thidiazuron (TDZ) ซึ่งอยู่ในกลุ่มไซโตไคนิน (Cytokinin) ที่มีประสิทธิภาพช่วยกระตุ้นให้พืชมีการแบ่งเซลล์เพิ่มขึ้น และสามารถกระตุ้นการเกิดยอด (*ศุภณัฐ*, 2559) แต่การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่เฉียงรุน

ยังไม่มีการรายงานการศึกษา ดังนั้นจึงได้นำเทคนิคเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช ในการขยายพันธุ์ไผ่เฉียงรุนให้มีประสิทธิภาพ การศึกษาครั้งนี้จึงใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต 6-benzyladenine (BA) เพียงอย่างเดียว โดยเปรียบเทียบผลของสารควบคุมการเจริญเติบโต โดยการชักนำให้เกิดยอดในปริมาณมาก เพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลในการขยายพันธุ์ไผ่เฉียงรุนด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ และเป็นแนวทางในการผลิตต้นพันธุ์ไผ่คุณภาพดีให้เพียงพอต่อความต้องการของเกษตรกรต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมชิ้นส่วนพืช

รวบรวมต้นพันธุ์ไผ่เฉียงรุนในจังหวัดสุราษฎร์ธานีมาเพาะเลี้ยง ณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี แล้วนำชิ้นส่วนข้อจากธรรมชาติมาล้างสิ่งสกปรกออก ตัดเอาเฉพาะส่วนข้อที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางขนาด 0.5 เซนติเมตร ยาวประมาณ 3–4 เซนติเมตร แล้วนำไปฟอกฆ่าเชื้อ โดยการล้างทำความสะอาดและปล่อยให้น้ำประปาไหลผ่าน 30 นาที จากนั้นแช่เอทิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 70% ระยะเวลา 2 นาที จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อชิ้นส่วนข้อด้วยเมอคิวริกคลอไรด์ ($HgCl_2$) ความเข้มข้น 0.1% เขย่าเบา ๆ ทุก 3 นาที ระยะเวลา 10 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 3 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที ตัดแต่งชิ้นส่วนให้มีตาข้างจำนวน 1 ตา

การชักนำให้เกิดยอดของไผ่เฉียงรุน

นำชิ้นส่วนข้อไผ่เฉียงรุนที่ผ่านการฟอกฆ่าแล้วมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ร่วมกับสารควบคุมการเจริญเติบโต BA ความเข้มข้น 0.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงในขวดขนาด 4 ออนซ์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตรต่อขวด บนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 35–40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที ทำการทดลองทรีตเมนต์ละ 15 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ชิ้นส่วนต่อขวด เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ บันทึกจำนวนยอด และความยาวยอดเฉลี่ย

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการนำชิ้นส่วนข้อไผ่เฉียงรุนมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 0.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร เพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสง 16 ชั่วโมงต่อวัน ความเข้มแสง 35–40 ไมโครโมลต่อตารางเมตรต่อวินาที เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ควรเปลี่ยนอาหารทุก 2 สัปดาห์ เนื่องจากพืชมีการสร้างสารฟีนอลิก ส่งผลให้ชิ้นส่วนพืชเกิดอาการ browning ทำให้ชิ้นส่วนไผ่ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ส่งผลให้ใบและลำต้นมีสีน้ำตาลตายในที่สุด โดยชิ้นส่วนข้อไผ่เฉียงรุนสามารถสร้างยอดได้ทุกทรีตเมนต์ เช่นเดียวกับรายงานของ (Prutpongse and Gavinlertvatana, 1992) ซึ่งกล่าวว่าเนื้อเยื่อไผ่ที่เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงควรเป็นเนื้อเยื่อจากกิ่งแขนงที่มีการเจริญเติบโตเต็มที่จะทำให้มีชิ้นส่วนที่รอดตายสูง และได้จำนวนยอดต่อตาสูง โดยกลุ่มยอดที่เกิดในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA 0.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีสีเขียว แต่ละยอดมีความสูงแตกต่างกัน อาหารสูตร MS ที่เติม BA 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้กลุ่มยอดสมบูรณ์มีสีเขียวในแต่ละยอดมีความสูงใกล้เคียงกัน และมีส่วนลำต้นที่แยกออกจากกอชัดเจน ส่วนอาหารสูตร MS ที่เติม BA 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้กลุ่มยอดสีเขียว แต่ละยอดมีความสูงแตกต่างกัน และมีส่วนลำต้นที่แยกออกจากกอชัดเจน (Fig. 1) การใช้ BA ทุกความเข้มข้นสามารถชักนำชิ้นส่วนข้อให้เกิดเป็นยอดรวมได้ดี โดยชิ้นส่วนมีการสร้างยอดรวมสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนในอาหาร MS ที่เติม BA

ความเข้มข้น 5.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ยสูงสุดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ มีจำนวนยอดเฉลี่ย 18.2±1.75 และ 15.7±2.26 ยอดต่อชิ้นส่วน รองลงมาคือ ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4.0, 3.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีจำนวนยอดเฉลี่ย15.7±2.26, 13±2.44 และ 11±2.74 ยอดต่อชิ้นส่วนตามลำดับ ในขณะที่ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตให้จำนวนยอดเฉลี่ย 3.7±0.94 ยอดต่อชิ้นส่วน ส่วนความยาวยอด พบว่า ชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร มีความยาวยอดสุดถึง 35.70±7.69 มิลลิเมตร รองลงมาคือชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 3.0 และ 2.0 มิลลิกรัมต่อลิตร จำนวนยอดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งมีจำนวนยอด 31.52±4.81 31.21±4.23 มิลลิเมตร ตามลำดับ และ MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งมีจำนวนยอด 29.23±5.41มิลลิเมตร ส่วนชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่ไม่เติมสารควบคุมการเจริญเติบโตมีความยาวยอดเพียง 23.92±4.71 มิลลิเมตร (Table 1) เนื่องจาก BA ซึ่งเป็นสารควบคุมการเจริญเติบโตในกลุ่มไซโตไคนิน มีบทบาทส่งเสริมการแบ่งเซลล์ การขยายขนาดของเซลล์ กระตุ้นการเจริญของยอด และเพิ่มจำนวนยอด ดังนั้นเมื่อ BA มีความเข้มข้นสูงขึ้นจะส่งผลให้มีจำนวนยอดมากขึ้น (Ario and Setiawan, 2020) สอดคล้องกับผลการทดลองการเพิ่มจำนวนยอดของไผ่รวก ที่มีการเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 44.40 µM และ kinetin (Kn) ความเข้มข้น 2.32 µM ให้ผลในการเกิดยอดทวีคูณของไผ่รวกมากที่สุด คือ 36.1 ยอดต่อชิ้นส่วน (อภิศักดิ์, 2549) ส่วนการศึกษาในไผ่ตง ที่ใช้ BA ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดยอด 95.77 เปอร์เซ็นต์ จำนวนยอด 7.33 ยอดต่อข้อ (Banerjee et al., 2011) และในไผ่ซางหม่น อาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 2.0 mg/l ร่วมกับน้ำมะพร้าวส่งผลดีต่อการเพิ่มจำนวนยอดของไผ่ซางหม่นโดยมียอดใหม่ที่พัฒนาสูงสุด 4.67±0.02 ยอดต่อชิ้นส่วน และมีความยาวยอด 2.51±0.35 cm (กนกวรรณ และคณะ, 2565) โดยในอาหาร MS ที่ปราศจาก BA ไม่มีการสร้างรากเนื่องจากการสร้างรากเป็นกระบวนการที่ต้องใช้พลังงานสูง ทำให้ความต้องการสารตั้งต้นภายในเซลล์อาจแตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์ (Sandhu et al., 2018) (Skoog and Miller, 1957) กล่าวว่า พืชส่วนใหญ่มีการพัฒนาไปเป็นอวัยวะได้ เมื่อได้รับสารควบคุมการเจริญเติบโต ในกลุ่ม ออกซินและไซโตไคนิน การผันแปรจะขึ้นอยู่กับชนิดของพืช และปริมาณของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่ใช่ร่วมกับอาหาร MS มีผลต่อการเจริญเติบโต และการเกิดอวัยวะของพืช ซึ่งพืชแต่ละจีนัส สปีชีส์ และสายพันธุ์ มีความต้องการสารของชนิดสารรวมไปถึงความเข้มข้นที่แตกต่างกันไป เพราะพืชแต่ละชนิดสามารถสร้างออกซินและไซโตไคนินภายในต้นได้ปริมาณแตกต่างกัน และ BA มีผลในการยับยั้งการเติบโตของราก (Ghamery and Mousa, 2017)

Table 1 Effect of BA on multiple shoots induction of *Dendrocalamus* sp. MS medium for 4 weeks

Concentration of BA	Shoot/explant	Shoot length (mm)
0.0 mg/l	3.7±0.94^{d}	23.92±4.71^{c}
2.0 mg/l	11±2.74^{c}	31.21±4.23^{ab}
3.0 mg/l	13±2.44^{bc}	31.52±4.81^{ab}
4.0 mg/l	15.7±2.26^{ab}	35.70±7.69^{a}
5.0 mg/l	18.2±1.75^{a}	29.23±5.41^{bc}

Number followed by different letters were significantly different by DMRT at $p \leq 0.05$

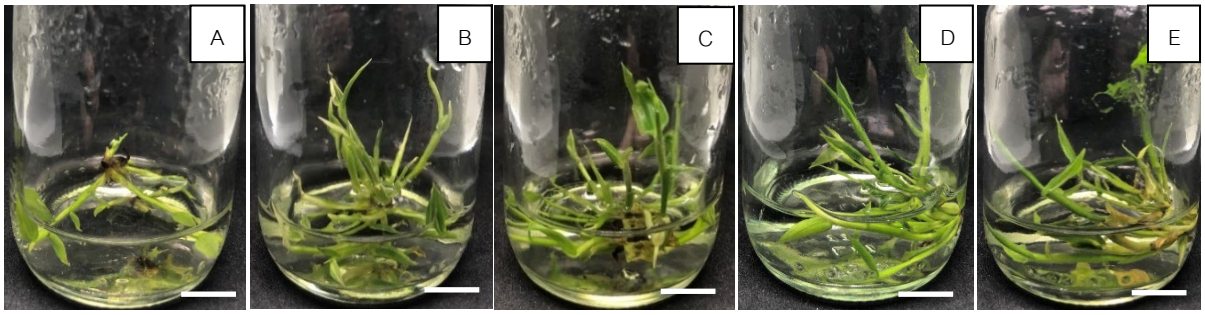


Fig. 1 Multiple shoots of Cheng-roon bamboo from axillary buds cultured in liquid MS medium with BA in various concentrations for 4 weeks. 0.0 mg/l BA (A); 2.0 mg/l BA (B); 3.0 mg/l BA (C); 4.0 mg/l BA (D); 5.0 mg/l BA (E), (bar = 10 millimeters)

สรุป

จากการเพาะเลี้ยงชิ้นส่วนข้อของไผ่เฉียงรุนในอาหารเหลว โดยการเพิ่มจำนวนยอดจากชิ้นส่วนข้อไผ่เฉียงรุน เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า การเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MS ที่เติม BA ทุกความเข้มข้นสามารถเพิ่มจำนวนยอดของไผ่เฉียงรุนได้ ชิ้นส่วนข้อที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลวสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 5.0 และ 4.0 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถชักนำให้จำนวนยอดเฉลี่ยมากที่สุด 18.2±1.75 และ15.7±2.26 ยอด ตามลับดับ ในส่วนของความยาวยอด พบว่า ชิ้นส่วนที่เพาะเลี้ยงในอาหารสูตร MS ที่เติม BA ความเข้มข้น 4.0, 2.0 และ 3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ให้ความยาวยอด 35.70±7.69, 31.52±4.81 และ 31.21±4.32 มิลลิเมตร จากการศึกษานี้จึงกล่าวได้ว่าการใช้สารควบคุมการเจริญเติบโต BA สามารถเพิ่มปริมาณยอดรวมในไผ่เฉียงรุนได้ สามารถใช้เป็นแนวทางในการผลิตต้นพันธุ์ไผ่คุณภาพดีให้เพียงพอต่อความต้องการของเกษตรกร

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี ที่ให้การสนับสนุนอุปกรณ์ เครื่องมือและห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช และทุนสนับสนุนกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ประจำปีงบประมาณ 2564

เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ ส่งเสริม, ภาณุมาศ ฤทธิไชย, ธัญพิสิษฐ์ พวงจิก, เยาวพา จิระเกียรติกุล. 2565. การขยายพันธุ์และปริมาณสารทุติยภูมิของยอดไผ่ซางหม่นในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 30(4): 49–59.

กัณยารัตน์ สุไพบูลย์วัฒน์. 2534. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อไผ่ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วุฒิชัย เสรียุวราษฎร์. 2564. ผลของสารควบคุมการเติบโตบางชนิดต่อการชักนำให้เกิดยอดและรากของไผ่ซางหม่น ‘นวลราชินี’ (*Dendrocalamus sericeus* Munro.). วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยศิลปากร, กรุงเทพฯ.

ศุภณัฐ ไพโรหกุล. 2562. ชีววิทยา, พิมพ์ครั้งที่ 14. สำนักพิมพ์แอคทีฟ พริ้น. กรุงเทพฯ.

สมพร ประเสริฐส่งสกุล. 2549. การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อกับการปรับปรุงพันธุ์พืช. คณะวิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยี. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตปัตตานี, ปัตตานี.

อนันต์ อนันตโชติ. 2534. ไม้ไผ่ในประเทศไทยที่รู้จัก. ภาควิชาการจัดการป่าไม้. คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อภิศักดิ์ ดวงมณี. 2549. การขยายพันธุ์ไผ่รวก (*Thyrsostachys siamensis*) โดยการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยศิลปากร, นครปฐม.

Ario, A., Setiawan, S. 2020. The effect of benzyl amino purine (BAP) concentration on the growth amount of the explant of *Dendrobium spectabile* orchid by in-vitro. Int. Multidiscip. Res. J. 3: 33–38.

Banerjee, M., Gantait, S., Pramanik, B.R. 2011. A two step method for accelerated mass propagation of *Dendrocalamus asper and* their evaluation in field. Physiol. Mol. Biol. Plants 17(4): 387–393.

Duangruethai, P. 2019. Micropropagation of Pai Sangmon 'Nuan Rachini' (*Dendrocalamus sericeus* Munro) Via Callus. Department of Biology Graduate School, Silpakorn University.

Ghamery, A.A.E., Mousa, M.A. 2017. Investigation on the effect of benzyladenine on the germination, radicle growth and meristematic cells of *Nigella sativa* L. and *Allium cepa* L. Annals of Agricultural Sciences 62(1): 11–21.

Godbole, S., Sood, A., Thakur, R., Sharma, M., Ahuja, P.S. 2002. Somatic embryogenesis and its conversion into plantlets in a multipurpose bamboo, *Dendrocalamus hamiltonii* Nees et Arm. Ex Munro. Current Science. 83: 885–889.

Gusmiaty, Restu, muh., Larekeng, S.H., Setiawan, E. 2020. The optimization of *in vitro* micropropagation of Betung bamboo (*Dendrocalamus Asper* Backer) by medium concentrations and plant growth regulators. IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 575. doi: 10.1088/1755-1315/575/1/012024

Kapruwan, S., Bakshi, M., Kaur, M. 2014. Rapid *in vitro* propagation of the solid bamboo, *Dendrocalamus strictusnees*, through axillary shoot proliferation. Biotechnology International 7(3): 58–68.

Prutpongse, P., Gavinlertvatana, P. 1992. *In vitro* micropropagation of 54 species from 15 genera of bamboo. HortScience. 27: 453–454.

Rout, G.R., Das, P. 1944. Somatic embryogenesis and *in vitro* flowering of 3 species of bamboo. Plant Cell Rep. 13: 683–686.

Sandhu, M., Wani, S.H., Jimenez, V.M. 2018. *In vitro* propagation of bamboo through axillary shoot proliferation: A review. Plant Cell, Tissue and Organ Cult. 132: 27–53.

Sandhu, M., Wani S.H., Jimenez, V.M. 2018. *In vitro* propagation of bamboo through axillary shoot proliferation: A review. Plant Cell, Tissue and Organ Culture 132: 27–53.

Singh, S.R., Dalal, S., Singh, R., Dhawan, A., Kalia, R.K. 2012. Micropropagation of *Dendrocalamus asper* (Schult. &Schult. F.) Backer ex K. Heyne: An exotic edible bamboo. J. Plant Biochem. Biotechnol. 21: 220–228.

Skoog F., Miller, C.O. 1957. Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue culture *in vitro*. Symp. Soc. Exp. Biol. 11: 118–131.

Zailiu, L., Chaomao, H. 2006. Study on tissue culture of *Dendrocalamus sinicus*. Sci. Silvae Sin. 42(2): 43–49.

Zhang, N., Fang, W., Shi, Y., Liu, Q.Q., Yang, H.Y., Gui, R.Y., Lin, X.C. 2010. Somatic embryogenesis and organogenesis in *Dendrocalamus hamiltonii*. Plant Cell Tissue Org. Cult. 103: 325–332.

การเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและผลผลิตของมะเขือเทศเชอรี่ 4 พันธุ์ที่ปลูกภายใต้โรงเรือนหลังคาพลาสติกในช่วงฤดูฝน

Comparison of growth and yield of 4 cherry tomato cultivars grown in greenhouse during rainy season

วรันธร ทรัพย์บุญธรรม[a], **วิไลวรรณ มุยคำ**[a], **ปริยานุช จุลกะ**[a,*], **จุติภรณ์ ทัสสกุลพนิช**[a], **อัครชัย โสมกุล**[b]

Waranthorn Sapboontham[a], Wilaiwan Muikam[a], Pariyanuj Chulaka[a,*], Jutiporn Thussagunpanit[a], Akarachai Somkul[b]

[a]ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[b]ศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน 73140

[a]Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

[b]Tropical Vegetable Research Center, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: agrpnc@ku.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและคุณภาพผลผลิตของมะเขือเทศเชอรี่ 4 พันธุ์ที่ปลูกช่วงเดือนมิถุนายนถึงกันยายน เพื่อใช้เป็นข้อมูลพันธุ์ทางเลือกให้เกษตรกรที่ต้องการปลูกในช่วงฤดูฝน ได้แก่ พันธุ์หมายเลข 1, หมายเลข 2, 154 และ 603 วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยให้พันธุ์มะเขือเทศเชอรี่เป็นสิ่งทดลอง สิ่งทดลองละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ต้น ทำการทดลองในโรงเรือนตาข่ายหลังคาพลาสติก ปลูกโดยใช้วัสดุปลูกและให้สารละลายธาตุอาหารด้วยระบบน้ำหยด จากการศึกษาพบว่า พันธุ์ 154 มีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงสูงและสูงที่สุดในระยะออกดอก พันธุ์หมายเลข 2 มีความสูงของต้นมากที่สุด และพันธุ์ 154 มีการติดผลและน้ำหนักผลต่อต้นสูงที่สุด คือ 50.6% และ 1,058.6 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ส่วนคุณภาพของผลผลิตพบว่าความแน่นเนื้อของพันธุ์หมายเลข 2 มีค่าสูงที่สุด คือ 1.61 นิวตันต่อมิลลิเมตร พันธุ์หมายเลข 1 มีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้คือ 7.8 °Brix โดยพันธุ์ที่เหมาะสำหรับการปลูกในโรงเรือนในช่วงฤดูฝนคือ พันธุ์ 154

คำสำคัญ: ความแน่นเนื้อ, ความหวาน, มะเขือเทศเชอรี่, อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง

Abstract

The objective of this study is to compare the growth and yield quality of 4 cherry tomato cultivars grown during June to September to use as cultivar information for growing during rainy season. Number 1, Number 2, 154 and 603 tomato cultivars were grown in a CRD layout. The cherry tomato cultivar was used as treatment, with 5 replications, one plant per replication. The experiment was conducted in a net house with plastic roof. The tomato plants were grown in substrate culture and provided nutrient solution by drip irrigation system. Results found that the 154 cultivar showed high net photosynthetic rate and it was the highest during the flowering stage. The Number 2 cultivar showed the highest plant height and 154 cultivar showed the highest fruit set and fruit weight per plant (50.6% and 1,058.6 g/plant, respectively). In term of yield quality, fruit firmness of Number 2 cultivar was the highest (1.61 N/mm). In addition, total soluble solids of Number 1 fruits were 7.8 °Brix. The 154 cultivar is probably to be a suitable cultivar for growing in the greenhouse during the rainy season.

Keywords: Cherry tomato, Fruit firmness, Net photosynthetic rate, Sweetness

คำนำ

มะเขือเทศเชอรี่หรือมะเขือเทศราชินี (Cherry tomato) เป็นพืชผักที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ และเป็นที่ยอมรับกันว่ามะเขือเทศอุดมไปด้วยสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายมากมาย ผลสุกประกอบไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น แคโรทีนอยด์ กรดแอสคอร์บิก วิตามินเอ ไลโคปีน และเบต้าแคโรทีน (Raffo et al., 2002) ทำให้กลุ่มผู้บริโภคที่ให้ความสำคัญกับสุขภาพนิยมบริโภคมากขึ้น โดยรับประทานผลสด หรือรับประทานร่วมกับสลัดผัก ปัจจุบันจึงมีการปลูกมะเขือเทศเชอรี่กันมากขึ้นในหลายภูมิภาคเพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภค (เกศกนก และคมกฤษณ์, 2563) การเจริญเติบโตของมะเขือเทศมี 3 ลักษณะ คือ แบบพันธุ์เลื้อย (indeterminate growth) มีการเจริญเติบโตทางลำต้นไปเรื่อย ๆ ต้องมีไม้ค้างช่วยพยุงลำต้น กิ่ง ดอก จะทยอยออกไม่พร้อมกัน แบบพันธุ์พุ่ม (determinate growth) ลำต้นตั้งตรงทรงพุ่มเตี้ย จำกัดการเจริญเติบโตของตายอดในแต่ละกิ่ง การเจริญแบบนี้ไม่จำเป็นต้องใช้ไม้ค้างพยุงต้น และแบบกึ่งเลื้อย (semi-determinate growth) ซึ่งการเจริญเติบโตในช่วงแรกจะเจริญแบบเลื้อยเมื่อเจริญเติบโตไปได้ระยะหนึ่ง ตายอดจะเกิดเป็นช่อดอก จะมีกิ่งแขนงเกิดที่ใต้ช่อดอกเติบโตไปเรื่อย ๆ (สมภพ, 2556)

อุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของมะเขือเทศเชอรี่ประมาณ 15-25 องศาเซลเซียส (นายผัก, 2551) สามารถปลูกได้ในพื้นที่เขตร้อน สามารถปลูกและให้ผลผลิตได้ตลอดทั้งปี แต่การปลูกมะเขือเทศในช่วงฤดูฝนซึ่งมีความชื้นของอากาศและอุณหภูมิสูง จะทำให้ได้ผลผลิตและคุณภาพลดลง (กรมวิชาการเกษตร, 2563) การปลูกในช่วงฤดูฝนจึงจำเป็นต้องดูแลอย่างใกล้ชิด เนื่องจากสภาพอากาศที่ไม่สามารถควบคุมได้ และเป็นช่วงที่อุณหภูมิและความชื้นเหมาะสมกับการแพร่ระบาดของโรคหลายชนิด อีกทั้งมะเขือเทศบางพันธุ์พบปัญหาผลแตกง่าย (พงศธร และโชคชัย, 2559) มะเขือเทศเป็นพืชที่อ่อนแอต่อโรคที่มีสาเหตุจากไวรัส รา แบคทีเรีย แมลงศัตรู ทำให้เป็นช่วงที่ผลผลิตต่ำที่สุด เพราะเกษตรกรส่วนใหญ่ปลูกในแปลงเปิด (จันทร์สุดา และคณะ, 2565) การผลิตในโรงเรือนจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งให้กับเกษตรกร ที่จะช่วยป้องกันศัตรูพืชได้ระดับหนึ่งตลอดการปลูก (สัญญา และคณะ, 2562) อย่างไรก็ตามการปลูกในโรงเรือนหลังคาพลาสติกที่ไม่มีการควบคุมสภาพอากาศภายใน มักส่งผลให้มีอุณหภูมิสูงกว่าภายนอก ซึ่งอุณหภูมิที่สูงขึ้นนี้ทำให้ความมีชีวิตของละอองเกสรเพศผู้ลดลง ทำให้การติดผลลดลง ส่วนความชื้นสัมพัทธ์ที่สูงเกินไปในช่วงฤดูฝนส่งผลให้มะเขือเทศเกิดสภาพความเครียดจากความร้อนเพิ่มขึ้น (Sato et al., 2002)

ปัจจัยที่มีความสำคัญในการผลิตเพื่อให้ได้ผลผลิตและคุณภาพสูง นอกจากปัจจัยสภาพแวดล้อมในการเจริญเติบโตแล้ว การเลือกพันธุ์ปลูกก็เป็นสิ่งสำคัญ โดยพันธุ์มะเขือเทศเชอรี่ที่เกษตรกรใช้ในการผลิตเชิงการค้าส่วนใหญ่มีทั้งเป็นพันธุ์ผสมเปิด (open pollinated variety) ซึ่งเป็นพันธุ์ที่เปิดโอกาสให้มีการผสมเกสรแบบอิสระหรือผสมข้าม และพันธุ์ลูกผสม (F1 hybrid) ซึ่งเกิดจากการผสมข้ามระหว่างพันธุ์แท้จำนวนสองพันธุ์ โดยทั่วไปมะเขือเทศลูกผสมจะมีความสม่ำเสมอและให้ผลผลิตสูง (Avdikos et al., 2021) พันธุ์ของมะเขือเทศที่ได้รับการคัดเลือกว่ามีความเหมาะสมต่อการนำไปเผยแพร่ให้กับเกษตรกร ได้แก่ CH154 (กรุง และคณะ, 2541) เป็นพันธุ์ผสมเปิด ให้ผลผลิตดี ประมาณ 4–5 ตันต่อไร่ ทนร้อนได้ดี มีการเจริญเติบโตแบบกึ่งเลื้อย (semi-determinate) ลักษณะผลกลมรี ผลสุกมีสีแดง รสชาติเข้มข้น เนื้อแน่น มีเมล็ดน้อยแต่ส่วนใหญ่ไม่มีเมล็ด ง่ายต่อการกิน ผลผลิตสูงมาก เมื่อผลสุกแล้วสามารถปล่อยทิ้งไว้บนต้นได้นานถึง 20 วัน (กรุง, 2558) โดยผลไม่เน่าเละ ซึ่งเป็นข้อดีที่สามารถชะลอการเก็บเกี่ยวผลผลิตออกไปได้ระยะหนึ่ง ส่วนพันธุ์อื่น ๆ ที่อาจจะยังไม่เป็นที่นิยมในการปลูกมากหนักแต่มีการปรับปรุงพันธุ์เพื่อให้ต้านทานโรคที่มีความสำคัญกับการปลูก เช่น พันธุ์หมายเลข 1 ต้านทานโรคใบหงิกเหลืองในระดับดี ช่วยเกษตรกรลดการใช้สารเคมีกำจัดแมลงหวี่ขาวได้ (ชญานิษฐ์, 2563) พันธุ์หมายเลข 2 ทนต่อโรคราน้ำค้าง เก็บเกี่ยวได้นาน (บริษัท เพื่อนเกษตรกร จำกัด, 2563)

การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตและคุณภาพของผลผลิตมะเขือเทศเชอรี่ 4 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์หมายเลข 1, หมายเลข 2, 154 และ 603 และเพื่อใช้เป็นแนวทางในการเลือกพันธุ์มะเขือเทศเชอรี่ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตในโรงเรือนในช่วงฤดูฝนต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

เตรียมต้นมะเขือเทศเชอรี่ทั้ง 4 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์หมายเลข 1, หมายเลข 2, 154 และ 603 ซึ่งเป็นพันธุ์มะเขือเทศลูกผสม ที่ปรับปรุงพันธุ์โดยศูนย์วิจัยและพัฒนาพืชผักเขตร้อน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยใช้วัสดุผสมของกาบมะพร้าวสับและขุยมะพร้าว สัดส่วน 1:1 โดยปริมาตร เป็นวัสดุปลูก ให้น้ำด้วยระบบน้ำหยดอัตโนมัติ โดยให้พร้อมกับสารละลายธาตุอาหารสูตร Resh Tropical dry summer (Resh, 1978) ดัดแปลง ที่มีค่า pH ประมาณ 5.5–6.5 ในช่วง 1–2 สัปดาห์แรกหลังย้ายกล้าให้สารละลายธาตุอาหารที่มีค่าการนำไฟฟ้า (electrical conductivity; EC) 1.2 mS/cm และเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายธาตุอาหารให้มีค่า EC 2.4 mS/cm และ 3.0 mS/cm เมื่อต้นมะเขือเทศเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตทางกิ่งก้านและเมื่อติดผล ตามลำดับ โดยแบ่งให้วันละ 3 ครั้ง เมื่ออายุ 20 วันหลังย้ายปลูก ตัดแต่งกิ่งโดยเลือกไว้แขนง 2 แขนง ริดกิ่งกระโดงออกให้หมด ทำการทดลองพันธุ์ละ 5 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ต้น สถานที่ทำการทดลอง ณ แปลงทดลอง 1 ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (บางเขน) บันทึกข้อมูลอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงด้วยเครื่องวัดอัตราการแลกเปลี่ยนแก๊ส รุ่น LI-6400XT (LiCor, USA) 3 ระยะ คือระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น (อายุ 28 วันหลังย้ายกล้า) ระยะออกดอก (อายุ 56 วันหลังย้ายกล้า) และระยะติดผล (อายุ 84 วันหลังย้ายกล้า) ความสูงของต้น จำนวนดอกต่อช่อ จำนวนผลต่อช่อ ร้อยละการติดผลต่อช่อ เก็บเกี่ยวผลที่ระยะสุกแดง นำมาชั่งหาน้ำหนักผล ความแน่นเนื้อ ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ (Total soluble solids, TSS) และปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (%)

วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of Variance) ของข้อมูลภายใต้แผนการทดลองแบบ CRD มีปัจจัยการศึกษาการปลูกภายในโรงเรือนด้วยสภาพแวดล้อมเดียวกัน หาความแตกต่างทางสถิติใช้วิธี Fisher's Least Significant Difference, LSD ในการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสง

เมื่อเปรียบเทียบอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น ระยะออกดอก และระยะติดผล พบว่าอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของแต่ละพันธุ์มีค่าแตกต่างกันในระยะออกดอก (Table 1) โดยพันธุ์ 154 มีค่าสูงที่สุด คือ 32.5 μmol/m^2s ซึ่งช่วงที่มีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงมากแสดงว่าพืชมีการสร้างอาหารสะสมได้มากกว่า ช่วยเพิ่มปริมาณผลผลิตของมะเขือเทศได้ (Susuki et al., 2015)

Table 1 Changes of the net photosynthetic rate (Pn) of 4 cherry tomato cultivars grown in the greenhouse

Cultivar	Net photosynthetic rate (μmol/m^{2}s)		
	Vegetative stage	Flowering stage	Fruiting stage
Number 1	23.6±2.7	27.3^{ab}	15.0±1.6
Number 2	25.8±3.2	23.9^{b}	14.3±1.8
154	25.8±2.3	32.5^{a}	16.3±2.7
603	22.0±4.7	25.0^{b}	15.7±3.4
F-test	ns	*	ns
C.V. (%)	12.8	15.8	14.7

* Means followed by the same alphabet are not significantly different when least significant difference (LSD.) method of mean comparison at 95% confidence

ns means non-significant difference

การเจริญเติบโตและผลผลิต

มะเขือเทศเชอรี่พันธุ์หมายเลข 1, หมายเลข 2 และพันธุ์ 603 มีความสูงของต้นเพิ่มขึ้นจนกระทั่งเก็บเกี่ยวผลผลิต และพันธุ์หมายเลข 2 มีความสูงของต้นมากที่สุดตลอดทุกช่วงการเจริญเติบโต (Fig. 1) ส่วนพันธุ์ 154 มีความสูงของต้นต่ำที่สุด และตั้งแต่สัปดาห์ที่ 12 หลังย้ายกล้าพบว่าพันธุ์ 154 มีความสูงของต้นเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย อาจเป็นเพราะว่าในสัปดาห์ที่ 12 หลังย้ายกล้า เป็นช่วงที่ตายอดเริ่มเปลี่ยนเป็นตาดอก ซึ่งเป็นลักษณะการเจริญเติบโตแบบกึ่งเลื้อย (semi-indeterminate growth) (ปริญญา, 2556) จึงทำให้เกิดการชะลอความสูงของต้น

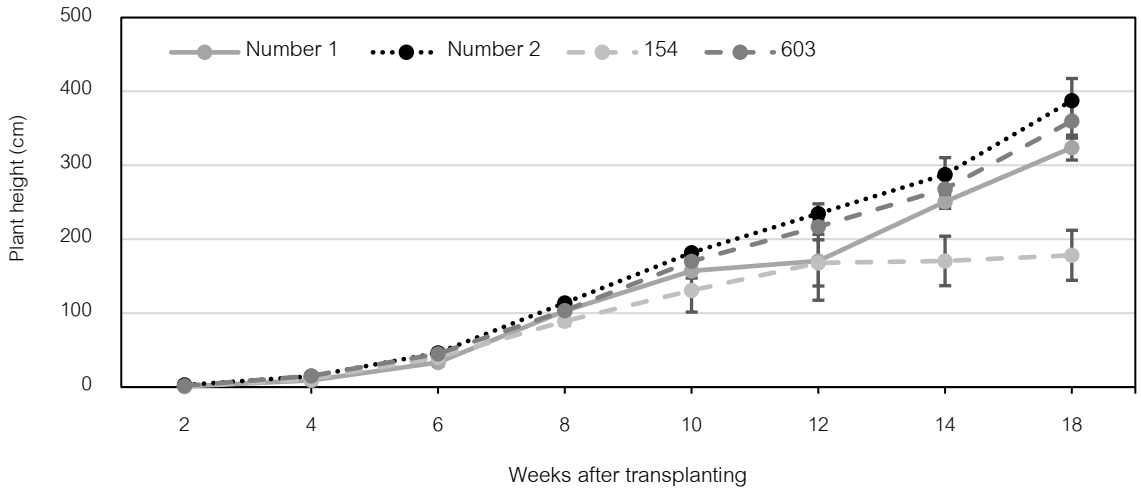


Fig. 1 Plant height (cm) of 4 cherry tomato cultivars grown in the greenhouse

นอกจากนี้ยังพบว่ามะเขือเทศพันธุ์ 154 มีร้อยละการติดผลสูงที่สุด (Fig. 2) แตกต่างจากพันธุ์หมายเลข 1 ที่มีร้อยละการติดผลต่ำที่สุด อาจเป็นเพราะอุณหภูมิ ณ ขณะนั้นเฉลี่ย 25–29 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิช่วงกลางวันบางวันมีค่าสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส (Fig. 3) ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ คือ อุณหภูมิกลางวัน 18–21 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิกลางคืน 15.5–18 องศาเซลเซียส (เกียรติเกษตร, 2541) นอกจากนี้

มะเขือเทศยังต้องการอากาศเย็นในช่วงการผสมเกสร โดยอุณหภูมิในตอนกลางคืนไม่ควรสูงกว่า 21 องศาเซลเซียส (มณีฉัตร, 2538) การปลูกมะเขือเทศในโรงเรือนซึ่งมีหลังคาเป็นพลาสติก อาจมีการถ่ายเทหรือหมุนเวียนอากาศไม่ดี ประกอบกับไม่สามารถควบคุมอุณหภูมิภายในโรงเรือนได้ จึงส่งผลให้ผลอ่อนและดอกหลุดร่วง ทำให้ผลผลิตลดลง (Sato et al., 2002) ดังนั้นพันธุ์ 154 จึงน่าจะเป็นพันธุ์ที่ทนต่ออุณหภูมิและความชื้นสูงได้ดี สามารถติดผลได้ถึงแม้ว่าในช่วงที่อุณหภูมิภายในโรงเรือนสูงมากกว่า 35 องศาเซลเซียส (Fig. 3) ประกอบกับในช่วงเดือนสิงหาคมถึงเดือนกันยายน ซึ่งเป็นช่วงของการติดผล เป็นช่วงฤดูฝน โดยมีความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ยในเดือนกันยายน 70–90% (Fig. 3) ในขณะที่ความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตและให้ผลผลิตได้สูง คือ 68–80% (ประเสริฐ, 2547) เมื่อความชื้นสัมพัทธ์สูงทำให้การคายน้ำของพืชลดลง ส่งผลต่อการสังเคราะห์ด้วยแสงลดลง การสร้างอาหารของพืชไม่เพียงพอสำหรับการพัฒนาผล (Camejo et al., 2005) และจะเห็นได้ว่ามะเขือเทศพันธุ์หมายเลข 1, หมายเลข 2 และ 603 ซึ่งเป็นพันธุ์ที่มีการเจริญเติบโตแบบเลื้อย (indeterminate growth) สามารถทยอยออกดอกและติดผลไปได้เรื่อย ๆ แต่มะเขือเทศพันธุ์ 154 ซึ่งเป็นพันธุ์กึ่งเลื้อย (semi-determinate growth) กลับให้ผลผลิตสูงกว่า อาจเป็นเพราะพันธุ์ 154 มีร้อยละของการติดผลสูง (Fig. 2) และมีน้ำหนักต่อผลสูงกว่าพันธุ์หมายเลข 1, หมายเลข 2, และ 603 (Table 2)

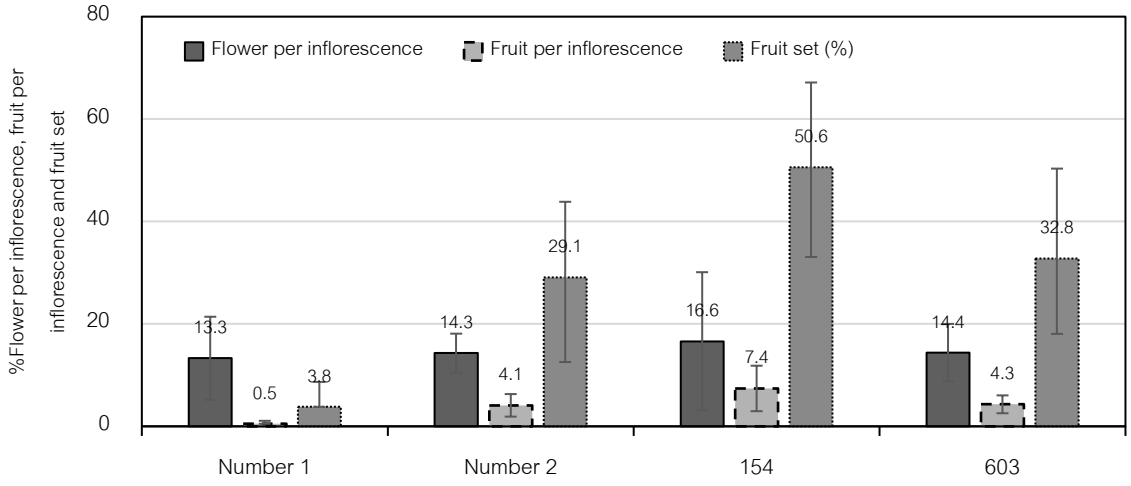


Fig. 2 Flower per inflorescence, fruit per inflorescence and fruit set of 4 cherry tomato cultivars grown in the greenhouse

คุณภาพของผลมะเขือเทศ

ผลของมะเขือเทศพันธุ์หมายเลข 1 มีเนื้อแน่นแข็งโดยมีความแน่นเนื้อ 1.5 นิวตันต่อมิลลิเมตร และรสชาติหวานโดยมีค่า TSS/TA เท่ากับ 12.5 ในขณะที่พันธุ์ 154 มีเนื้อนิ่มกว่า โดยมีความแน่นเนื้อ 1.3 นิวตันต่อมิลลิเมตร รสชาติอมเปรี้ยว โดยมีค่า TSS/TA เท่ากับ 7.7 ซึ่งเป็นค่าที่น้อยที่สุด 7.7 (Table 2) โดยมาตรฐานการผลิตมะเขือเทศเชอรี่ความแน่นเนื้อต้องมีค่ามากกว่า 1.28 นิวตันต่อมิลลิเมตร (Ali, 2004) ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้สูงกว่า 8 องศาบริกซ์ (อรรถพล และคณะ, 2558) จากผลการทดลองในครั้งนี้พบว่ามะเขือเทศทั้ง 4 พันธุ์มีค่าความแน่นเนื้อได้ตามมาตรฐานที่ตลาดยอมรับได้ แต่ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ต่ำกว่ามาตรฐานกำหนด อาจจะเป็นเพราะว่าการปลูกมะเขือเทศในโรงเรือนในช่วงฤดูฝน เป็นการปลูกในสภาพที่มีความเข้มแสงต่ำ (Fig. 3) ความชื้นสัมพัทธ์และอุณหภูมิสูง (Fig. 3) ซึ่งสภาพแวดล้อมเช่นนี้ทำให้พืชมีการคายน้ำน้อย การดูดใช้ธาตุอาหารก็จะเกิดขึ้นน้อย

และการสังเคราะห์ด้วยแสงเกิดขึ้นได้น้อย (Camejo et al., 2005) ทำให้พืชสร้างอาหารได้น้อยลง ซึ่งคือแป้งและน้ำตาล ทำให้น้ำตาลถูกเคลื่อนย้ายไปสะสมในผลได้ลดลง

Table 2 Fruit fresh weight, total fresh weight, firmness, total soluble solids (TSS) and titratable acidity (TA) of cherry tomato grown in the greenhouse

Cultivar	Fruit fresh weight (g/fruit)	Total fresh weight (g/plant)	Firmness (N/mm)	TSS (°Brix)	TA (%)	TSS/TA
Number 1	1.8[c]	102.1[c]	1.5±0.4	7.8[a]	0.7±0.1	12.5[a]
Number 2	6.3[b]	329.6[b]	1.6±0.2	6.3[b]	0.5±0.2	14.2[a]
154	10.9[a]	1058.6[a]	1.3±0.4	4.8[c]	0.7±0.1	7.7[b]
603	7.3[b]	422.6[b]	1.3±0.5	7.3[ab]	0.6±0.9	12.8[a]
F-test	*	*	ns	*	ns	*
C.V. (%)	56.6	79.8	28.7	24.6	23.5	33.3

* Means followed by the same alphabet are not significantly different when least significant difference (LSD) method of mean comparison at 95% confidence

ns means non-significant difference

ข้อมูลสภาพอากาศภายในโรงเรือน

ข้อมูลสภาพอากาศในโรงเรือนพบว่าในเดือนกันยายนมีความเข้มแสงเฉลี่ยสูงที่สุด เท่ากับ 867.58 μmol/m^{2}s ส่วนความเข้มแสงเฉลี่ยต่ำสุด เท่ากับ 151 μmol/m^{2}s (Fig. 3) ความชื้นสัมพัทธ์เฉลี่ย 70–95% (Fig. 3) อุณหภูมิช่วงกลางวันเฉลี่ย 29.5 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิกลางคืนเฉลี่ย 25.6 องศาเซลเซียส (Fig. 3)

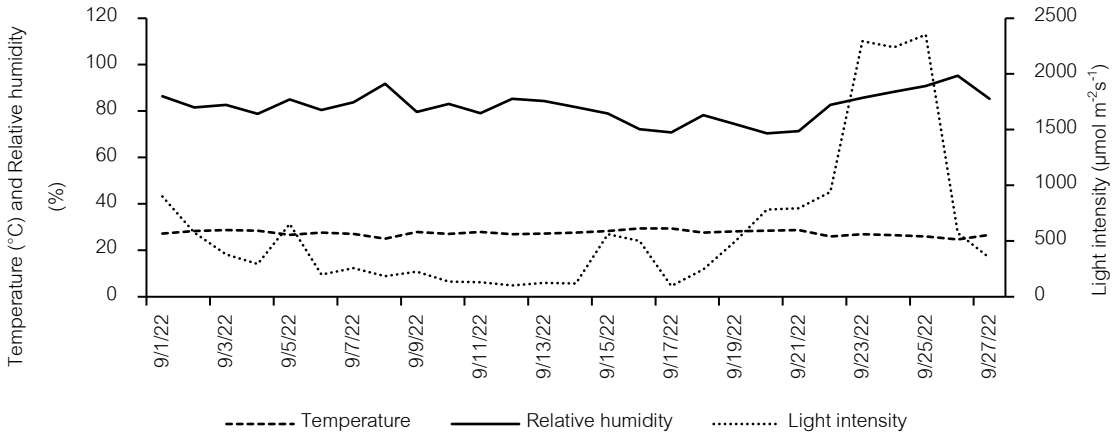


Fig. 3 Temperature (°C), relative humidity (%) and light intensity (μmol/m^{2}s) inside the greenhouse during cherry tomato cultivation (September 2022)

สรุป

จากการศึกษาพบว่ามะเขือเทศเชอรี่พันธุ์หมายเลข 2 มีความสูงของต้นมากที่สุด และพันธุ์ 154 มีร้อยละของการติดผลและน้ำหนักผลต่อต้นสูงที่สุด คือ 50.6% และ 1,058.6 กรัมต่อต้น ตามลำดับ ด้านคุณภาพผลผลิตพบว่าความแน่นเนื้อของพันธุ์หมายเลข 2 มีค่าสูงที่สุด คือ 1.61 นิวตันต่อมิลลิเมตร พันธุ์หมายเลข 1 มีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้คือ 7.8 °Brix ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับพันธุ์ 154 ซึ่งมีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้เพียง 4.78 °Brix พันธุ์ 154 จึงน่าจะเป็นพันธุ์ที่เหมาะสมสำหรับการปลูกในโรงเรือนช่วงฤดูฝน เพราะให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์อื่น ๆ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน)

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2563. การผลิตมะเขือเทศ. https://www.doa.go.th/hort/wp-content/uploads/2020/01/การผลิตมะเขือเทศ.pdf, 16 ธันวาคม 2565.

กรุง สีตะธนี, วิทยา เศรษฐวิทยา, เฉลิมพล มากมูล และฐาปานี อาตมางกูร. 2541. มะเขือเทศเชอรี่, ยี่สิบปีสืบสาน. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.

กรุง สีตะธนี. 2558. เกษตรนวัตกรรม รวบรวมผลงานนวัตกรรมทางการค้นคว้าวิจัยในวาระครบรอบ 72 ปี แห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.

เกศกนก วงศ์ชยานันท์ และคมกฤษณ์ แสงเงิน. 2563. ผลของปุ๋ยหมักมูลไส้เดือนต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของมะเขือเทศเชอรี่. วารสารวิจัยและพัฒนาวไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ 15(1): 115–123.

เกียรติเกษตร กาญจนพิสุทธิ์. 2541. มะเขือเทศ. ฐานเกษตรกรรม, นนทบุรี.

จันทร์สุดา โหมดนอก, ณัฐริกา บดีรัฐ, ธนิดา ถาน้อย, จุฑามาศ คุ้มชัย, พัชราภรณ์ สุวอ, ธัญญารัตน์ ตาอินต๊ะ, สุชีลา เตชะวงค์เสถียร และนครินทร์ จี้อาทิตย์. 2565. ผลผลิตและคุณภาพการบริโภคของสายพันธุ์มะเขือเทศเชอร์รี่ลูกผสมชั่วที่ 1 ที่ปลูกภายใต้โรงเรือนพลาสติกตาข่ายและโรงเรือนระบบปิดระบบปิด. วารสารเกษตร 38 (3): 381–392.

ชญานิษฐ์ นกแก้ว. 2563. มะเขือเทศพันธุ์ใหม่ ต้านไวรัสใบหงิก เกษตรกรปลอดภัย-ลดต้นทุน. https://www.bangkokbiznews.com/tech/868855, 16 ธันวาคม 2565.

นายผัก. 2551. มะเขือเทศเชอรี่ (Cherry Tomato). https://vegetweb.com/มะเขือเทศเชอรี่/, 9 มกราคม 2567.

บริษัท เพื่อนเกษตรกร จำกัด. 2563. มะเขือเทศเชอรี่โทนี่ TA104. เพื่อนเกษตรกร 54: 11.

ประเสริฐ เครืออ่อน. 2547. ธุรกิจเมล็ดพันธุ์ผัก: ธุรกิจพันธุ์ล้านบานบนเส้นทางอันขรุขระ. วารสารเคหการเกษตร 28(11): 173–182.

ปริญญา เทพณรงค์. 2556. อิทธิพลของอุณหภูมิและอายุการเก็บรักษาต่อการเกิดอาการสะท้านหนาวในมะเขือเทศเชอรี่ (*Lycopersicon esculentum* CV. CH154) และการประยุกต์ใช้แคลเซียมเพื่อลดอาการ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

พงศธร กลัดเพ็ชร และโชคชัย ไผ่ชู. 2559. ผลของชุดปลูกเคลื่อนที่ต่อการเจริญเติบโตของมะเขือเทศ. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์.

มณีฉัตร นิกรพันธุ์. 2538. มะเขือเทศ. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพมหานคร.

สมภพ พานทอง. 2556. การพัฒนาวัสดุเพาะกล้าที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นกล้าและวัสดุปลูกที่มี ประสิทธิภาพควบคุมโรคโคนเน่าของมะเขือเทศซึ่งเกิดจากเชื้อรา *Sclerotium rolfsii*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สัญญา ควรคิด, ก้องภพ ชาอามาตย์ และวาร์ธินีย์ แสนยศ. 2562. ระบบควบคุมการจัดการน้ำแบบน้ำหยดสำหรับการปลูกมะเขือเทศในโรงเรือนโดยการอ้างอิงฐานเวลาและปริมาณการใช้น้ำของพืช. วารสารมหาวิทยาลัยมหาสารคาม 38(2): 187-196.

อรรถพล รุกขพันธ์, จิรภา ออสติน, รัชนี ศิริยาน และเสาวนี เขตสกุล. 2558. การปรับปรุงพันธุ์มะเขือเทศเพื่อเพิ่มผลผลิตคุณภาพผลผลิตและทนทานโรค. รายงานโครงการวิจัย, กรมวิชาการเกษตร.

Ali Batu. 2004. Determination of acceptable firmness and color values of tomatoes. J. Food Eng. 61: 471-475.

Avdikos, I.D., Tagiakas, R., Tsouvaltzis, P., Mylonas I., Xynias, I.N., Mavromatis, A.G. 2021. Comparative evaluation of tomato hybrids and inbred lines for fruit quality traits. Agronomy 11(3): 609. doi.org/10.3390/agronomy11030609

Camejo D., Pedro H.R., Ma, M.A., José, R.M.D., Arturo, T., Juan, A.J. 2005. High temperature effects on photosynthetic activity of two tomato cultivars with different heat susceptibility. J. Plant Physiol. 162(3): 281-289. doi.org/10.1016/j.jplph.2004.07.014

Raffo, A., Leonardi, C., Fogliano, V., et al. 2002. Nutritional value of cherry tomatoes (*Lycopersicon esculentum* cv. Naomi F1) harvested at different ripening stages. J. Agr. Food Chem. 50: 6550–6556. doi.org/10.1021/jf020315t

Resh, M.H. 1978. Hydroponics for food production. Woodbridge Press Publishing Company, California, CA, USA.

Sato, S., Peet, M.M., Thomas, J.F. 2002. Determining critical pre- and post-anthesis periods and physiological processes in *Lycopersicon esculentum* Mill. exposed to moderately elevated temperatures. J. Exp. Bot. 53(371): 1187–1195. doi.org/10.1093/jexbot/53.371.1187

Susuki, M., Umeda, H., Matsuo, S., Kawasaki, Y., Ahn, D., Hamamoto, H., Iwasaki, Y. 2015. Effects of relative humidity and nutrient supply on growth and nutrient uptake in greenhouse tomato production. Sci. Hortic. 187: 44-49. doi.org/10.1016/j.scienta.2015.02.035

ปัจจัยที่ส่งผลต่อการเลือกบริหารจัดการใบอ้อยหลังการเก็บเกี่ยวของเกษตรกร

The factors influencing the post-harvest sugarcane management selection by farmers

สุดารินทร์ รอดมณี[a,*], **อนุพงศ์ วงศ์ไชย**[b,c], **ลักษณา โชติคุต**[c], **ศักดา ทวิชศรี**[c], **เอื้อมพร ลอยประดิษฐ์**[c]

Sudarin Rodmanee [a,*], Anupong Wochchai[b,c], Luksana Chotikut[c], Sakda Thawichsri[c], Aeumporn Loypradit[c]

[a] สำนักวิจัยเศรษฐกิจการเกษตร สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กรุงเทพฯ 10900

[b] คณะเศรษฐศาสตร์และการลงทุน มหาวิทยาลัยกรุงเทพ ปทุมธานี 12120

[c] สำนักประกอบการสังคม สถาบันอาศรมศิลป์ กรุงเทพ ฯ 10150

[a] Bureau of Agricultural Economics Research, Office of Agricultural Economics, Bangkok 10900, Thailand

[b] Faculty of Economics and Investment, Bangkok University, Pathum Thani 12120, Thailand

[c] Department of Social Entrepreneur, Arsom Silp Institute of The Arts, Bangkok 10150, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: sudarin@hotmail.com

บทคัดย่อ

การเผาใบอ้อยหลังการเก็บเกี่ยวสร้างมลพิษทางอากาศ ก่อให้เกิดปัญหาสุขภาพ สังคม และการท่องเที่ยว งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อการเลือกบริหารจัดการใบอ้อยหลังการเก็บเกี่ยวของเกษตรกร โดยใช้แบบสัมภาษณ์กึ่งโครงสร้าง และการจัดสนทนากลุ่ม เก็บข้อมูลจากกลุ่มตัวอย่างเกษตรกรที่ตัดอ้อยสดทั่วประเทศของปีการผลิต 2564/65 จำนวน 1,080 ราย พบว่า เกษตรกรชาวไร่อ้อย ใช้แรงงานคนตัดอ้อยสด 64.17% และใช้รถตัดอ้อย 35.83% โดยมีวิธีการจัดการใบอ้อย ดังนี้ (1) เผา 32.87% (2) คลุมดิน 50.83% (3) อัดใบส่งขายโรงไฟฟ้าชีวมวล 13.43% (4) ขายเพื่อนำไปแปรรูปเป็นปุ๋ยและอาหารสัตว์ 1.85% และ (5) แจกฟรี 1.02% โดยปัจจัยที่ส่งผลต่อการเลือกวิธีการจัดการใบอ้อยหลังการเก็บเกี่ยว ประกอบด้วย (1) วิธีการเก็บเกี่ยวอ้อย (2) ลักษณะใบอ้อย ขนาด และน้ำหนัก (3) การไว้ตออ้อย (4) ปริมาณ และความหนาของใบอ้อยในแปลง (5) ความเสี่ยงต่อการเกิดไฟไหม้ (6) การบริการรวบรวมและรับซื้อใบอ้อยในพื้นที่ และ (7) การมีเครื่องจักรอุปกรณ์อัดใบอ้อย

คำสำคัญ: การบริหารจัดการ, ใบอ้อย, อ้อยไฟไหม้

Abstract

Burning sugarcane leaves after harvesting is an activity that generates air pollution, leading to health, societal, and tourism-related issues. The objective of this research is to study the factors influencing farmers' choices in managing sugarcane leaves after harvesting. The study employed a semi-structured interview questionnaire and group discussions, targeting 1,080 sugarcane farmers involved in fresh sugarcane cutting across the country in the 2021/22 harvest season. The findings indicate that 64.17% of sugarcane farmers use manual labor for fresh sugarcane cutting, while 35.83% utilize mechanical harvesters. The methods of sugarcane leaf management include (1) burning 32.87%, (2) soil covering 50.83%, (3) bundling leaves for biomass power plants 13.43%, (4) selling for processing into fertilizer and animal feed 1.85%, and (5) distributing for free 1.02%. Factors influencing the choice of post-harvest management methods include (1) the method of sugarcane harvesting, (2) characteristics of sugarcane leaves (size and weight), (3) how sugarcane stalks are left in the field after cutting, (4) the quantity and thickness of sugarcane leaves in the field, (5) the risk of fire occurrence, (6) the availability of services for leaf collection and purchase in the area, and (7) the presence of machinery and equipment for leaf bundling.

Keywords: Burning sugarcane, Management, Sugarcane leaves

คำนำ

อ้อยมีบทบาทสำคัญในเศรษฐกิจไทย เนื่องจากเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตน้ำตาลและพลังงานทดแทน อีกทั้งเป็นวัตถุดิบสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม ฤดูการผลิตปี 2564/65 มีเกษตรกรปลูกอ้อย 227,984 ราย พื้นที่เก็บเกี่ยว 8.92 ล้านไร่ ซึ่งไทยส่งออกน้ำตาลเป็นมูลค่า 48,499 ล้านบาท (3.565 ล้านตัน) โดยมีตลาดส่งออกสำคัญอยู่ที่อินโดนีเซีย เวียดนาม สาธารณรัฐเกาหลี และไต้หวัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2565) ต้นทุนการผลิตอ้อยโดยเฉลี่ยทั้งประเทศ 10,973.78 บาทต่อไร่ (1,185.54 บาทต่อตัน) เป็นผลมาจากต้นทุนการเก็บเกี่ยวที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย 4.22% ในปี 2564/65 มีปริมาณอ้อยเข้าหีบ 92.07 ล้านตัน แบ่งเป็นอ้อยสด 72.72% และอ้อยไฟไหม้ 27.28% (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2565) โดยเกษตรกรต้องเผชิญกับต้นทุนการเพาะปลูกสูง คุณภาพอ้อยที่เสี่ยงจากปัญหาอ้อยไฟไหม้ขาดแคลนแรงงานตัดอ้อยเนื่องจากการระบาดของเชื้อไวรัสโคโรนา 2019 (Covid-19) จึงทำให้เกษตรกรส่วนใหญ่มักเลือกใช้วิธีการเผาก่อนการเก็บเกี่ยว (ชัยวัฒน์ และปาจรีย์, 2555)

ปัจจุบันเกษตรกรชาวไร่อ้อยมีวิธีการเก็บเกี่ยวอ้อย 3 วิธี คือ การตัดอ้อยสดโดยใช้แรงงานคน การใช้รถตัดอ้อย และการเผาไร่อ้อยแล้วตัดอ้อย โดยการตัดอ้อยสดมักมีเศษซากเกิดขึ้น เช่น ลำต้น ยอด และใบอ้อย ส่วนของลำต้นที่ผ่านกระบวนการหีบ (กากอ้อย) จะถูกส่งไปเป็นวัตถุดิบเชื้อเพลิงในโรงงานน้ำตาลเพื่อผลิตพลังงานไฟฟ้า ซึ่งผลการวิจัยพบว่าการใช้ชีวมวลอ้อยนี้มีความคุ้มค่าทางเศรษฐกิจและมีระยะเวลาคืนทุนไม่นาน (นิตยากานต์, 2558) ส่วนยอดและใบอ้อยถูกทิ้งไม่ได้นำมาใช้ประโยชน์ ซึ่งเกษตรกรบางรายจะทำการเผายอดและใบอ้อยทิ้งไป ส่งผลให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อม เช่น ภาวะเรือนกระจก ฝุ่น PM 2.5 และผลกระทบต่อการเกษตรโดยตรง (วิรัตน์ และคณะ, 2557)

จากข้อมูลฤดูการผลิตปี 2564/65 พบว่าผลผลิตอ้อยเฉลี่ยที่ได้คือ 10.81 ตันต่อไร่ โดยมีค่าสัดส่วนชีวมวลต่อผลผลิต (Crop Residue Ratio: CRR) ของใบอ้อยเท่ากับ 0.302 (วีรชัย, 2554) หรือมีชีวมวลใบอ้อยประมาณ 3.26 ตันต่อไร่ ซึ่งใบอ้อยมีศักยภาพสูงสามารถที่จะนำไปพัฒนาเป็นปุ๋ย ภาชนะ และเชื้อเพลิงชีวมวลโดยผ่านกระบวนการจัดการ แต่ทว่าการเผาไร่อ้อยและการตัดอ้อยไฟไหม้ทำให้ไม่มีชีวมวลใบอ้อย ดังนั้นจึงต้องหาวิธีลดการเผาอ้อยของเกษตรกรและส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากชีวมวลอ้อยในกิจกรรมทางเกษตรหรือสร้างรายได้ต่อไป ด้วยเหตุผลดังกล่าว งานวิจัยนี้จึงศึกษาการจัดการชีวมวลอ้อยของเกษตรกรด้วยรูปแบบวิธีต่าง ๆ รวมถึงปัจจัยที่ส่งผลต่อการตัดสินใจของเกษตรกรในการเลือกวิธีจัดการใบอ้อยที่แตกต่างกัน

การตรวจเอกสาร

การเผาอ้อยและผลกระทบ

การเผาอ้อยอาจเป็นการลดต้นทุนในการเก็บเกี่ยวผลผลิตหรือเตรียมดินเพื่อการเพาะปลูกรอบถัดไป แต่ผลกระทบที่เกิดขึ้นอาจสร้างปัญหาให้กับพื้นที่อื่น ๆ หรือแม้แต่พื้นที่ปลูกอ้อยเองก็ตาม

1. ด้านการเกษตร

มีผลการศึกษาที่เกี่ยวกับผลกระทบของการเผาอ้อยก่อนการเก็บเกี่ยว ได้แก่ การเก็บเกี่ยวโดยใช้วิธีการเผาทำให้น้ำหนักของอ้อยลดลงมากกว่าการตัดสด ความเข้มข้น และความหวานของอ้อยลดน้อยลง เพราะเมื่อโดนความร้อนอ้อยจะดูดความชื้นและน้ำในดินขึ้นมายังลำต้นทำให้ค่าความหวานลดลง ทำให้ลำต้นเกิดการแตกและมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ส่งผลต่อกระบวนการผลิตน้ำตาลที่มีประสิทธิภาพลดลง อีกทั้งอินทรียวัตถุและธาตุอาหารในดินถูกทำลาย ส่งผลต่อต้นทุนการผลิตที่เพิ่มสูงขึ้น และยังทำให้สูญเสียไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ทำให้ดินเสื่อมโทรม

เนื่องจากดินอัดแน่นมากขึ้น ไม่ร่วนซุย กักเก็บน้ำได้น้อยลง และมีช่องว่างอากาศในดินน้อยลง ทำให้ผลผลิตตกต่ำ เนื่องจากพืชเจริญเติบโตได้ไม่เต็มที่ การเผาทำลายทำให้น้ำในดินระเหยไปที่บรรยากาศ ความชื้นในดินจึงลดลง นอกจากนี้แมลงควบคุมศัตรูพืชและจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อดินถูกทำลาย อาจทำให้เกิดการแพร่ระบาดของโรคง่ายขึ้น เกิดข้อกีดกันการค้าระหว่างประเทศ เนื่องจากน้ำตาลที่ผลิตจากอ้อยไฟไหม้ถือว่าทำลายสิ่งแวดล้อม ทำให้ประเทศต่าง ๆ ทั่วโลกได้ร่วมกันกำหนดนโยบายและมาตรการป้องกันด้วยการไม่รับซื้อสินค้าที่มีผลิตจากการทำลายสิ่งแวดล้อม (ละอองดาว และธวัชชัย, 2548; สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2565)

2. ด้านสุขภาพอนามัยของประชาชน

การเผาอ้อยก่อนการเก็บเกี่ยวทำให้เกิดมลพิษในรูปของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) คาร์บอนมอนอกไซด์ (CO) และออกไซด์ของไนโตรเจน (NO_x) รวมทั้งฝุ่นละอองขนาดเล็ก (PM2.5 และ PM10) ซึ่งงานวิจัยส่วนใหญ่ได้ทำในประเทศบราซิล สหรัฐอเมริกา และเม็กซิโก ฝุ่นละอองขนาดเล็ก (PM 2.5) สามารถกระจายไปสู่ระบบทางเดินหายใจของมนุษย์ได้ และสะสมในส่วนต่าง ๆ ของระบบทางเดินหายใจ เช่น หลอดลมอักเสบ การระคายเคือง และทำลายเนื้อเยื่อ รวมทั้งสามารถทำให้เกิดอาการหอบหืด ถุงลมโป่งพอง และอาจเกิดโรคระบบทางเดินหายใจ นอกจากนี้ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ (CO) สามารถทำให้เกิดอาการปวดศีรษะ คลื่นไส้ อ่อนเพลีย และในกรณีที่ได้รับปริมาณมากและสะสมเป็นเวลานาน อาจทำให้หมดสติและเสียชีวิต นอกจากนี้ก๊าซไนโตรเจนไดออกไซด์ (NO_2) สามารถทำให้เกิดอาการระคายเคืองตาและผลกระทบต่อระบบทางเดินหายใจได้ (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2565)

3. ด้านสิ่งแวดล้อม

การเผาอ้อยก่อนการเก็บเกี่ยวเป็นแหล่งกำเนิดมลพิษทางอากาศที่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม นำมาซึ่งก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ (CO) ที่มีระดับสูงกว่ามาตรฐานคุณภาพอากาศ ทำให้เกิดปัญหาทางอากาศและสภาพภูมิอากาศไม่ปกติ เช่น ฝนไม่ตกตามฤดูกาล การเผาใบอ้อยก่อนการเก็บเกี่ยวมีความชื้นสูง ทำให้มีการปล่อยก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์ (CO) เกินมาตรฐาน เกิดมลพิษทางอากาศ กระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ โดยมีค่าเฉลี่ยสูงสุดที่ 165 ppm ซึ่งสูงกว่ามาตรฐานถึง 5 เท่าของประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 10 (ชัยวัฒน์ และปาจรีย์, 2556) การเก็บเกี่ยวอ้อยไฟไหม้ และอ้อยตัดสดแบบเผาใบอ้อยหลังตัดมีการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์มากกว่าการเก็บเกี่ยวอ้อยตัดสดแบบไม่เผาใบอ้อยหลังตัดประมาณ 38 เท่าสำหรับอ้อยปลูกใหม่ และ 52 เท่าสำหรับอ้อยตอ ดังนั้น ควรมีการเก็บเกี่ยวแบบอ้อยตัดสด และไม่เผาใบหลังตัดเพื่อลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

4. ด้านการท่องเที่ยว

การเผาอ้อยมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และเศรษฐกิจในพื้นที่ เช่น ภาคเหนือของไทยที่ประสบปัญหาหมอกควันจากการเผาป่าและพื้นที่เกษตร เกิดหมอกควัน เป็นสาเหตุของอุบัติเหตุบนถนน ทั้งนี้ รถบรรทุกอ้อยมักทำให้ถนนสกปรกและเสียหายเนื่องจากน้ำหนักเกิน เกิดความเสียหายทั้งทางสิ่งแวดล้อมและการขนส่ง (ชัยวัฒน์ และปาจรีย์, 2556)

งานวิจัยเกี่ยวกับการจัดการอ้อยไฟไหม้

วุฒิพันธุ์ (2558) พบว่า ผู้ประกอบการไร่อ้อยในจังหวัดนครปฐมประสบปัญหาแรงงาน ทำให้ต้องจ้างแรงงานจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และนิยมใช้วิธีการเผาใบอ้อยก่อนการเก็บเกี่ยว เพื่อลดปัญหาด้านแรงงาน แต่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและราคาอ้อย และพบว่าเหตุผลที่เกษตรกรเก็บเกี่ยวผลผลิตด้วยวิธีอ้อยไฟไหม้ เนื่องจากความสะดวกรวดเร็ว

ในการเก็บเกี่ยว การขาดแคลนแรงงานตัดอ้อยสด พันธุ์อ้อยมีกาบใบมาก และลำต้นหักล้มง่าย รวมถึงอำนาจการตัดสินใจขึ้นอยู่กับผู้รับซื้อ โดยมีการเสนอมาตรการลดการเผาอ้อยโดยให้ทั้งเกษตรกรและโรงงานน้ำตาลรับผิดชอบร่วมกัน และนำเงินที่ได้ไปเฉลี่ยคืนให้แก่เกษตรกรที่ตัดอ้อยสดขาย เพื่อจูงใจให้เกษตรกรเผาไร่อ้อยลดลง (นภสม, 2562)

งานวิจัยเกี่ยวกับการเพิ่มมูลค่าให้ใบอ้อย ยอดอ้อย และกากอ้อย และการใช้ประโยชน์จากชีวมวลอ้อยของประเทศไทย

ใบอ้อยมีลักษณะเหมือนใบข้าวขนาดใหญ่แบ่งเป็น กาบใบ และแผ่นใบ มักนำไปใช้ทำอาหารสัตว์ เป็นเชื้อเพลิง และใช้เป็นวัสดุคลุมดินหรือบำรุงดิน มีการวิจัยที่นำใบอ้อยไปผลิตเป็นไม้อัด (สะอาด, 2557) เส้นใยที่ผสมกับฝ้าย (พรศิริ, 2560) และเยื่อกระดาษสำหรับบรรจุภัณฑ์ (วิชัย, 2551) ปัจจุบัน มีการนำใบอ้อยมาใช้เป็นเชื้อเพลิงชีวมวลสำหรับผลิตพลังงานไฟฟ้าในโรงไฟฟ้าน้ำตาล การเก็บใบอ้อยนำไปจำหน่ายเป็นเชื้อเพลิงเสริมมีประโยชน์หลายด้าน เช่น เพิ่มรายได้ ลดความเสี่ยงอ้อยเสียหาย และสร้างภาพลักษณ์ที่ดีต่ออุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาล มีผลดีต่อดิน ป้องกันการเกิดไฟไหม้ และรักษาน้ำหนักอ้อย

การนำใบอ้อยมาใช้เป็นเชื้อเพลิงในโรงงานน้ำตาลและโรงไฟฟ้ามีประโยชน์มาก เนื่องจากจำนวนใบอ้อยที่เผาทิ้งทั่วไปมีมากถึง 70% ของปริมาณทั้งหมด ทำให้การใช้ใบอ้อยเป็นเชื้อเพลิงเสริมสามารถลดปัญหาสิ่งแวดล้อม และเพิ่มรายได้ให้เกษตรกรได้ อนุวัฒน์ และธีรวัฒน์ (2562) พบว่า ประโยชน์ที่เกษตรกรได้รับและต้องเร่งสนับสนุนให้เกิดการเก็บใบอ้อยเพิ่มขึ้น เนื่องจากเศษใบอ้อยที่ตกค้างในแปลงทำให้ดินสามารถเก็บความชื้นได้ดี มีธาตุอาหารจากเศษใบอ้อยที่ช่วยปรับโครงสร้างดิน ส่งผลให้แมลงที่เป็นประโยชน์ต่ออ้อยไม่ตายจากการถูกเผา ลดปัญหาฝุ่นเขม่า และป้องกันการระบาดของหนอนกอและแมลงศัตรูอ้อย นอกจากนี้ การไม่เผาใบอ้อยยังไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม ลดความเสี่ยงไฟไหม้แปลงอ้อยที่อยู่ข้างเคียง จากข้อมูลที่ได้กล่าวถึง ทำให้เห็นว่าใบอ้อยมีคุณค่าและประโยชน์มากมาย มีคุณค่าทางเศรษฐกิจและสิ่งแวดล้อม สร้างประโยชน์ทั้งต่อชาวไร่และโรงงานน้ำตาลในการสร้างเพิ่มมูลค่าเพิ่ม

การรวบรวมชีวมวลอ้อยเพื่อเป็นเชื้อเพลิง

การนำใบอ้อยมาใช้ประโยชน์ในอดีตมุ่งเน้นการคลุมดินในการเกษตร แต่ในปัจจุบันมีการนำใบอ้อยมาเพิ่มมูลค่าในอุตสาหกรรมการผลิตพลังงานและความร้อนที่เป็นทางเลือกเพื่อลดต้นทุน วีรชัย (2554) ได้ศึกษาการรวบรวมใบอ้อยโดยการอัดเป็นก้อนและนำไปใช้งาน สอดคล้องกับ มีการนำใบอ้อยไปใช้ในการผลิตกระแสไฟฟ้าของโรงงานน้ำตาลในประเทศบราซิล โดยรวบรวมใบอ้อย 2 ลักษณะ คือ การอัดใบอ้อยเป็นก้อนแบบม้วนกลม และก้อนสี่เหลี่ยม ซึ่งการอัดก้อนสี่เหลี่ยมมีความเหมาะสมมากกว่าก้อนม้วนกลม เพราะมีปริมาณและความหนาแน่นมากกว่า และต้นทุนการเก็บรวบรวมใบอ้อยด้วยการใช้เครื่องอัดก้อนมีต้นทุนที่สูงที่สุด (Hassuani et al., 2005; Pierossi et al., 2016) นอกจากนี้ พชรอร และคณะ (2557) ทำการศึกษาต้นทุนของกระบวนการอัดก้อนยอดและใบอ้อยสำหรับขายเป็นชีวมวลในโรงงานผลิตพลังงาน และเพชรลักษณ์ และคณะ (2564) พบว่าในอดีตแม้เกษตรกรชาวไร่อ้อยจะใช้บริการรถตัดอ้อย แต่สุดท้ายก็ต้องเผาใบอ้อยที่กองทิ้งไว้อยู่ดี เพราะไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ จึงแนะนำให้สร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่ใบอ้อยที่คุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์

วิธีการดำเนินการวิจัย

การเก็บรวมรวมข้อมูล

การเก็บรวมรวมข้อมูลจะแบ่งออกเป็น ข้อมูลปฐมภูมิ และข้อมูลทุติยภูมิ โดยมีรายละเอียดดังนี้

1. ข้อมูลปฐมภูมิ (Primary Data)

1) พื้นที่ที่ทำการศึกษา จังหวัดที่มีจำนวนเกษตรกรชาวไร่อ้อย ในฤดูการผลิตปี 2564/65 ที่ตัดอ้อยสดรวมกันแล้วเกิน 70% ของประชากรชาวไร่อ้อยทั้งหมดในแต่ละภูมิภาคที่มีการปลูกอ้อยโรงงาน โดยภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มีจำนวนเกษตรกรชาวไร่อ้อยรวมกันแล้วเกิน 70% ใน 5 จังหวัด ได้แก่ สุรินทร์ นครราชสีมา ขอนแก่น กาฬสินธุ์ และชัยภูมิ ภาคเหนือ จำนวน 3 จังหวัด ได้แก่ เพชรบูรณ์ กำแพงเพชร และนครสวรรค์ ภาคกลาง จำนวน 4 จังหวัด ได้แก่ อุทัยธานี กาญจนบุรี สุพรรณบุรี และสิงห์บุรี และภาคตะวันออก จำนวน 1 จังหวัด ได้แก่ สระแก้ว

2) ประชากรกลุ่มเป้าหมาย ฤดูการผลิตปี 2564/65 มีเกษตรกรชาวไร่อ้อยจำนวนทั้งสิ้น 227,984 ราย ใน 4 ภูมิภาค ได้แก่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จำนวน 153,390 ราย (67.28%) ภาคเหนือ จำนวน 41,375 ราย (18.15%) ภาคกลาง จำนวน 28,515 ราย (12.51%) และภาคตะวันออก จำนวน 4,704 ล้านตัน (2.06%) ตามลำดับ และสมาคมชาวไร่อ้อยได้ประมาณการจำนวนเกษตรกรชาวไร่อ้อยที่ตัดอ้อยสดส่งให้โรงงานน้ำตาล ในปีการผลิต 2564/65 มีประมาณ 70% ของเกษตรกรชาวไร่อ้อยทั้งหมดหรือประมาณ 159,589 ราย แต่เนื่องจากการเก็บข้อมูลอยู่ในช่วงสถานการณ์การแพร่ระบาดของ Covid-19 ผู้วิจัยได้จึงเก็บตัวอย่างตามอัตราส่วนของจำนวนประชากรกลุ่มเป้าหมายในแต่ละภูมิภาค โดยเก็บข้อมูลจากกลุ่มตัวอย่างจำนวน 1,080 ราย

3) ขนาดตัวอย่าง เกษตรกรชาวไร่อ้อยที่ตัดอ้อยสด จำนวน 1,080 ราย เก็บรวบรวมข้อมูลโดยการสัมภาษณ์เกษตรกรผู้ปลูกอ้อยโรงงานของปีการผลิต 2564/65 ในพื้นที่ 13 จังหวัดที่มีการปลูกอ้อยโรงงานจำนวนมาก อีกทั้งยังเป็นที่ตั้งของโรงงานผลิตไฟฟ้าชีวมวล ได้แก่ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 5 จังหวัด (สุรินทร์ นครราชสีมา ขอนแก่น กาฬสินธุ์ และชัยภูมิ) ภาคเหนือ 3 จังหวัด (เพชรบูรณ์ กำแพงเพชร และนครสวรรค์) ภาคกลาง 4 จังหวัด (อุทัยธานี กาญจนบุรี สุพรรณบุรี และสิงห์บุรี) และภาคตะวันออก 1 จังหวัด (สระแก้ว) ซึ่งการจัดเก็บข้อมูลในครั้งนี้นอกเหนือจากการสัมภาษณ์เกษตรกรแล้ว ยังใช้วิธีการจัดสนทนากลุ่มของเกษตรกรในประเด็นเกี่ยวกับการจัดการใบอ้อย

4) การเก็บข้อมูลโดยใช้แบบสัมภาษณ์กึ่งโครงสร้าง (Semi-Structured Interview) และแบบสัมภาษณ์เป็นเครื่องมือเพื่อสอบถามเกษตรกรกลุ่มตัวอย่าง ซึ่งมีทั้งข้อคำถามปลายเปิด (Open – Ended Question) และปลายปิด (Closed – Ended Question) โดยแบบสัมภาษณ์ประกอบด้วย 6 ส่วน ได้แก่ (1) สถานภาพครัวเรือน (2) สภาพการผลิตอ้อยโรงงาน (3) การจัดการใบอ้อยหลังการเก็บเกี่ยว (4) ข้อดี ข้อเสีย ปัญหา/อุปสรรค และข้อเสนอแนะ ของการจัดการใบอ้อยหลังการเก็บเกี่ยว

5) การเก็บข้อมูลโดยการจัดสนทนากลุ่ม (Focus Group) เป็นการเก็บรวบรวมข้อมูลจากนักวิจัยที่เป็นผู้ป้อนคำถาม และตั้งประเด็นให้เกิดการพูดคุย และแสดงความคิดเห็นแบบมีส่วนร่วม ร่วมกับการสังเกตแบบไม่มีส่วนร่วมจากผู้ช่วยวิจัย 1 คน ที่นั่งสังเกตและจดรายละเอียดที่เกิดขึ้นระหว่างการจัดสนทนากลุ่ม

2. ข้อมูลทุติยภูมิ (Secondary Data) เป็นการรวบรวมข้อมูลจากหน่วยงานราชการ และเอกชน รวมทั้งเอกสารวิชาการ เอกสารประกอบการประชุม/สัมมนา ผลงานวิจัย วารสาร และข้อมูลจากอินเทอร์เน็ตบนเว็บไซต์ที่เกี่ยวข้อง

วิธีการวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลเชิงคุณภาพ (Qualitative Data Analysis) จะนำข้อมูลที่ได้จากการสัมภาษณ์ และการจัดสนทนากลุ่มมาอธิบาย โดยจะวิเคราะห์สภาพทั่วไป วิธีการบริหารจัดการชีวมวลจากใบอ้อยหลังการเก็บเกี่ยวของเกษตรกร สาเหตุที่เกษตรกรเลือกใช้วิธีการจัดการชีวมวลอ้อยในแต่ละวิธี และข้อดีข้อเสียของการบริหารจัดการชีวมวลอ้อยด้วยวิธีการต่าง ๆ

ผลและวิจารณ์ผลการวิจัย

ข้อมูลพื้นฐานทางเศรษฐกิจและสังคมของเกษตรกรผู้ปลูกอ้อย

จากการสำรวจข้อมูลพื้นฐานของเกษตรชาวไร่อ้อยที่ตัดอ้อยสด และมีการบริหารจัดการใบอ้อยหลังการตัดด้วยรูปแบบต่างๆ ทั่วประเทศ ในฤดูการผลิต ปี 2564/65 เกษตรกรผู้ปลูกอ้อยส่วนใหญ่เป็นเพศชาย มีอาชีพเสริมนอกจากปลูกอ้อย ได้แก่ ปลูกพืชไร่อื่น ทำสวน เลี้ยงสัตว์ และรับจ้าง เกษตรกรทุกรายเป็นสมาชิกกับสถาบันชาวไร่อ้อยในพื้นที่ ส่วนใหญ่เก็บเกี่ยวอ้อยโดยใช้คนตัด 64.17% โดยใช้แรงงานคนทั้งคนไทย และประเทศเพื่อนบ้าน เช่น ลาว พม่า และกัมพูชา แต่ต่อมาพบปัญหาขาดแคลนแรงงาน มีการแย่งแรงงานตัดอ้อย (Table 1)

Table 1 Basic Information of Sugarcane Farmers Involved in Fresh Sugarcane Harvesting during the 2021/2022 Production Season (N = 1,080)

General information	Average Quantity
The average age of farmers	51.8 years
Educational Level	Below 6th-grade education level
Average Household Labor Force	2.7 persons หรือ 3 persons
Average Cultivated Area for Sugarcane Farming	60 fields
Characteristics of Land	Hillside (61.58%)
Characteristics of Soil for Sugarcane Farming	Clay (26.30%)
Irrigation Methods Used by Farmers during the Production Season	Rain (58.06%)
Average Farming Experience of Sugarcane Farmers	31.35 years
Preferred Sugarcane Varieties among Farmers	Khon Kaen 3 (97.50%)
Sugarcane Harvesting Practices	Sugarcane Seedlings Year 1 (Newly Planted Sugarcane) (55.65%)
National Average Yield	14.45 tons/field
National Average Leaf Quantity	1.43 tons/field

Source: From survey

การบริหารจัดการใบอ้อยหลังการเก็บเกี่ยว

ในฤดูการผลิตอ้อยโรงงาน ปี 2564/65 พบว่า หลังจากที่เกษตรกรตัดอ้อยสดเรียบร้อยแล้ว 50.83% ใช้วิธีการนำใบอ้อยไปคลุมดินหรือไถกลบในช่วงเตรียมดินเพื่อปลูกอ้อยในปีถัดไป 32.87% เผาใบอ้อยทิ้ง 13.43% อัดก้อนอ้อยส่งขายโรงไฟฟ้าของโรงงานน้ำตาล 1.85% แจกฟรีให้คนที่ต้องการ และ 1.02% ขายเพื่อแปรรูปเป็นอาหารสัตว์และปุ๋ย (Table 2)

จากการจัดสนทนากลุ่มพบว่า วิธีการเก็บเกี่ยวอ้อยส่งผลการจัดการใบอ้อย เช่น เกษตรกรที่เก็บเกี่ยวอ้อยสดโดยใช้แรงงานคนส่วนใหญ่จะเลือกการใช้ใบอ้อยคลุมดิน รองลงมาคือ เผา และอัดก้อนขายโรงไฟฟ้า ในขณะที่เกษตรกรที่ใช้รถตัดอ้อยส่วนใหญ่จะทิ้งใบอ้อยให้คลุมดิน รองลงมาคือ อัดก้อนขายโรงไฟฟ้า และนอกจากนี้ยังพบว่า เกษตรกรที่เก็บเกี่ยวอ้อยด้วยรถตัดส่วนใหญ่จะนิยมอัดก้อนอ้อยขายให้แก่โรงไฟฟ้า โดยมีการจัดการที่แตกต่างกันตามความเหมาะสม ซึ่งแบ่งได้ 3 วิธี คือ (1) เมื่อตัดอ้อยด้วยรถแล้ว เกษตรกรจะขายใบอ้อยให้แก่ให้ผู้รับจ้างอัดใบ และได้รับค่าตอบแทนประมาณ 50–100 บาทต่อไร่ (2) เมื่อตัดอ้อยด้วยรถแล้ว เกษตรกรจะจ้างอัดใบอ้อย และนำอ้อยอัดก้อนไปขายที่

โรงไฟฟ้าชีวมวลเองในราคา 850–1,500 บาทต่อตัน (3) เกษตรกรมีเครื่องจักรอุปกรณ์อัดใบอ้อย จึงอัดใบอ้อยในแปลงตนเอง และรับจ้างอัดใบให้แปลงอื่น และนำไปขายโรงไฟฟ้าชีวมวลในราคา 850–1,500 บาทต่อตัน เช่นกัน

Table 2 The post-harvest management of sugarcane leaves by farmers who harvest fresh sugarcane in the 2021/2022 production season, based on a sample size of 1,080

List	The method of managing sugarcane leaves after harvesting fresh sugarcane					
	Burn (persons)	Use of soil cover or plowing under (persons)	Pressing into briquettes for power plant sale (persons)	Sell in other processed forms (persons)	Free (persons)	Total
Northeast	227	444	36	2	18	727
p.c.	(21.02)	(41.11)	(3.33)	(0.19)	(1.67)	
North	53	56	84	-	2	195
p.c.	(4.90)	(5.19)	(7.78)	-	(0.19)	
Central region	52	49	25	9	-	135
p.c.	(4.81)	(4.54)	(2.31)	(0.83)	-	
East	23	-	-	-	-	23
p.c.	(2.13)	-	-	-	-	
Total	355	549	145	11	20	1,080
p.c.	(32.87)	(50.83)	(13.43)	(1.02)	(1.85)	

Source: From survey

สรุปสาเหตุและเงื่อนไขของการเลือกวิธีการจัดการใบอ้อยหลังการเก็บเกี่ยวของเกษตรกร

จากการจัดสนทนากลุ่มกับเกษตรกรในพื้นที่ พบว่าในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เกษตรกรใช้ใบอ้อยคลุมดินให้เป็นปุ๋ยในแปลง แต่ในพื้นที่จังหวัดชัยภูมิ พบว่า เกษตรกรส่วนใหญ่จะตัดอ้อยสด ทั้งใช้แรงงานคนและรถตัดอ้อย รายที่ใช้รถตัดจะขายใบอ้อยส่งโรงไฟฟ้าชีวมวล ซึ่งทำให้ธุรกิจรถอัดก้อนมีการแข่งขันที่สูง เนื่องจากมีผู้ประกอบการและได้รับการส่งเสริมจากโรงงาน ซึ่งโรงงานน้ำตาลจะส่งเสริมให้เกษตรกรตัดอ้อยสด และสนับสนุนเกษตรกรที่เป็นผู้ประกอบการอัดใบอ้อยด้วย ภาคเหนือพบเกษตรกรที่เผาและใช้คลุมดินในสัดส่วนที่ไม่แตกต่างกัน เช่นเดียวกับภาคกลาง พบทั้งผู้ที่เผา และตัดอ้อยสด เกษตรกรที่ตัดอ้อยสดที่มีแปลงอยู่ในเขตชลประทานมีคลองส่งน้ำ หลังจากเก็บเกี่ยว เกษตรกรบางส่วนจะอัดก้อนส่งโรงไฟฟ้า บางส่วนจะทิ้งคลุมดินและไถกลบ ในภาคตะวันออก ซึ่งเก็บข้อมูลในจังหวัดสระแก้ว เกษตรกรส่วนใหญ่เผาใบอ้อย เนื่องจากบริเวณใกล้เคียงเผาทั้งหมด ไม่มีการรับซื้อใบอ้อยจากโรงงาน และแปลงห่างไกลจากโรงไฟฟ้าชีวมวล

ผู้วิจัยพบว่าเกษตรกรเลือกวิธีการจัดการใบอ้อยหลังการเก็บเกี่ยวขึ้นอยู่กับหลายเงื่อนไข เงื่อนไขแรกคือ วิธีการเก็บเกี่ยวอ้อย และเงื่อนไขที่ 2 ลักษณะใบอ้อย การใช้รถตัดอ้อยทำให้ใบอ้อยมีขนาดเล็ก น้ำหนักเบา การใช้แรงงานคนตัดทำให้ใบอ้อยมีขนาดใหญ่กว่า เงื่อนไขที่ 3 การไว้ตออ้อย ถ้าเกษตรกรต้องการรื้อตอ แล้วปลูกอ้อยใหม่ ส่วนมากจะเผาใบอ้อยในแปลงทิ้งทั้งหมด แต่ถ้าเกษตรกรต้องการไว้ตอ เพื่อรอหน่ออ้อยใหม่ให้งอกขึ้นมา จะพิจารณาเงื่อนไขที่ 4 ปริมาณใบอ้อย ว่ามีปริมาณใบมากหรือน้อย หนาหรือไม่ เงื่อนไขที่ 5 แปลงของเกษตรกรเป็นพื้นที่เสี่ยงต่อการเกิดไฟไหม้ใบอ้อยในแปลงหรือไม่ ถ้าในแปลงมีใบที่หนาแน่นมาก และเสี่ยงต่อการเกิดไฟลาม เกษตรกรจะเผาใบทิ้ง แต่ถ้าอยู่ในพื้นที่

ไม่เสี่ยงต่อการเกิดไฟไหม้ เกษตรกรจะพิจารณาเงื่อนไขที่ 6 ว่าในพื้นที่มีผู้รับใบอ้อยหรือไม่ ถ้าไม่มีเกษตรกรจะไถกลบ ถ้ามีจะพิจารณาเงื่อนไขสุดท้ายคือ เกษตรกรมีเครื่องจักรอุปกรณ์อัดใบอ้อยเป็นของตนเองหรือไม่ หากมีเกษตรกรจะเป็นผู้ประกอบการที่รับจ้างอัดใบอ้อยส่งโรงไฟฟ้าชีวมวล หากไม่มีเครื่องจักร เกษตรกรจะเลือกวิธีการจัดการแตกต่างกันออกไป คือ ขายใบอ้อยแบบเหมายกแปลง จ้างผู้ประกอบการมาอัดใบ และนำใบไปขายโรงไฟฟ้าเอง ขายผู้นำไปแปรรูปเป็นเชื้อเพลิง ปุ๋ย อาหารสัตว์ หรือแจกฟรี (Fig. 1)

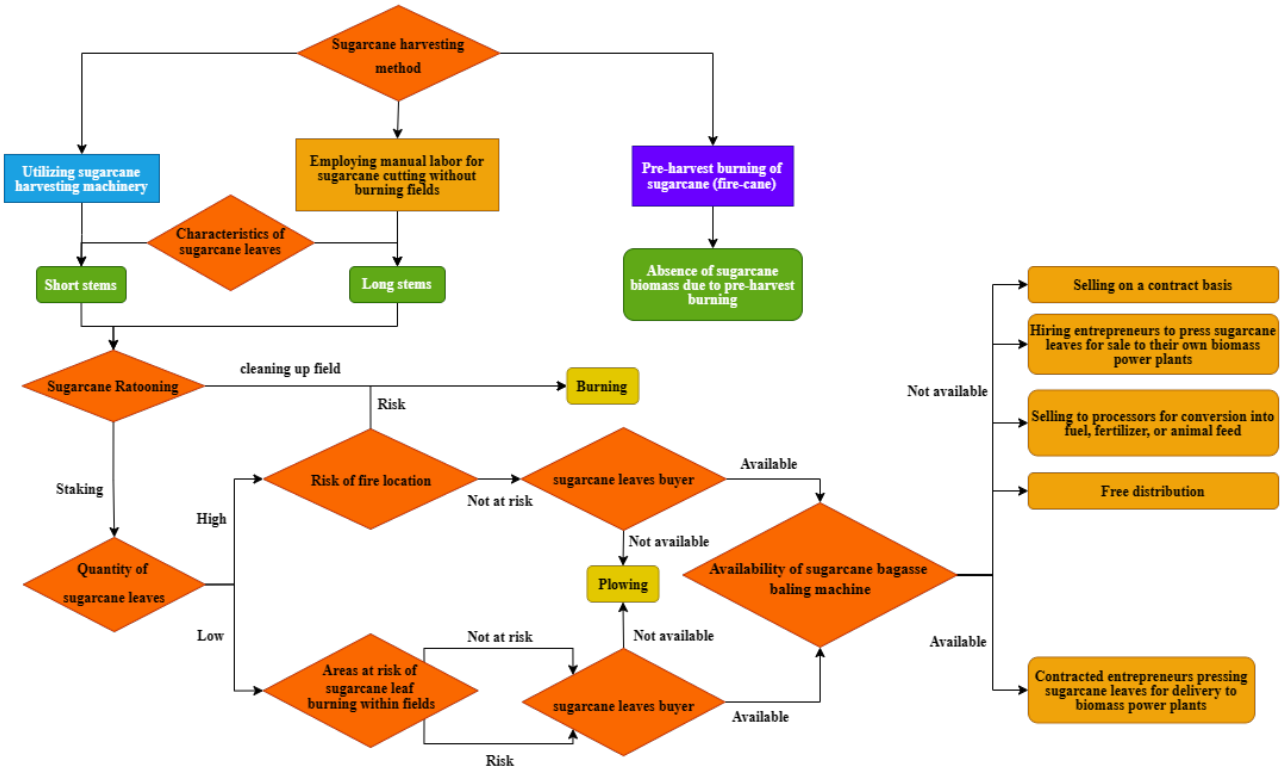


Fig. 1 The reasons and conditions for selecting the method of managing sugarcane leaves after harvesting by farmers

ไร่อ้อยที่ตัดอ้อยสดจะมีใบอ้อยเหลือทิ้งไว้ในแปลง ที่อาจจะเสี่ยงติดไฟและไหม้อ้อยตอได้ทำให้อ้อยตอที่รอขึ้นใหม่เสียหาย ดังนั้นหลังเก็บเกี่ยว เกษตรกรชาวไร่อ้อยจึงเผาใบอ้อยก่อนที่อ้อยตอจะงอก เพราะถ้าอ้อยตองอกแล้วเกิดไฟไหม้จะได้รับความเสียหายมาก ในกรณีที่เป็นอ้อยตอปีสุดท้าย เกษตรกรจะเผาใบและเศษซากอ้อยทิ้งทั้งหมดเพื่อรื้อแปลงใหม่ให้สะอาด เพื่อเตรียมการสำหรับการเตรียมดินและลงอ้อยใหม่ทั้งแปลง เนื่องจากในขั้นตอนการเตรียมดินถ้ามีใบอ้อยจะให้ล้อรถแทรกเตอร์ลื่น ทำให้คนขับสูญเสียการควบคุมรถเป็นอุปสรรคต่อการเตรียมดิน นอกจากนี้ถ้าใช้แรงงานคนตัดอ้อยสดจะเหลือใบอ้อยและกาบใบที่ยาว เกษตรกรรายย่อยที่ไม่มีรถไถสับใบ จะเตรียมดินยากเนื่องจากเวลาไถยกร่องหรือทำแปลงอ้อย ใบอ้อยจะเข้าไปพันตัวเครื่องรถจนเกิดได้รับความเสียหาย ถ้าในแปลงมีใบและยอดอ้อยหนาเกินไป เวลาเตรียมดินและรดปุ๋ย ปุ๋ยจะไม่ซึมลงดิน

การเผาใบอ้อยยังขึ้นกับพฤติกรรมของเกษตรกรส่วนใหญ่ในชุมชนที่เกษตรกรอาศัยอยู่ กล่าวคือ หากในพื้นที่นั้นเกษตรกรส่วนใหญ่นิยมเผา จะเกิดการเลียนแบบพฤติกรรมเผาตาม ๆ กัน หรือถึงแม้ว่าเกษตรกรต้องการจะเก็บใบอ้อยไว้คลุมดินก็ไม่สามารถทำได้ เนื่องจากจะมีไฟลาม หรือมีคนลักลอบเผาใบในแปลงเป็นประจำ เนื่องจากมีคนเข้าไปดักหนูหรือหาอาหารตามธรรมชาติในแปลงอ้อย เกษตรกรจึงจำเป็นต้องชิงเผาใบและยอดอ้อยก่อน เพราะกลัวอ้อยอ่อนที่กำลังขึ้นใหม่จะเสียหาย เกษตรกรบางรายให้สัมภาษณ์ว่าที่เผาใบอ้อยเนื่องจากขาดเครื่องจักรอุปกรณ์ในการตัดและสับใบสำหรับไถกลบใบหลังจากทิ้งไว้คลุมดิน เกษตรกรไม่มีเครื่องอัดใบ ในพื้นที่ไม่มีผู้รับเหมาอัดใบ เพราะไม่มีแหล่งรับซื้อใบอ้อย หรือโรงงานไม่สนับสนุนการตัดอ้อยสด จึงมีเกษตรกรบางส่วนตัดอ้อยไฟไหม้ และเกษตรกรบางส่วนที่ขายอ้อยสดแต่จะเผาใบในแปลง เพราะไม่รู้จะเก็บไว้ทำประโยชน์อะไร และไม่รู้ว่าใบและยอดอ้อยสามารถขายได้ แต่ถ้ามีโรงงานรับซื้อก็อาจจะไม่เผาใบ และขายใบให้แก่ผู้รับซื้อ

จากการทำสนทนากลุ่มในบางพื้นที่ พบว่าจะมีการจัดคิวสำหรับเผาใบและยอดอ้อย โดยเกษตรกรที่ต้องการจะเผาจะไปแจ้งผู้นำชุมชนเพื่อจัดคิว โดยกำหนดจำนวนคนเผาได้ไม่เกิน 3 รายต่อวัน ทุกรายจะต้องเตรียมแปลงทำแนวกันไฟเพื่อป้องกันไฟลามไปแปลงอื่น ผู้นำชุมชนจะอนุญาตให้เผาเฉพาะช่วงเวลากลางคืนเท่านั้น เช่น บางพื้นที่ให้เผาและดับไฟให้สนิทก่อนเที่ยงคืน ก่อนเผาผู้จัดคิวจะขับรถไปตรวจสอบแนวกันไฟ หากมีการล่วงละเมิดเผาใบโดยไม่ได้แจ้งผู้นำชุมชน จะถูกจับส่งดำเนินคดี และเสียค่าปรับทันที แต่ในความเป็นจริงยังไม่เคยมีผู้ใดในพื้นที่นั้นถูกดำเนินคดี ซึ่งเมื่อเผาแล้วพบว่าไฟลามไปยังแปลงอื่นที่มิใช่ของตน เจ้าของแปลงที่จุดไฟเผาจะต้องชดใช้ค่าเสียหายให้กับแปลงที่ไฟลามเข้าไป

ซึ่งจากมาตรการแก้ไขปัญหาอ้อยไฟไหม้ของรัฐบาลที่มีการดำเนินงานตามมาตรการทางกฎหมาย มีบทลงโทษแก่ผู้ที่เผาใบอ้อย แต่ยังปรากฏว่ายังมีการเผาใบอ้อยอยู่แต่มีปริมาณลดลง ลักษณะปรากฏการณ์เช่นนี้ เรียกว่า การจัดระเบียบแบบต่อรองตกลง ซึ่งเป็นกระบวนการเจรจาต่อรองเพื่อหาวิธีการแก้ปัญหาที่ทุกฝ่ายยอมรับได้ โดยควบคุมการเผาอ้อยไม่ให้มากเกินไปเท่าที่จำเป็น ไม่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสุขภาพและสิ่งแวดล้อมที่รุนแรง หากมีการบังคับเกษตรกรไม่ให้มีการเผาโดยดำเนินการถึงขั้นจับปรับจะเกิดผลต่อต้นทุนการตัดอ้อย เกิดความเสียหายแก่ผู้ผลิตอ้อย

ข้อดี และข้อเสีย ของการจัดการใบอ้อยหลังการเก็บเกี่ยวของเกษตรกรแต่ละวิธี

จะเห็นได้ว่า วิธีการเผาใบอ้อย ก่อให้เกิดผลเสียเป็นจำนวนมาก วิธีการคลุมดินมีค่าใช้จ่ายแต่ให้ประโยชน์ต่อเกษตรกรมากที่สุด เนื่องจากช่วยลดต้นทุนการผลิต และทำให้อ้อยเจริญเติบโต ให้ผลผลิตดี วิธีการขายใบอ้อยส่งโรงไฟฟ้าชีวมวล มีต้นทุนสูงหากเกษตรกรเป็นผู้ประกอบการแต่ในขณะเดียวกันเกษตรกรได้รับค่าตอบแทนที่คุ้มค่า (Table 3)

Table 3 Summarize the advantages and disadvantages of various methods used by farmers to manage sugarcane leaves

Method	Burn	Plow	Contracting for compressing leaves for biomass power plant sale	Processing into fertilizer or animal feed	Free
The advantages of managing sugarcane leaves using various methods					
Low management costs	✓	✓			✓
Returns on investment			✓		
Easy, convenient, and fast management	✓				✓
Reduces the risk of sugarcane leaf ignition	✓		✓	✓	✓
Healthy regrowth of new sugarcane shoots	✓	✓			
Soil moisture retention		✓			
Reduces the use of pesticides, herbicides, and fertilizers		✓			
Non-hazardous to health and the environment		✓			✓
The disadvantages of managing sugarcane leaves using various methods					
High management costs			✓		
Complex management, time-consuming		✓	✓		
Risk of sugarcane leaf ignition		✓			
Damage to regrown new sugarcane shoots			✓		
Soil surface degradation and fertility loss	✓				
Difficult soil plowing and fertilizer incorporation with sugarcane leaves caught in the plow					
Presence of pests such as rodents and stem borers	✓	✓			
Compacted soil		✓	✓	✓	✓
Weed growth causing competition with young sugarcane shoots	✓		✓		
Hazardous to health and the environment	✓				
Legal violations, may lead to penalties or fines	✓				

สรุป

การศึกษาวิจัยเรื่องการบริหารจัดการชีวมวลอ้อยที่เหมาะสมของเกษตรกร เก็บรวบรวมข้อมูลด้วยวิธีการสัมภาษณ์เชิงลึกและจัดสนทนากลุ่ม (Focus Group) จากเกษตรชาวไร่อ้อยที่ตัดอ้อยสด และมีการบริหารจัดการใบอ้อยหลังการตัดด้วยรูปแบบต่าง ๆ ทั่วประเทศ ในฤดูการผลิต ปี 2564/65 จำนวน 1,080 ตัวอย่าง โดยทำการวิเคราะห์ข้อมูลเชิงคุณภาพและปริมาณ ซึ่งสรุปผลการศึกษาได้ ดังนี้

การบริหารจัดการใบอ้อยหลังการเก็บเกี่ยว

เกษตรกรมากกว่าครึ่งจะปล่อยใบและยอดไว้ในแปลงเพื่อคลุมดินและเตรียมไถกลบเพื่อปลูกอ้อยตอต่อไป รองลงมาจะเป็นการเผาใบและยอดทิ้ง อัดใบและยอดส่งโรงไฟฟ้าชีวมวล และแจกฟรีให้แก่ผู้ที่ต้องการ ตามลำดับ ซึ่งวิธีการจัดการใบและยอดด้วยการขายให้โรงไฟฟ้าชีวมวลสามารถแบ่งได้อีก 3 วิธี คือ แบบเหมายกแปลงโดยให้โรงงานดำเนินการเอง แบบจ้างให้โรงงานมาอัดแล้วเกษตรกรนำไปขายเอง และแบบลงทุนเป็นคนรับจ้างอัดใบและยอดส่งให้โรงไฟฟ้าชีวมวลเอง และยังพบว่าในพื้นที่ของเกษตรกรส่วนใหญ่ไม่มีการรวมกลุ่มเพื่อบริหารจัดการชีวมวลหลังจากตัดอ้อยสด

สาเหตุและเงื่อนไขของการเลือกวิธีการจัดการใบอ้อยหลังการเก็บเกี่ยวของเกษตรกร

จากการสัมภาษณ์และสนทนากลุ่มกับเกษตรกรในพื้นที่นั้นพบว่ามีความคล้ายคลึงในสาเหตุและเงื่อนไขที่เกษตรกรใช้ในการจัดการใบอ้อยหลังการเก็บเกี่ยวด้วยวิธีต่าง ๆ จากการวิเคราะห์พบว่ามีเงื่อนไขหลัก ๆ ดังนี้ (1) วิธีการเก็บเกี่ยวอ้อย การใช้รถตัดอ้อยทำให้ใบอ้อยมีขนาดเล็กและน้ำหนักเบา ในขณะที่การใช้แรงงานคนตัดทำให้ใบอ้อยมีขนาดใหญ่กว่า (2) ลักษณะใบอ้อย การใช้รถตัดอ้อยทำให้ใบอ้อยมีขนาดเล็ก น้ำหนักเบา ในขณะที่การใช้แรงงานคนตัดทำให้ใบอ้อยมีขนาดใหญ่กว่า (3) การไว้ตออ้อย การตัดตออ้อยแล้วปลูกใหม่ ส่วนมากจะเผาใบอ้อยทิ้งทั้งหมด แต่ถ้าต้องการไว้ตอ เกษตรกรจะพิจารณาปัจจัยต่าง ๆ เช่น ปริมาณใบอ้อย, การเกิดไฟไหม้, และการมีผู้รับซื้อ (4) ปริมาณใบอ้อย การพิจารณาว่ามีปริมาณใบมากหรือน้อย หนาหรือไม่ (5) แปลงของเกษตรกร การพิจารณาว่าแปลงนั้นเสี่ยงต่อการเกิดไฟไหม้ใบอ้อยหรือไม่ (6) ผู้รับซื้อและเครื่องจักร การพิจารณาว่ามีผู้รับซื้อใบอ้อยหรือไม่ และว่าเกษตรกรมีเครื่องจักรอุปกรณ์อัดใบอ้อยเป็นของตนเองหรือไม่ ขึ้นอยู่กับเงื่อนไขและความพร้อมของเกษตรกร วิธีการจัดการใบอ้อยหลาย ๆ วิธีอาจถูกนำมาใช้ในสถานการณ์ที่แตกต่างกัน

ข้อเสนอแนะ

การบริหารจัดการใบอ้อยในการเกษตรชีวมวลควรเน้นถึงความเหมาะสมกับสภาพพื้นที่และบริบททางเศรษฐกิจและสังคมของเกษตรกรชาวไร่อ้อย การใช้วิธีการปล่อยใบอ้อยคลุมดินเพื่อเพิ่มความอุดมสมบูรณ์และความชุ่มชื้นของดินเป็นวิธีที่เหมาะสม เนื่องจากมีต้นทุนต่ำและประโยชน์ต่อดินและอ้อยในระยะยาว การขายใบอ้อยให้แก่โรงไฟฟ้าชีวมวลเป็นทางเลือกที่ดีเนื่องจากมีความคุ้มค่าและเหมาะสมกับเกษตรกรที่ต้องการเอาใบอ้อยออกจากแปลง อย่างไรก็ตาม มีปัญหาและอุปสรรคบางประการ เช่น ขาดเครื่องจักรที่เหมาะสมและขาดความรู้ในการบริหารจัดการ นอกจากนี้ การใช้วิธีการอัดใบอ้อยก็พบปัญหาในการย่อยสลายใบที่ทำให้เกิดความยุ่งยาก และการรับซื้อใบอ้อยมีปัญหาทั้งในเรื่องระยะทางและการสูญเสียน้ำหนัก ดังนั้น เพื่อแก้ไขปัญหาและเพิ่มประสิทธิภาพ ควรสนับสนุนการรวมกลุ่มและจัดตั้งวิสาหกิจชุมชน เพื่อให้เกษตรกรสามารถบริหารจัดการร่วมกันได้ การรับการสนับสนุนจากหน่วยงานของภาครัฐและการใช้เครื่องมือส่วนกลางสามารถลดต้นทุนและเพิ่มประสิทธิภาพในทุกขั้นตอนของการผลิต การบริหารจัดการใบอ้อยในรูปแบบนี้จะช่วยลดความยุ่งยากและเสี่ยงในการผลิตอ้อยชีวมวล และสร้างอำนาจการต่อรองของชุมชนในทุกระยะของโซ่อุปทานการผลิต

เอกสารอ้างอิง

ชัยวัฒน์ โพธิ์ทอง, ปาจรีย์ ทองสนิท. 2555. ผลของการเผาอ้อยต่อคุณภาพอากาศและสมบัติของอ้อย. วิศวกรรมสาร มหาวิทยาลัยนเรศวร 7: 1–9.

นภสม สินเพิ่มสุขสกุล. 2562. มูลค่าความเต็มใจที่จะจ่ายเพื่อการลดมลพิษทางอากาศจากการเผาอ้อยก่อนการเก็บเกี่ยวของครัวเรือนในเขตจังหวัดสุพรรณบุรีและจังหวัดกาญจนบุรี. ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการ สาขาเศรษฐศาสตร์และบริหารธุรกิจ ครั้งที่ 57. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ, หน้า 30–36.

นิตยากานต์ กันต์รพีเกสร. 2558. สถานภาพการผลิตกระแสไฟฟ้าในโรงงานอุตสาหกรรมน้ำตาล. https://webkc.dede.go.th/testmax/sites/default/files/B2%E0%B8%A5_0.pdf, 7 มิถุนายน 2565.

พชรอร แก้วเจริญ, เกรียงไกร แก้วตระกูลพงษ์, เสาวลักษณ์ ยองรัมย์, สุวรรษา ทองหยู. 2557. การวิเคราะห์ต้นทุนของกระบวนการอัดก้อนยอดและใบอ้อย เพื่อการป้อนชีวมวลที่เหลือทิ้งในไร่นาเข้าสู่โรงงานผลิตพลังงาน. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 45: 93–96.

พรศิริ หลงหนองคูณ. 2560. การพัฒนาเส้นด้ายผสมปั่นมือจากเส้นใยใบอ้อยและเส้นใยฝ้าย. วิทยานิพนธ์หลักสูตรคหกรรมศาสตรมหาบัณฑิต, บัณฑิตวิทยาลัย: มหาวิทยาลัยราชมงคงธัญบุรี.

เพชรลักษณ์ บุญญาคุณากร, ธีรวัต ฤกษ์อำนวยโชค, ภัทรียา นวลใย, สุเมธ พฤกษ์ฤดี, คมสันติ์ ศรีคงเพ็ชร, สมบูรณ์ หวังวณิชพันธุ์. 2564. วิธีปลดล็อคข้อจำกัด และเพิ่มแรงจูงใจ เพื่อแก้ปัญหาเผาอ้อยอย่างยั่งยืน. https://www.bot.or.th/Thai/MonetaryPolicy/ArticleAndResearch/FAQ/FAQ_188.pdf, 20 เมษายน 2564.

ละอองดาว แสงหล้า, ธวัชชัย ศุภดิษฐ์. 2548. ผลกระทบจาการเผาใบอ้อยและแนวทางการแก้ไข. วารสารการจัดการสิ่งแวดล้อม 2: 1–9.

วิชัย หฤทัยธนาสันติ์. 2551. การผลิตเยื่อกระดาษด้วยมือแบบไทยจากใบอ้อยเพื่องานหัตถกรรมและบรรจุภัณฑ์. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตผลทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพ

วิรัตน์ นาคเอี่ยม, สุนันท์ สีสังข์, พรชุลีย์ นิลวิเศษ. 2557. การผลิตข้าวและการจัดการตอซังข้าวของเกษตรกรเขตชลประทาน ในอำเภอวัดโบสถ์ จังหวัดพิษณุโลก. ใน: รายงานการจัดประชุมเสนอผลงานระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 4. มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช. กรุงเทพฯ, หน้า 1–10.

วีรชัย อาจหาญ. 2554. โครงการศึกษาแนวทางบริหารจัดการเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงและลดการเกิดหมอกควัน. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

วุฒิพันธ์ เหลืองวิไล. 2558. การจัดการปัญหาแรงงานของผู้ประกอบการไร่อ้อยในจังหวัดนครปฐม. วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาบริหารธุรกิจมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยศิลปากร.

สะอาด ริยะจันทร์. 2557. ผลงานวิจัยเรื่องไม้ใบอ้อย. http://rdo.psu.ac.th/th/index.php/pride/3-ep2/detail/150-pride2017?tmpl=component, 6 กรกฎาคม 2565.

สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย. 2565. โครงการช่วยเหลือเกษตรกรชาวไร่อ้อยตัดอ้อยสดคุณภาพดีเพื่อลดฝุ่น PM 2.5 ฤดูการผลิตปี 2564/65. สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย. กรุงเทพฯ.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2565. เนื้อที่เก็บเกี่ยว ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่อ้อยโรงงาน. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร.กรุงเทพฯ.

อนุวัฒน์ แก้วเมือง, ธีรวัฒน์ ด้วงทอง. 2562. การศึกษาประสิทธิภาพ การเพิ่มมูลค่าใบอ้อย กรณีศึกษาจังหวัดกำแพงเพชร. วิทยานิพนธ์หลักสูตรปริญญาเศรษฐศาสตรบัณฑิต, มหาวิทยาลัยนเรศวร.

Hussuani, S.J., Silva, J.A., Neves, J.L.M. 2005. Sugarcane trash recovery alternatives for power generation. In: Proceeding of 25th Congress of the International Society of Sugarcane Technologists. Los Angelis, USA, pp. 130–145.

Pierossi, M. A., Bernhardt, H. W., Funke, T. 2016. Sugarcane leaves and tops: their current use for energy and hurdles to be overcome, particularly in South Africa, for greater utilization. In: Proceeding of 89th Annual Congress of the South African Sugar Technologists' Association, Durban, South Africa, pp. 16–18.

การประเมินอิทธิพลของตะกอนของเหลวจากกระบวนการหมักย่อยสลายขยะอาหารแบบไร้ออกซิเจนต่อผลผลิตและปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ของขมิ้นชัน

Evaluation of effect of liquid bio digestate from food waste anaerobic digestion system on yield and curcuminoid contents of turmeric (*Curcuma longa* L.)

ธันยพัฒน์ เอมะวัจนะ[a], **วรรณสิริ วรรณรัตน์**[a,*], **ธัญญพร วงศ์เนตร**[b], **เฉลิมพล ภูมิไชย์**[a], **เอ็จ สโรบล**[a], **สุตเขตต์ นาคะเสถียร**[a], **จีราพัชร ศุภวัฒน์กร**[b]

Thunyaphat Amawatchana[a], Wannasiri Wannarat[a,*], Thanyaporn Wongnate[b], Chalermpol Phumichai[a], Ed Sorabol[a], Sutkhet Nakasathien[a], Cheerapat Supawatkon[b]

[a]ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[b]สำนักวิชาวิทยาศาสตร์และวิศวกรรมชีวโมเลกุล สถาบันวิทยสิริเมธี ระยอง 21210

[a]Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

[b]School of Biomolecular Science and Engineering, Vidyasirimedhi Institute of Science and Technology, Rayong 21210, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: wannasiri.w@ku.th

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้ เพื่อประเมินผลผลิตและปริมาณสารเคอร์คูมินอยด์ของต้นขมิ้นชันเมื่อได้รับตะกอนของเหลวจากการหมักขยะอาหาร วางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อคสมบูรณ์ จำนวน 4 ซ้ำ มี 6 กรรมวิธี คือ ไม่ใส่ปุ๋ย ใส่ปุ๋ยมูลวัว (1,000 กก./ไร่) ใส่ตะกอนของเหลวจากขยะอาหาร (4,032 ล./ไร่) ใส่ปุ๋ยเคมี 13-7-35 (70 กก./ไร่) ใส่ปุ๋ยมูลวัว (1,000 กก./ไร่) ร่วมกับตะกอนของเหลวจากขยะอาหาร (4,032 ล./ไร่) และใส่ปุ๋ยเคมี 13-7-35 (70 กก./ไร่) ร่วมกับตะกอนของเหลวจากขยะอาหาร (4,032 ล./ไร่) ทั้งนี้การใส่ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยมูลวัวใส่เพียง 1 ครั้ง ส่วนการใส่ตะกอนของเหลวจากขยะอาหาร จะให้ในอัตรา 4,032 ล./ไร่ ทุก ๆ 7 วัน เป็นเวลา 2 เดือน ผลการทดลองพบว่า ต้นขมิ้นชันที่ได้รับปุ๋ยเคมีและตะกอนของเหลวจากขยะอาหารมีน้ำหนักเหง้าแห้งสูงที่สุด (412.42 กก./ไร่) กลุ่มที่ไม่ใส่ปุ๋ยมีน้ำหนักเหง้าแห้งต่ำที่สุด (282.84 กก./ไร่) ปริมาณสารกลุ่มเคอร์คูมินอยด์ (สารเคอร์คูมิน ดีเมทอกซีเคอร์คูมิน และบิสดีเมทอกซีเคอร์คูมิน) ไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกรรมวิธีทดลอง การใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับตะกอนของเหลวจากขยะอาหารอาจเป็นแนวทางหนึ่งในการจัดการธาตุอาหารเพื่อการผลิตขมิ้นชัน

คำสำคัญ: ขมิ้นชัน, เคอร์คูมินอยด์, ตะกอนของเหลวจากขยะอาหาร, ผลผลิตเหง้า

Abstract

The objective of this study was to evaluate rhizome yields and curcuminoid contents of turmeric plants treated with food waste liquid bio digestate. The experiment was repeated 4 times in a randomized complete block design. Six treatments were the control, a sole cow manure (1,000 kg/Rai), a sole food waste liquid bio digestate (4,032 liter/Rai), a sole chemical fertilizer 13-7-35 (70 kg/Rai), the combination of cow manure (1,000 kg/Rai) and food waste liquid bio digestate (4,032 liter/Rai), and the combination of chemical fertilizer 13-7-35 (70 kg/Rai) and food waste liquid bio digestate (4,032 liter/Rai). Cow manure and chemical fertilizer were applied only one time. Food waste liquid bio digestate was given at 4,032 liter/Rai every 7 days for 2 months. Results revealed that the application of chemical fertilizer and food waste liquid bio digestate gave the highest dried weights of rhizome (412.42 kg/Rai). The control group without fertilizer input had the lowest dried rhizome yield (282.84 kg/Rai). Total curcuminoids including curcumin, demethoxycurcumin and bisdemethoxycurcumin were not significantly different among treatments. Chemical fertilizer application combined with food waste liquid bio digestate may be one option of nutrient management for turmeric production.

Keywords: Curcuminoid, Liquid bio digestate, Rhizome yield, Turmeric

คำนำ

ขยะอาหารเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดมลพิษทางสิ่งแวดล้อมของประเทศไทย ในประเทศไทยมีขยะอาหารคิดเป็นร้อยละ 64 ของขยะทั้งหมด (กะรัตลักษณ์ และคณะ, 2562) การบริหารจัดการขยะอาหารด้วยนำกลับไปใช้ใหม่ จึงเป็นอีกแนวทางที่สามารถลดมลพิษจากอาหารเหลือทิ้งได้อย่างยั่งยืน จากรายงานของ Yong et al. (2021) พบว่า ขยะอินทรีย์จากชุมชนในมาเลเซีย คิดเป็น ประมาณร้อยละ 45 ของทั้งหมดจากขยะชุมชน และครึ่งหนึ่งของขยะอินทรีย์ที่ถูกย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน สามารถผลิตเป็นพลังงานไฟฟ้าได้ 3,941 เมกะวัตต์/วัน ผลิตปุ๋ยชีวภาพได้ 2,500 ตัน/วัน ลดการปล่อยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ได้ 2,735 ตัน/วัน อีกทั้งยังช่วยลดพื้นที่ฝังกลบขยะอาหารได้ 1,128 ตร.ม/วัน และลดการสร้างน้ำเสียจากกองขยะได้ 481 ลูกบาศก์เมตร/วัน สอดคล้องกับรายงานของ Chew et al. (2021) รายงานว่า การย่อยเศษอาหารแบบไม่ใช้ออกซิเจนช่วยลดการเกิดมลพิษทางอากาศและการเกิดขยะมูลฝอย เมื่อเทียบกับการกำจัดขยะด้วยการเผา ผลผลิตที่ได้จากกระบวนการหมักขยะอาหารในภาวะไร้ออกซิเจน คือ แก๊สชีวภาพและตะกอนของเหลว ซึ่งจากการวิเคราะห์องค์ประกอบของตะกอนของเหลวจากการหมักขยะอาหารในภาวะไร้ออกซิเจน พบ ตะกอนของเหลวมีธาตุอาหารพืช ได้แก่ ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม ซัลเฟอร์ แคลเซียม เหล็ก ซิงค์ และ ทองแดง นอกจากนี้ยังพบฮอร์โมนพืช ได้แก่ Auxin, Zeatin, Kinetin, และ Salicylic acid (Jiemanukunkij et al., 2021) การใช้ตะกอนของเหลวจากการหมักขยะอาหารในภาวะไร้ออกซิเจน ช่วยส่งเสริมการเจริญของพืช เช่น Ferdous et al. (2020) หมักของเสียจากจากมูลวัวหรือมูลสัตว์ปีกและเศษพืชแบบไม่ใช้ออกซิเจน และได้ตะกอนของเหลวที่ผ่านการหมัก มาใช้ร่วมกับปุ๋ยเคมีสำหรับการปลูกข้าวโพด ส่งผลให้ข้าวโพดมีผลผลิตเพิ่มขึ้นร้อยละ 20–24 ผลตอบแทนรวมเพิ่มขึ้นร้อยละ 22–23 และกำไรขั้นต้นเพิ่มขึ้นร้อยละ 52–53 ในขณะที่ Meng et al. (2022) รายงานว่า การปลูกผักกาดขาว ที่มีการใส่ตะกอนของเหลวจากขยะอาหารที่ความเข้มข้นร้อยละ 50 และ 100 จะช่วยเพิ่มธาตุอาหารให้แก่พืช ซึ่งมีเพียงพอสำหรับส่งเสริมการเจริญเติบโตของต้นผักกาดขาว

วัตถุประสงค์ของการทดลองครั้งนี้ คือ ศึกษาการใช้ตะกอนของเหลวจากขยะอาหารหมักด้วยกลุ่มแบคทีเรียประสิทธิภาพสูงเพื่อการปลูกขมิ้นชัน โดยประเมินผลผลิตขมิ้นชันและสารเคอร์คูมินอยด์ในเหง้าของขมิ้นชันที่ได้รับตะกอนของเหลวจากขยะอาหาร เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการให้ปุ๋ยวิธีอื่น ๆ เพื่อนำไปสู่การพัฒนารูปแบบที่เหมาะสมของการนำขยะอาหารที่เป็นของเหลือทิ้งจากชุมชนกลับไปใช้ใหม่ในการปลูกพืช ทำให้ชุมชนสามารถลดขยะอาหารพร้อมทั้งรักษาความมั่นคงทางอาหารและยารักษาโรคไปในเวลาเดียวกัน

อุปกรณ์และวิธีการ

แผนการทดลอง

ดำเนินการทดลอง ณ ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา ตั้งแต่ เดือนกรกฎาคม พ.ศ. 2565-เดือนมีนาคม พ.ศ. 2566 วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) ใส่ปุ๋ยต้นขมิ้นชันที่อายุ 4 เดือนหลังปลูก รูปแบบการใส่ปุ๋ย มีจำนวน 6 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ดังนี้ กรรมวิธีที่ 1 การไม่ใส่ปุ๋ยเคมีและปุ๋ยมูลวัว ต้นขมิ้นชันได้รับน้ำเพียงอย่างเดียว (ชุดควบคุม) กรรมวิธีที่ 2 การใส่ปุ๋ยมูลวัวในอัตรา 1,000 กก./ไร่ กรรมวิธีที่ 3 การใส่ตะกอนของเหลวจากขยะอาหาร ในอัตรา 4,032 ล./ไร่ ทุก 7 วัน เป็นเวลา 2 เดือน กรรมวิธีที่ 4 การใส่ปุ๋ยเคมี สูตร 13-7-35 ในอัตรา 70 กก./ไร่ กรรมวิธีที่ 5 การใส่ปุ๋ยมูลวัว ในอัตรา 1,000 กก./ไร่ ร่วมกับ การใส่ตะกอนของเหลวจากขยะอาหาร ในอัตรา 4,032 ล./ไร่ ทุก 7 วัน เป็นเวลา 2 เดือน กรรมวิธีที่ 6 การใส่

ปุ๋ยเคมีสูตร 13-7-35 ในอัตรา 70 กก./ไร่ ร่วมกับ การใส่ตะกอนของเหลวจากขยะอาหาร ในอัตรา 4,032 ล./ไร่ ทุก 7 วัน เป็นเวลา 2 เดือน

การปลูกขมิ้นชัน

เตรียมแปลงปรับหน้าดิน ยกร่องปลูก ระยะห่างระหว่างแถว 0.75 เมตร ระยะห่างระหว่างต้น 0.60 เมตร แปลงทดลองมีขนาด 60×22.5 ตร.ม แบ่งเป็นแปลงย่อย 24 แปลง มีพื้นที่เก็บเกี่ยวในแปลงย่อยเท่ากับ 13.8×3.75 ตร.ม. ขมิ้นชันที่ปลูกคือ พันธุ์แดงสยาม อายุ 10 เดือน ก่อนปลูกแช่เหง้าขมิ้นชันด้วยสารแคปทาไซด์ ความเข้มข้น 3 ก./ล. และสารไดโนทีฟูแรน ความเข้มข้น 0.5 ก./ล. เหง้าขมิ้นชันมีน้ำหนัก 30 ก./หลุมปลูก ปลูกขมิ้นชันเดือน กรกฎาคม 2565 เมื่อขมิ้นชันอายุได้ 1 เดือนหลังปลูก ฉีดพ่นสารคุมวัชพืชหลังปลูก กำจัดวัชพืชในแปลงด้วยแรงงานคน ขมิ้นชันได้รับน้ำฝนตามธรรมชาติและการให้น้ำเสริมด้วยระบบน้ำหยดเมื่อฝนทิ้งช่วง ฉีดพ่นสารควบคุมเชื้อราเมื่อช่วงฝนตกต่อเนื่องและมีความชื้นในดินสูง เก็บเกี่ยวขมิ้นชันในเดือนมีนาคม 2566

การเตรียมตะกอนของเหลวจากกระบวนการหมักขยะอาหารแบบไร้ออกซิเจน

คัดเลือกขยะอาหารจากโรงอาหารของสถาบันวิทยสิริเมธี จังหวัดระยอง ที่มีค่าอัตราส่วน C/N อยู่ระหว่างช่วงประมาณ 20:1—30:1 หมักขยะอาหารในภาวะไร้ออกซิเจนด้วยกลุ่มจุลินทรีย์ เช่น hydrolytic bacteria, acid forming bacteria, acetogenic bacteria และ methanogenic bacteria ที่คัดเลือกได้จากแหล่งของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ ควบคุมปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซออกซิเจน ก๊าซมีเทน และค่าความเป็นกรดความเป็นด่าง (pH) ของกระบวนการหมักให้คงที่ โดยมีค่า pH อยู่ระหว่างช่วง 6–7 เก็บตัวอย่างของตะกอนของเหลวจากขยะอาหารมาวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total-N) ปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมด (Total-P) และ ปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด (Total-K) ด้วย เครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) เครื่องวิเคราะห์ธาตุที่เป็นองค์ประกอบของสารอินทรีย์ carbon-nitrogen-sulfur (CNS) analyses และเครื่อง Atomic Absorption Spectrometry (AAS) ตามวิธีการวิเคราะห์ของ American Society for Testing and Materials International (2021) อัตราส่วนของตะกอนของเหลวจากขยะอาหารที่ใส่ต้นขมิ้นชันในการศึกษาครั้งนี้ คือ ตะกอนของเหลวจากขยะอาหารเข้มข้น จำนวน 1 ลิตร เจือจางในน้ำ จำนวน 7 ลิตร

การเก็บข้อมูล

เก็บตัวอย่างดินในแปลงก่อนทดลอง วิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดิน (Table 1) วิเคราะห์ธาตุอาหารของปุ๋ยมูลวัว (Table 2) เก็บข้อมูล ปริมาณน้ำฝน อุณหภูมิ ความชื้นในอากาศ ทุกเดือน โดยอ้างอิงจากสถานีอุตนิยมวิทยานครราชสีมา อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา เก็บตัวอย่างต้นขมิ้นชันเมื่ออายุได้ 8 เดือน โดยสุ่มเก็บเหง้าขมิ้นชันจำนวน 10 ต้น/ซ้ำ ชั่งน้ำหนักเหง้าสด อบเหง้าขมิ้นชันในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักแห้งคงที่บันทึกน้ำหนักเหง้าแห้ง

การเตรียมตัวอย่างสารสกัดจากเหง้าขมิ้นชัน

สุ่มเลือกตัวอย่างจากเหง้าขมิ้นชันสดที่เก็บเกี่ยวได้ จำนวน 1 กก./กรรมวิธี ทำความสะอาดเหง้าและผึ่งให้แห้ง หั่นเหง้าให้มีขนาดเล็ก นำตัวอย่างไปตากแดดเพื่อลดความชื้น อบแห้งชิ้นตัวอย่างในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บดตัวอย่างให้ละเอียด ร่อนผงขมิ้นชันด้วยตะแกรงเหล็กขนาด 40–140 เมช

ละลายผงขมิ้นชันในเมทานอลให้มีความเข้มข้น 0.05 ก./มล. นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 150 รอบ/นาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างไปกรองด้วยแผ่นกรองขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง ขนาด 0.22 ไมโครมิเตอร์ เจือจางสารสกัดด้วยเมทานอลให้มีความเข้มข้น 0.0005 ก./มล. เก็บตัวอย่างสารสกัดที่ได้ลงในขวดขนาด 1.5 มล. เพื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC (Chahomchuen et al., 2020)

การเตรียมสารละลายมาตรฐานเคอร์คูมิน ดีเมทอกซีเคอร์คูมิน และ บิสดีเมทอกซีเคอร์คูมิน

เตรียมสารละลายมาตรฐาน เคอร์คูมิน ดีเมทอกซีเคอร์คูมิน และ บิสดีเมทอกซีเคอร์คูมิน ที่ ความเข้มข้น 1 มล.ก./มล. เจือจางสารละลายมาตรฐานด้วยเมทานอลให้มีความเข้มข้นที่ 0.098, 0.195, 0.391, 0.781, 1.563, 3.125, 6.25, 12.5, 25, และ 50 มก./มล. (Chahomchuen et al., 2020)

การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารกลุ่มเคอร์คูมินอยด์ด้วยเครื่อง HPLC

สภาวะของระบบเครื่อง HPLC คือ ใช้คอลัมน์ Kinetex C18 (ขนาด 2.1 มม.×3.0 มม.) อุณหภูมิคอลัมน์อยู่ที่ 55 องศาเซลเซียส สารละลายตัวพา : ร้อยละ 0.1 Formic acid ใน water (A) : ร้อยละ 0.1 Formic acid ใน acetonitrile (B) ความเข้มข้นของวัฏภาคเคลื่อนที่ (Gradient) ในแต่ละช่วงเวลา ดังนี้ 0 นาที ร้อยละ 72A 1 นาที ร้อยละ 72A 2 นาที ร้อยละ 70A 4 นาที ร้อยละ 70A 4.10 นาที ร้อยละ 50A 6 นาที ร้อยละ 50A 8.50 นาที ร้อยละ 72A 10 นาที ร้อยละ 72A อัตราการไหล : 1.40–1.75 มล./นาที เครื่องตรวจวัดความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสงที่ 425 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Diode array ปริมาตรที่ฉีด 0.8×10^{-6} ลิตร ฉีดสารละลายมาตรฐานและสารละลายตัวอย่างสารสกัดเข้าเครื่อง HPLC ฉีดวิเคราะห์ตัวอย่างซ้ำ 3 ครั้ง วิเคราะห์ความสัมพันธ์ของ retention time ของสารเคอร์คูมิน ดีเมทอกซีเคอร์คูมิน และบิสดีเมทอกซีเคอร์คูมิน โดยเปรียบเทียบสารละลายตัวอย่างกับสารมาตรฐาน (Chahomchuen et al., 2020)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลน้ำหนักสดและแห้งของเหง้าขมิ้นชัน ปริมาณสารกลุ่มเคอร์คูมินอยด์ มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ (Analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ด้วยวิธี Tukeys's Honest Significant Difference (HSD) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วย โปรแกรม STAR (International Rice Research Institute, 2013)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การปลูกขมิ้นชันเพื่อให้ได้ผลผลิตและปริมาณของสารเคอร์คูมินอยด์สูงนั้น ควรปลูกขมิ้นชันในดินที่มีการระบายน้ำได้ดี ไม่มีการท่วมขังของน้ำ ดินควรมีปริมาณอินทรียวัตถุในช่วง 31.54–39.43 ก./กก. ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในช่วง 16.30–29.70 มก./กก. และมีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ในช่วง 167–247 มก./กก. (สุทธิ์เดชา และชนินาถ, 2564) ทั้งนี้จากการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของดินก่อนปลูก (Table 1) พบ ดินที่ใช้ในการทดลองเป็นดินที่มีสมบัติที่เหมาะสมกับการปลูกขมิ้นชัน เนื่องจากเป็นดินเหนียวปนทราย มีอินทรียวัสดุปานกลาง (22 ก./กก.) มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ปานกลาง (18.1 มก./กก.) และมีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์สูง (119 มก./กก.) เมื่อพิจารณาปริมาณน้ำฝนธรรมชาติที่ได้รับ พบว่า ปริมาณน้ำฝนสะสมในพื้นที่แปลงทดลอง ตั้งแต่ปี 2560–2565 (Fig. 1) มีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยอยู่ที่ 1,264.3 ม.ม./ปี ซึ่งในช่วงที่มีการทำการทดลอง มีฝนตกมาก ทำให้ปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยสะสมราว 1,453.1 ม.ม./ปี ทำให้ต้นขมิ้นชันได้รับปริมาณน้ำที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโต จากการวิเคราะห์ธาตุอาหารในตะกอนของเหลวจากขยะอาหาร พบว่า มี Total-N เท่ากับ 2.7588 ก./กก., Total-P เท่ากับ 0.9917

ก./กก. และ Total-K เท่ากับ 0.0015 ก./กก. ซึ่งมีธาตุอาหารน้อยกว่าปุ๋ยมูลวัวที่มีปริมาณ Total- N เท่ากับ 13.90 ก./กก. มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูงมาก เท่ากับ 9,400 มก./กก. และมีปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์สูงมาก เท่ากับ 22,500 มก./กก. (Table 2)

สำหรับการเจริญเติบโตของต้นขมิ้นชัน แสดงดัง Table 3 และ Fig. 2 น้ำหนักเหง้าสดและน้ำเหง้าแห้งของต้นขมิ้นชัน เมื่อได้รับธาตุอาหารที่กรรมวิธีแตกต่างกัน กรรมวิธีควบคุมมีน้ำหนักเหง้าสดและน้ำหนักเหง้าแห้งต่ำที่สุด และไม่พบความแตกต่างของค่าน้ำหนักสดและแห้งเหง้าขมิ้นชันระหว่างกรรมวิธีการใส่ปุ๋ยเคมีอย่างเดียว การใส่ปุ๋ยคอกอย่างเดียวหรือ และการใส่ตะกอนของเหลวจากขยะอาหารอย่างเดียว แต่การใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับตะกอนของเหลวจากขยะอาหารส่งผลต่อน้ำหนักเหง้าขมิ้นชันสดและเหง้าขมิ้นชันแห้งสูงที่สุด และเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุม พบว่า การใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับตะกอนของเหลวจากขยะอาหาร มีผลผลิตเหง้าสดต่อไร่สูงกว่ากรรมวิธีควบคุม คิดเป็น 1.5 เท่า และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ การใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับตะกอนของเหลวจากขยะอาหารมีผลผลิตเหง้าสดต่อไร่ สูงกว่าการใส่ปุ๋ยเคมี การใส่ปุ๋ยมูลวัว และการใส่ตะกอนของเหลวอย่างเดียว เท่ากับ 1.2 เท่า จากผลการทดลองแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ที่จะเพิ่มผลผลิตขมิ้นชันด้วยการใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับการใส่ตะกอนของเหลวจากที่หมักขยะอาหารแบบไร้ออกซิเจน การใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับตะกอนของเหลวจากขยะอาหารช่วยเพิ่มธาตุอาหารสำหรับการพัฒนาผลผลิตของต้นขมิ้นชันได้ เนื่องจากการเพิ่มผลผลิตขมิ้นชันสัมพันธ์กับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่เหมาะสม (องอาจ และคณะ, 2551) โดยต้นขมิ้นชันที่ได้รับไนโตรเจน 26.3 กก./ไร่ มีผลผลิตเหง้าสูงกว่าต้นขมิ้นชันที่ได้รับไนโตรเจน 9.2 กก./ไร่ ถึง 1.6 เท่า (สมมารถ และสมยศ, 2557) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัย ของ Meng et al. (2022) ที่ได้แนะนำให้ปรับความเข้มข้นของธาตุอาหารในตะกอนของเหลวจากขยะอาหารให้เหมาะสมกับการเจริญของต้นผักกาด และ Funes-Pinter et al. (2023) ที่พัฒนาตะกอนของเหลวคุณภาพสูงจากมูลสัตว์และเศษพืชสำหรับปลูกพืช ซึ่งรายงานว่าเมื่อปลูกต้นพิทูเนียด้วยตะกอนของเหลวคุณภาพสูงนี้ สามารถเพิ่มชีวมวลของต้นพิทูเนียได้เท่ากับการใส่ปุ๋ยเคมี และต้นทุนการใช้ตะกอนของเหลวในการปลูกต้นพิทูเนียถูกกว่าการใช้ปุ๋ยเคมีถึงร้อยละ 25–50

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณสารกลุ่มเคอร์คูมินอยด์ในเหง้าขมิ้นชัน ได้แก่ เคอร์คูมิน ดีเมทอกซีเคอร์คูมิน และบิสดีเมทอกซีเคอร์คูมิน พบว่า ปริมาณสารทั้งสามชนิดไม่มีความแตกต่างกันระหว่างกรรมวิธีที่ให้ปุ๋ย โดยต้นขมิ้นชันที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยมีปริมาณสารเคอร์คูมิน ดีเมทอกซีเคอร์คูมิน และ บิสดีเมทอกซีเคอร์คูมินสูงที่สุด (4.62%, 1.83% และ 2.55% dry weight ตามลำดับ)

Table 1 Experimental soil properties before planting at National Corn and Sorghum Research Center

Soil tests	Methods	Soil test results	Interpretation
Sand%	Gee and Bauder (1979)	18	low
Silt%	Gee and Bauder (1979)	12	very low
Clay%	Gee and Bauder (1979)	70	very high
pH	Thomas (1996)	6.6	neutral
Organic Matter (g/kg)	Walkley and Black (1934)	22	medium
Total N (g/kg)	Helmke and Sparks (1996)	1.34	low
CEC ($cmol_c$/kg)	Rhoades (1996)	22.9	high
Available P (mg/kg)	Bary and Kurtz (1945)	18.1	medium
Available K (mg/kg)	Helmke and Sparks (1996)	119	high
Available Ca (mg/kg)	Suarez (1996)	3,107	high
Available Mg (mg/kg)	Suarez (1996)	236	high

Table 2 Cow manure nutrient analysis

Nutrients	Methods	results	Interpretation
pH	Thomas (1996)	6.79	neutral
Organic Matter (g/kg)	Walkley and Black (1934)	53.50	very high
Total N (g/kg)	Helmke and Sparks (1996)	13.90	low
CEC ($cmol_c$/kg)	Rhoades (1996)	42.50	very high
Available P (mg/kg)	Bary and Kurtz (1945)	9,400	very high
Available K (mg/kg)	Helmke and Sparks (1996)	22,500	very high

ซึ่งสูงกว่าที่ต้นขมิ้นชันที่ได้รับปุ๋ยทุกกรรมวิธี เนื่องมาจากการผลิตสารเคอร์คูมิน ดีเมทอกซีเคอร์คูมิน และบิสดีเมทอกซีเคอร์คูมิน มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ดังกล่าวนอกเหนือจากสมบัติทางด้านความอุดมสมบูรณ์ของดินและการใส่ปุ๋ย เช่น การผลิตสารทุติยภูมิในขมิ้นชันมีความสัมพันธ์กับสภาพแวดล้อมที่ปลูก (Anandara et al., 2014; Aarthi et al., 2021) ขมิ้นชันสะสมสารทุติยภูมิสูงขึ้น เมื่อถูกระตุ้นด้วยความเครียดจากสภาพแวดล้อม เช่น การขาดธาตุอาหาร จากรายงานของ สมมารถ และสมยศ (2557) พบว่า ต้นขมิ้นชันที่ไม่ได้ใส่ปุ๋ยมีปริมาณเคอร์คูมินอยด์สูงกว่าต้นขมิ้นชันที่ได้รับปุ๋ยยูเรีย 50 กก./ไร่ ถึง 1.6 เท่า นอกจากปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมแล้ว การฉีดพ่นขมิ้นชันด้วยฮอร์โมนพืช สามารถทำให้ขมิ้นชันสะสมสารเคอร์คูมินในเหง้าสูงขึ้นได้ เช่น การฉีดสารเอทีฟอนที่ความเข้มข้น 1,000 มก./ล. ให้แก่ต้นขมิ้นชัน ก่อนเก็บเกี่ยว 60 วัน (สมพร และนาตยา, 2560)

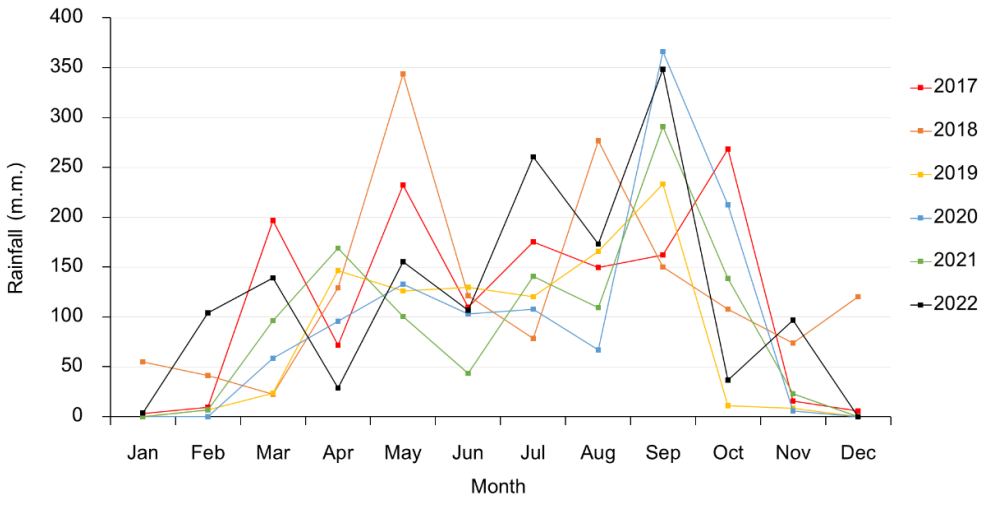


Fig. 1 Precipitation data at National Corn and Sorghum Research Center during 2017–2022

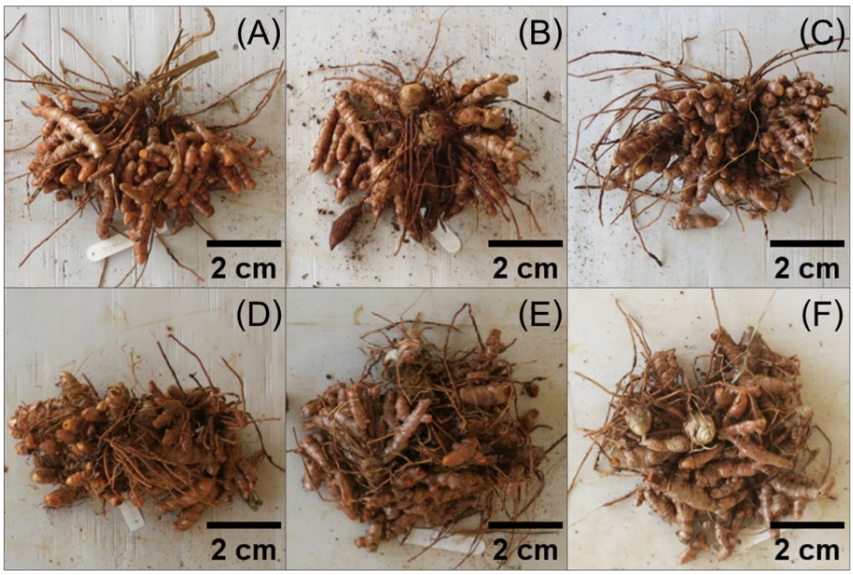


Fig. 2 8-month-old turmeric rhizomes harvested during 2021–2022 at National Corn and Sorghum Research Center: Control (A), Cow manure (B), Chemical fertilizer (C), Liquid bio digestate (D), Chemical fertilizer+Liquid bio digestate (E), Cow manure+Liquid bio digestate (F)

Table 3 Yields and curcuminoids obtained from 8-month-old turmeric rhizomes planted during 2021-2022 at National Corn and Sorghum Research Center

Treatments	RFW (g/plant)	RDW (g/plant)	Fresh rhizome yield (kg/rai)	Dry rhizome yield (kg/rai)	BDMC (% dry wt)	DMC (% dry wt)	CUR (% dry wt)
Control	391.07^{b}	79.53^{b}	1390.46^{b}	282.84^{b}	2.55	1.83	4.62
CM	481.70^{ab}	88.80^{ab}	1712.71^{ab}	315.72^{ab}	2.16	1.66	4.31
CF	468.12^{ab}	89.83^{ab}	1664.41^{ab}	319.41^{ab}	2.23	1.69	4.52
LBD	480.50^{ab}	95.81^{ab}	1708.44^{ab}	340.65^{ab}	2.41	1.77	4.54
CF + LBD	589.40^{a}	115.99^{a}	2095.65^{a}	412.42^{a}	1.80	1.53	4.41
CM + LBD	494.20^{ab}	99.42^{ab}	1757.16^{ab}	353.51^{ab}	1.82	1.50	4.12
C.V. (%)	10.59	11.87	10.59	11.87	21.53	12.41	8.24
F-test	**	**	**	**	ns	ns	ns

Cow manure = CM, Chemical fertilizer = CF, LBD = Liquid bio digestate, Rhizome fresh weight = RFW, and Rhizome dry weight = RDW

Curcumin = CUR, Demethoxycurcumin = DMC, Biisdemethoxycurcumin = BDMC, and %Dry weight = % Dry wt

ns = non-significant difference, ** = significant at $p < 0.05$

^{a,b} least square means with different superscripts are significant differ at $p < 0.05$

สรุป

จากการทดลองในงานวิจัยนี้ เป็นไปได้ว่า การใส่ปุ๋ยเคมีร่วมกับตะกอนของเหลวจากการย่อยสลายขยะอาหารในภาวะไร้ออกซิเจน ช่วยเพิ่มผลผลิตเหง้าขมิ้นชันต่อไร่ เมื่อเทียบกับการไม่ใส่ปุ๋ย สามารถเป็นแนวทางเลือกในการจัดการธาตุอาหารในดินเพื่อการปลูกขมิ้นชันให้ได้ผลผลิตสูงขึ้น โดยลดการใช้ปุ๋ยเคมีที่มีราคาแพงในปัจจุบัน และกำจัดขยะอาหารที่เป็นมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมได้อีกด้วย แต่หากต้องการสกัดสารสำคัญเพื่อประโยชน์ในทางการแพทย์ของการสกัดสารสำคัญของขมิ้นชันแล้ว ควรพิจารณาเลือกวิธีการปลูกและสภาพแวดล้อมที่เอื้อต่อการสังเคราะห์สารสำคัญดังกล่าวจะทำให้ตรงวัตถุประสงค์มากยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามหากมีการศึกษาในเรื่องความเข้มข้นของตะกอนของเหลวจากขยะอาหารที่เหมาะสมต่อการเพิ่มผลผลิตเหง้าขมิ้นชันในแปลงปลูก ก็จะเป็นข้อมูลสำคัญในการวิจัยเพื่อให้ได้ผลผลิตที่คุ้มทุนมีผลตอบแทนทางเศรษฐกิจที่เกษตรกรสามารถนำไปประยุกต์กับการผลิตขมิ้นชันเชิงการค้าต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำนักวิชาวิทยาศาสตร์และวิศวกรรมชีวโมเลกุล สถาบันวิทยสิริเมธี และคณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้การสนับสนุนสถานที่ทดลอง เครื่องมือ และอุปกรณ์ทั้งหมด และขอขอบคุณธนาคารกสิกรไทย ที่ให้ทุนสนับการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กะรัตลักษณ์ เหลี่ยมเพชร, ธารทิพย์ ศรีสุวรรณ. 2019. Food waste ปัญหาร่วมระหว่างเราและโลก. https://tdri.or.th/2019/10/food-waste/, 10 มกราคม 2566.

สมมารถ อยู่สุขยิ่งสถาพร, สมยศ เดชภิรัตนมงคล. 2557. ผลของอัตราปุ๋ยไนโตรเจนต่อการเจริญเติบโต ผลผลิตและสารเคอร์คูมินอยด์ของขมิ้นชัน. แก่นเกษตร 42: 458–464.

สมพร ช่วยแต้ม, นาตยา มนตรี. 2560. ผลของสารละลายเอทีฟอน ในระยะก่อนการเก็บเกี่ยวต่อผลผลิตและปริมาณสารสำคัญในขมิ้นชัน. แก่นเกษตร 45: 342–347.

สุทธิ์เดชา ขุนทอง, ชนินาถ การะภักดี. 2564. การจัดทำค่ามาตรฐานของมหธาตุสำหรับแปรผลวิเคราะห์ดินและพืชในขมิ้นชัน. การประชุมวิชาการประจำปีของกรมพัฒนาที่ดิน ประจำปีงบประมาณ 2565. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

องอาจ หาญชาญเลิศ, ฉลองชัย แบบประเสริฐ, ยิ่งยง ไพสุขศานติวัฒนา. 2551. ผลของปุ๋ยไนโตรเจนและโปแตสเซียมต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของขมิ้นชัน. ใน: ครบรอบ 10 ปี สถาบันอินทรีจันทรสถิตย์เพื่อการค้นคว้าและพัฒนาพืชศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

Aarthi, S., Suresh, J., Leela, N. K., Prasath, D. 2020. Multi environment testing reveals genotype-environment interaction for curcuminoids in turmeric (*Curcuma longa* L.). Ind. Crops Prod. 145: 112090.

American Society for Testing and Materials International. 2021. Standard practices for digestion of water samples for determination of metals by flame atomic absorption, graphite furnace atomic absorption, plasma emission spectroscopy, or plasma mass spectrometry. https://www.astm.org/d1971-16r21e01.html, 10 December 2023.

Anandaraj, M., Prasath, D., Kandiannan, K., et al. 2014. Genotype by environment interaction effects on yield and curcumin in turmeric (*Curcuma longa* L.). Ind. Crops Prod. 53: 358–364.

Bray, R.H., Kurtz, L.T. 1945. Determination of total organic and available forms of phosphorus in soils. Soil Science 59: 39–45.

Chahomchuen, T., Insuan, O., Insuan. W. 2020. Chemical profile of leaf essential oils from four Eucalyptus species from Thailand and their biological activities. Microchem. J. 158: 105248.

Chew, K.R., Leong, H.Y., Khoo, K.S., Vo, D.V.N., Anjum, H., Chang, C.K., Show, P.L. 2021. Effects of anaerobic digestion of food waste on biogas production and environmental impacts: A review. Environ. Chem. Lett. 19(4): 2921–2939.

Ferdous, Z., Ullah, H., Datta, A., Attia, A., Rakshit, A., Molla, S.H. 2020. Application of biogas slurry in combination with chemical fertilizer enhances grain yield and profitability of maize (*Zea mays* L.). Commun. Soil Sci. Plant Anal. 51(19): 2501–2510.

Funes-Pinter, I., Pisi, G., Aroca, M., Uliarte, E.M. 2023. Compost tea and bioslurry as plant biostimulants. Part 2: biofertilizer test in ornamental flowers. J. Plant Nutr. 46: 3041–3052.

Gee, G.W., Bauder, J.W. 1979. Particle size analysis by hydrometer: A simplified method for routine textural analysis and a sensitivity test of measurement parameters. Soil Sci. Soc. Am. J. 43: 1004–1007.

Helmke, P.A., Sparks. D.L. 1996. Lithium, sodium, potassium, cesium, and rubidium. In: Sparks D.L., et al. (Eds.). Methods of soil analysis: Part 3. Chemical methods and processes, Book Series no. 5. SSSA and ASA. Madison, WI, USA, pp. 551–574.

International Rice Research Institute. 2013. STAR application. http://www.bbi.irri.org/products, 10 June 2022.

Jiemanukunkij, T., Amawatchana, T., Chaiyen, P., Wongnate T., Maenpuen, S. 2021. Determination of organic and inorganic elements in the biogas digestate liquid, pp. 338-345. In: The 47th International Congress on Science, Technology and Technology-based Innovation. 5–7 October 2021, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus, Thailand.

Meng, X.Y., Zeng, B., Wang, P., Li, J.L., Cui, R.Q., Ren, L.H. 2022. Food waste anaerobic biogas slurry as fertilizer: Potential salinization on different soil layer and effect on rhizobacteria community. Waste Management. 144: 490–501.

Rhoades, J.D. 1996. Salinity: Electrical conductivity and total dissolved solids. In: Sparks D.L., et al. (Eds.). Methods of Soil Analysis, Part 3 Chemical Methods, SSSA Book Series No. 5. SSSA and ASA. Madison, WI, USA, pp. 417–435.

Suarez, D.L. 1996. Beryllium, magnesium, calcium, strontium, and barium. In: Sparks D.L., et al. (Eds.). Methods of Soil Analysis, Part 3 Chemical Methods, SSSA Book Series No. 5. SSSA and ASA. Madison, WI, USA, pp. 575–602.

Thomas, G.W. 1996. Soil pH and Soil Acidity. In: Sparks et al. D.L. (Eds.). Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Method, SSSA Book Series No. 5. SSSA and ASA. Madison, WI, USA, pp. 475–490.

Walkley, A.J., Black, I.A. 1934. Estimation of soil organic carbon by the chromic acid titration method. Soil Sci. 37: 29–38.

Yong, Z.J., Bashir, M.J., Hassan, M.S. 2021. Biogas and biofertilizer production from organic fraction Municipal solid waste for sustainable circular economy and environmental protection in Malaysia. Sci. Total Environ. 776: 145961.

ผลการปรับปรุงดินกรดกำมะถันชุดดินรังสิต และการปลดปล่อยแคลเซียมและแมกนีเซียมของวัสดุโดโลไมต์ที่ปรับสภาพด้วยการบดและการใช้คลื่นอัลตราโซนิกในการบ่มดินระดับห้องปฏิบัติการ

The effect of dolomite material amendment techniques on acid sulfate soil amelioration and calcium/magnesium release in Rangsit soil series: Laboratory-level study

อารีรัตน์ โสระดา*, **ภัทรา เพ่งธรรมกีรติ**, **มณีกาญจน์ อยู่เอี่ยม**, **พัชริยา เวลุตัง**

Areerat Sorada*, Patthra Pengthamkeerati, Maneekarn Yoo-iam, Phatchariya Welutung

สาขาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

Department of Environmental Technology and Management, Faculty of Environment, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: areerat.sor@ku.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นการศึกษาวิธีการปรับสภาพวัสดุโดโลไมต์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการปรับปรุงดินกรดกำมะถันในชุดดินรังสิต โดยการใช้วิธีการบดละเอียดและคลื่นอัลตราโซนิกในการใส่โดโลไมต์อัตราส่วนต่าง ๆ ของค่าความต้องการปูน ผลลัพธ์จากการบ่มดินเป็นเวลา 14 วัน พบว่า การใส่วัสดุโดโลไมต์ที่ปรับสภาพทั้งสองวิธีในอัตราร้อยละ 100 และ 90 ของค่าความต้องการปูน ทำให้ค่าพีเอชเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และมีค่าสูงกว่าการใส่โดโลไมต์ในอัตราร้อยละ 80 ของค่าความต้องการปูน การลดอัตราการใส่โดโลไมต์ลงร้อยละ 10 ยังคงมีประสิทธิภาพที่ดี เนื่องจากการปรับสภาพของวัสดุโดโลไมต์ที่มีขนาดอนุภาคละเอียดมากขึ้นด้วยการบดหรือใช้คลื่นอัลตราโซนิกเพิ่มประสิทธิภาพในการปรับค่าพีเอชของดิน รวมถึงการเพิ่มปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมตามระยะเวลาการบ่มที่เหมาะสม ผลงานวิจัยนี้เสนอแนวทางในการลดการใช้วัสดุโดโลไมต์ในทรัพยากรธรรมชาติ ซึ่งมีผลที่สำคัญต่อการพัฒนาเกษตรอย่างยั่งยืนในอนาคต

คำสำคัญ: แคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้, ดินกรดกำมะถัน, โดโลไมต์, แมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้

Abstract

This research focuses on studying methods to adjust the properties of dolomite materials to enhance their effectiveness in ameliorating acid sulfate soil in the Rangsit soil series. By employing methods such as fine grinding and ultrasonic wave application at various ratios of lime requirement, increases were observed in the pH values of the soil with the application. Significant increases in pH values were observed with the application of dolomite materials adjusted by both methods at 100% and 90% ratios of lime requirement, compared to dolomite application at an 80% ratio of lime requirement. Additionally, reducing the dolomite application rate by 10% still maintained effective results. The refinement of dolomite materials through grinding or ultrasonic treatment enhanced their capability to adjust soil pH and increase calcium and magnesium levels over appropriate incubation periods. This research proposes strategies to reduce the use of dolomite materials in natural resources, which could significantly contribute to sustainable agricultural development in the future.

Keywords: Acid sulfate soil, Dolomite, Exchangeable Ca, Exchangeable Mg

คำนำ

ดินกรดกำมะถันเป็นปัญหาด้านการเพาะปลูกทางการเกษตร สาเหตุหลักเกิดจากวัตถุต้นกำเนิดของดิน และการชะล้างหน้าดินจากปริมาณน้ำฝนหรือการใช้น้ำชลประทานในการเพาะปลูกพืช ทำให้เกิดการละลายของธาตุอะลูมิเนียม เหล็ก และแมงกานีสในปริมาณมาก ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของพืช ซึ่งพบมากที่สุดในบริเวณพื้นที่ภาคกลางของประเทศไทย และสภาพปัญหาดินกรดกำมะถันพบมากที่สุดในกลุ่มชุดดินรังสิต โดยดินเป็นกรดจัดมากถึงกรดรุนแรงมาก มีค่าพีเอชต่ำกว่า 4.5 จากปัญหาดังกล่าวสามารถแก้ไขด้วยแนวทางการใช้วัสดุปูน เช่น หินปูน ปูนมาร์ล หรือโดโลไมต์ ($CaMg(CO_3)_2$) (กรมพัฒนาที่ดิน, 2562) วัสดุโดโลไมต์ ($CaMg(CO_3)_2$) เป็นสารประกอบ ประกอบด้วยแคลเซียมและแมกนีเซียมคาร์บอเนต สามารถปรับค่าพีเอชของดินกรดกำมะถันให้เป็นด่างได้ ทำให้ดินมีสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบของพืช (Magdoff et al., 2000) แต่หากมีข้อจำกัดทางด้านการละลาย ที่มีประสิทธิภาพในการละลายได้ช้า จึงส่งผลต่อความสามารถในการปรับสภาพดินกรดกำมะถันที่ใช้ระยะเวลานาน การเคลื่อนที่และการละลายของ Ca^{2+} และ Mg^{2+} ในดินค่อนข้างต่ำ ทำให้ปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมที่สะสมในดินมีปริมาณน้อยหรือไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของพืช ที่ส่งผลกระทบต่อผลผลิตของพืชได้น้อยลง (Yan et al., 2018) เมื่อเกิดการแลกเปลี่ยนระหว่าง Ca^{2+} และ Mg^{2+} ของโดโลไมต์กับดินกรดกำมะถันสามารถปรับสภาพดินที่เป็นกรดให้เป็นกลาง จากการเกิดปฏิกิริยาระหว่าง OH^- กับ H^+ (Yuan et al., 2020) การเพิ่มประสิทธิภาพในการละลายของวัสดุโดโลไมต์ เพื่อลดความเป็นกรดของดิน สามารถพัฒนาวัสดุโดโลไมต์โดยใช้เทคโนโลยีของการบดละเอียด ด้วยเครื่อง planetary ball mill และการใช้คลื่นอัตราโซนิก ซึ่งเป็นเทคโนโลยีที่สนใจอย่างมาก เพื่อลดขนาดของวัสดุโดโลไมต์ให้เล็กลง ในการเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างวัสดุโดโลไมต์กับอนุภาคของดิน ซึ่งเกิดจากการทำปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนประจุของดินมากขึ้น (Bikkinina et al., 2019; Wu et al., 2021) ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการปรับสภาพวัสดุโดโลไมต์ 2 วิธี คือ การบดด้วยเครื่องบดละเอียด planetary ball mill (DB) และการใช้คลื่นอัลตราโซนิก (DS) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของโดโลไมต์ในการลดปัญหาดินกรดกำมะถัน และสามารถช่วยลดปริมาณการใช้วัสดุปูนโดโลไมต์ในธรรมชาติได้

วิธีการวิจัย

วัสดุโดโลไมต์ และตัวอย่างดินที่ใช้

สุ่มตัวอย่างวัสดุโดโลไมต์ที่ใช้ในการศึกษาจากผลิตภัณฑ์เชิงการค้า เพื่อวิเคราะห์สมบัติทางเคมีของโดโลไมต์ตามวิธีมาตรฐาน (Table 1) ประกอบด้วย ค่าพีเอช ของโดโลไมต์ในอัตราส่วนโดโลไมต์ต่อน้ำ เท่ากับ 1:1 วัดด้วยเครื่อง pH meter ปริมาณของ CaO และ MgO ด้วยวิธี Gravimetric method สมมูลแคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonate equivalent: CCE) ด้วยวิธี HCl dissolution and black titration และความชื้นด้วยการอบตัวอย่างในตู้อบอุณหภูมิ 105-110ºC จนน้ำหนักคงที่ (สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน, 2547; Richards et al., 1954)

Table 1 Chemical properties of dolomite

Chemical properties	pH[1] (1:1)	CaO[2] (%)	MgO[3] (%)	CCE[4] (%)	Moisture (%)
Dolomite $CaMg(CO_3)_2$	9.86	32.52	20.46	109	0.03

* Analysis method: [1]Dolomite : water (1:1) [2,3]Gravimetric method [4] HCl dissolution and black titration

ดินกรดกำมะถันที่ใช้จัดอยู่ในชุดดินรังสิต กลุ่มชุดดินที่ 11 การจำแนกดิน เป็น Very-fine, mixed, semiactive, acid, isohyperthermic Sulfic Endoaquepts โดยเก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่ปลูกข้าวในตำบลบึงบา อำเภอหนองเสือ จังหวัดปทุมธานี ที่ระดับความลึก 0–30 ซม. จากนั้นนำมาผึ่งตากในที่ร่มจนแห้ง บดและร่อนด้วยตะแกรงขนาด 2 มม. เพื่อวิเคราะห์สมบัติทางฟิสิกส์และเคมีของดิน ตามวิธีมาตรฐาน (Table 2) ประกอบด้วย ค่าพีเอช ของดินในอัตราส่วนดินต่อน้ำ เท่ากับ 1:1 วัดด้วยเครื่อง pH meter (Peech et al., 1965) ปริมาณอินทรียวัตถุ ด้วยวิธี Walkley and Black ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ด้วยน้ำยาสกัด Bray II (Bray et al., 1945) ปริมาณโพแทสเซียมที่เป็นประโยชน์ ด้วยน้ำยาสกัด 1 M NH_4OAc pH 7.0 ความหนาแน่นรวมของดิน ด้วยวิธี Core method (Blake et al., 1965) และเนื้อดินด้วยวิธี Hydrometer method (กรมพัฒนาที่ดิน, 2553; Gee et al., 1986) และปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ด้วยวิธี 1 M NH_4OAc pH 7.0 (Peech et al., 1945; Sparks et al., 2020)

Table 2 Physical and chemical properties of soil

Soil	pH[1] (1:1)	OM[2] (%)	Avail. P[3] (mg/kg)	Avail. K[4] (mg/kg)	Exch.Ca[5] ($cmol_c$/kg)	Exch.Mg[6] ($cmol_c$/kg)	Bulk density[7] (g/cm^3)	Texture[8]
Rangsit (Rs)	3.70	2.13	12	472	8.19	5.51	1.2	clay

* Analysis method: [1]Soil : water (1:1), [2]Walkley and Black method, [3]Bray II, [4]1 N NH_4OAc pH 7.0 extraction,

[5,6]1 M NH_4OAc pH 7.0, [7]Core method, [8]Hydrometer method

การบ่มดิน

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) จำนวน 3 ซ้ำ ตำรับการทดลองตามปัจจัย ดังนี้คือ

ตำรับที่ 1 ไม่ใส่วัสดุโดโลไมต์ (C)

ตำรับที่ 2 ใส่วัสดุโดโลไมต์ที่ไม่ปรับสภาพอัตรา 1.15 กรัมต่อดิน 100 กรัม (D100)

ตำรับที่ 3 ใส่วัสดุโดโลไมต์ที่ปรับสภาพด้วยวิธีการบดอัตรา 1.15 กรัมต่อดิน 100 กรัม (DB100)

ตำรับที่ 4 ใส่วัสดุโดโลไมต์ที่ปรับสภาพด้วยวิธีการบดอัตรา 1.03 กรัมต่อดิน 100 กรัม (DB90)

ตำรับที่ 5 ใส่วัสดุโดโลไมต์ที่ปรับสภาพด้วยวิธีการบดอัตรา 0.92 กรัมต่อดิน 100 กรัม (DB80)

ตำรับที่ 6 ใส่วัสดุโดโลไมต์ที่ปรับสภาพด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตราโซนิกอัตรา 1.15 กรัมต่อดิน 100 กรัม (DS100)

ตำรับที่ 7 ใส่วัสดุโดโลไมต์ที่ปรับสภาพด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตราโซนิกอัตรา 1.03 กรัมต่อดิน 100 กรัม (DS90)

ตำรับที่ 8 ใส่วัสดุโดโลไมต์ที่ปรับสภาพด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตราโซนิกอัตรา 0.92 กรัมต่อดิน 100 กรัม (DS80)

นำตัวอย่างดิน 100 กรัม (ดินแห้ง) ใส่ในกระปุกทรงกระบอกที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 8.145 ซม. และใส่วัสดุโดโลไมต์จากค่าความต้องการปูนของดินในอัตรา 1.15 กรัมต่อดิน 100 กรัม และปรับอัตราส่วนการใส่วัสดุโดโลไมต์อัตราร้อยละ 100 90 และ 80 ของค่าความต้องการปูน จากนั้นผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันและปรับความชื้นที่ร้อยละ 70 ของความพรุนดิน นำไปบ่มในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 35 ºC ควบคุมความชื้นดินโดยการเติมน้ำกลั่นทุก 7 วัน ทำการเก็บตัวอย่างดินในวันที่ 1 3 5 7 และ 14 วัน

เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของวัสดุโดโลไมต์ที่ปรับสภาพในการจัดการดินกรดกำมะถัน ที่ใช้วิธีการปรับสภาพวัสดุโดโลไมต์ด้วยวิธีการ 2 วิธี คือ การบดวัสดุโดโลไมต์ด้วยเครื่องบดละเอียด (planetary ball mill: DB) และการใช้คลื่นอัลตราโซนิก (ultrasonics: DS) และเปรียบเทียบผลกับการใส่วัสดุโดโลไมต์แบบเดิมหรือไม่ปรับสภาพ (D) แล้วนำมาวัดค่าพีเอช ด้วยเครื่อง pH Meter วิเคราะห์ปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophometer ที่วิเคราะห์ด้วย Air/C_2H_2 ตามวิธีมาตรฐาน (Peech et al., 1945; Sparks et al., 2020) ตามระยะเวลาที่บ่มตัวอย่างข้างต้น

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) เพื่อประเมินผลของการปรับสภาพโดโลไมต์ที่มีต่อค่าพีเอช และแคลเซียมและแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ของดิน ด้วยวิธี repeated measure (Proc Mixed) และทดสอบความแตกต่างของตำรับทดลองตามวันที่เก็บตัวอย่าง โดยวิธี Duncan Multirange Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลของการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช

ผลการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของดินกรดกำมะถันตามตำรับการทดลองต่าง ๆ ของงานศึกษานี้แสดงดัง Table 3 โดยการใส่โดโลไมต์ทำให้ค่าพีเอชของดินเพิ่มขึ้นตามเวลาที่ศึกษา (14 วัน) ในทุกตำรับการทดลอง ยกเว้นตำรับควบคุม (ไม่ใส่โดโลไมต์) มีค่าค่อนข้างคงที่ ซึ่งประสิทธิภาพของตำรับทดลองและเวลามีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของดินแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($p < 0.05$) โดยการปรับสภาพโดโลไมต์ด้วยวิธีการบดละเอียดและการใช้คลื่นอัลตราโซนิกที่อัตราการใส่วัสดุโดโลไมต์ที่ร้อยละ 100 และ 90 ของค่าความต้องการปูน ช่วยเพิ่มค่าพีเอชในดินได้ใกล้เคียงกัน โดยการบดให้ผลที่ดีกว่าในช่วงแรกของการบ่มดิน และวิธีการทั้งสองให้ผลการปรับพีเอชของดินที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าการใส่โดโลไมต์แบบเดิมหรือไม่ปรับสภาพ ในขณะที่อัตราการใส่ที่ร้อยละ 80 ปรับค่าพีเอชในดินได้ต่ำกว่า ทั้งนี้ การปรับสภาพด้วยคลื่นอัลตราโซนิกมีประสิทธิภาพที่ดีกว่าการบดอย่างชัดเจนในวันที่ 5–14 ของการบ่มดินที่ศึกษา ผลที่ได้แสดงว่าการปรับสภาพวัสดุโดโลไมต์ให้มีขนาดลดลงไม่ว่าจะดำเนินการด้วยวิธีการบดละเอียดหรือการใช้คลื่นอัลตราโซนิก ทำให้ค่าพีเอชของดินเพิ่มขึ้นและเร็วขึ้นกว่าโดโลไมต์แบบเดิม

Table 3 Effect of dolomite applications on soil reaction after incubation (temperature 35 ºC)

Treatment	Soil Reaction (pH)				
	Day 1	Day 3	Day 5	Day 7	Day 14
C	3.83±0.02^{f}	3.84±0.02^{e}	3.83±0.03^{e}	3.82±0.06^{e}	3.80±0.07^{e}
D100	5.11±0.05^{d}	5.51±0.08^{bc}	5.83±0.01^{ab}	5.99±0.03^{b}	6.05±0.06^{bc}
DB100	5.36±0.11^{ab}	5.69±0.15^{a}	5.94±0.11^{a}	6.08±0.01^{a}	6.20±0.02^{a}
DB90	5.44±0.06^{a}	5.47±0.04^{cd}	5.70±0.07^{c}	5.85±0.05^{c}	6.10±0.03^{ab}
DB80	5.09±0.04^{d}	5.32±0.06^{d}	5.35±0.03^{d}	5.43±0.05^{d}	5.49±0.09^{d}
DS100	5.26±0.03^{c}	5.58±0.11^{abc}	5.88±0.04^{a}	6.11±0.01^{a}	6.20±0.08^{a}
DS90	5.28±0.06^{bc}	5.63±0.08^{ab}	5.89±0.13^{a}	6.08±0.03^{a}	6.11±0.02^{ab}
DS80	4.97±0.03^{e}	5.43±0.08^{cd}	5.74±0.05^{bc}	5.86±0.05^{c}	5.99±0.03^{c}
F-test	*	*	*	*	*
CV (%)	0.11	0.15	0.13	0.07	0.10

*Mean±SD in the same column followed by different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

D = soil+dolomite, DB = soil+dolomite grinding by planetary ball mill and DS = soil+dolomite ultrasonic waves at varying ratios of 100%, 90%, and 80% Lime requirement

Wu et al. (2021) พบว่าการบดโดโลไมต์ด้วยเครื่องบดละเอียด planetary ball mill ให้มีขนาดอนุภาคที่เล็กลง สามารถเพิ่มค่าพีเอชของดินกรดกำมะถัน อยู่ในช่วง pH 6.0–6.2 ของการบ่มตัวอย่างดินระยะเวลา 15 วันแรก ส่วนผลที่พบจากการลดปริมาณการใส่โดโลไมต์สามารถลดปริมาณการใส่ลงได้ร้อยละ 10 โดยยังคงประสิทธิภาพในการปรับสภาพดินกรดกำมะถันที่ดี แต่เมื่อลดปริมาณการใส่โดโลไมต์ที่ร้อยละ 20 ของงานศึกษานี้ พบว่าปริมาณโดโลไมต์ที่ใส่ต่ำเกินไป ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลมากเกินกว่าประสิทธิภาพของปริมาณการใช้โดโลไมต์เพื่อการปรับค่าพีเอชของดิน โดยเฉพาะมีผลกับวิธีการบดละเอียดมากกว่าวิธีคลื่นอัลตราโซนิก และทั้ง 2 วิธี สามารถเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสกับอนุภาคของดิน ทำให้เกิดปฏิกิริยาระหว่าง OH^- กับ H^+ เพื่อแลกเปลี่ยนประจุระหว่างดินกับโดโลไมต์ได้ดีไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้ การใส่วัสดุโดโลไมต์เพื่อปรับปรุงสมบัติทางเคมีของดิน ขึ้นอยู่กับความถี่ และปริมาณการใส่ตามความต้องการปูนของเนื้อดินนั้น ๆ ซึ่งการเพิ่มขึ้นของค่าพีเอชของดินขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของโดโลไมต์และปริมาณของ OH^- ที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาเมื่อโดโลไมต์สามารถละลายและสร้าง OH^- ได้มากเท่าใด ค่าพีเอชของดินจะยิ่งสูงขึ้นเท่านั้น (Firnia and Rohmawati, 2022)

เมื่อใช้โดโลไมต์ที่ผ่านกระบวนการลดขนาดด้วยวิธีการบดละเอียด (DB90) ในอัตราร้อยละ 90 ของค่าความต้องการปูน และวิธีการใช้คลื่นอัลตราโซนิก (DS90 และ DS80) ในอัตราร้อยละ 90 และ 80 ของค่าความต้องการปูน ในวันที่ 5–14 ของการบ่มดิน แสดงลักษณะค่าพีเอชของดินที่เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 5.70–6.11 ซึ่งเพียงพอต่อการเจริญเติบโตของข้าว โดยค่าพีเอชของดินที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของข้าวอยู่ในช่วง 5.5–7.0 โดยที่ค่าพีเอชในช่วงนี้จะเพียงพอต่อการดูดซับธาตุอาหารให้กับพืชหรือข้าวได้อย่างเหมาะสม (Fageria et al., 2008)

ผลของการปลดปล่อยแคลเซียมในดิน

ผลการปลดปล่อยแคลเซียมในดินกรดกำมะถันตามตำรับการทดลองต่าง ๆ ของงานศึกษานี้แสดงดัง Table 4 เมื่อพิจารณาแนวโน้มของปริมาณแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน จะเห็นได้ว่าการใส่โดโลไมต์มีปริมาณแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้เพิ่มขึ้นตามเวลาที่ศึกษา (14 วัน) ในทุกตำรับทดลอง ยกเว้นตำรับควบคุม (ไม่ใส่โดโลไมต์) ที่มีค่าค่อนข้างคงที่ ซึ่งตำรับการทดลองและเวลามีผลต่อปริมาณแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนในดินกรดกำมะถันแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($p < 0.05$) ผลของการปรับสภาพโดโลไมต์ด้วยวิธีการบด พบว่าที่อัตราการใส่วัสดุโดโลไมต์ร้อยละ 100 90 และ 80 ของค่าความต้องการปูน มีปริมาณแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ลดลง เป็นไปตามอัตราการใส่วัสดุโดโลไมต์ที่ลดลง และปริมาณแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ของ DB100 และ DS100 มีค่าใกล้เคียงกับ D100 ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ ($p > 0.05$) ส่วนการปรับสภาพด้วยคลื่นอัลตราโซนิก พบผลเช่นเดียวกับการปรับสภาพด้วยการบดคือ ที่อัตราการใส่วัสดุโดโลไมต์ร้อยละ 100 และ 90 ของค่าความต้องการปูน มีปริมาณแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้สูงกว่าอัตราการใส่โดโลไมต์ที่ร้อยละ 80 อย่างไรก็ตาม สำหรับการปรับสภาพโดโลไมต์ด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตราโซนิกของทุกอัตราการใส่โดโลไมต์กับตำรับการใส่โดโลไมต์ที่ไม่ปรับสภาพ ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ ($p > 0.05$) เป็นที่น่าสนใจว่าปริมาณแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ของอัตราการใส่ที่ร้อยละ 90 มีค่าผกผันในช่วงแรก และมีค่าสูงกว่าอัตราการใส่ร้อยละ 100 และ 80 และเมื่อระยะเวลาการบ่มดินผ่านไป 14 วัน การปรับสภาพด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตราโซนิกที่อัตราการใส่ร้อยละ 100 และ 80 ไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ ($p > 0.05$) เมื่อพิจารณาผลของวิธีการปรับสภาพที่ศึกษา พบว่าการปรับสภาพด้วยคลื่นอัลตราโซนิกมีประสิทธิภาพที่ดีกว่าวิธีการบดอย่างชัดเจนตลอดเวลาการบ่มดินที่ศึกษา

ผลของการปรับสภาพโดโลไมต์ด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตราโซนิกตามความต้องการปูนของดินร้อยละ 100 และ 90 ของค่าความต้องการปูน มีปริมาณแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในช่วง 11.97–14.66 และ 11.50–13.90 cmol/kg ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องตามเกณฑ์ของ (Hazelton and Murphy, 2007) ที่ระดับปริมาณแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้จัดอยู่ที่ระดับสูง เมื่อเทียบกับการใส่วัสดุโดโลไมต์ที่ปรับสภาพด้วยวิธีการบดและแบบเดิมหรือไม่ปรับสภาพมีปริมาณแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 11.81–14.74 cmol/kg ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ ($p > 0.05$) และส่วนผลที่พบจากการลดปริมาณการใส่โดโลไมต์ในดินสำหรับการเพาะปลูกข้าว มีผลต่อความสามารถในการปลดปล่อยแคลเซียมของดิน ซึ่งการลดปริมาณโดโลไมต์ถึงร้อยละ 10 มีผลในเชิงบวกต่อความสามารถในการปลดปล่อยแคลเซียมของดินอย่างมีประสิทธิภาพ อย่างไรก็ตามเมื่อปริมาณโดโลไมต์ถูกลดมากเกินไปจนถึงร้อยละ 20 ของงานศึกษานี้ พบว่าการลดปริมาณโดโลไมต์ที่ใส่ลงไปในดินมีผลกระทบต่อความสามารถในการปลดปล่อยแคลเซียมของดิน โดยมีผลกระทบต่อปริมาณแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ของวิธีการบดมากกว่าวิธีคลื่นอัลตราโซนิก

การปรับสภาพของวัสดุโดโลไมต์เพื่อลดขนาดลง ไม่ว่าจะผ่านการบดหรือใช้คลื่นอัลตราโซนิก สามารถเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างโดโลไมต์กับอนุภาคของดินได้ ซึ่งจะส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของแคลเซียมในดิน ที่มีความสัมพันธ์กับค่าพีเอชของดิน โดยกระบวนการทางเคมีที่เกิดขึ้นในสภาวะดินที่มีค่าพีเอชต่ำหรือดินเป็นกรด ทำให้การละลายของแคลเซียมมีแนวโน้มที่มากขึ้น เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ที่ส่งผลให้เกิดการละลายของแคลเซียมอยู่ในรูปของ Ca^{2+} (Barker and Pilbeam, 2015) แต่เมื่อในดินที่มีค่าพีเอชสูงหรือดินเป็นด่าง มีแนวโน้มที่จะเกิดตะกอนแคลเซียม ซึ่งเป็นกระบวนการที่แคลเซียมจะเกิดการละลายออกมาจากดินและกลายเป็นรูปของแคลเซียมคาร์บอเนต (Brady et al., 2008) และเมื่อใช้โดโลไมต์ที่ผ่านการบดหรือใช้คลื่นอัลตราโซนิกในอัตราร้อยละ 90 และ 80 ที่มีปริมาณแคลเซียมที่แลกเปลี่ยนได้อยู่ในช่วง 10-30 cmol/kg ซึ่งปริมาณแคลเซียมในดินเป็นระดับที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของข้าว และข้าวมีความต้องการแคลเซียมที่สูง โดยเฉพาะในระยะกล้า (Fageria et al., 2010)

Table 4 Effect of dolomite applications on Exchangeable Ca^{2+} after soil incubation (temperature 35°C)

Treatment	Exchangeable Ca^{2+} (cmol/kg)				
	Day 1	Day 3	Day 5	Day 7	Day 14
C	7.68±0.31^{c}	7.67±0.19^{c}	7.93±0.22^{d}	8.04±0.35^{b}	7.74±1.07^{c}
D100	11.81±0.61^{ab}	13.55±0.09^{a}	13.99±0.23^{ab}	14.74±0.49^{a}	14.52±0.39^{a}
DB100	12.39±0.10^{a}	12.36±0.32^{b}	13.47±0.32^{b}	14.19±0.90^{a}	13.72±0.89^{ab}
DB90	12.35±0.49^{a}	11.94±0.39^{b}	12.65±0.39^{c}	13.74±0.87^{a}	12.37±0.70^{b}
DB80	11.56±0.11^{b}	12.16±0.14^{b}	12.44±0.25^{c}	13.58±0.37^{a}	12.37±0.42^{b}
DS100	11.97±0.20^{ab}	13.50±0.28^{a}	13.89±0.28^{ab}	14.56±0.40^{a}	14.66±1.01^{a}
DS90	12.03±0.29^{ab}	13.51±0.61^{a}	14.30±0.55^{a}	14.68±0.79^{a}	13.51±0.46^{ab}
DS80	11.50±0.27^{b}	13.02±0.52^{a}	13.90±0.14^{ab}	13.78±0.18^{a}	13.86±0.47^{a}
F-test	*	*	*	*	*
CV (%)	0.67	0.70	0.62	1.18	1.42

*Mean±SD in the same column followed by different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

D = soil+dolomite, DB = soil+dolomite grinding by planetary ball mill and DS = soil+dolomite ultrasonic waves at varying ratios of 100%, 90%, and 80% Lime requirement

ผลของการปลดปล่อยแมกนีเซียมในดิน

ผลการปลดปล่อยแมกนีเซียมในดินกรดกำมะถันตามตำรับการทดลองต่าง ๆ ของงานศึกษานี้แสดงดัง Table 5 เมื่อพิจารณาแนวโน้มของปริมาณแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดิน พบว่า การใส่โดโลไมต์มีผลต่อปริมาณแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้เปลี่ยนตามเวลาที่ศึกษา (14 วัน) ในทุกตำรับการทดลอง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ ($p < 0.05$) โดยตำรับควบคุม (ไม่ใส่โดโลไมต์) มีค่าค่อนข้างลดลงไปตามเวลา ประสิทธิภาพของตำรับการทดลองและเวลามีผลต่อปริมาณแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ในดินกรดกำมะถัน ผลของการปรับสภาพโดโลไมต์ด้วยวิธีการบด พบว่าที่อัตราการใส่วัสดุโดโลไมต์ร้อยละ 100 90 และ 80 ของค่าความต้องการปูน มีปริมาณแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ลดลงตามอัตราการใส่วัสดุโดโลไมต์ที่ลดลง และปริมาณแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ของ DB100 และ DS100 มีค่าใกล้เคียงกับ D100 ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ ($p > 0.05$) ส่วนการปรับสภาพด้วยคลื่นอัลตราโซนิก พบผลเช่นเดียวกับการปรับสภาพด้วยการบด คือ ที่อัตราการใส่วัสดุโดโลไมต์ร้อยละ 100 และ 90 ของค่าความต้องการปูน มีปริมาณแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้สูงกว่าอัตราการใส่โดโลไมต์ที่ร้อยละ 80

อย่างไรก็ตาม สำหรับการปรับสภาพโดโลไมต์ด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตราโซนิกของทุกอัตราการใส่โดโลไมต์กับตำรับการใส่โดโลไมต์ที่ไม่ปรับสภาพ ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับ ($p > 0.05$) เป็นที่น่าสนใจว่าปริมาณแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ของอัตราการใส่ที่ร้อยละ 90 มีค่าผกผันในช่วงแรก และมีค่าสูงกว่าอัตราการใส่ร้อยละ 100 และ 80 แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ทั้งนี้ เมื่อพิจารณาผลของวิธีการปรับสภาพที่ศึกษา พบว่าการปรับสภาพด้วยคลื่นอัลตราโซนิกมีประสิทธิภาพที่ดีกว่าวิธีการบดอย่างชัดเจนตลอดเวลาการบ่มดินที่ศึกษา ผลที่พบจากการลดปริมาณการใส่โดโลไมต์ สามารถลดปริมาณการใส่ลงได้ร้อยละ 10 โดยยังคงประสิทธิภาพในการปลดปล่อยแมกนีเซียมที่ดี แต่เมื่อลดปริมาณโดโลไมต์มากเกินไปที่ร้อยละ 20 ของงานศึกษานี้ พบว่าปริมาณโดโลไมต์ที่ใส่ต่ำเกินไปนั้น มีผลกระทบ

ต่อความสามารถในการปลดปล่อยแมกนีเซียมเซียมของดิน โดยมีผลกระทบต่อปริมาณแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ของวิธีการบดมากกว่าวิธีคลื่นอัลตราโซนิก

ผลของการปรับสภาพโดโลไมต์ด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตราโซนิกตามความต้องการปูนร้อยละ 90 มีปริมาณแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ในช่วง 9.60–10.86 cmol/kg ซึ่งจัดอยู่ในระดับปริมาณแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ที่ระดับสูงมาก ซึ่งสอดคล้องตามเกณฑ์ของ (Hazelton and Murphy, 2007) การปรับสภาพของวัสดุโดโลไมต์ไม่ว่าจะผ่านการบดหรือใช้คลื่นอัลตราโซนิก การปรับค่าพีเอชของดินมักส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของแมกนีเซียมในดินโดยตรง จากการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของดินจะมีผลต่อความสามารถในการละลายและการสะสมของแมกนีเซียมในดิน แมกนีเซียมมักจะมีอยู่ในรูปของเกลือและสารละลายอื่นที่มีพลังงานต่ำในดิน ดังนั้นเมื่อค่าพีเอชของดินเปลี่ยนแปลง จึงส่งผลต่อปริมาณและรูปแบบการสะสมของแมกนีเซียมในดิน อย่างไรก็ตาม กลไกทางเคมีที่เกี่ยวข้องกับค่าพีเอชของดินและการเปลี่ยนแปลงของแมกนีเซียมยังมีความซับซ้อน ซึ่งอาจเกี่ยวข้องกับปัจจัยต่างๆ เช่น การสลายตัวของสารอินทรีย์ในดิน การละลายของสารต่างๆ การเคลื่อนที่ของน้ำในดิน และกระบวนการเคมีที่เกิดขึ้นระหว่างธาตุแมกนีเซียมกับองค์ประกอบอื่นในดิน (Marschner et al., 2011) และเมื่อใช้โดโลไมต์ที่ผ่านการบดหรือใช้คลื่นอัลตราโซนิกในอัตราร้อยละ 90 และ 80 ระดับแมกนีเซียมในดินที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของข้าวจะอยู่ในช่วงประมาณ 5–20 cmol/kg (Fageria et al., 2010)

Table 5 Effect of dolomite applications on Exchangeable Mg^{2+} after soil incubation (temperature 35°C)

Treatment	Exchangeable Mg^{2+} (cmol/kg)				
	Day 1	Day 3	Day 5	Day 7	Day 14
C	5.34±0.53^{d}	5.18±0.14^{d}	5.05±0.12^{d}	4.76±0.07^{d}	4.62±0.13^{e}
D100	9.47±0.27^{abc}	11.06±0.48^{a}	11.05±0.28^{a}	10.65±0.74^{ab}	11.02±0.59^{a}
DB100	9.92±0.10^{a}	10.68±0.34^{a}	10.37±0.43^{ab}	10.42±0.18^{ab}	10.00±0.16^{bc}
DB90	9.53±0.36^{ab}	10.38±0.56^{ab}	9.64±0.40^{c}	10.07±0.73^{bc}	9.55±0.25^{cd}
DB80	9.48±0.27^{abc}	9.85±0.25^{bc}	9.51±0.31^{c}	9.34±0.27^{c}	9.25±0.42^{d}
DS100	9.34±0.20^{bc}	10.37±0.30^{ab}	10.04±0.25^{bc}	11.10±0.43^{a}	10.57±0.52^{ab}
DS90	9.60±0.18^{ab}	10.68±0.71^{a}	10.86±0.57^{a}	10.12±0.25^{bc}	10.84±0.08^{a}
DS80	8.98±0.18^{c}	9.44±0.22^{c}	9.90±0.51^{bc}	10.20±0.65^{bc}	10.37±0.46^{ab}
F-test	*	*	*	*	*
CV (%)	0.56	0.81	0.75	0.94	0.73

*Mean±SD in the same column followed by different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

D = soil+dolomite, DB = soil+dolomite grinding by planetary ball mill and DS = soil+dolomite ultrasonic waves at varying ratios of 100%, 90%, and 80% Lime requirement

สรุป

จากการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการเกี่ยวกับการใช้วัสดุโดโลไมต์เพื่อปรับค่าพีเอชของดินกรดกำมะถัน (ชุดดินรังสิต) พบว่าการปรับสภาพวัสดุโดโลไมต์ด้วยวิธีการบดละเอียดและใช้คลื่นอัลตราโซนิกที่ใส่โดโลไมต์ร้อยละ 100 และ 90 ของค่าความ

ต้องการปูน สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการลดความเป็นกรดของดินอย่างมีนัยสำคัญ และการลดขนาดโดโลไมต์ของทั้ง 2 วิธี ไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณแคลเซียมและแมกนีเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ ที่อัตราการใส่โดโลไมต์ร้อยละ 90 และ 80 ของค่าความต้องการปูน เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้วัสดุโดโลไมต์แบบไม่ปรับสภาพ จึงสรุปได้ว่า การใช้วัสดุโดโลไมต์สามารถลดความเป็นกรดของดินให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช และสามารถลดระยะเวลาในการปรับปรุงดินกรดกำมะถันเป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์ ทั้งนี้สามารถพัฒนาวิธีการต่าง ๆ เพื่อหาแนวทางลดการใช้ทรัพยากรแร่ในธรรมชาติต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ได้สนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กรมพัฒนาที่ดิน. 2553. คู่มือการปฏิบัติงาน กระบวนการวิเคราะห์ตรวจสอบดินทางเคมี. กรมพัฒนาที่ดิน, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพมหานคร.

กรมพัฒนาที่ดิน. 2562. การจัดการพื้นที่ดินกรดกำมะถัน การประชุมวันดินโลกประจำปี 2562 กรมพัฒนาที่ดิน, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพมหานคร.

สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน. 2547. คู่มือการวิเคราะห์ตัวอย่างดิน น้ำ ปุ๋ย พืช วัสดุปรับปรุงดิน และการวิเคราะห์เพื่อตรวจสอบรับรองมาตรฐานสินค้า เล่ม 1. กรมพัฒนาที่ดิน, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพมหานคร

Barker, A.V., Pilbeam, D.J. 2015. Handbook of plant nutrition. CRC press.

Bikkinina, L.M.H., Ezhkov, V.O., Yapparov, I.A., Katnov, V.E., Ilyasov, M.M. 2019. Nanostructured dolomite flour for soil liming. IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 315(5). doi.org/10.1088/1755-1315/315/5/052029

Blake, G.R. 1965. Physical and Mineralogical Properties, Including statistics of Measurement and Sampling. In: Black, C.A. (Ed.). Methods of Soil Analysis, Part 1, ASA-SSSA, Agronomy Monograph, Vol 9, pp. 374–390.

Brady, N.C., Weil, R.R., Weil, R.R. 2008. The nature and properties of soils (Vol. 13). Prentice Hall Upper Saddle River, NJ, USA.

Bray, R.H., Kurtz, L.T. 1945. Determination of total organic and available forms of phosphorus in soils. Soil Science 59: 39—45. http://dx.doi.org/10.1097/00010694-194501000-00006

Fageria, N.K., Baligar, V.C., Li, Y.C. 2008. The Role of Nutrient Efficient Plants in Improving Crop Yields in the Twenty First Century. J. Plant Nutr. 31(6): 1121–1157

Fageria, N.K., Baligar, V.C., Jones, C.A. 2010. Growth and mineral nutrition of field crops. CRC press

Firnia, D., Rohmawati, I. 2022. Chemical properties of acid soil after amelioration of dolomite, coal, and microbes. IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. 978(1): 012010.

Gee, G.W. and Bauder, J.W. 1986. Particle-size analysis. In: Klute, A. (Ed.). Methods of Soil Analysis, Part 1. Physical and Mineralogical Methods, Agronomy Monograph No. 9, 2nd ed., American Society of Agronomy/Soil Science Society of America, Madison, WI, USA, pp. 383–411.

Hazelton, P., Murphy, B. 2007. Interpreting soil test results*:* What do all the numbers mean? CSIRO publishing.

Magdoff, F., Van Es, H. 2000. Building soils for better crops. Sustainable Agriculture Network, Beltsville, Maryland, MD, USA.

Marschner, H. 2011. Marschner's mineral nutrition of higher plants. Academic press.

Peech, M. 1945. Determination of exchangeable cations and exchange capacity of soils—rapid micromethods utilizing centrifuge and spectrophotometer. Soil Science 59(1): 25–38.

Peech, M. 1965. Hydrogen-Ion activity. In: Black, C.A. (Ed.). Methods of Soil Analysis. Part 2, Agronomy Monographs 9, ASA and SSSA, Madison, pp. 914–926. https://doi.org/10.2134/agronmonogr9.2.c9

Richards, L.A. 1954. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. US Government Printing Office.

Sparks, D.L., Page, A.L., Helmke, P.A., Loeppert, R.H. 2020. Methods of soil analysis, part 3: Chemical methods (Vol. 14). John Wiley & Sons.

Wu, H., Hu, J., Shaaban, M., Xu, P., Zhao, J., Hu, R. 2021. The effect of dolomite amendment on soil organic carbon mineralization is determined by the dolomite size. Ecol. Process. 10(1). doi.org/10.1186/s13717-020-00278-x

Yan, C., Fan, M., Yang, M. et al. 2018. Injury activates Ca(2+)/Calmodulin-dependent phosphorylation of JAV1-JAZ8-WRKY51 complex for jasmonate biosynthesis. Mol. Cell. 70(1): 136–149.

Yuan, J.-H., E, S.-Z., Che, Z.-X. 2020. The ameliorative effects of low-grade palygorskite on acidic soil. Soil Res. 58(4). doi.org/10.1071/sr19178

การวิเคราะห์เมตาจีโนมิกส์ของกลุ่มประชากรแบคทีเรียผิวใบและรอบรากพืชของถั่วเหลืองฝักสดและข้าวโพดหวาน

Metagenomic analysis of bacterial communities in phyllosphere and rhizosphere of green soybean and sweet corn plants

ชูศักดิ์ แข็งแรง[a], **วิศรุต เพิ่มพูล**[a], **วุฒิชัย เหมืองทอง**[b], **อุษาวดี ชัยพรม**[b], **นุชจรินทร์ แฮวอู**[a], **ณัฐกร คุณเจริญ**[a], **สวิตา สุวรรณรัตน์**[a], **วราภรณ์ บุญเกิด**[a], **สุพจน์ กาเซ็ม**[a], **ติยากร ฉัตรนภารัตน์**[a,*]

Choosak Khaengraeng[a], Wissaroot Phermpul[a], Wutthichai Mhuantong[c], Usawadee Chaiprom[b], Nutjarin Haewou[a], Nattakorn Kuncharoen[a], Sawita Suwannarat[a], Warapon Bunkoed[a], Supot Kasem[a], Tiyakhon Chatnaparat[a,*]

[a]ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[b]ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ ปทุมธานี 12120

[a]Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

[b]BIOTEC, National Science and Technology Development Agency (NSTDA), Pathum Thani 12120, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: fagrtkc@ku.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษานี้วิเคราะห์โครงสร้างของกลุ่มประชากรแบคทีเรียทั้งหมดที่อยู่บริเวณผิวใบพืชและบริเวณรอบรากของถั่วเหลืองฝักสดจากแปลงเกษตรกร จ.อุทัยธานี และข้าวโพดหวานจาก จ.นครราชสีมา โดยนำตัวอย่างพืชมาสกัดดีเอ็นเอและหาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วย 16S ribosomal RNA gene (rRNA) amplicon metagenomic พบว่าประชากรแบคทีเรียบริเวณรอบรากของพืชทั้ง 2 ชนิด มีความหลากหลายสูงกว่าบริเวณผิวใบ และแบคทีเรียที่พบในข้าวโพดหวานมีความหลากหลายสูงกว่าถั่วเหลืองฝักสด โดยแบคทีเรียชนิดหลัก (core microbiome) และพบมาก 3 อันดับแรก ในถั่วเหลืองฝักสด ประกอบด้วย *Methylobacterium, Aureimonas* และ *Sphingomonas* ในขณะที่ข้าวโพดหวานพบ *Pantoea, Bacillus* และ *Pseudomonas* สภาพแวดล้อมบริเวณผิวใบและรอบรากส่งผลต่อความแตกต่างของแบคทีเรียในถั่วเหลืองฝักสด แต่ไม่พบความแตกต่างในข้าวโพดหวาน จากการศึกษานี้ทำให้ทราบกลุ่มประชากรแบคทีเรียที่มีความสัมพันธ์กับพืชทั้งสองชนิด ซึ่งเป็นข้อมูลใช้คัดเลือกแบคทีเรียที่เหมาะสมเพื่อพัฒนาการผลิตพืชอย่างยั่งยืนต่อไป

คำสำคัญ: ความหลากหลายของแบคทีเรีย, โครงสร้างกลุ่มประชากรแบคทีเรีย, High-throughput sequencing

Abstract

In this study, the bacterial community structure from the phyllosphere and rhizosphere of green soybeans collected from Uthai Thani Province and sweet corn from Nakhon Ratchasima Province were analyzed. DNA was extracted from plant samples and sequenced using 16S ribosomal RNA gene (rRNA) amplicon metagenomic sequencing. The results revealed that the diversity of bacteria in the rhizosphere of both plants was higher than in the phyllosphere, and the diversity of bacteria in sweet corn was higher than in green soybeans. The bacterial core microbiota of green soybeans consists of *Methylobacterium, Aureimonas* and *Sphingomonas*, whereas sweet corn consists of *Pantoea, Bacillus* and *Pseudomonas* The plant environment of the phyllosphere and rhizosphere was found to affect the bacterial community in green soybeans but not in sweet corn. The present data provide a description of the bacterial community associated with green soybeans and sweet corn that will be useful for selecting suitable bacterial taxa for sustainable crop production.

Keywords: Bacterial community structure, Bacterial diversity, High-throughput sequencing

คำนำ

ถั่วเหลืองฝักสด (*Glycine max*) และข้าวโพดหวาน (*Zea mays* L. var. *saccharata*) เป็นพืชที่มีความสำคัญทั้งในเชิงเศรษฐกิจและโภชนาการทั้งในประเทศไทยและทั่วโลก การศึกษาและทำความเข้าใจเกี่ยวกับชีวนิเวศจุลชีพของพืช (Plant microbiome) ในถั่วเหลืองฝักสดและข้าวโพดหวานจึงมีความสำคัญอย่างมากต่อการพัฒนาการทำการเกษตรที่ยั่งยืน เนื่องจากมีบทบาทสำคัญในกระบวนการทางชีวภาพของพืชทั้งสองชนิด ชีวนิเวศจุลชีพของพืชส่วนเหนือดิน (Phyllosphere microbiome) และ ชีวนิเวศจุลชีพบริเวณรอบรากพืช (Rhizosphere microbiome) (Piombo et al., 2021) มีบทบาทสำคัญในกระบวนการเจริญเติบโตของพืช เช่น แบคทีเรียบริเวณรอบรากที่ช่วยตรึงไนโตรเจน (root-associated microbiota fix nitrogen) (Li et al., 2023) แบคทีเรียบริเวณผิวใบที่มีบทบาทในกระบวนการ carbon cycling และมีบทบาทสำคัญต่อการเกิดโรค เช่น การแข่งขันกับเชื้อสาเหตุโรคพืช (Song et al., 2020) รวมทั้งมีผลต่อการกระตุ้นภูมิต้านทานพืช และมีหลายปัจจัยที่เป็นตัวกำหนดโครงสร้างจุลินทรีย์ในดิน ประกอบด้วย ปัจจัยทางสภาพแวดล้อม การปฏิบัติทางการเกษตร ชนิดพืช พันธุ์พืช ปฏิสัมพันธ์ระหว่างพืชและจุลินทรีย์ในดิน รวมทั้งปฏิสัมพันธ์ร่วมกันระหว่างกลุ่มจุลินทรีย์ด้วยกันเอง (Dastogeer et al., 2020; Zhang et al., 2021) ปัจจุบันการศึกษากลุ่มประชากรแบคทีเรียที่มีความสัมพันธ์กับพืช ด้วยเทคนิค metagenomics ร่วมกับ high throughput sequencing มีรายงานเพิ่มมากขึ้นในพืชหลายชนิด ในพื้นที่ต่าง ๆ ทั่วโลก เช่น บริเวณรอบรากพืช *Arabidopsis thaliana* จะพบแบคทีเรียไฟลัม *Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes*, และ *Proteobacteria* (Bulgarelli et al., 2013) และสภาพแวดล้อมพืชส่วนเหนือดิน (Phylloshere) เป็นอีกหนึ่งสภาพแวดล้อมที่มีจุลินทรีย์อาศัยอยู่หลากหลายพบว่ามีความแตกต่างจากกลุ่มจุลินทรีย์ที่อยู่ในดิน เช่น การศึกษาประชากรแบคทีเรียที่อยู่บริเวณ phyllosphere โดยการใช้ metagenomics และ high throughput sequencing ในถั่วเหลือง, white clover, *A. thaliana*, และข้าว พบแบคทีเรียส่วนใหญ่อยู่ในไฟลัม *Proteobacteria* class *Alphaproteobacteria* ซึ่งพบมากว่า 70% ในพืชทั้ง 4 ชนิด (Vorholt, 2012) เทคนิค Metagenomic Next-Generation Sequencing (mNGS) ถือเป็นเครื่องมือที่สำคัญในการหาลำดับเบสของจุลินทรีย์ที่อยู่ในสภาพแวดล้อมโดยตรงโดยไม่ต้องแยกและเพาะเชื้อ (Gökdemir et al., 2022) ทำให้สามารถวิเคราะห์ความหลากหลาย โครงสร้างของจุลินทรีย์และหน้าที่ของลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งหมดจากสิ่งมีชีวิตที่อาศัยร่วมกับพืช รวมถึงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์และพืช ที่สำคัญพบว่าการศึกษาเปรียบเทียบ Plant microbiome ของถั่วเหลืองฝักสดและข้าวโพดหวานในประเทศไทยยังไม่มีรายงานมาก่อน ดังนั้นการศึกษานี้ทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบโครงสร้าง bacterial community ในพืช 2 ชนิด คือ ข้าวโพดหวานและถั่วเหลืองฝักสด ด้วยเทคนิค Metagenomic Next-Generation Sequencing (mNGS) ผลการศึกษาทำให้ทราบความเหมือนและความแตกต่างของกลุ่มแบคทีเรียทั้งบริเวณรอบราก และบริเวณผิวใบของพืชทั้งสองชนิด ซึ่งองค์ความรู้ที่ได้ สามารถนำไปพัฒนาวิธีการเกษตรที่ยั่งยืนและมีประสิทธิภาพมากขึ้น และนำเทคโนโลยีทางการเกษตรเข้ามาช่วยเสริมสร้าง Plant Microbiome ที่เป็นประโยชน์สามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นแนวทางในการจัดการป้องกันรักษาโรคพืช เพิ่มผลผลิตทางการเกษตร ลดการใช้สารเคมี และลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม

อุปกรณ์และวิธีการ

การสำรวจและเก็บตัวอย่างข้าวโพดและถั่วเหลืองเป็นโรคและต้นปกติในแปลงปลูกเกษตรกรจากแหล่งปลูกธรรมชาติ

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design (RCBD) ทำการเก็บตัวอย่างข้าวโพดหวานพันธุ์อินทรี2 อายุ 75 วัน ในแปลงปลูกจังหวัดนครราชสีมา และเก็บตัวอย่างเหลืองฝักสด ที่ระยะการเจริญเติบโต R6 ในแปลงปลูกจังหวัดอุทัยธานี กำหนดจุดเก็บตัวอย่างให้ครอบคลุมทั้งแปลง แปลงละ จำนวน 16 จุด โดยแบ่งพื้นที่เก็บ

ตัวอย่างภายในแปลงออกเป็น 4 แปลง แต่ละแปลงสุ่มเก็บตัวอย่างพืชจำนวน 4 จุด (Díaz-Cruz and Cassone, 2022) โดยแยกตัวอย่างใบ (phyllosphere) และดินบริเวณรอบราก (rhizosphere) ของแต่ละตัวอย่าง เก็บลงในถุงพลาสติกปลอดเชื้อ และเก็บลงในที่บรรจุน้ำแข็งแห้ง เพื่อใช้ในการสกัดตัวอย่าง DNA ของแบคทีเรียที่อยู่บริเวณผิวใบและดินบริเวณรอบรากต่อไป

การสกัดตัวอย่าง DNA จากตัวอย่างพืชเพื่อวิเคราะห์ชนิดแบคทีเรียด้วยวิธี metagenomic

ทำการเก็บเซลล์แบคทีเรียที่อยู่บริเวณผิวใบ โดยนำตัวอย่างใบพืชแต่ละตัวอย่างด้วยวิธีล้างใบ(leaf washing) ดัดแปลงจากวิธีการของ (Dong et al., 2019) โดยนำใบพืชมาใส่ใน flask ที่บรรจุ Phosphate Buffer Saline ที่ผสม 0.01 เปอร์เซ็นต์ Triton X-100 (PBST buffer) (Na_2HPO_4 1.42 กรัมต่อลิตร; KH_2PO_4 0.24 กรัมต่อลิตร; NaCl 8 กรัมต่อลิตร; KCl 0.2 กรัมต่อลิตร; 0.01 เปอร์เซ็นต์ Triton X-100) และทำการเก็บเซลล์แบคทีเรียที่อยู่บริเวณรอบรากพืชด้วยวิธีการล้างราก โดยทำการเขย่าดินส่วนเกินบริเวณรากออกจนเหลือแต่ดินที่ติดอยู่กับผิวราก หลังจากนั้นนำรากใส่ในหลอดที่บรรจุ PBST buffer แล้วนำตัวอย่างใบพืชและดินบริเวณรอบรากพืช เขย่าบนเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1.30 ชั่วโมง หลังจากนั้นปั่นตกตะกอนเพื่อเก็บเซลล์แบคทีเรียด้วยเครื่อง Centrifugation ที่ความเร็วรอบ 12000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที เก็บตะกอนเซลล์แบคทีเรียไว้ที่ -80 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการสกัด DNA สกัด DNA โดยนำตะกอนเซลล์ที่ได้จากการล้างใบหรือรากปริมาณ 250 มิลลิกรัม มาสกัด DNA ด้วย DNeasy® PowerSoil® Pro Kit (QIAGEN, Germany) ตามวิธีการของบริษัท หลังจากนั้นนำ DNA ที่ได้มาตรวจสอบปริมาณและความบริสุทธิ์ของ DNA ด้วย NanoDrop® ND 2000 ที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร แล้วนำไปตรวจสอบคุณภาพของ DNA เพื่อใช้ในการเตรียม 16s rRNA amplicon library และวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ต่อไป

การตรวจสอบคุณภาพของ DNA, การเตรียม 16S rRNA library และการหาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเทคนิค Illumina next generation sequencing

เพิ่มปริมาณ DNA เป้าหมายที่บริเวณยีน 16S ribosomal RNA (rRNA) จำเพาะต่อแบคทีเรียบริเวณ V3-V4 ด้วยไพร์เมอร์ 341F 5'–CCTAYGGGRBGCASCAG–3' และ 806R 5'–GGACTACNNGGGTATCTAAT–3' (Mayer et al., 2021) ด้วยเทคนิค Polymerase Chain Reaction นำ DNA ที่ได้ตรวจสอบคุณภาพแล้วมาใช้ในการเตรียม libraries ตามคู่มือของบริษัท (16S Metagenomic Sequencing Library Preparation Part # 15044223 Rev. B) ด้วย Miseq platform วิเคราะห์หาลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยเครื่อง Miseq เพื่อนำข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้มาใช้ในการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของประชากรแบคทีเรียในแต่ละกรรมวิธีในขั้นตอน Bioinformatics processing

การวิเคราะห์ข้อมูลประชากรแบคทีเรียโดยอาศัยข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน16S rRNA (Bioinformatics processing)

นำลำดับเบสที่ได้มาวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อจัดจำแนกชนิดแบคทีเรีย (taxonomic classification) และวิเคราะห์ความหลากหลายทางชีวภาพด้วย alpha และ beta diversity ด้วยโปรแกรมทางชีวสารสนเทศ โดยจัดกลุ่มลำดับเบสด้วยวิธี Amplicon Sequence Variants (ASVs) ด้วยโปรแกรม Dada2 (Callahan et al., 2016) จัดจำแนกจุลินทรีย์ที่อยู่ในตัวอย่าง (taxonomic classification) โดยโปรแกรม QIIME2 (version 2020.6) โดย consensus BLAST ลำดับเบสตัวแทน (representative sequence) ที่ได้จากการจัดกลุ่ม ASV กับฐานข้อมูลจุลินทรีย์ Silva database (https://www.arb-silva.de/) (Bolyen et al., 2019) วิเคราะห์ความหลากหลายทางชีวภาพแอลฟ่า (alpha diversity

index) Shannon diversity index ด้วย package “microbiome” และ “knitr” ในโปรแกรม R (Lahti and Shetty, 2018) และการวิเคราะห์ความหลากหลายทางชีวภาพเบต้า (beta diversity) ในรูปแบบของ weighted Unifrac distance matrix โดยใช้การคำนวณแบบ Bray–Curtis และแสดงผลด้วยเทคนิค Principal Coordinates Analysis (PCoA) เพื่อแสดงความแตกต่างระหว่างประชากรจุลินทรีย์ในแต่ละกลุ่มตัวอย่าง ด้วย package “microbiome”, “phyloseq” และ “ggplot2” ในโปรแกรม R (Lahti and Shetty, 2018)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

โครงสร้างกลุ่มประชากรและความหลากหลายของกลุ่มประชากรแบคทีเรียในถั่วเหลืองและข้าวโพด

จากการตรวจสอบคุณภาพ DNA เพื่อวิเคราะห์ชนิดแบคทีเรียด้วยวิธี metagenomic analysis พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณ DNA ของแบคทีเรียที่สกัดจากข้าวโพดหวานและถั่วเหลืองฝักสดได้ทุกตัวอย่าง (Fig. 1) การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณยีน 16S rRNA บริเวณ V3–V4 ของประชากรแบคทีเรีย ในข้าวโพดหวานและถั่วเหลืองฝักสด พบว่ามีจำนวนการอ่านลำดับนิวคลีโอไทด์ที่มีคุณภาพสูง 745,534 และ 1,073,742 reads ตามลำดับ ระบุ Amplicon Sequence Variants (ASVs) ของข้าวโพดหวานและถั่วเหลืองฝักสดได้ 2,925 และ 3,026 ASVs ตามลำดับ

โดยมีจำนวนชนิดของแบคทีเรียที่เหมือนกันในข้าวโพดหวานและถั่วเหลืองฝักสด เท่ากับ 2,281 ASVs ของแบคทีเรียที่พบทั้งหมด (Fig 2) จำนวนชนิดของแบคทีเรียบริเวณรอบราก (rhizosphere) และบริเวณผิวใบ (phyllosphere) ที่เหมือนกัน 1,657 และ 951 ASVs โดยมีกลุ่มประชากรแบคทีเรียบริเวณรอบรากพืช ทั้ง 2 ชนิดมีจำนวน ASVs มากกว่ากลุ่มประชากรแบคทีเรียบริเวณใบ (Fig. 2) ซึ่งแสดงถึงความหลากหลายทางชีวภาพที่สูงในบริเวณรากพืชทั้ง 2 ชนิด

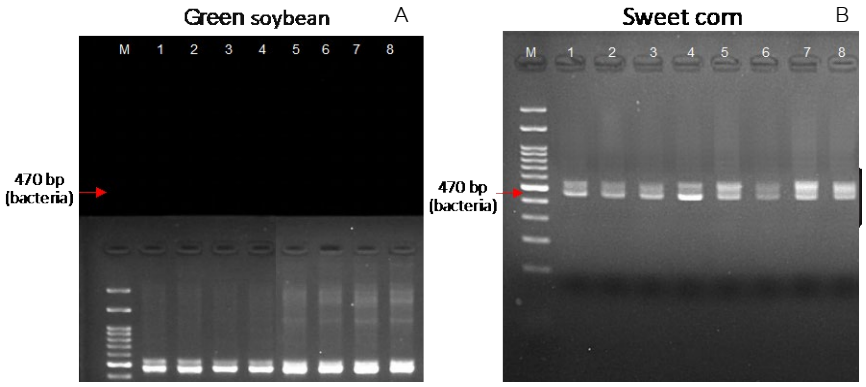


Fig. 1 PCR product of 470 bp amplified in the V3-V4 region of the 16S rRNA gene with primers 341F and 806R of green soybean (A) and sweet corn (B)

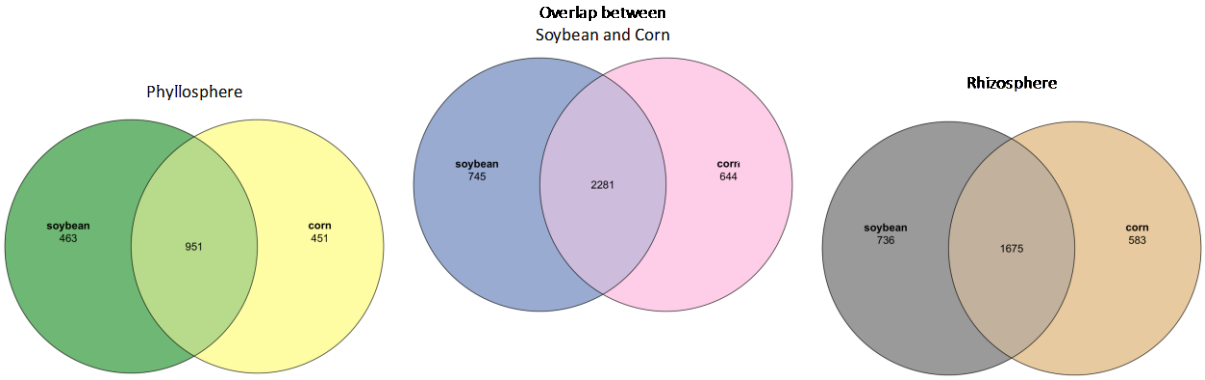


Fig. 2 Venn diagram representing the bacterial operational taxonomic units associated with the Phyllosphere and rhizosphere soybean and corn

กลุ่มประชากรแบคทีเรียที่เป็นจุลินทรีย์หลัก (core microbiome) ของถั่วเหลืองฝักสดและข้าวโพดหวาน

จากการวิเคราะห์กลุ่มประชากรแบคทีเรียที่เป็นจุลินทรีย์หลัก (core microbiome) 20 อันดับแรกของถั่วเหลืองฝักสดและข้าวโพดหวาน พบว่ากลุ่มประชากรแบคทีเรียที่เป็นจุลินทรีย์หลักของถั่วเหลืองฝักสดประกอบด้วย *Aureimonas, Methylobacterium, Sphingomonas, Pseudomonas, Bacillus,* และ *Rhizobium* (Fig. 3A) สอดคล้องกับการศึกษาของ Zhou และคณะ 2023 พบ *Aureimonas* , *Sphingomonas* และ *Methylobacterium* เป็นจุลินทรีย์หลักของถั่วเหลืองในประเทศจีน (Zhou et al., 2023) กลุ่มประชากรแบคทีเรียที่เป็นจุลินทรีย์หลักของข้าวโพดหวานประกอบด้วย *Bacillus, Pantoea, Pseudomonas, Enterobacter, Sphingomonas, Acinetobacter, Nocardioides, Pseudarthorobacter, Rubrobacter*, *Streptomyces*, *Rhizobium, Microbacterium*, *Aureimonas* และ *Enterococcus* (Fig. 3B) การวิเคราะห์กลุ่มประชากรแบคทีเรียข้าวซึ่งเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวเช่นเดียวกับข้าวโพดพบจุลินทรีย์หลัก คือ *Pantoea, Klebsiella, Methylobacterium* และ *Exiguobacterium* (Sahu et al., 2022) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มประชากรแบคทีเรียที่เป็นจุลินทรีย์หลักที่พบทั้งถั่วเหลืองฝักสดและข้าวโพดหวาน ประกอบด้วย *Bacillus, Pantoea, Pseudomonas* และ *Sphingomonas*

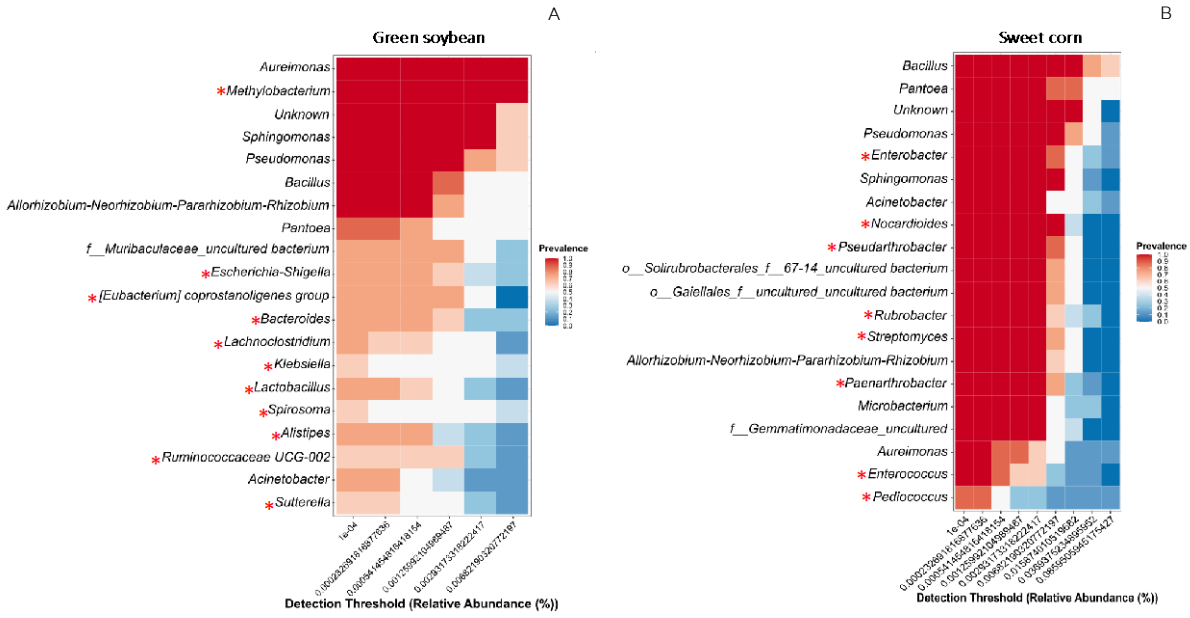


Fig. 3 Bacterial core microbiome of green soybean (A) and sweet corn (B) from field in Thailand

การเปรียบเทียบชนิดแบคทีเรียที่พบมาก (relative abundance) ของถั่วเหลืองฝักสดและข้าวโพดหวาน

จากการวิเคราะห์เปรียบเทียบชนิดแบคทีเรียที่พบมาก (relative abundance) บริเวณใบ (phyllosphere) ถั่วเหลืองฝักสดและข้าวโพดหวาน บริเวณใบถั่วเหลืองฝักสดพบแบคทีเรีย สกุล *Methylobacterium* (63%), *Aureimonas* (13%), *Sphingomonas* (7%) และ *Spirosoma* (3%) ในปริมาณมากที่สุด (Fig. 4A) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาประชากรแบคทีเรียที่อยู่บริเวณ phyllosphere (Vorholt, 2012) ในถั่วเหลือง, white clover และ*Arabidopsis thaliana* พบแบคทีเรียส่วนใหญ่อยู่ในสกุล *Methylobacterium, Sphingomonas, Pseudomonas* และ *Spirosoma* เช่นเดียวกัน ในขณะที่บริเวณใบข้าวโพดหวานพบแบคทีเรีย สกุล *Pantoea* (22%), *Bacillus* (5%), *Aureimonas* (4%), *Microbacterium* (3%), *Sphingomonas* (3%) และ *Pseudomonas* (3%) (Fig. 4A) สอดคล้องกับการศึกษาประชากรแบคทีเรียที่อยู่บริเวณ phyllosphere ในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ พบแบคทีเรียบนใบพืชส่วนใหญ่อยู่ในสกุล *Pantoaea* , *Entyloma* และ *Golubevia* spp. (Wagner et al., 2020b) นอกจากนี้ Wagner และคณะรายงานการเปลี่ยนแปลงประชากรของแบคทีเรียสกุล *Pantoaea* บนใบข้าวโพดจะพบปริมาณมากที่ช่วงอายุ 3 สัปดาห์ หลังจากนั้น 7 สัปดาห์จะมีการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรแบคทีเรียบริเวณผิวใบเป็น *Sphingomonas* และ *Methylobacterium* (Wagner et al., 2020a) เมื่อเปรียบเทียบแบคทีเรียระหว่างบริเวณใบถั่วเหลืองฝักสดและข้าวโพดหวาน พบว่าแบคทีเรียบริเวณใบข้าวโพดมีการกระจายตัวของสกุลแบคทีเรียปริมาณมากในการครอบครองใบพืชค่อนข้างที่จะสม่ำเสมอ ในขณะเดียวกันบริเวณใบถั่วเหลืองมีแบคทีเรียที่โดดเด่นในการครอบครองใบพืชเพียง 4 ชนิดเท่านั้น

การวิเคราะห์เปรียบเทียบชนิดแบคทีเรียที่พบมาก (relative abundance) บริเวณราก (rhizosphere) ถั่วเหลืองฝักสดและข้าวโพดหวาน พบว่าบริเวณรอบรากถั่วเหลืองฝักสดพบแบคทีเรีย สกุล *Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia* (26%), *Bacillus* (9%), *Serratia* (6%), *Pantoea* (4%) และ *Pseudomonas* (3%), และ *Xanthomonas* (3%) (Fig. 4A) ซึ่งมีรายงานแบคทีเรีย *Bradyrhizobium* และ *Sphingomonas* พบบริเวณผิวรากถั่วเหลือง (Longley et al., 2020) นอกจากนี้ Liu และคณะ 2019 รายงานว่าคุณสมบัติดินส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงกลุ่มประชากรแบคทีเรียรอบรากอย่างมาก ในขณะที่ลักษณะทาง genotype ของพืชอาศัยจะส่งผลเล็กน้อยต่อการเปลี่ยนแปลงกลุ่มจุลินทรีย์ (Liu et al., 2019) อย่างไรก็ตามยังพบปริมาณแบคทีเรียบริเวณผิวรากจะมีปริมาณมากกว่าในดินเนื่องจากพืชมีการปล่อยสารหลั่งเพื่อชักนำแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ เช่น *Burkholderia bryophia* มีความสามารถส่งเสริมการผลิตฮอร์โมนที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เช่น ACC deaminase และ siderophore และมีฤทธิ์เป็นปฏิปักษ์ต่อโรคพืชหลายชนิด เช่น *Xanthomonas campestris* และ *Rhizoctonia solani* (Agyekum et al., 2023)

ในขณะที่บริเวณรอบรากข้าวโพดหวานพบแบคทีเรียสกุล *Bacillus* (12%), *Acinetobacter* (7%), *Pseudomonas* (6%), *Paenarthrobacter* (3%), *Rubrobacter* (3%), *Pseudarthrobacter* (3%) และ *Enterobacter* (3%) (Fig.4B) มีรายงานการศึกษาประชากรแบคทีเรียที่อยู่บริเวณรอบรากข้าวโพดพบ *Pseudomonas* spp., *Enterobacter, Microbacterium, Pantoea, Curtobacterium, Staphylococcus* spp., *Paenarthrobacter* spp., *Chryseobacterium* spp., *Erwinia* spp., *Pedobacter* spp., *Rahnella* spp., *Sphingomonas* spp. (Singh and Goodwin, 2022) และ *Ralstonia*, *Burkholderia*, *Rhizobium*, *Entyloma* และ *Golubevia* (Wagner et al., 2020b) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่ากลุ่มประชากรบริเวณรอบรากส่วนใหญ่จะได้รับผลกระทบโดยตรงจากลักษณะและคุณสมบัติของดิน (Cordero Elvia et al., 2021) จึงทำให้ชนิดแบคทีเรียแตกต่างกันไปตามพื้นที่ปลูก

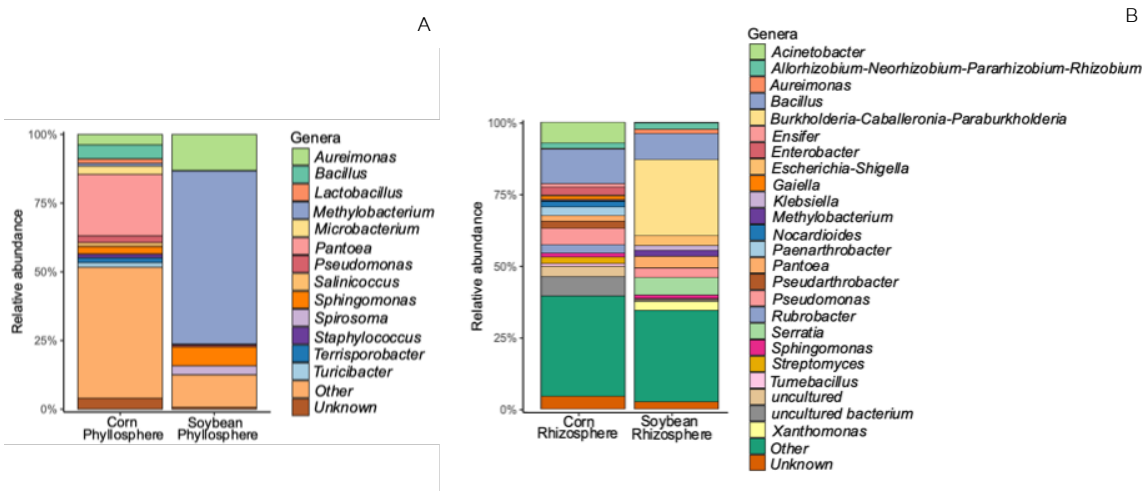


Fig. 4 Relative abundance of bacterial communities across all phyllosphere (A) and rhizosphere (B) at genera level. Taxa occurring with less than 0.1% relative abundance are shown as “Others”

โครงสร้างกลุ่มประชากรและความหลากหลายของกลุ่มประชากรแบคทีเรียในพืช

เมื่อวิเคราะห์ความหลากหลายของโครงสร้างแบคทีเรียด้วยการวิเคราะห์ alpha diversity โดยใช้ค่า Shannon index (Fig. 5A) พบว่าค่าความหลากหลายของแบคทีเรียบริเวณผิวใบและบริเวณรอบรากข้าวโพดหวาน มีค่าสูงกว่าถั่วเหลืองฝักสดอย่างมีนัยสำคัญ สอดคล้องกับค่า relative abundance เนื่องจากกลุ่มแบคทีเรียที่พบในข้าวโพดมีจำนวนชนิดและความสม่ำเสมอของชนิดแบคทีเรียมากกว่าถั่วเหลืองฝักสด และพบว่าสภาพแวดล้อมบริเวณผิวใบและรอบรากส่งผลต่อความแตกต่างของแบคทีเรียในถั่วเหลืองฝักสด (Fig. 5B) เนื่องจากบริเวณผิวใบ เป็นส่วนที่มีสารอาหารสำหรับการเจริญของแบคทีเรียปริมาณต่ำและมีการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมสูง เช่น อุณหภูมิ ความชื้น และรังสีที่สภาพแวดล้อมในขณะที่บริเวณรอบรากมีการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อมค่อนข้างต่ำ และมีปริมาณสารอาหารปริมาณมากเนื่องจากพืชมีการปล่อยสารหลั่งจากรากเพื่อชักนำแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ (Bodenhausen et al., 2013) จึงทำให้บริเวณรอบรากมีความหลากหลายของแบคทีเรียปริมาณมากกว่าบริเวณผิวใบพืช และการวิเคราะห์ค่าความหลากหลาย beta diversity พบความแตกต่างของโครงสร้างประชากรแบคทีเรียระหว่างถั่วเหลืองฝักสดและข้าวโพดหวานบริเวณผิวใบและบริเวณรอบราก (Fig. 5B และ Table 2) ซึ่งตรงกับส่วนของพืชที่แตกต่างกันจะเป็นที่อยู่อาศัยของชีวนิเวศจุลชีพของพืชที่แตกต่างกัน (Dastogeer et al., 2020)

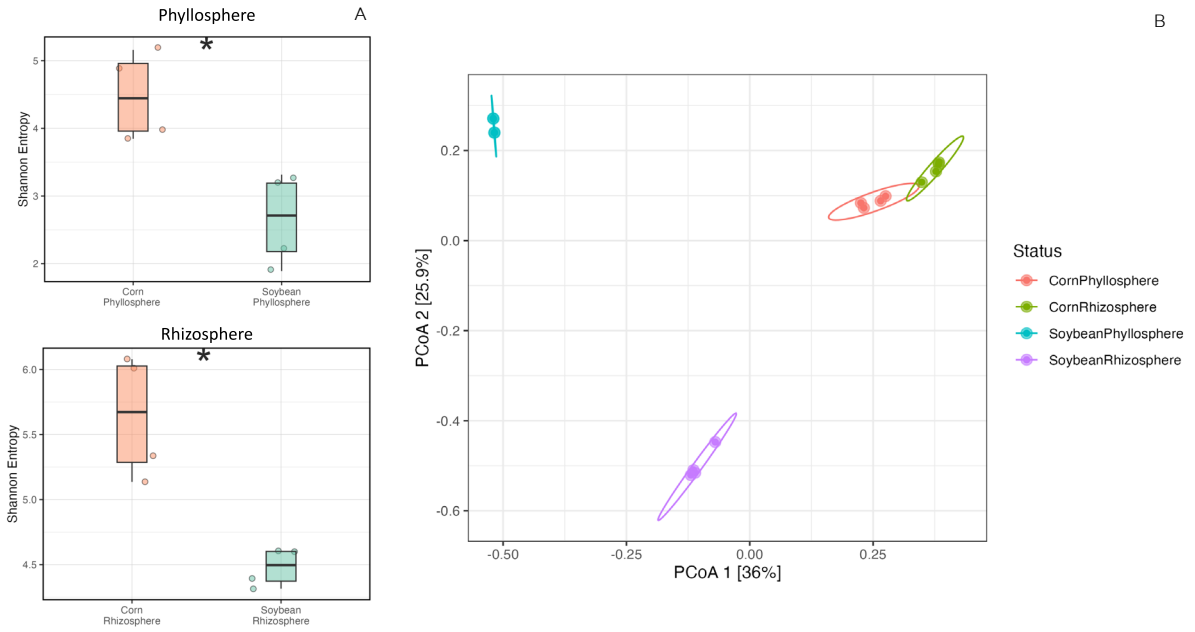


Fig. 5 Alpha diversity (A) and Beta diversity (B) analyses of both green soybean and sweet corn Box-and-Whiskers-plots visualize the Shannon diversity index

Table 2 Effect of crop species on amplicon sequence variants community composition assessed with permutational multivariate analysis of variance

Variable	df	Rhizosphere		Phyllosphere	
		F	*p*	*F*	*p*
Crop	1	28.57	0.0018**	0.0008	0.98ns

Asterisks *, ** and *** indicate significance at $p \leq 0.05$, 0.01 and 0.001, respectively; ns = not significant

สรุป

การวิเคราะห์ 16s Amplicon Metagenomic Sequencing ของถั่วเหลืองฝักสดและข้าวโพดหวานในสภาพแปลงปลูกธรรมชาติในประเทศไทย พบว่าชนิดพืชส่งผลต่อกลุ่มประชากรแบคทีเรียที่แตกต่างกัน โดยเฉพาะบริเวณผิวใบ บริเวณผิวใบของถั่วเหลืองฝักสดจะพบแบคทีเรียสกุล *Methylobacterium* (63%), *Aureimona* (13%), *Sphingomonas* (7%) และ *Spirosoma* (3%) แสดงว่า *Methylobacterium* เป็นแบคทีเรียที่ครอบครองผิวใบถั่วเหลืองเป็นหลัก ในขณะที่ผิวใบข้าวโพดหวานพบแบคทีเรียสกุล *Pantoea* (22%), *Bacillus* (5%), *Aureimonas* (4%), *Microbacterium* (3%), *Sphingomonas* (3%) และ *Pseudomonas* (3%) แสดงให้เห็นว่าประชากรแบคทีเรียบริเวณผิวใบของข้าวโพดมีความหลากชนิด และพบว่ากลุ่มประชากรแบคทีเรียรอบรากของพืชทั้ง 2 ชนิดมีความหลากหลายมากกว่าบริเวณผิวใบ ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการศึกษา plant microbiome ในพืชหลายชนิด ที่พบว่าแบคทีเรียบริเวณผิวใบจะถูกครอบครองด้วยแบคทีเรียบางสกุลเท่านั้น โดยเฉพาะกลุ่มแบคทีเรียที่มีความสามารถในการครอบครองผิวใบได้ดี การศึกษานี้ช่วยเข้าใจถึงความแตกต่างในโครงสร้างและความหลากหลายของกลุ่มประชากรแบคทีเรียที่อยู่บริเวณรอบรากและบริเวณผิวใบพืชในถั่วเหลืองฝักสดและข้าวโพดหวานในประเทศไทย

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ทุนอุดหนุนวิจัย มก. ที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยภายใต้รหัสโครงการวิจัย FF(KU)2.66 Phytobiomes ในระบบการเกิดโรคของข้าวโพดและถั่วเหลือง ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2566

เอกสารอ้างอิง

Agyekum, D.V.A., Kobayashi, T., Dastogeer, K.M.G. et al. 2023. Diversity and function of soybean rhizosphere microbiome under nature farming. Front. Microbiol. 14: 1130969. doi: 10.3389/fmicb.2023.1130969

Bodenhausen, N., Horton, M.W., Bergelson, J. 2013. Bacterial communities associated with the leaves and the roots of arabidopsis thaliana. PLoS One 8: e56329.

Bolyen, E., Rideout, J.R., Dillon, M.R. et al. 2019. Reproducible, interactive, scalable and extensible microbiome data science using qiime 2. Nat. Biotechnol. 37: 852–857.

Bulgarelli, D., Schlaeppi, K., Spaepen, S., Ver Loren van Themaat, E., Schulze-Lefert, P. 2013. Structure and functions of the bacterial microbiota of plants. Annu. Rev. Plant Biol. 64: 807–838.

Callahan, B.J., McMurdie, P.J., Rosen, M.J., Han, A.W., Johnson A.J.A., Holmes, S.P. 2016. Dada2: High-resolution sample inference from illumina amplicon data. Nat. Methods 13: 581–583.

Cordero Elvia, J., de Freitas, J.R., Germida, J.J. 2021. Bacterial microbiomes associated with the rhizosphere, root interior, and aboveground plant organs of wheat and canola at different growth stages. Phytobiomes J. 5: 442–451.

Dastogeer, K.M.G., Tumpa, F.H., Sultana, A., Akter, M.A., Chakraborty, A. 2020. Plant microbiome–an account of the factors that shape community composition and diversity. Curr. Plant Biol. 23: 100161.

Dong, C.J., Wang, L.L., Li Q. and Shang, Q.M. 2019. Bacterial communities in the rhizosphere, phyllosphere and endosphere of tomato plants. PLoS One. 14: e0223847.

Gökdemir, F.Ş., İşeri, Ö.D., Sharma, A., Achar, P.N., Eyidoğan, F. 2022. Metagenomics next generation sequencing (mngs): An exciting tool for early and accurate diagnostic of fungal pathogens in plants. J. Fungus. 8: 1195.

Lahti, L., Shetty, S. 2018. Introduction to the microbiome r package. Preprint at https://microbiome.github.io/tutorials

Li, Y., Lei, S., Cheng, Z., Jin, L. et al. 2023. Microbiota and functional analyses of nitrogen-fixing bacteria in root-knot nematode parasitism of plants. Microbiome 11: 48.

Liu, F., Hewezi, T., Lebeis, S.L., Pantalone, V., Grewal, P.S., Staton, M.E. 2019. Soil indigenous microbiome and plant genotypes cooperatively modify soybean rhizosphere microbiome assembly. BMC Microbiology 19: 201.

Longley, R., Noel, Z.A., Benucci, G.M.N., Chilvers, M.I., Trail F., Bonito, G. 2020. Crop management impacts the soybean (glycine max) microbiome. Front Microbiol. 11: 1116.

Piombo, E., Abdelfattah, A., Droby, S., Wisniewski, M., Spadaro, D., Schena, L. 2021. Metagenomics approaches for the detection and surveillance of emerging and recurrent plant pathogens. Microorganisms. 9 (1):188. doi: 10.3390/microorganisms9010188

Sahu, K.P., Kumar, A., Sakthivel, K., Reddy, B., Kumar, M., Patel, A., Sheoran, N., Gopalakrishnan, S., Prakash, G., Rathour R. Gautam R.K. 2022. Deciphering core phyllomicrobiome assemblage on rice genotypes grown in contrasting agroclimatic zones: Implications for phyllomicrobiome engineering against blast disease. Environ. Microbiome. 17: 28.

Singh, R. and S.B. Goodwin. 2022. Exploring the corn microbiome: A detailed review on current knowledge, techniques, and future directions. PhytoFrontiers™. 2: 158—175.

Song, C., Zhu, F., Carrión V.J., Cordovez, V. 2020. Beyond plant microbiome composition: Exploiting microbial functions and plant traits via integrated approaches. Front. bioeng. biotechnol. 8.

Vorholt, J.A. 2012. Microbial life in the phyllosphere. Nat. Rev. Microbiol. 10: 828–840.

Wagner, M.R., Busby, P.E., Balint-Kurti, P. 2020a. Analysis of leaf microbiome composition of near-isogenic maize lines differing in broad-spectrum disease resistance. New Phytologist. 225: 2152–2165.

Wagner, M.R., Roberts, J.H., Balint-Kurti, P., Holland, J.B. 2020b. Heterosis of leaf and rhizosphere microbiomes in field-grown maize. New Phytologist. 228: 1055–1069.

Zhang, J., Cook, J., Nearing, J.T., Zhang, J., Raudonis, R., Glick, B.R., Langille M.G.I., Cheng, Z. 2021. Harnessing the plant microbiome to promote the growth of agricultural crops. Microbiol. Res. 245: 126690.

Zhou, R., Duan, G.-L., García-Palacios, P., Yang, G., Cui, H.-L., Yan, M., Yin, Y., Yi, X.-Y., Li, L., Delgado-Baquerizo, M., Zhu, Y.-G. 2023. Environmental factors and host genotype control foliar epiphytic microbial community of wild soybeans across China. Front. Microbiol. 14: 1065302. doi: 10.3389/fmicb.2023.1065302

ลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนมของแบคทีเรียบริเวณรอบรากพืช *Pseudomonas* sp. KnCo4 และกลไกการแข่งขันระหว่างแบคทีเรียในการยับยั้งแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

Draft genome of Rhizosphere Bacteria *Pseudomonas* sp. KnCo4 and Inter-bacterial Competition Activity Against Bacterial Plant Pathogens

นุชจรินทร์ แฮวอู, ธาณิกานต์ เนียมแตง, ชูศักดิ์ แข็งแรง, ณัฐกร คุณเจริญ, สุพจน์ กาเซ็ม, ติยากร ฉัตรนภารัตน์*

Nutjarin Haewou, Thanikan Niamtaeng, Choosak Kheangraeng, Nattakorn Kuncharoen, Supot Kasem, Tiyakhon Chatnaparat*

ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: fagrtkc@ku.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนมของ *Pseudomonas* sp. KnCo4 ซึ่งมีประโยชน์ในการควบคุมโรคพืชและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ด้วยวิธี short read sequencing บน Illumina platform พบว่าจีโนมมีขนาด 5,592,712 bp ค่า G-C content เท่ากับ 63.2% เมื่อวิเคราะห์ multilocus sequence typing (MLST) พบว่าใกล้เคียงกับ *Pseudomonas* sp. SK^{T} และ *Pseudomonas anuradhapurensis* RD8MR3^{T} มากที่สุด เมื่อทำนายยีนด้วยโปรแกรม RAST พบยีนจำนวน 5,185 ยีน มียีนเกี่ยวข้องกับการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช การปรับตัวในสภาพแวดล้อม การสังเคราะห์ฮอร์โมนพืช และการปลดปล่อยโปรตีนสู่สภาพแวดล้อม โดยเฉพาะ type IV และ type VI secretion system ที่เกี่ยวข้องกับกลไก inter-bacterial competition ซึ่งสอดคล้องกับประสิทธิภาพของ *Pseudomonas* sp. KnCo4 ในการยับยั้งแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่สำคัญหลายชนิด และพบยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ribosomally synthesized and post-translationally modified peptides (RiPPs) ซึ่งเป็นสารกลุ่มใหม่ที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคหลายชนิด

คำสำคัญ: จีโนมของแบคทีเรีย, แบคทีเรียควบคุมโรคพืช, แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช

Abstract

The study of draft genome sequence of *Pseudomonas* sp. KnCo4, a biocontrol and plant growth-promoting rhizobacterium. Draft genome was sequenced with short read sequencing by Illumina platform. Draft genome size is 5,592,712 bp with a G-C content of 63.2%. Multilocus sequence typing (MLST) showed that it was closely related to *Pseudomonas* sp. SK^{T} and *Pseudomonas anuradhapurensis* RD8MR3^{T}. Gene annotation using RAST program found 5,185 genes, including genes related to promoting plant growth, environmental adaptation, plant hormone synthesis, and protein secretion system, especially type IV and type VI secretion systems, which are involved in inter-bacterial competition. These genes are consistent with the effectiveness of *Pseudomonas* sp. KnCo4 in inhibiting various plant pathogenic bacteria. Furthermore, genes related to the production of bioactive compound, such as ribosomally synthesized and post-translationally modified peptides (RiPPs), which a new class of natural products that against various pathogen.

Keywords: Bacterial biocontrol agent, Bacterial genome, Plant growth-promoting rhizobacteria

คำนำ

การพัฒนากลยุทธ์ในการป้องกันกำจัดและควบคุมโรคพืชอย่างยั่งยืน โดยการใช้จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการเป็นปฏิปักษ์ต่อเชื้อสาเหตุโรค เป็นอีกแนวทางในการป้องกันกำจัดแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช ที่ไม่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เกษตรกรสามารถเข้าถึงได้ง่าย และทดแทนหรือลดการใช้สารเคมีในการป้องกันกำจัดแบคทีเรีย *Pseudomonas* มีประโยชน์ทางด้านการเกษตรหลายรูปแบบ เช่น ใช้เป็นปุ๋ยทางชีวภาพ (biofertilizer) เนื่องจากมีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช การใช้เป็น biocontrol agent ยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคพืช (Nadeem et al., 2016) โดยเฉพาะกลุ่ม Fluorescent *Pseudomonas* ที่สังเคราะห์สาร siderophores นอกจากนี้ยังมีรายงานในการใช้เป็นโฮสต์ในการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น ผลิตสารเคอร์คิวมิน และบิสดีเมทอกซีเคอร์คิวมินที่พบในขมิ้นชัน ด้วยวิธี synthetic biology (Incha et al., 2020; Demaria, 2022)

การศึกษาจีโนมของ *Pseudomonas putida* KT2440 รายงานครั้งแรกในปี 2545 โดยลำดับจีโนมที่สมบูรณ์มีขนาด 6,181,863 bp จากการรายงานจีโนมดังกล่าว ทำให้มีการรายงานถึงยีนสำคัญที่เกี่ยวข้องกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ ของ *P. putida* หลายชนิด เช่น การวิเคราะห์เปรียบเทียบยีนของ *P. putida* KT2440 ที่เกี่ยวกับหน้าที่ของเมแทบอลิซึมการอยู่รอดในดินที่มีมลพิษ ซึ่งนำไปสู่การนำไปใช้ประโยชน์ในการย่อยสลายสารพิษตกค้างในดิน (Nelson et al., 2002) นอกจากนี้ยังมีการทำนายหน้าที่ของยีน (gene annotation) โดยใช้ Rapid Annotations using Subsystems Technology (RAST) server พบว่ามียีนจำนวนมากที่เกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมของ aromatic compounds (Suenaga et al., 2017) ที่สำคัญมีรายงานว่า *P. putida* IsoF และ KT2440 สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบหลายชนิดโดยใช้ type IVB secretion system (T4BSS) ในการส่ง toxin effector เพื่อฆ่าแบคทีเรียต่างชนิด (Purtschert-Montenegro et al., 2022) ซึ่งกลไกดังกล่าวเรียกว่า inter-bacterial competition เช่นเดียวกับ *Pseudomonas* sp. KnCo4 จากภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ซึ่งมีศักยภาพในการยับยั้งแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชด้วยกลไก inter-bacterial competition เช่นกัน (ธาณิกานต์, 2561) ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนมของแบคทีเรียบริเวณรอบพืช *Pseudomonas* sp. KnCo4 และวิเคราะห์ยีนที่มีคุณสมบัติที่ดีในการยับยั้งแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช โดยเฉพาะคุณสมบัติในการเป็น inter-bacterial competition รวมถึงศึกษายีนที่เกี่ยวข้องกับการส่งเสริมการเจริญเติบโตพืช ยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เพื่อเป็นข้อมูลในการพัฒนาเป็นโฮสต์ในการผลิตสารออกฤทธิ์ที่มีประโยชน์ และพัฒนาองค์ความรู้ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การหาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนมของ Pseudomonas sp. KnCo4 *ด้วยวิธี short read sequencing บน Illumina platform*

นำแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. KnCo4 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว King's medium B (KB) (peptone 20 กรัม; K_2HPO_4 1.5 กรัม; $MgSO_4.7H_2O$ 1.5 กรัม; glycerol 15 มิลลิลิตร) เป็นเวลา 18-20 ชั่วโมง ปริมาตร 2 มิลลิลิตร มาสกัดดีเอ็นเอด้วย FavorPrepTM Tissue Genomic DNA Extraction Mini Kit (Favorgen, Taiwan) ตามวิธีการของบริษัท ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของดีเอ็นเอด้วย NanoDrop® ND 2000 ที่ความยาวคลื่น 260 และ 280 นาโนเมตร ตรวจสอบคุณภาพของดีเอ็นเอด้วยวิธี gel electrophoresis ใน 1% agarose gel โดยบันทึกลักษณะแถบดีเอ็นเอด้วยเครื่อง SYNGENE software (Synoptics Ltd., Cambridge, UK) จากนั้นนำดีเอ็นเอที่มีความเข้มข้นและคุณภาพตามเกณฑ์การวิเคราะห์ส่งเตรียม DNA library ด้วย TruSeq Nano DNA Library เพื่อวิเคราะห์ Draft genome *de novo* sequencing ด้วย Illumina sequencing on NovaSeq 6000, 150 bp paired-end reads ตามวิธีการของบริษัท (Macrogen

Incorporation) จากนั้นทำการประกอบจีโนมเพื่อสร้างเป็น draft genome จาก raw read ด้วยวิธีทางชีวสารสนเทศ (Bioinformatics) ในโปรแกรม SPADes (https://cab.spbu.ru/software/spades/) (Bankevich et al., 2012)

การวิเคราะห์ยีนที่เกี่ยวข้องกับพืชและการควบคุมแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

วิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของ *Pseudomonas* sp. KnCo4 เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ *Pseudomonas* spp. อื่น ๆ ที่มีประโยชน์ต่อพืช โดยทำการสร้าง phylogenetic tree ด้วยวิธี multilocus sequence typing (MLST) โดยใช้ยีน housekeeping gene ประกอบด้วยยีน *argS, gyrB, ileS, nuoC, ppsA, recA, rpoB* และ *rpoD* (Ogura et al., 2019) จาก complete genome ของ *Pseudomonas* ที่มีความเกี่ยวข้องกับพืช อุตสาหกรรม สิ่งแวดล้อม และมนุษย์ จำนวน 31 สายพันธุ์ ด้วยโปรแกรม MEGA-X โดยใช้ค่า Bootstrap ที่ 1,000 replications และ maximum-likelihood algorithm (https://www.megasoftware.net/) (Ogura et al., 2019)

วิเคราะห์ยีนทั้งหมดที่มีอยู่บนจีโนมของ *Pseudomonas* sp. KnCo4 ด้วย RAST: Rapid Annotation using Subsystem Technology (https://rast.nmpdr.org) (Aziz et al., 2008) วิเคราะห์ยีนที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการผลิต secondary metabolism ด้วย antiSMASH (https://antismash.secondarymetabolites.org) (Blin et al., 2023)

กลไก inter-bacterial competition ของ Pseudomonas sp. KnCo4 *ในการยับยั้งแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช*

วางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) เตรียมแบคทีเรียสาเหตุโรคทดสอบ ประกอบด้วย *Xanthomonas citri* pv. *glycine* สายพันธุ์ 12-2 (*Xcg*12-2) สาเหตุโรคใบจุดนูนถั่วเหลือง และ *Ralstonia solanacearum* สายพันธุ์ RalTom สายพันธุ์ก่อโรคเหี่ยวในมะเขือเทศ และ *R. solanacearum* สายพันธุ์ RalTur สายพันธุ์ก่อโรคเหี่ยวในขมิ้นชัน จาก stock culture ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ โดยเลี้ยง Xcg12-2 บนอาหาร nutrient agar (NA) และ *R. solanacearum* ทั้งสองสายพันธุ์ บนอาหาร Casamino acid–Peptone-Glucose (CPG) (casamino acid 1 กรัม; peptone 10 กรัม; glucose 5 กรัม) จากนั้นทำการติดสารเรืองแสง green fluorescent protein (GFP) ให้แบคทีเรียแต่ละชนิดโดยการถ่ายพลาสมิด pKT-trp (Miller et al., 2000) ที่มีการแสดงออกของ GFP ตลอดเวลาเข้าสู่เซลล์แบคทีเรียสาเหตุโรค ด้วยวิธี tri-parental mating (Yan et al., 2022) เพื่อใช้ติดตามปริมาณแบคทีเรียสาเหตุโรคเป้าหมาย *R. solanacearum* และ *Xcg* เมื่อทดสอบกลไก inter-bacterial competition ของ *Pseudomonas* sp. KnCo4

ทดสอบกลไก inter-bacterial competition ในห้องปฏิบัติการ โดยวิธีการดัดแปลงมาจาก Hachani และคณะ (Hachani *et al*., 2013) โดยเตรียมเซลล์แขวนลอยแบคทีเรีย *Pseudomonas* sp. KnCo4 และแบคทีเรียสาเหตุโรค Xcg12-2_GFP, RalsTur_GFP, และ RalTom_GFP แต่ละชนิดใน PBS buffer ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อ (Na_2HPO_4 1.42 กรัม; KH_2PO_4 0.24 กรัม; NaCl 8 กรัม; KCl 0.2 กรัม) และปรับค่าความเข้มข้นเซลล์แบคทีเรียที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ให้มีค่าเท่ากับ 1 ด้วยเครื่อง Spectrophotometer (Infinite® M Plex, TECAN, USA) จากนั้นนำแบคทีเรียทดสอบ และแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช แต่ละชนิดผสมในอัตราส่วน 1:1 จากนั้นหยดสารแขวนลอยปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงบนอาหาร CPG สำหรับ *R. solanacearum* และ อาหาร NA สำหรับ Xcg (4 จุดต่อ 1 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ) โดยเลี้ยงร่วมกันที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ตรวจสอบความสามารถในการแข่งขันของแบคทีเรีย โดยการบันทึกการเรืองแสงของ *R. solanacearum*_GFP และ Xcg_GFP ด้วยเครื่อง iBright™ FL1000 Imaging System (Thermo

Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) และนับจำนวนการรอดชีวิตของโคโลนีด้วยเทคนิค plate count method (Scow et al., 2001)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนมของ Pseudomonas sp. KnCo4

จากการศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนม (draft genome) ของแบคทีเรียที่แยกมาจากบริเวณรอบรากข้าวโพด *Pseudomonas* sp. KnCo4 ซึ่งมีประโยชน์ในการควบคุมโรคพืชและส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช (ธาณิกานต์, 2561) ด้วยวิธี short read sequencing บน Illumina platform พบลำดับนิวคลีโอไทด์ จำนวน 66 scaffolds โดยความยาวครึ่งนึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ (N50) ที่ยาวที่สุดอยู่ที่ 4.7 Kbp จีโนมมีขนาด 5,592,712 bp ค่า G-C content เท่ากับ 63.2% และลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สามารถแปลรหัสได้ (coding sequence) จำนวน 5,185 ยีน จำนวนของ RNAs คือ 83 และไม่พบพลาสมิดในจีโนมของ *Pseudomonas* sp. KnCo4 เช่นเดียวกับจีโนมของแบคทีเรีย *Pseudomonas* ชนิดอื่น เช่น Ye และคณะ (Ye et al., 2014) พบว่าขนาดของจีโนม *Pseudomonas putida* W15OCT28 อยู่ที่ 6,331,075 bp ค่า G-C content 62.8% และจีโนมแบบสมบูรณ์ (complete genome) ของ *P. putida* KT2440 มีขนาดจีโนม 6,181,873 bp ค่า G-C content อยู่ที่ 61.1% ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีการประยุกต์ใช้กับการเกษตร เช่น การเร่งปฏิกิริยาทางชีวภาพ (biocatalysis) การฟื้นฟูทางชีวภาพ (bioremediation) และการผลิตพลาสติกชีวภาพ (bioplastic production) (Nelson et al., 2002) ดังนั้นการศึกษานี้พบว่า ลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนมของ *Pseudomonas* sp. KnCo4 ที่ได้จาก short read sequencing มีขนาดประมาณ 5.6 Mbp ซึ่งอาจจะยังไม่สมบูรณ์ จึงควรศึกษาด้วยวิธี long read บน PacBio หรือ Oxford Nanopore platform ต่อไป

การวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการของ Pseudomonas sp. KnCo4 *และ Pseudomonas* spp. *อื่น ๆ ที่มีประโยชน์ต่อพืช*

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการโดยสร้าง phylogenetic tree ด้วยวิธี multilocus sequence typing (MLST) โดยใช้ยีน housekeeping gene จำนวน 8 ยีน (*argS, gyrB, ileS, nuoC, ppsA, recA, rpoB* และ *rpoD* genes) พบว่า *Pseudomonas* sp. KnCo4 มีความสัมพันธ์แบบ monophyletic กับ *Pseudomonas* sp. SK^{T} และ *P. anuradhapurensis* RD8MR3^{T} ซึ่งแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์นี้เป็นแยกได้จากบริเวณรอบรากพืช (Fig. 1) และพบว่า *Pseudomonas* sp. KnCo4 มีความสัมพันธ์ใกล้กับกลุ่ม *Pseudomonas* ที่มีความเกี่ยวข้องกับพืช และการเกษตร เช่น *Pseudomonas putida* AKMP7^{T} แบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช *Pseudomonas asiatica* RYYT.1b^{T} ทนทานต่อสารกำจัดวัชพืชไกลโฟเสท (glyphosate) และ *Pseudomonas* sp. NBB^{T} ต้านทานต่อโลหะหนัก และที่สำคัญ คือ *Pseudomonas* sp. KnCo4 ไม่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิดกับกลุ่ม *Pseudomonas* ที่เกี่ยวข้องกับโรคคน เช่น *Pseudomonas putida* H8234^{T} และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853^{T} ดังนั้น *Pseudomonas* sp. KnCo4 เป็นแบคทีเรียที่มีความสัมพันธ์ทางวิวัฒนาการกับกลุ่ม *Pseudomonas* ที่มีประโยชน์ต่อพืช

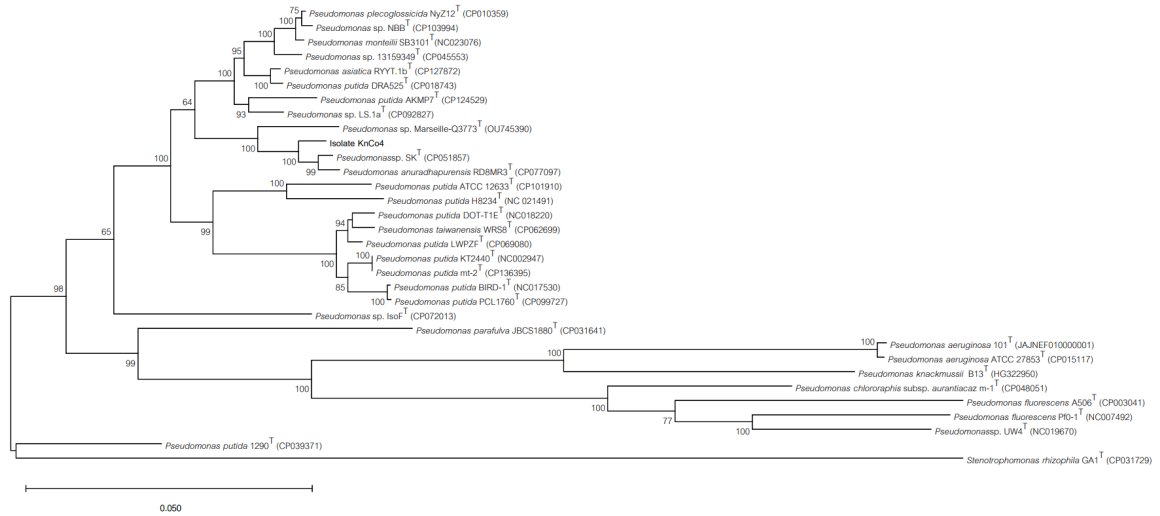


Fig. 1 Maximum-likelihood phylogenetic tree based on 8 housekeeping gene sequences showing the relationship between isolate KnCo4 and *Pseudomonas* groups related to plant, environment, industrial and human. Bootstrap values (≥ 50) are shown at branching points as percentages of 1,000 replicates. *Stenotrophomonas rhizophila* GA1^T is used as an outgroup.

การวิเคราะห์ยีนที่เกี่ยวข้องกับพืชและการควบคุมแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช

จากข้อมูลการทำนายหน้าที่ยีนด้วย RAST: Rapid Annotation using Subsystem Technology พบว่ายีนทั้งหมดของ *Pseudomonas* sp. KnCo4 ถูกจัดแบ่งออกเป็น 27 กลุ่ม (subsystem category distribution) (Fig. 2) โดยพบกลุ่มยีนที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช เช่น iron acquisition and metabolism, phosphorus metabolism, nitrogen metabolism, และ secondary metabolism กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการปรับตัวในสภาพแวดล้อม เช่น metabolism and aromatic compounds, membrane transport, stress response และ motility and chemotaxis กลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ฮอร์โมนพืช (auxin biosynthesis) และกลุ่มยีนที่เกี่ยวข้องกับการขนส่งโปรตีนผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ เช่น type I secretion system, type II secretion system, type IV secretion system และ type V secretion system ที่สำคัญพบว่า *Pseudomonas* sp. KnCo4 มียีนที่เกี่ยวข้องกับ protein and nucleoprotein type IV secretion system สอดคล้องกับ *P. putida* IsoF^T ที่สามารถฆ่าแบคทีเรียสาเหตุโรคได้หลายชนิดด้วยกลไก inter-bacterial competition โดยใช้ type IVB secretion system ในการส่ง effector เข้าสู่เซลล์แบคทีเรียคู่แข่ง (Purtschert-Montenegro et al., 2022) *P. putida* W15OCT28^T มี secretion systems ต่าง ๆ เช่น type IV secretion type VI secretion รวมไปถึง VgrG effectors (Ye et al., 2014) และ *P. putida* KT2440^T มี type VI secretion system ที่สามารถป้องกันพืชจากการเข้าทำลายของแบคทีเรียสาเหตุโรค (Bernal et al., 2017) แต่อย่างไรก็ตาม *Pseudomonas* sp. KnCo4 พบ type IV secretion system แต่ไม่พบ type IVB secretion system จึงควรมีการศึกษาในเชิงลึกต่อไป

ข้อมูลการวิเคราะห์ยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ด้วยโปรแกรม antiSMASH พบว่ามียีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสาร Ranthipeptide ซึ่งมีรายงานว่าเป็นโมเลกุล radical non-α thioether-containing peptides และ RiPP-like ซึ่งเป็นสารธรรมชาติชนิดใหม่ในกลุ่ม ribosomally synthesized และ post-translationally modified peptide superfamily (Chen et al., 2020) สารประเภท NRP-metallophore, NRPS เกี่ยวข้องกับการสร้าง siderophores และสาร dipeptide N-acetylglutaminylglutamine amide (NAGGN) ซึ่งเป็นสารที่เซลล์สร้างขึ้นให้ทนต่อสภาวะ

ความเครียดออสโมติก (osmotic stress) และสาร Hserlactone ที่เกี่ยวข้องกับส่งสัญญาณในกระบวนการสื่อสารกันระหว่างเซลล์ quorum sensing (Table 1) สารต่าง ๆ ที่พบในจีโนมของ *Pseudomonas* sp. KnCo4 มีความสอดคล้องกับยีนของแบคทีเรีย *Pseudomonas* ที่มีประโยชน์ต่อพืช (Alam et al., 2021)

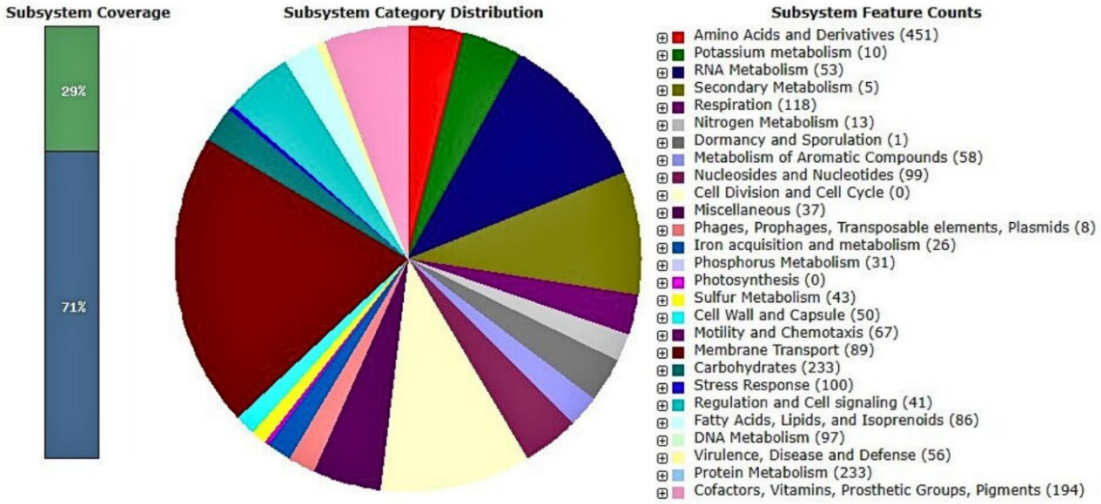


Fig. 2 Gene annotation of rhizosphere bacteria *Pseudomonas* sp. KnCo4 from RAST: Rapid Annotation using Subsystem Technology

Table 1 Secondary metabolism of *Pseudomonas* sp. KnCo4 from antiSMASH

Region	Type	Most similar known/cluster
Region 1.1	Ranthipeptide	Pf-5 pyoverdine / NRP
Region 1.2	RiPP-like	
Region 2.1	NRP-metallophore, NRPS	Crochelin A / NRP+Polyketide
Region 2.2	NRP-metallophore, NRPS	Pf-5 pyoverdine / NRP
Region 2.3	NRP-metallophore, NRPS	Cupriachelin / NRP: NRP siderospore
Region 6.1	NAGGN	
Region 9.1	Hserlactone	
Region 10.1	Redox-cofactor	Lankacidin C / NRP+Polyketide
Region 11.1	Phophonate	
Region 11.2	RRE-containing	

กลไก inter-bacterial competition ของ Pseudomonas sp. KnCo4 *ในการยับยั้งแบคทีเรียสาเหตุโรคพืช*

การทดสอบกลไก inter-bacterial competition ในห้องปฏิบัติการ โดยการเลี้ยงร่วมระหว่าง *Pseudomonas* sp. KnCo4 และแบคทีเรียสาเหตุโรค Xcg12-2_GFP, RalsTur_GFP, และ RalTom_GFP ในอัตราส่วน 1:1 บนอาหาร NA และ CPG ที่เติมสารปฏิชีวนะ Kanamycin เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าแบคทีเรียสาเหตุโรคทดสอบไม่สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อในทุก ๆ ความเข้มข้น และค่าการเรืองแสงของแบคทีเรียที่เลี้ยงร่วมกับ *Pseudomonas* sp. KnCo4 มี

ปริมาณลดลง แสดงให้เห็นว่า *Pseudomonas* sp. KnCo4 สามารถฆ่าแบคทีเรียสาเหตุโรคทดสอบได้ทั้งหมด (Fig. 3) การทดสอบนี้จึงยืนยันถึงประสิทธิภาพของ *Pseudomonas* sp. KnCo4 ในการมีคุณสมบัติในการเป็น inter-bacterial competition ต่อแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชที่หลากหลาย เช่นเดียวกับ *P. putida* IsoF^{T} (Purtschert-Montenegro et al., 2022) ซึ่งมี type IVB secretion system ที่สามารถส่ง toxin effector ไปยังแบคทีเรียคู่แข่ง โดยการสัมผัสกันระหว่างแบคทีเรียและเชื้อสาเหตุโรคพืช และ *Pseudomonas putida* KT2440^{T} ที่มี type VI secretion system ที่ใช้ในกลไก inter-bacterial competition เช่นกัน (Bernal et al., 2017) ดังนั้นการที่ *Pseudomonas* sp. KnCo4 สามารถฆ่า หรือลดปริมาณเชื้อสาเหตุโรคพืช จึงสอดคล้องกับการมีอยู่ของ type IV secretion system และกลไก inter-bacterial competition

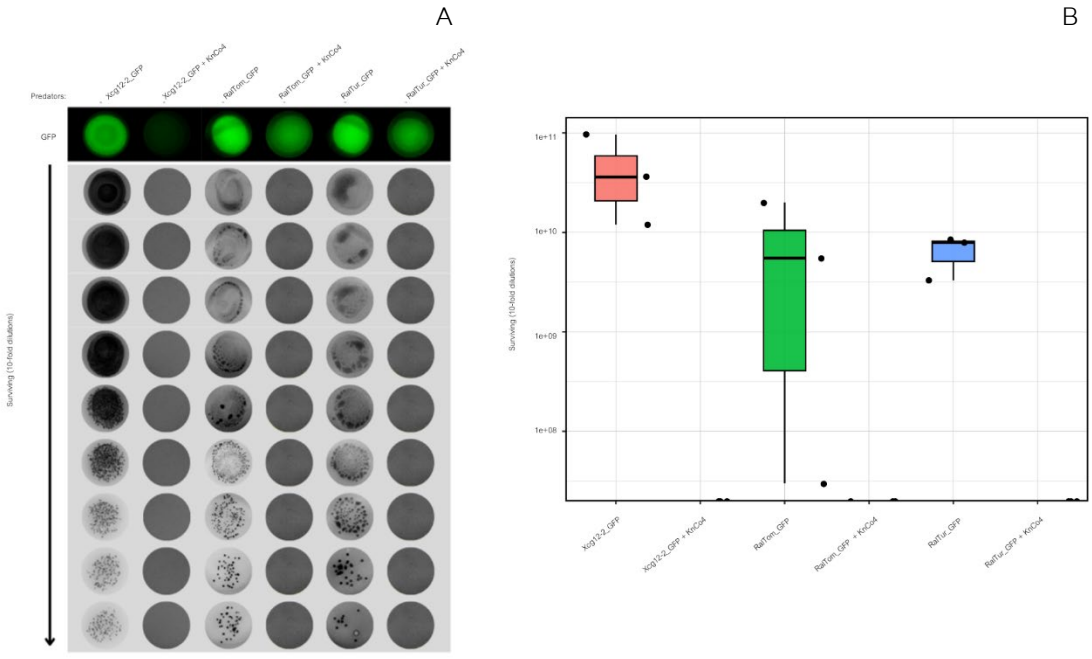


Fig. 3 Inter-bacterial competition between *Pseudomonas* sp. KnCo4 and bacterial plant pathogens: Xcg12-2_GFP, RalTom_GFP and RalsTur_GFP: Surviving of plant pathogen on NA and CPG add kanamycin(A); Block plot shows colony forming unit (CFU/mL) of the predator strains (B)

สรุป

การศึกษาลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนม (draft genome) ของ *Pseudomonas* sp. KnCo4 ที่แยกมาจากบริเวณรอบรากข้าวโพด ด้วยวิธี short read sequencing บน Illumina platform ได้ลำดับนิวคลีโอไทด์ จำนวน 66 scaffolds โดยความยาวครึ่งนึงของลำดับนิวคลีโอไทด์ (N50) ที่ยาวที่สุดจาก อยู่ที่ 4.7 Kbp และจีโนมมีขนาด 5,592,712 bp ค่า G-C content เท่ากับ 63.2% และลำดับนิวคลีโอไทด์ที่สามารถแปลรหัส (coding sequence) ได้จำนวน 5,185 ยีน จำนวนของ RNAs คือ 83 และไม่พบพลาสมิด

การสร้าง Phylogenetic tree ด้วยวิธี multilocus sequence typing (MLST) พบว่า *Pseudomonas* sp. KnCo4 มีความสัมพันธ์แบบ monophyletic กับ *Pseudomonas* sp. SK^{T} และ *P. anuradhapurensis* RD8MR3^{T}

การทำนายหน้าที่ของยีนด้วย RAST: Rapid Annotation using Subsystem Technology พบกลุ่มยีนที่ทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช การปรับตัวในสภาพแวดล้อม การสังเคราะห์ฮอร์โมนพืช (auxin biosynthesis) และการขนส่งโปรตีนผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ เช่น type I secretion system, type II secretion system, type IV secretion system และ type V secretion system ที่สำคัญพบว่า *Pseudomonas* sp. KnCo4 มียีนที่เกี่ยวข้องกับ protein and nucleoprotein type IV secretion system ซึ่งรายงานว่าเกี่ยวข้องกับกลไก inter-bacterial competition

ข้อมูลการวิเคราะห์ยีนที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ด้วยโปรแกรม antiSMASH พบสาร Ranthipeptide สารประเภท NRP-metallophore, NRPS สาร dipeptide N-acetylglutaminylglutamine amide (NAGGN) และสาร Hserlactone ซึ่งสารเหล่านี้เกี่ยวข้องกับ antimicrobial การสร้าง siderophores สารที่เซลล์สร้างขึ้นให้ทนต่อสภาวะความเครียดออสโมติก และกระบวนการสื่อสารกันระหว่างเซลล์ quorum sensing ตามลำดับ

การทดสอบกลไก inter-bacterial competition ในห้องปฏิบัติการ พบว่าแบคทีเรียสาเหตุโรคทดสอบไม่สามารถเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อในทุก ๆ ความเข้มข้น และค่าการเรืองแสดงของแบคทีเรียที่เลี้ยงร่วมกับ *Pseudomonas* sp. KnCo4 ลดลง แสดงให้เห็นว่า *Pseudomonas* sp. KnCo4 สามารถฆ่าแบคทีเรียสาเหตุโรคพืชทดสอบได้ทั้งหมด

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคุณวุฒิชัย เหมืองทอง และคุณพิพรรธ มาเจริญ ที่ให้คำแนะนำการสร้าง draft genome ด้วยโปรแกรม SPAdes ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ทุนอุดหนุนวิจัย มก. ที่ให้การสนับสนุนงานวิจัยภายใต้รหัสโครงการวิจัย FF(KU)2.66

เอกสารอ้างอิง

ธาณิกานต์ เนียมแตง. 2561. การคัดเลือกและเพิ่มประสิทธิภาพของแบคทีเรียปฏิปักษ์ด้วยวิธี osmoadaptation เพื่อควบคุมโรคขอบใบทองคะน้า. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Alam, K., Islam, M.M. Li, C., et al. 2021. Genome mining of pseudomonas species: Diversity and evolution of metabolic and biosynthetic potential. Molecules. 26: 24.

Aziz, R.K., Bartels, D., Best, A.A., et al. 2008. The rast server: Rapid annotations using subsystems technology. BMC Genomics. 9: 75.

Bankevich, A., Nurk, S., Antipov, D., et al. 2012. Spades: A new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. J. Comput. Biol. 19: 455–477.

Bernal, P., Allsopp, L.P., Filloux, A., Llamas, M.A. 2017. The *Pseudomonas putida* T6SS is a plant warden against phytopathogens. The ISME Journal 11: 972–987.

Blin, K., Shaw, S., Augustijn, H.E., et al. 2023. Antismash 7.0: New and improved predictions for detection, regulation, chemical structures and visualisation. Nucleic Acids Res. 51: W46-W50.

Chen, Y., Yang, Y. Ji, X., Zhao, R., Li, G., Gu, Y., Shi, A., Jiang W., Zhang, Q. 2020. The sciff-derived ranthipeptides participate in quorum sensing in solventogenic clostridia. Biotechnol. J. 15: 2000136.

Demaria, F. 2022. Implementation of curcumin production in *Pseudomonas putida*. Independent thesis Advanced level (degree of Master (Two Years)).

Hachani, A., Lossi N.S., Filloux, A. 2013. A visual assay to monitor T6SS-mediated bacterial competition. J. Vis. Exp. e50103.

Incha, M.R., Thompson, M.G., Blake-Hedges, J.M., et al. 2020. Leveraging host metabolism for bisdemethoxycurcumin production in *Pseudomonas putida*. Metab. Eng. Commun. 10: e00119.

Miller, W.G., Bates, A.H., Horn, S.T., Brandl, M.T., Wachtel M.R., Mandrell, R.E. 2000. Detection on surfaces and in Caco-2 cells of Campylobacter jejuni cells transformed with new gfp, yfp, and cfp marker plasmids. Appl. Environ. Microbiol. 66: 5426–5436.

Nadeem, S., Naveed, M., Ayyub, M., Yahya Khan, M., Ahmad M., Zahir, Z. 2016. Potential, limitations and future prospects of *Pseudomonas* spp. For sustainable agriculture and environment: A review. Soil and Environment. 35: 106–145.

Nelson, K.E., Weinel, C., Paulsen, I.T., et al. 2002. Complete genome sequence and comparative analysis of the metabolically versatile *Pseudomonas putida* KT2440. Environ. Microbiol. 4: 799–808.

Ogura, K., Shimada K., Miyoshi-Akiyama, T. 2019. A multilocus sequence typing scheme of *Pseudomonas putida* for clinical and environmental isolates. Sci. Rep. 9: 13980.

Purtschert-Montenegro, G., Cárcamo-Oyarce, G., Pinto-Carbó, M., Agnoli, K., Bailly A., Eberl, L. 2022. *Pseudomonas putida* mediates bacterial killing, biofilm invasion and biocontrol with a type IVB secretion system. Nat. Microbiol. 7: 1547–1557.

Scow, K.M., Schwartz, E., Johnson M.J., Macalady, J.L. 2001. Microbial biodiversity, measurement of, pp. 259–270. In: S. A. Levin (Eds.). Encyclopedia of biodiversity, 2nd ed. Academic Press, Waltham, Massachusetts, MA. USA.

Suenaga, H., Yamazoe, A., Hosoyama, A. et al. 2017. Complete genome sequence of the polychlorinated biphenyl-degrading bacterium Pseudomonas putida KF715 (NBRC 110667) isolated from biphenyl-contaminated soil. Genome. Announc. 5: e01624-16.

Yan, J., Lin, N., Wang, X., Chen, X., Wang, H., Lin, Q., Zhou, X., Zhang L., Liao, L. 2022. Markerless gene deletion in *Ralstonia solanacearum* based on its natural transformation competence. Front. Microbiol. 13: 977580.

Ye, L., Hildebrand, F., Dingemans, J., Ballet, S., Laus, G., Matthijs, S., Berendsen, R., Cornelis, P. 2014. Draft genome sequence analysis of a Pseudomonas putida W15OCT28 strain with antagonistic activity to gram-positive and *Pseudomonas* sp. Pathogens. PLoS One. 9: e110038.

สาขาสัตว์

(Subject: Animals)

ภาคบรรยาย

(Oral Presentation)

คุณภาพน้ำเชื้อของไก่เบตง (สายเคยู) สีน้ำตาล สีขาว และพันธุ์สังเคราะห์

Semen quality of brown and white Betong chicken (KU line) and a synthetic chicken breed

ศศิธร สุ่มทา, นพภัสสร กลิ่นรอด, อัญชลี บวดขุนทด, สมบัติ ประสงค์สุข, พนัดดา บึงศรีสวัสดิ์, พรรณวดี โสพรรณรัตน์*

Sasithorn Sumtha, Noppatsorn Klinrod, Anchalee Buadkhunthod, Sombat Prasongsook, Panatda Bungsrisawat, Panwadee Sopannarath*

ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: agrpds@ku.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาตรน้ำเชื้อ การเคลื่อนที่หมู่ ความเข้มข้นของอสุจิ และการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิของไก่เบตง (สายเคยู) สีน้ำตาล สีขาว และพันธุ์สังเคราะห์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยมีการวัดซ้ำ ปัจจัยกำหนด ได้แก่ พ่อพันธุ์ไก่ 3 กลุ่มพันธุ์ กลุ่มละ 10 ตัว วัดซ้ำที่อายุ 5 ระดับ ได้แก่ 8, 9, 10, 11 และ 12 เดือน ผลการศึกษาพบปฏิกิริยาร่วมระหว่างกลุ่มพันธุ์และอายุ สำหรับลักษณะความเข้มข้นของอสุจิที่เคลื่อนที่ ความเข้มข้นของอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้า และเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ ($p < 0.05$) กลุ่มพันธุ์มีอิทธิพลต่อลักษณะการเคลื่อนที่หมู่ ($p < 0.05$) โดยพ่อพันธุ์ไก่เบตง (สายเคยู) สีน้ำตาล และพันธุ์สังเคราะห์มีคะแนนการเคลื่อนที่หมู่มากที่สุด อายุมีอิทธิพลต่อทุกลักษณะที่ศึกษายกเว้นการเคลื่อนที่หมู่ พ่อพันธุ์ไก่ให้ปริมาตรน้ำเชื้อมากที่สุดเมื่ออายุ 9 และ 10 เดือน ความเข้มข้นของอสุจิทั้งหมดมากที่สุดในช่วงอายุ 8–10 เดือน และลดลงเมื่ออายุ 11–12 เดือน และความเข้มข้นของอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้า ในพ่อพันธุ์ไก่ช่วงอายุ 8, 10–12 เดือน มากกว่าเมื่อพ่อพันธุ์ไก่อายุ 9 เดือน สรุปได้ว่า มีความแตกต่างในบางลักษณะของคุณภาพน้ำเชื้อระหว่างกลุ่มพันธุ์และช่วงอายุ

คำสำคัญ: การเคลื่อนที่หมู่, ความเข้มข้นของอสุจิ, ปริมาตรน้ำเชื้อ

Abstract

The objective of this study was to investigate semen volume, mass movement, sperm concentrations, and sperm motilities of Betong chicken (KU line) in brown color, white color, and a synthetic chicken breed. The experiment was repeated measurements in a completely randomized design with three fixed breed groups, each with ten replications, and measurements were taken repeatedly at five ages: 8, 9, 10, 11, and 12 months. The results revealed significant interactions between breed group and age effects for sperm motile and progressive sperm motile concentrations and sperm motility ($p < 0.05$). The effect of breed groups was also significant for mass movement ($p < 0.05$) with brown Betong (KU line) and synthetic cocks having the highest mass movement scores. Furthermore, there were significant effects of age of the cock on all examined traits except mass movement. Cocks at 9 and 10 months old had the highest semen volume while those at 8–10 months old had the highest total sperm concentrations. However, total sperm concentrations decreased in cocks aged 11–12 months. Additionally, cocks aged 8, 10–12 months had higher progressive sperm concentrations than those aged 9 months. In conclusion variations in some semen characteristics were observed among breed groups and ages.

Keywords: Mass movement, Semen volume, Sperm concentration

คำนำ

ไก่เบตง (Betong) เป็นไก่พื้นเมืองที่นิยมเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายทางภาคใต้ตอนล่างของประเทศไทย โดยพัฒนามาจากพันธุ์แลงซาน (Leang Chan) ที่มีถิ่นกำเนิดจากมณฑลกวางตุ้ง สาธารณรัฐประชาชนจีน โดยชาวจีนที่อพยพเข้ามานำมาเลี้ยงในประเทศไทยที่ อำเภอเบตง จังหวัดยะลา จนเป็นไก่ประจำถิ่นของชาวภาคใต้ (ทวี และอรพิน, 2537; ปิ่น, 2541) เนื้อไก่เบตงมีรสชาติดี หนังหนา แต่มีไขมันใต้ผิวหนังน้อย หนังมีสีเหลืองอ่อน ไม่ขาวเหมือนไก่ทั่วไป เนื้อนุ่ม ไม่เหลวแฉะจึงส่งผลให้มีราคาแพงเมื่อเทียบกับไก่เนื้อทางการค้าและไก่พื้นเมืองไทยอื่น (Gongruttananun and Chotesangasa, 1996; Bungsrisawat et al., 2018)

ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้นำไก่พันธุ์เบตงมาเลี้ยงเป็นระยะเวลานาน ก่อนมีการคัดเลือกและพัฒนาเป็นไก่เบตง (สายเคยู) อย่างเป็นรูปแบบในปี พ.ศ. 2550 จากประชากรที่มีอยู่เดิม โดยคงลักษณะบางประการของไก่เบตงไว้ คือ หงอนจักรสีแดง ตุ้มหูสีแดง ขนจริงจะงอกช้า มีการพัฒนาของขนปีกและขนหางน้อย อกใหญ่ ลำตัวกว้างลึก ปากและแข้งมีสีเหลือง ภายหลังการคัดเลือกมาระยะเวลาหนึ่งพบความแตกต่างของลักษณะสีขน จึงได้มีการคัดเลือกสีขนและพัฒนาออกเป็น 2 สี คือ ขนสีน้ำตาล และขนสีขาว เรียกว่า เบตง (สายเคยู) สีน้ำตาล และสีขาว ตามลำดับ (พรรณวดี และชัยภูมิ, 2558) นอกจากนี้ได้พัฒนาพันธุ์สังเคราะห์ (Synthetic chicken breed) ซึ่งเกิดจากการผสมข้ามระหว่างไก่เบตง (สายเคยู) และพ่อและแม่พันธุ์ไก่เนื้อทางการค้า โดยให้มีสัดส่วนพันธุ์ของเบตง (สายเคยู) 75% และพันธุ์ไก่เนื้อทางการค้า 25% อย่างไรก็ตาม ในการปรับปรุงพันธุ์และพัฒนาพันธุ์ใหม่เพื่อมุ่งเน้นเป็นไก่สำหรับการบริโภคเนื้อ การคัดเลือกในฝูงพ่อและแม่พันธุ์นอกจากจะให้มีลักษณะการเจริญเติบโตและคุณภาพเนื้อแล้ว ฝูงของพ่อและแม่พันธุ์ยังต้องมีลักษณะที่เกี่ยวข้องกับประสิทธิภาพการสืบพันธุ์ที่ดีด้วย ดังนั้นเพื่อให้การปรับปรุงพันธุ์หรือการสร้างพันธุ์ใหม่ประสบความสำเร็จ การศึกษาลักษณะคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์ไก่เบตง (สายเคยู) และพันธุ์สังเคราะห์จึงเป็นความจำเป็นพื้นฐานเพื่อการผลิตลูกไก่ในรุ่นต่อ ๆ ไป โดยความสำเร็จของการผสมพันธุ์ส่วนหนึ่งเกิดจากการปฏิสนธิระหว่างไข่และตัวอสุจิ ซึ่งประเมินความสามารถในการสืบพันธุ์ของพ่อพันธุ์ไก่ได้โดยการตรวจการเคลื่อนที่ของตัวอสุจิ (โสธยา และคณะ, 2562; Alkan et al., 2002) คุณภาพของน้ำเชื้อและตัวอสุจิแตกต่างกันตามลักษณะพันธุ์ อายุ น้ำหนักตัว เทคนิคการเก็บตัวอย่าง และสารละลายเจือจางที่ใช้ (Tarif et al., 2013; Chuaychu-noo and Vongpralub, 2017) ในการศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อของไก่เบตง (สายเคยู) สีน้ำตาล สีขาว และพันธุ์สังเคราะห์ ที่อายุแตกต่างกัน เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการจัดการฝูงพ่อและแม่พันธุ์และการคัดเลือกต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

สัตว์ทดลอง

พ่อพันธุ์ไก่ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้เป็นพ่อพันธุ์ไก่ที่ถูกเลี้ยงภายใต้สภาพล้อมเดียวกันและมีอายุเริ่มต้นทดลองเท่ากันคืออายุ 8 เดือน จำนวน 3 กลุ่มพันธุ์ ได้แก่ เบตง (สายเคยู) สีน้ำตาล และสีขาว และไก่พันธุ์สังเคราะห์ที่มีสัดส่วนพันธุ์ของเบตง (สายเคยู) 75% และพันธุ์ไก่เนื้อทางการค้า 25% จำนวนกลุ่มพันธุ์ละ 10 ตัว โดยมีการจัดการทั่วไปดังนี้ ไก่พ่อพันธุ์แต่ละตัวถูกเลี้ยงในกรงเดี่ยวขนาด 50×50×60 เซนติเมตร ในโรงเรือนระบบปิดที่มีระบบทำความเย็นด้วยไอระเหยของน้ำ (Evaporative cooling system) ได้รับอาหารสำเร็จรูปโปรตีน 16% และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ 2,850 กิโลแคลลอรี่ วันละประมาณ 110–120 กรัม และได้รับน้ำสะอาดเต็มที่ พ่อพันธุ์ไก่ถูกรีดเก็บน้ำเชื้อสัปดาห์ละ 1 ครั้ง เวลา 14.00–15.00 น. ตามตารางงานประจำของฟาร์ม โดยค่าเฉลี่ยของคุณภาพน้ำเชื้อ 4 สัปดาห์ ของพ่อพันธุ์แต่ละตัวถูกใช้เป็นตัวแทนคุณภาพน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์ที่อายุแต่ละเดือนเมื่อพ่อพันธุ์ไก่อายุ 8–12 เดือน

พ่อพันธุ์ไก่ทั้งหมดได้รับการฝึกรีดน้ำเชื้อด้วยวิธี lumbar massage method (Burrows and Quinn, 1937; Lake, 1977) โดยมีผู้ช่วยทำการจับไก่และผู้รีดเก็บน้ำเชื้อ ผู้ช่วยจะจับไก่ที่บริเวณโคนขาทั้ง 2 ข้างและจับโคนปีกไก่ทั้ง 2 ข้าง จากนั้นกระตุ้นไก่พ่อพันธุ์ให้หลั่งน้ำเชื้อ แล้วนำหลอดมารองรับน้ำเชื้อที่ปลาย Cloaca พ่อพันธุ์ไก่ถูกฝึกรีดนำเชื้อก่อนทำการทดลองประมาณ 1 เดือน และหลังจากรีดเก็บน้ำเชื้อ หลอดน้ำเชื้อถูกเก็บไว้ในกล่องที่มีอุณหภูมิ 4–5 องศาเซลเซียส (ทิพย์สุดา, 2556) ปิดฝากล่องเพื่อป้องกันแสงและรักษาคุณภาพของน้ำเชื้อก่อนการนำไปตรวจสอบคุณภาพ ดังนี้

1. วัดปริมาตรน้ำเชื้อ (Semen volume) ก่อนการวัดปริมาตรน้ำเชื้อจะดูสีของน้ำเชื้อและสิ่งปลอมปนที่อาจติดมาระหว่างการรีด หากน้ำเชื้อหลอดใดมีสิ่งปลอมปนจะคัดออก ไม่นำวัดปริมาตรและตรวจสอบคุณภาพ การวัดปริมาตรน้ำเชื้ออ่านจากขีดบอกปริมาตรบนหลอดเก็บน้ำเชื้อได้โดยตรง

2. ตรวจคุณภาพน้ำเชื้อเบื้องต้นภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Microscopic examination) ในการทดลองนี้มีผู้ตรวจสอบคุณภาพน้ำเชื้อเบื้องต้น 1 คน เพื่อลดความผันแปรจากผู้ให้คะแนน โดยดูการเคลื่อนที่หมู่ (Mass movement) ลักษณะการเคลื่อนที่หมู่จะเหมือนคลื่น ความไวของคลื่นขึ้นอยู่กับความเร็วในการเคลื่อนที่ ถ้าตัวอสุจิมีจำนวนมากคลื่นจะหนาแน่น ตรวจการเคลื่อนที่หมู่โดยหยดน้ำเชื้อบนแผ่นกระจกสไลด์ ประเมินภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 40 เท่า ให้ค่าคะแนนการเคลื่อนที่หมู่ ดังนี้ คะแนน 5 สำหรับการเคลื่อนที่ดีมาก น้ำเชื้อเข้มข้นสูง เคลื่อนที่เป็นลูกคลื่น เร็ว สังเกตเป็นรายตัวไม่ได้ อสุจิประมาณ 90% หรือสูงกว่าเคลื่อนที่ได้ คะแนน 4 สำหรับการเคลื่อนที่ดี อสุจิเคลื่อนที่แรง ความแรงของคลื่นไม่เท่ากับระดับ 5 เคลื่อนที่ประมาณ 70–80% คะแนน 3 สำหรับการเคลื่อนที่ปานกลาง การเคลื่อนที่เป็นคลื่นเล็กน้อย เคลื่อนที่ช้า สามารถสังเกตการเคลื่อนที่รายตัวได้ อสุจิเคลื่อนที่ได้ 45–65% คะแนน 2 สำหรับการเคลื่อนที่ต่ำ ไม่พบลักษณะคลื่น มีอสุจิเคลื่อนที่ได้ ประมาณ 20–40% และเคลื่อนที่อ่อน คะแนน 1 สำหรับการเคลื่อนที่ต่ำมาก ประมาณ 10% ของอสุจิเท่านั้นที่เคลื่อนที่ได้ และคะแนน 0 สำหรับไม่พบการเคลื่อนที่ อสุจิตาย (เทวินทร์ และยุพิน, 2550)

3. ตรวจวัดคุณภาพน้ำเชื้อโดยใช้เครื่อง Computer Assisted Semen Analysis (CASA; Hamiltion Thorne, Biosciences, MA, USA) โดยเจือจางน้ำเชื้อไก่กับสารละลายน้ำเชื้อไก่ทางการค้า Beltsville Poultry Semen Extender II ในอัตราส่วน 1:100 และ ดูดน้ำเชื้อที่เจือจางแล้ว หยดลงบน 2X-CEL slide และปิดด้วยแผ่นปิดสไลด์ บันทึกข้อมูล ได้แก่ ความเข้มข้นของอสุจิทั้งหมด (Total sperm concentration) ความเข้มข้นของอสุจิที่เคลื่อนที่ (Motile sperm concentration) ความเข้มข้นของอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้า (Progressive motile sperm concentration) เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ (Sperm motility) และ เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้า (Progressive sperm motility)

การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์และมีการวัดซ้ำ (Repeated measurement in completely randomized design) โดยมีปัจจัยกำหนด คือ กลุ่มพันธุ์ 3 กลุ่มพันธุ์ ได้แก่ ได้แก่ ไก่เบตง (สายเคยู) สีน้ำตาล ไก่เบตง (สายเคยู) สีขาว และ ไก่พันธุ์สังเคราะห์ และมีการวัดซ้ำอายุ 5 ระดับ ได้แก่ 8, 9, 10, 11 และ 12 เดือน และเนื่องจากข้อมูลความเข้มข้นของอสุจิ และเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ มีการกระจายไม่ปกติจึงทำการแปลงข้อมูลด้วย log10 (สินีนาฎ และคณะ, 2565) สำหรับลักษณะความเข้มข้นของอสุจิทั้งหมด ความเข้มข้นของอสุจิที่เคลื่อนที่ และความเข้มข้นของอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้า และแปลงข้อมูลด้วยรากที่สอง (Square root; Osborne, 2002) สำหรับลักษณะเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ และ เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้า ก่อนนำมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยมีแบบหุ่นทางสถิติ (Equation 1) ดังนี้

$$y_{ijk}=\mu+B_i+\gamma_{ik}+A_j+BA_{ij}+\varepsilon_{ijk}, \quad (1)$$

y_{ijk} คือ ค่าสังเกตของลักษณะต่าง ๆ ได้แก่ ปริมาตรน้ำเชื้อ การเคลื่อนที่หมู่ ความเข้มข้นของอสุจิทั้งหมด ความเข้มข้นของอสุจิที่เคลื่อนที่ ความเข้มข้นของอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้า เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ และเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้า, μ คือ ค่าเฉลี่ย, B_i คือ ปัจจัยกำหนดของกลุ่มพันธุ์ที่ i เมื่อ i= เบตง (สายเคยู) สีน้ำตาล, เบตง (สายเคยู) สีขาว และ พันธุ์สังเคราะห์, A_j คือ ปัจจัยกำหนดของอายุพ่อพันธุ์ไก่ที่ j เมื่อ j=8, 9,10,11,12 ที่เป็นการวัดซ้ำในพ่อพันธุ์แต่ละตัว, BA_{ij} คือ ปฏิกิริยาร่วมระหว่างกลุ่มพันธุ์ที่ i และอายุที่ j, γ_{ik} คือ ค่าคลาดเคลื่อน ik $\sim N(0,\sigma\gamma^2)$ และ ε_{ijk} คือ ค่าคลาดเคลื่อน ijk $\sim N(0,\sigma\varepsilon^2)$ และวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SAS on demand for academic ด้วย PROC MIXED และคำสั่ง REPEATED โครงสร้างของความแปรปรวนและความแปรปรวนร่วมแบบไม่กำหนดโครงสร้าง UN ประมาณค่าเฉลี่ยลิสแควร์ และเปรียบเทียบความแตกต่างด้วย ADJUST=TUKEY ที่ $p < 0.05$ (SAS, 2015)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนตามแบบหุ่นที่กำหนด พบปฏิกิริยาร่วมระหว่างกลุ่มพันธุ์และอายุ ($p < 0.05$) สำหรับลักษณะความเข้มข้นของอสุจิที่เคลื่อนที่ ความเข้มข้นของอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้า และเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ จึงพิจารณาอิทธิพลปัจจัยหลักของกลุ่มพันธุ์และอายุสำหรับลักษณะที่ไม่พบปฏิกิริยาร่วม กลุ่มพันธุ์มีอิทธิพลต่อลักษณะการเคลื่อนที่หมู่ ($p < 0.05$) โดยคะแนนการเคลื่อนที่หมู่ ในกลุ่มพ่อพันธุ์ไก่เบตง (สายเคยู) สีน้ำตาล มากที่สุด (4.25±0.25 คะแนน) และคะแนนการเคลื่อนที่หมู่ในกลุ่มพ่อพันธุ์ไก่เบตง (สายเคยู) สีขาว น้อยที่สุด (3.24±0.25 คะแนน; Table 1) ในขณะที่ ลักษณะอื่น ๆ กลุ่มพันธุ์มีอิทธิพลต่อลักษณะดังกล่าวอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) มีการศึกษาหลายการศึกษารายงานถึงอิทธิพลของกลุ่มพันธุ์ต่อคุณภาพน้ำเชื้อ เช่น พ่อพันธุ์ไก่พื้นเมืองไทยหลายพันธุ์มีคะแนนการเคลื่อนที่หมู่ของอสุจิแตกต่างกัน (พรจิต และคณะ, 2555; 2556) ปริมาตรน้ำเชื้อของพ่อพันธุ์ไก่ที่อายุ 40 สัปดาห์แตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ ($p < 0.05$; Tarif et al., 2013) นอกจากนี้ ความเข้มข้นของอสุจิของพ่อพันธุ์ไก่เนื้อทางการค้า (Ross 308) ที่อายุ 30 สัปดาห์ มากกกว่าพ่อพันธุ์ไก่พื้นเมืองอิหร่าน ($p < 0.05$; Tabatabaei et al., 2009) ซึ่งมีความแตกต่างจากการศึกษาครั้งนี้ กลุ่มพันธุ์ที่นำมาศึกษามีการพัฒนาและคัดเลือกมาจากพันธุ์เบตงดั้งเดิมที่พัฒนาเป็นเบตง (สายเคยู) สีน้ำตาล และสีขาว โดยทั้งสองกลุ่มพัฒนามาจากประชากรเดียวกัน (พรรณวดี และชัยภูมิ, 2558) นอกจากนี้ ไก่เบตง (สายเคยู) ยังนำมาพัฒนาเป็นพันธุ์สังเคราะห์ และพบความแตกต่างลักษณะคะแนนการเคลื่อนที่หมู่ของทั้ง 3 กลุ่มพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญ แต่อย่างไรก็ตาม คะแนนการเคลื่อนที่หมู่ไม่สอดคล้องกับเปอร์เซ็นต์ของตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ และเปอร์เซ็นต์ของตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้า การให้คะแนนการเคลื่อนที่หมู่เป็นการประเมินจากสายตาโดยรวมไม่ได้ประเมินรายตัวของอสุจิและมีหลายปัจจัยส่งผลต่อการให้คะแนน เช่น ความเข้มข้นของน้ำเชื้อ ทั้งนี้จึงต้องมีการศึกษาวิเคราะห์เพิ่มเติมเพื่อการนำไปใช้อย่างมีประสิทธิภาพ

อายุของพ่อพันธุ์ไก่มีอิทธิพลต่อลักษณะปริมาตรน้ำเชื้อ ความเข้มข้นของอสุจิทั้งหมด เปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้า ($p < 0.05$; Table 2) โดยพบว่า พ่อพันธุ์ให้ปริมาตรน้ำเชื้อมากที่สุดเมื่ออายุ 9 และ 10 เดือน (0.39±0.02 มล.) โดยพบว่าเมื่ออายุ 11 เดือนพ่อพันธุ์ไก่ให้ปริมาตรน้ำเชื้อน้อยที่สุด (0.33±0.02 มล.) แตกต่างจากอายุ 8 และ 12 เดือน อย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ความเข้มข้นของอสุจิทั้งหมดมากที่สุดเมื่อพ่อพันธุ์ไก่อายุ 10 เดือน (9.84±0.03 เซลล์/มล., log10) และความเข้มข้นของอสุจิทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อพ่อพันธุ์ไก่อายุ 11–12 เดือน ($p < 0.05$) ในขณะที่พ่อพันธุ์ไก่อายุ 8, 10–12 เดือน มีเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) และเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้ามากที่สุดเมื่อพ่อพันธุ์ไก่อายุ 8 เดือน (3.02±0.17%, square root)

Table 1 Least square means±SE of semen characteristics for the breed group effects

Semen Characteristics	Breed Group[1]		
	BT-Brown	BT-White	Syn-breed
Semen volume (ml)	0.36±0.03	0.39±0.03	0.38±0.03
Mass movement (score)	4.25±0.25[a]	3.24±0.25[b]	4.20±0.25[a]
Total sperm concentration (cell/ml, log10)	9.70±0.03	9.73±0.03	9.77± 0.03
Motile sperm concentration (cell/ml, log10)	9.25±0.03	9.31±0.03	9.29± 0.03
Progressive motile sperm concentration (cell/ml, log10)	8.45±0.05	8.54±0.05	8.47± 0.05
Sperm motility (%, square root)	6.32±0.21	6.40±0.21	5.97± 0.21
Progressive sperm motility (%, square root)	2.84±0.18	2.88±0.19	2.48± 0.18

[a, b] Least square means±SE in the same row, followed by different superscripts, indicate significant differences ($p < 0.05$)

[1] BT-Brown= brown Betong chicken (KU line); BT-White= white Betong chicken (KU line); Syn-breed=synthetic chicken breed

Table 2 Least square means±SE of semen characteristics for the age effects

Semen Characteristics	Age (month)				
	8	9	10	11	12
Semen volume (ml)	0.38±0.03[ab]	0.39±0.02[a]	0.39±0.02[a]	0.33±0.02[b]	0.37±0.02[ab]
Mass movement (score)	3.92±0.22	3.60±0.23	3.92±0.15	4.05±0.15	3.98±0.14
Total sperm concentration (cell/m, log10)	9.79±0.02[ab]	9.79±0.03[ab]	9.84±0.03[a]	9.71±0.03[b]	9.52±0.03[c]
Motile sperm concentration (cell/m, log10)	9.47±0.03	9.29±0.03	9.41±0.03	9.01±0.03	9.23±0.04
Progressive sperm concentration (cell/m, log10)	8.67±0.06	8.35±0.06	8.69±0.05	8.44±0.04	8.28±0.06
Sperm motility (%, square root)	7.08±0.20	5.82±0.18	6.14±0.18	4.65±0.12	7.45±0.12
Progressive sperm motility (%, square root)	3.02±0.17[a]	2.27±0.20[b]	2.98±0.18[a]	2.56±0.09[a]	2.83±0.14[a]

[a,b] Least square means±SE in the same row, followed by different superscripts, indicate significant differences ($p < 0.05$)

จากรายงานการศึกษาความเข้มข้นของอสุจิในพ่อพันธุ์ไก่เนื้อทางการค้า (Cobb) อายุ 24 ถึง 39 สัปดาห์ เพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงในช่วงอายุ 39 ถึง 54 สัปดาห์ และเมื่ออายุ 72 สัปดาห์ ความเข้มข้นของอสุจิลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$; Cerolino et al.,1997) จะเห็นได้ว่า ผลการศึกษาสอดคล้องกับการศึกษาในครั้งนี้ โดยไก่เพศผู้ที่อายุ 20 สัปดาห์ สามารถพบอสุจิอยู่ในท่อ seminiferous ได้โดยทั่วไป (Sturkie, 1976) แต่ไก่พื้นเมืองไทยมีการสร้างอสุจิอย่างสมบูรณ์ที่อายุ 23 สัปดาห์ อายุของพ่อพันธุ์ไก่ที่แตกต่างกันเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อปริมาตรและคุณภาพน้ำเชื้อ คือปริมาตรและคุณภาพน้ำเชื้อไก่ที่สามารถผลิตได้จะลดลงในขณะที่อายุเพิ่มขึ้น (รัตนา และนิรัตน์, 2542; เทวินทร์ และคณะ, 2556; Kelso et al., 1996; Tabatabaei et al., 2009)

สำหรับลักษณะที่ปฏิกิริยาร่วมระหว่างกลุ่มพันธุ์และอายุมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ ลักษณะความเข้มข้นของอสุจิที่เคลื่อนที่ ความเข้มข้นของอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้า และเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ ($p < 0.05$) พ่อพันธุ์ไก่เบตง (สายเคยู) สีน้ำตาล และพันธุ์สังเคราะห์ เมื่ออายุ 8 เดือน มีความเข้มข้นของอสุจิที่เคลื่อนที่มากที่สุด ในขณะที่ พ่อพันธุ์ไก่เบตง (สายเคยู) สีขาว มีความเข้มข้นของอสุจิที่เคลื่อนที่มากที่สุด เมื่ออายุ 10 เดือน และพ่อพันธุ์ไก่ทั้ง 3 กลุ่มพันธุ์ มีความเข้มข้นของอสุจิที่เคลื่อนที่น้อยสุดเมื่ออายุ 11 เดือน (Fig. 1D) พ่อพันธุ์ไก่เบตง (สายเคยู) สีน้ำตาล เมื่ออายุ 8 เดือน มีความเข้มข้นของอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้ามากที่สุด ในขณะที่พ่อพันธุ์ไก่เบตง (สายเคยู) สีขาว และพันธุ์สังเคราะห์ มีความเข้มข้นของอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้ามากที่สุด เมื่ออายุ 10 เดือน และพ่อพันธุ์ไก่เบตง (สายเคยู) สีน้ำตาล และพันธุ์สังเคราะห์ มีความเข้มข้นของอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้าน้อยสุดเมื่ออายุ 12 เดือน (Fig. 1E)

พ่อพันธุ์ไก่เบตง (สายเคยู) สีน้ำตาลเมื่ออายุ 8 เดือน จะมีเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่มากที่สุด รองลงมาคือเมื่ออายุ 12 เดือน ($p >0.05$) ในขณะที่พ่อพันธุ์ไก่เบตง (สายเคยู) สีขาว และพันธุ์สังเคราะห์ จะมีเปอร์เซ็นต์ตัวอสุจิที่เคลื่อนที่มากที่สุดเมื่ออายุ 12 เดือน รองลงมาคือเมื่ออายุ 8 เดือน ($p > 0.05$; Fig. 1F) แสดงให้เห็นว่า ลักษณะดังกล่าวในแต่ละพันธุ์เมื่ออายุแตกต่างกันจะแสดงออกแตกต่างกันออกไป

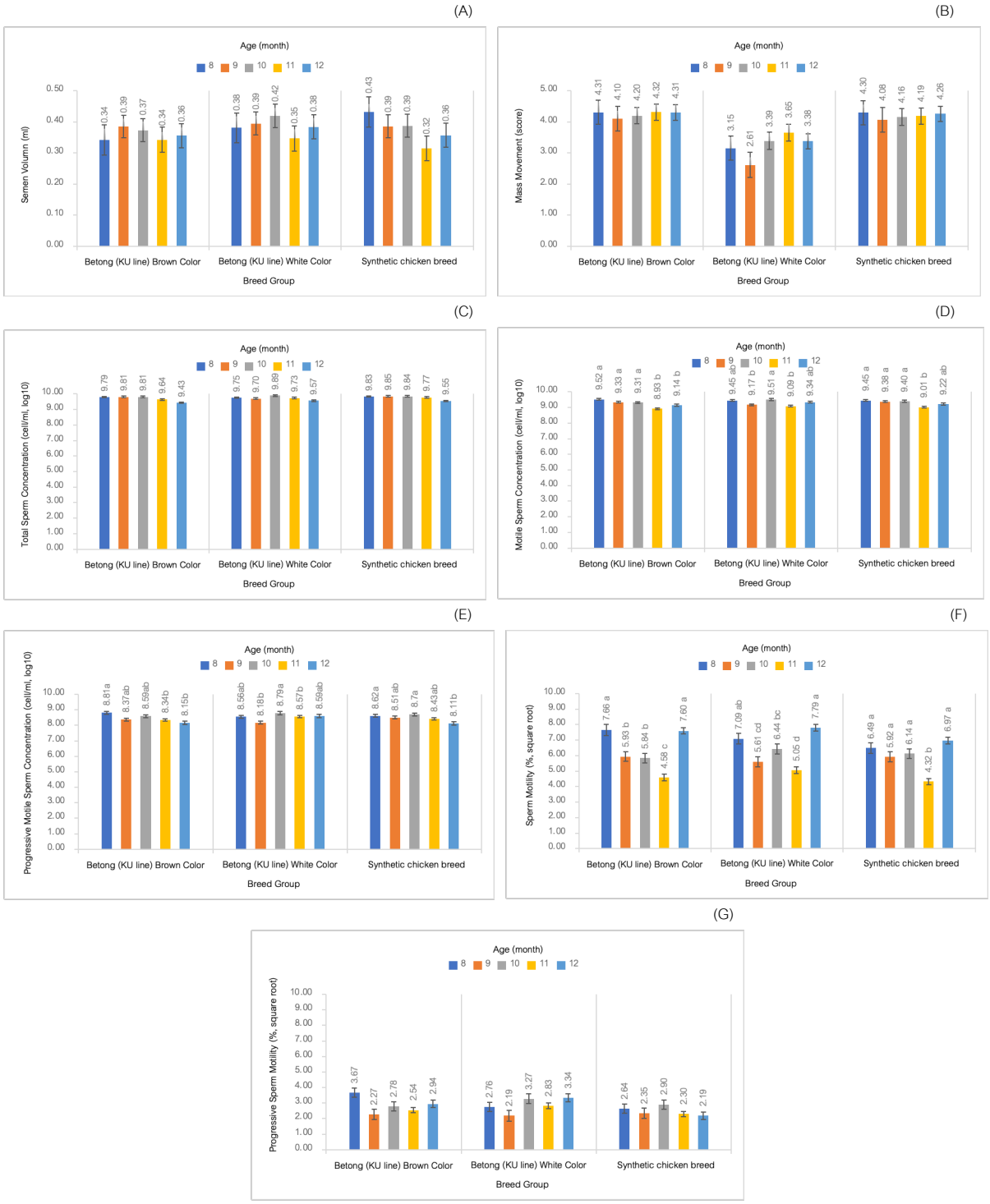


Fig. 1 Least square means of semen volume (A); mass movement (B) total sperm concentration (C); motile sperm concentration (D); progressive motile sperm concentration (E); sperm motility (F); and progressive sperm motility (G) for the interaction effect between breed group and age of cock. ^{abcd} Least square means with different superscripts above error bars indicate significant differences ($p < 0.05$) among the ages of cocks within each breed group.

สรุป

กลุ่มพันธุ์มีผลต่อคะแนนการเคลื่อนที่หมู่ อายุของไก่พ่อพันธุ์ส่งผลต่อทุกลักษณะที่ศึกษายกเว้นการเคลื่อนที่หมู่ และความเข้มข้นของตัวอสุจิที่เคลื่อนที่ ความเข้มข้นของอสุจิที่เคลื่อนที่ไปข้างหน้า และเปอร์เซ็นต์การเคลื่อนที่ของตัวอสุจิของพ่อพันธุ์ไก่ช่วงอายุ 8–12 เดือน ในแต่ละกลุ่มพันธุ์แตกต่างกัน

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณฟาร์มไก่หลวงสุวรรณวาจกกสิกิจ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทดลอง และขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และภาควิชาสัตวบาลที่ให้การสนับสนุนทุนสำหรับงานวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

ทวี อบอุ่น, อรพิน เวชชบุษกร. 2537. การศึกษาเปรียบเทียบลักษณะต่าง ๆ ในไก่เบตง ลูกผสมเบตง-โรด และเบตง-บาร์. ยะลา: สถานีบำรุงพันธุ์สัตว์ยะลา กองบำรุงพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์.

ทิพย์สุดา บุญมาทัน. 2556. การเก็บรักษาน้ำเชื้อไก่พื้นเมืองสายพันธุ์เหลืองหางขาวแบบแช่เย็นและแบบแช่แข็ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

เทวินทร์ วงษ์พระลับ, บัญญัติ เหล่าไพบูลย์, พิชญ์รัตน์ แสนไชยสุริยา, ยุพิน ผาสุข. 2556. ผลของอายุ พ่อพันธุ์ ไก่พื้นเมืองต่อความสมบูรณ์พันธุ์ของน้ำเชื้อแช่แข็ง. ว.วิทย.กษ. 44(1 (พิเศษ)): 215–218.

เทวินทร์ วงษ์พระลับ, ยุพิน ผาสุข. 2550. คู่มือ การเก็บรักษาน้ำเชื้อแบบแช่แข็งและการผสมเทียมในไก่พื้นเมือง. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

ปิ่น จันจุฬา. 2541. ไก่เบตง: ไก่พื้นเมืองที่น่าสนใจ. บทความปริทัศน์. วารสารมหาวิทยาลัยทักษิณ 1(2): 96–101.

พรจิต สอนสีดา, เทวินทร์ วงษ์พระลับ, บัญญัติ เหล่าไพบูลย์. 2556. ผลของระยะเวลาในการเก็บรักษา ต่อคุณภาพน้ำเชื้อและอัตราการ ผสมติดของน้ำเชื้อแบบแช่แข็งในไก่พื้นเมืองไทย. วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข. 23: 129–137.

พรจิต สอนสีดา, เทวินทร์ วงษ์พระลับ, บัญญัติ เหล่าไพบูลย์, พิชญ์รัตน์ แสนไชยสุริยา. 2555. ผลของอายุและสายพันธุ์ต่ออัตราการเคลื่อนที่ อัตราการรอดชีวิต และความสมบูรณ์พันธุ์ของน้ำเชื้อแบบแช่แข็งของพ่อพันธุ์ไก่พื้นเมือง. แก่นเกษตร. 40(2): 334–338.

พรรณวดี โสพรรณรัตน์, ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์. 2558. ไก่เบตง (สายเคยู) หรือ ไก่เคยูเบตง. ข่าวสารเกษตรศาสตร์ 61(1): 13–21.

รัตนา โชติสังกาศ, นิรัตน์ กองรัตนานันท์. 2542. พัฒนาการและความสามารถทางการสืบพันธุ์ของไก่พื้นเมืองเพศผู้เลี้ยงภายใต้ชั่วโมงแสงธรรมชาติและชั่วโมงแสง 15 ชั่วโมงต่อวัน. วารสารเกษตรศาสตร์ 33: 530–542.

สินีนาฏ พลแสง, พงศ์เทพ พลแสง, สุวิทย์ อินฉายา, ยุพิน ผาสุข, สจี กัณหาเรียง, เทวินทร์ วงษ์พระลับ. 2565. การศึกษาคุณภาพน้ำเชื้อของไก่ป่าตุ้มหูขาวในรอบปี. แก่นเกษตร 50(2): 505–515. doi.org10.14456/kaj.2022.44

โสธยา เทพณรงค์, จำเริญ เที่ยงธรรม, พรรณวดี โสพรรณรัตน์. 2562. พารามิเตอร์ทางพันธุกรรมของลักษณะคุณภาพน้ำเชื้อในไก่เบตง (สาย เคยู). แก่นเกษตร 47(5): 1057–1066.

Alkan, S., Baran, A., Ozdas, O., Evecen, M. 2002. Morphological defects in turkey semen. Turkish J. Vet. Anim. Sci. 26(5): 1087–1092.

Bungsrisawat, P., Tumwasorn, S., Loongyai, W., Nakthong, S., Sopannarath, P. 2018. Genetic parameters of some carcass and meat quality traits in Betong chicken (KU Line). Agr. Nat. Resour. 52(3): 274–279.

Burrows, W. H., Quinn, J.P. 1937. The collection of spermatozoa from the domestic fowl and turkey. Poult. Sci. 16(1): 19–24.

Cerolini, S., Kelso, K.A., Noble, R.C., Speake, B.K., Pizzi, F., Cavalchini, L.G. 1997. Relationship between spermatozoan lipid composition and fertility during aging of chickens. Biol. Reprod. 57(5): 976–980.

Chuaychu-noo, N., Vongpralub, T. 2017. Freezability and fertility of Thai native chicken semen in different diluents. Thai J. Vet. Med. 47(4): 551–556.

Gongruttananan, N., Chotesangasa, R. 1996. A study of growth and carcass yield of Betong chickens compared with those of native and crossberd Betong × native chickens. Agr. Nat. Resour. 30(3): 312–321.

Kelso, K.A., Cerolini, S., Noble, R.C., Sparks, N.H.C., Speake, B.K. 1996. Lipid and antioxidant changes in semen of broiler fowl from 25 to 60 weeks of age. J. Reprod. Fertil. 106(2): 201–206.

Lake, P.E. 1977. Male reproduction physiology and the collection of semen: Artificial Insemination in Poultry. London, UK.

SAS Institute Inc. 2015. SAS/STAT® 14.1 User's guide he mixed procedure. Cary, NC, USA.

Sturkie, P.D. 1976. Avian physiology. Springer-Verlag New york Inc., New york, NY, USA.

Tabatabaei, S., Batavani, R.A., Talebi, A.R. 2009. Comparison of semen quality in indigenous and Ross broiler breeder roosters. Adv. Anim. Vet. Sci. 8(1): 90–93.

Tarif, A.M., Bhuiyan, M.M.U., Ferdousy, R.N., Juyena, N.S., Mollah, M.B.R. 2013. Evaluation of semen quality among four chicken lines. J. Agric. Vet. Sci. 6(5): 7–13.

การประเมินค่าโภชนะและพลังงานใช้ประโยชน์ได้ของกากช่อดอกกัญชงในไก่ไข่

Evaluation of nutrient composition and metabolizable energy of hemp inflorescences meal in layer

หทัยรัตน์ แสงสุวรรณ, ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์, เชาว์วิทย์ ระฆังทอง, กนกพร พ่วงพงษ์*

Hathairat Saengsuwan, Chaiyapoom Banchasak, Choawit Rakangtong, Kanokporn Poungpong*

ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

Department of Animal Science, Faculty of agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: fagrkpp@ku.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาองค์ประกอบทางโภชนะ ทำนายค่าการพลังงานการใช้ประโยชน์ได้ของกากช่อดอกกัญชงและผลของการนำกากช่อดอกกัญชงมาเป็นวัตถุดิบในอาหารไก่ไข่ต่อประสิทธิภาพการผลิตและปริมาณสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ที่ตกค้างไข่ไก่ โดยใช้ไก่ไข่สายพันธุ์ Lohmann Brown อายุ 84 สัปดาห์ จำนวน 108 ตัว แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มการทดลอง คือ กลุ่มควบคุม และกลุ่มที่ได้รับอาหารพื้นฐานประกอบด้วยกากช่อดอกกัญชง 10 เปอร์เซ็นต์ โดยทดลอง 6 ซ้ำ ซ้ำละ 9 ตัว จากการวิจัยพบว่า กากช่อดอกกัญชงมีองค์ประกอบทางโภชนะครบ มีโปรตีน 25 เปอร์เซ็นต์ มีค่าการทำนายพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (metabolizable energy) เท่ากับ 2,1975.75 kcal/kg ผลผลิตไข่ ปริมาณอาหารที่กินได้ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ มวลไข่ และน้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อฟองของทั้งสองกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามพบว่าความสูงไข่ขาว ค่าฮอฟ์ยูนิตและอัตราส่วนไข่แดงต่อไข่ขาวในกลุ่มที่เสริมกากช่อดอกกัญชงมีค่าดีกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และไม่พบการตกค้างของสารกลุ่มแคนนาบินอยด์ในไข่ไก่ ดังนั้นกากช่อดอกกัญชงสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตอาหารไก่ไข่ได้อย่างปลอดภัยต่อสัตว์และผู้บริโภค

คำสำคัญ: กัญชง, กากช่อดอกกัญชง, ไก่ไข่, แคนนาบินอยด์, วัตถุดิบอาหารสัตว์

Abstract

This research investigated the nutrient composition and predicted metabolizable energy of hemp inflorescence meal. The study explored the effect of hemp inflorescence meal as feedstuff in the feed on the productive performance and cannabinoid levels in eggs. The 108 Lohmann Brown laying hens aged 84 weeks hens were divided into two groups: a control group and a group receiving a feed contained 10% hemp inflorescence meal and cannabinoid content in eggs. The results showed that hemp inflorescence meal was nutritionally complete, containing 25% protein and providing 2,1975.75 kcal/kg of metabolizable energy. No significant differences in egg production, feed intake, feed conversion rate, egg mass, and average egg weight between the two groups. However, the hemp inflorescence meal-supplemented group exhibited significantly better eggshell height, Haugh units, and the ratio of egg yolk to egg white ($p < 0.05$). Importantly, no residual cannabinoids were detected in the eggs, indicating that hemp inflorescence meal could be safely used as a feed ingredient for egg-laying hens, ensuring safety for both animals and consumers.

Keywords: Cannabinoids, Feedstuff, Hemp, Hemp inflorescence meal, Laying-hen

บทนำ

ปัจจุบันอุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ในประเทศไทยเติบโตอย่างต่อเนื่อง กอปรกับสถานการณ์วัตถุดิบอาหารมีราคาสูงขึ้นมาก ส่งผลให้ผู้ผลิตปศุสัตว์พยายามหาวัตถุดิบทางเลือกและพัฒนาสูตรอาหารสัตว์ชนิดใหม่ เพื่อให้ได้อาหารสัตว์ที่เหมาะสมกับสัตว์ในแต่ละช่วงอายุ และช่วยให้ประสิทธิภาพการผลิตดีขึ้นในต้นทุนการผลิตที่เหมาะสมและได้รับผลตอบแทนที่คุ้มค่า

กัญชง (Hemp) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Cannabis sativa L.* subsp. *sativa* เป็นพืชในวงศ์ *Cannabaceae* ซึ่งเป็นวงศ์เดียวกับกัญชา (Marijuana) มีสารประกอบสำคัญหลัก คือ สารในกลุ่มแคนนาบินอยด์ (Cannabinoids) ได้แก่ Tetrahydrocannabinol (THC) และ Cannabidiol (CBD) โดยกัญชามีปริมาณสาร THC สูง (ประมาณ 1–10%) แต่กัญชงมีสาร THC ต่ำ (ไม่เกิน 1%) (Mechoulam et al., 2014) ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 424 (พ.ศ. 2564) เรื่อง กำหนดอาหารที่ห้ามผลิต นำเข้าหรือจำหน่าย ลงวันที่ 25 กุมภาพันธ์ 2564 ได้ยกเลิกกัญชา-กัญชง จากบัญชียาเสพติดให้โทษ สามารถมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ การศึกษาวิจัย ผลิตภัณฑ์สุขภาพ รวมทั้งให้ประชาชนสามารถใช้ส่วนต่าง ๆ ของกัญชา-กัญชง ไปประกอบอาหาร ทำยารักษาโรคได้ (กระทรวงสาธารณสุข, 2564) ภายใต้การควบคุมที่เคร่งครัดของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กัญชงถือเป็นพืชที่มีประโยชน์ทุกส่วนสามารถใช้ประโยชน์ได้ทั้งต้น ต้นทุนไม่สูง เหมาะกับการสร้างรายได้ให้ครัวเรือนหรือเป็นธุรกิจ ส่งผลให้กัญชงถูกนำมาปลูกมากขึ้น ช่อดอกกัญชงถูกนำมาสกัดสารประกอบหลักสำคัญไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ส่งผลให้มีกากช่อดอกแห้งเป็นวัสดุเหลือใช้และยังไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ อย่างไรก็ตาม กัญชงเป็นพืชที่มีคุณค่าทางโภชนะ มีโปรตีนสูง อุดมไปด้วยกรดไขมันจำเป็น เช่น ไลโนเลอิก และไลโนเลนิก (มนัสนันท์, 2020; Deferne and Pate, 1996; Gakhar et al., 2012; Mierlitã, 2019; Kasula et al., 2021) เป็นต้น ทำให้กากช่อดอก กัญชงมีความน่าสนใจแก่การนำมาเป็นวัตถุดิบทางเลือกเพื่อผลิตอาหารสัตว์

อุปกรณ์และวิธีการ

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนะและสาร Cannabinoids ของกากช่อดอกกัญชง

นำกากช่อดอกกัญชงแห้งมาปั่นละเอียด วิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนะด้วยวิธี Proximate analysis ได้แก่ ความชื้น (Moisture) โปรตีน (Crude protein) ไขมัน (Crude fat) เถ้า (ash) เยื่อใย (crude fiber) และคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ง่าย (Nitrogen free extract; NFE) ตามมาตรฐาน (AOAC, 2016) วิเคราะห์พลังงาน (Gross energy) ด้วยวิธีการ Bomb calorimeter วิเคราะห์แคลเซียมด้วยวิธี Inductively Coupled Plasma-Optical Emission Spectrometer (Poitevin et al., 2009) วิเคราะห์ฟอสฟอรัสด้วยวิธี Spectrophotometer วิเคราะห์สาร Cannabinoids ได้แก่ Cannabidiol (CBD) และ Tetrahydrocannabinol (THC) ที่ตกค้างในกากช่อดอกกัญชง โดยวิธีการ HPLC (Vaclavik et al., 2019)

สัตว์ทดลอง อาหาร และโรงเรือน

ทำการทดลองไก่ไข่สายพันธุ์ Lohmann Brown อายุ 84 สัปดาห์ ในโรงเรือนระบบปิดที่มีการควบคุมอุณหภูมิด้วยระบบระเหยไอน้ำ (Evaporative cooling system; EVAP) มีระบบให้น้ำแบบหัวหยด ไก่ได้รับน้ำและอาหารแบบ *ad libitum* ในรูปแบบผงที่มีองค์ประกอบทางโภชนะครบถ้วนตามความต้องการของไก่ไข่สายพันธุ์ Lohmann Brown-Classic (Lohmann, 2016; Table 1) ไก่แต่ละกลุ่มถูกให้อาหารทดลอง คือ กลุ่ม 1 อาหารควบคุมสูตรพื้นฐาน และกลุ่ม 2 อาหารสูตรพื้นฐานที่ใช้กากช่อดอกกัญชงเป็นวัตถุดิบ 10 เปอร์เซ็นต์ (Gakhar et al., 2012) นำค่าองค์ประกอบทางโภชนะ

ที่ได้จาก Proximate analysis มาใช้แทนค่าในสมการเพื่อทำนายค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (Metabolizable energy) โดยใช้สมการ ME = 1,133+0.65×GE-29.05×ash-23.17×ND, RMSE = 338, R^2 = 0.67 (RMSE; root mean square of error, DE; digestible energy, GE; gross energy, CP; crude protein, EE; ether extract, ADF; acid detergent fiber, NDF; neutral detergent fiber, ME; Metabolizable energy (Sung and Kim, 2021)

Table1 Formulation of diets containing hemp inflorescences meal compared with control diet

Feed ingredients	Control	Hemp inflorescences meal
Corn	58.21	55.10
Soybean 48%*	26.50	21.26
Hemp infloresces meal	0.00	10.00
Palm oil	2.58	2.59
Salt	0.50	0.50
Monocalciumphosohate 22%	1.30	1.38
Calcium carbonate	8.95	8.29
DL-Methionine	0.18	0.24
L-Lysine	0.00	0.09
L-Threonine	0.00	0.04
L-tryptophan	0.00	0.02
Premix, Layer	0.50	0.46
Corncob	0.80	0.00
CLCL 60%	0.03	0.03
Sodium bicarbonate	0.45	0.00

แผนการทดลอง การจัดเก็บข้อมูล และการวิเคราะห์ข้อมูล

การทดลองใช้ไก่ไข่สายพันธุ์ Lohmann Brown อายุ 84 สัปดาห์ จำนวน 108 ตัว แบ่งเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ซ้ำ ซ้ำละ 9 ตัว ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely randomized design; CRD) ไก่แต่ละกลุ่มได้รับอาหารสูตรพื้นฐาน (Basal diet) และอาหารสูตรพื้นฐานที่แทนกากช่อดอกกัญชง 10 เปอร์เซ็นต์ (Table 2) เป็นระยะเวลา 1 เดือน

บันทึกข้อมูลประสิทธิภาพการผลิตของทุกสัปดาห์ ได้แก่ น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (Body weight gain; BWG) น้ำหนักเฉลี่ยที่กินต่อตัวต่อวัน (Average daily feed ratio; FCR) ปริมาณอาหารที่กิน (Feed intake) ปริมาณอาหารที่กินเฉลี่ยต่อวัน ผลผลิตไข่ (Hen-day egg production) มวลไข่ (Egg mass) ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ (Feed efficiency) และน้ำหนักไข่เฉลี่ย (Egg weight) ทำการสุ่มไข่ไก่ทุกกลุ่ม กลุ่มละ 3 ฟอง ในทุกสัปดาห์ของการทดลอง เพื่อตรวจคุณภาพไข่ทั้งภายนอกและภายในฟองไข่ โดยวัดความกว้างของฟองไข่ ความสูงของฟองไข่ ความสูงไข่แดง ค่าฮอฟ์ยูนิต (haugh unit; HU) ค่าสีของไข่แดง โดยเครื่อง Egg multitester และวัดความแข็งของเปลือกไข่ ความหนาเปลือกไข่ สัดส่วนไข่แดง สัดส่วนไข่ขาว ความสูงไข่ขาว

Table 2 Nutrient composition of diets containing hemp inflorescences meal compared with the control diet

Nutrient Composition	Control	Hemp inflorescences meal
Gross energy (kcal/kg)	3,254.8	3,283.9
Poultry Metabolizable energy (kcal/kg)	2,750.48	2,750.34
Moisture	11.95	11.55
Protein	17.00	17.00
Fat	5.28	5.19
Fiber	5.30	5.40
Ash	13.28	12.84
Minerals (%)		
Calcium	3.73	3.73
Phosphorus	0.60	0.59
Available phosphorus	0.37	0.37
Chloride	0.35	0.34
Amino acids (%)		
Lysine	0.90	0.90
Methionine	0.46	0.50
Methionine and Cysteine	0.73	0.73
Tryptophan	0.20	0.20
Threonine	0.64	0.64

นำข้อมูลจากการคำนวณข้อมูลประสิทธิภาพการผลิต และการวิเคราะห์คุณภาพไข่มาเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มการทดลองโดยวิธี t-Test (Two-Sample Assuming Unequal Variances) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 วิเคราะห์สาร Cannabinoids ได้แก่ Cannabidiol (CBD) และ Tetrahydrocannabinol (THC) ที่ตกค้างในไก่ไข่ โดยวิธีการ HPLC (Vaclavik et al., 2019)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

คุณค่าทางโภชนะ การทำนายค่าพลังงานการใช้ประโยชน์ได้ (Metabolizable energy) และปริมาณสาร Cannabinoids ในกากช่อดอกกัญชง

จากการวิเคราะห์ส่วนประกอบของโภชนะในกากช่อดอกกัญชงด้วยวิธีการทางเคมี (Proximate analysis) โดยแบ่งวิเคราะห์ส่วนประกอบของอาหารออกเป็น 6 กลุ่ม ได้แก่ ความชื้น (Moisture) โปรตีน (Crude protein) ไขมัน (Crude fat หรือ Ether extract) เถ้า (Ash) เยื่อใย (Crude fiber) และคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ง่าย หรือไนโตรเจนฟรีเอกซ์แทรค (nitrogen free extract; NFE) พบว่า กากช่อดอกกัญชงมีพลังงาน (Gross energy; GE) สูงถึง 3,464 kcal/kg มีเยื่อใย 11.8 เปอร์เซ็นต์ และมีโปรตีนสูงถึง 25 เปอร์เซ็นต์ (Table 3) ซึ่งมีปริมาณโปรตีนที่ใกล้เคียงกับถั่วพุ่ม (Vigna

unguiculata) โดยถั่วฟุ่มมีปริมาณโปรตีนอยู่ที่ 25.08–28.95% (OKE et al., 1995) และใกล้เคียงกับถั่วแห้ง (Dry bean) 21–25% (Kotue et al., 2018)

Table 3 Chemical composition of hemp inflorescences meal

Composition (%)	Hemp Inflorescences Meal
Moisture	6.6
Crude fat	2.2
Ash	19.4
Crude fiber	11.8
Protein	25.0
Neutral detergent fiber (NDF)	26.9
Acid detergent fiber (ADF)	25.3
Nitrogen free extract (NFE)	34.8
Gross energy (kcal/kg)	3,464
Metabolizable energy (kcal/kg)	2,197
Calcium	2.58
Phosphorus	0.07
Cannabinoids	
Total Cannabidiol (Total CBD) mg/g	6.27
Total Tetrahydrocannabinol (Total THC) mg/g	Not Detected

ผลการทำนายค่าพลังงานใช้ประโยชน์ได้ (metabolizable energy) จากสมการ โดยแทนค่าองค์ประกอบทางเคมีของกากช่อดอกกัญชง พบว่ามี มีค่าอยู่ที่ 2,197 kcal/kg การวิเคราะห์ปริมาณสารแคนนาบินอยด์ที่หลงเหลืออยู่ในกากช่อดอกกัญชงภายหลังจากการสกัดสารดังกล่าวไปใช้ประโยชน์ทางการแพทย์แล้ว พบว่ามีสาร Cannabidiol (Total CBD) ซึ่งได้แก่ สาร Cannabidiol (CBD) และ Cannabidolic Acid (CBDA) หลงเหลืออยู่ 6.27 mg/g และไม่พบสาร Tetrahydrocannabidinol (Total THC) ซึ่งได้แก่ สาร Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Δ9-THC), Delta-8-tetrahydrocannabinol (Δ8-THC) และ Tetrahydrocannabinolic Acid (THCA) เหลือตกค้างอยู่เลย

ผลการวิเคราะห์กรดอะมิโนจากกากช่อดอกกัญชงพบว่ามีปริมาณของ Aspartic acid ปริมาณสูงสุดที่ 3.05 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับความสำคัญของ Aspartic acid ต่อการพัฒนาเมแทบอลิซึมและการทำงานของสมอง โดยมีบทบาทในการพัฒนาความผิดปกติทางจิตเวชและระบบประสาท (Holeček, 2023) นอกจากนี้มีปริมาณของ Leucine 1.07, Lysine 0.81, Methionine 0.20 และ Tryptophan 0.15 เปอร์เซ็นต์ ซึ่ง Kasula et al. (2021) รายงานกรดอะมิโนในกากเมล็ดกัญชงมีปริมาณของ Leucine 1.93, Lysine 1.13, Methionine 0.51 และ Tryptophan 0.27 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้มีปริมาณของ Aspartic acid 1.37 เปอร์เซ็นต์

ประสิทธิภาพการผลิต คุณภาพไข่ และการตกค้างของสารแคนนาบินอยด์ในไก่ไข่

ผลการเสริมกากช่อดอกกัญชงในอาหารไก่ไข่ต่อประสิทธิภาพการผลิต พบว่า ผลผลิตไข่ ปริมาณอาหารที่กินได้ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ มวลไข่ และน้ำหนักไข่เฉลี่ยต่อฟองของทั้งสองกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน สอดคล้องกับรายงานของ Gakhar et al. (2012) ซึ่งรายงานว่า การเสริมเมล็ดกัญชงในอาหารไม่ส่งผลต่อปริมาณอาหารที่กินได้ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ ผลผลิตไข่ มวลไข่ และการเสริมน้ำมันเมล็ดกัญชงในอาหารยังไม่ส่งผลต่อน้ำหนักไข่อีกด้วย นอกจากนี้ Neijat et al. (2014) ยังรายงานว่า ปริมาณอาหารที่กินได้ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไข่ มวลไข่ รวมถึงน้ำหนักไข่มีผลไม่แตกต่างกันเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมแม้มีการเสริมเมล็ดกัญชงสูงถึง 30 เปอร์เซ็นต์ และเสริมน้ำมันเมล็ดกัญชง 9 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของดัชนีประสิทธิภาพตามอายุที่เพิ่มขึ้นของแม่ไก่ และส่วนหนึ่งเนื่องมาจากปริมาณไขมันในอาหารที่สูง (Grobas et al., 2001) ผลการเสริมกากช่อดอกกัญชงในอาหารไก่ไข่ต่อคุณภาพไข่ (Table 4) พบว่าน้ำหนักไข่ ความแข็งของเปลือกไข่ สีไข่แดง เปอร์เซ็นต์ไข่แดง เปอร์เซ็นต์ไข่ขาว เปอร์เซ็นต์ของเปลือกไข่ และความหนาของเปลือกไข่ของทั้งสองกลุ่มการทดลองไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) สอดคล้องกับรายงานของ Silversides and Lefrancois (2005) ที่รายงานว่า การเสริมกากเมล็ดกัญชงในอาหารไม่ส่งผลต่อน้ำหนักขององค์ประกอบทั้ง 3 อย่างในไข่ ได้แก่ ไข่แดง ไข่ขาว และเปลือกไข่ รวมถึงความหนาของเปลือกไข่ และความถ่วงจำเพาะ แม้มีการให้อาหารที่เสริมกากเมล็ดกัญชงที่ 20 เปอร์เซ็นต์ และเสริมน้ำมันเมล็ดกัญชงที่ 12 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามพบว่าความสูงไข่ขาว ค่าฮอฟยูนิตและอัตราส่วน ไข่แดงต่อไข่ขาวมีความแตกต่างกัน ($p < 0.05$) ซึ่งในกลุ่มที่เสริมกากช่อดอกกัญชงมีคุณภาพที่ดีกว่ากลุ่มควบคุม เนื่องจากในกากช่อดอกกัญชงมีปริมาณของโปรตีนที่สูง ซึ่งส่งผลต่อการสังเคราะห์โปรตีนที่ท่อนำไข่สูงขึ้น ซึ่งโปรตีนไข่ขาวที่สำคัญ (Ovalbumin, ovotransferrin, ovomucoid และ lysozyme) ถูกสังเคราะห์ขึ้นในต่อมท่อและมีส่วนทำให้เกิดโปรตีนไข่ขาว (Nys and Guyot, 2011) ซึ่งค่าฮอฟยูนิตเป็นมาตรฐานทางการค้าและการวิจัยที่ได้รับการยอมรับสำหรับการตรวจวัดคุณภาพไข่ขาวของไข่ไก่ มีความสัมพันธ์คงที่ระหว่างน้ำหนักไข่และความสูงของไข่ขาว (Silversides, 1994)

Table 4 Egg quality consuming diets containing hemp inflorescences meal compared with the control diet

Parameters	Treatments		*p*-value
	Control	Treatment	
Egg weight	61.63±3.30	61.71±2.24	0.48
Shell breaking strength (N)	37.46±2.79	38.16±3.26	0.35
Yolk color	6.82±0.37	7.02±0.14	0.13
Albumen height (mm)	6.76±1.04	7.82±0.29*	0.02
Albumen height (Haugh units)	80.30±6.93	86.73±3.04*	0.03
Yolk weight ratio (%)	28.87±0.43	28.29±0.83	0.08
Albumen weight ratio (%)	71.13±0.43	72.56±2.05	0.06
Shell weight ratio (%)	11.42±0.37	11.48±0.72	0.43
Yolk: Albumen ratio	40.59±0.87	39.02±1.72*	0.04
Shell thickness (mm)	0.90±0.04	0.94±0.03	0.09

Asterisks mark significant differences with $p < 0.05$ (*).

การวิเคราะห์สารแคนนาบินอยด์ในไก่ไข่พบว่าไม่มีการตกค้างของสาร Cannabidiol (Total CBD) ซึ่งได้แก่ Cannabidiol (CBD) และ Cannabidolic Acid (CBDA) และสาร Tetrahydrocannabidinol (Total THC) ซึ่งได้แก่ Delta-9-Tetrahydrocannabinol (Δ^9-THC), Delta-8-tetrahydrocannabinol (Δ^8-THC) และ Tetrahydrocannabinolic Acid (THCA) ในไก่ไข่

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนะของกากช่อดอกกัญชงสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบทางเลือกในการผลิตอาหารสัตว์ได้ เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนะครบถ้วน มีโปรตีนสูง โดยเมื่อนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารไก่ไข่ไม่ส่งผลเสียต่อประสิทธิภาพการผลิต ทั้งยังทำให้ค่าความสูงไข่ขาว ค่าฮอฟยูนิตและอัตราส่วนไข่แดงต่อไข่ขาวดีขึ้นอีกด้วย นอกจากนี้ไม่พบการตกค้างของสารแคนนาบินอยด์ตกค้างในไข่ไก่ ทำให้ปลอดภัยต่อสัตว์และผู้บริโภค

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ผู้ให้การสนับสนุนทุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา เพื่อการตีพิมพ์ผลงานวิทยานิพนธ์ในวารสารวิชาการระดับนานาชาติ ประจำปี พ.ศ.2565 ขอขอบคุณโครงการพัฒนาต้นแบบวิธีการปลูกและการสกัดสารสำคัญจากกัญชาและกัญชงเพื่อใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในการสนับสนุนกากช่อดอกกัญชงในสำหรับการวิจัย และขอขอบคุณฟาร์มไก่ สุวรรณวาจกกสิกิจ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ทำงานวิจัย รวมทั้งคณาจารย์ เจ้าหน้าที่ทุกท่านของภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้คำแนะนำและอำนวยความสะดวกในการปฏิบัติงานจนทำให้การทดลองสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงสาธารณสุข. 2564. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 424 (พ.ศ. 2564) เรื่อง กำหนดอาหารที่ห้ามผลิต นำเข้า หรือจำหน่าย. ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 138 ตอนพิเศษ 45 ง (วันที่ 25 กุมภาพันธ์ 2564).

มนัสนันท์ นพรัตน์ ไมตรี, พิชญา ฉ่ำชื่น. 2020. กัญชง: วัตถุดิบอาหารแห่งอนาคตสำหรับการเลี้ยงไก่ไข่สู่การผลิตไข่ไก่เพื่อสุขภาพ. J. Food Sci. Technol. MSU. 39(5): 481–495.

AOAC. 2016. Official methods of analysis of AOAC International The 20th ed. AOAC International Rockville, Maryland, MD, USA.

Deferne, J.L., Pate, D.W. 1996. Hemp seed oil: A source of valuable essential fatty acids. Journal of the International Hemp Association 3(1): 1–48.

Gakhar, N., Goldberg, E., Jing, M., Gibson, R., House, J.D. 2012. Effect of feeding hemp seed and hemp seed oil on laying hen performance and egg yolk fatty acid content: Evidence of their safety and efficacy for laying hen diets. Poult. Sci. 91(3): 701–711. doi: 10.3382/ps.2011–01825

Grobas, S., Mendez, J., Lazaro, R.D., Blas, C., Mateo, G.G. 2001. Influence of sourcr and percentage of fat added to diet on performance and fatty acid composition of egg yolks of two strains of laying hens. Poult. Sci. Inc. 80: 1171–1179.

Holeček, M. 2023. Aspartic acid in health and disease. Nutrients 15(18): 4023.

Kasula, R., Solis, F., Shaffer, B., Connett, F., Barrett, C., Cocker, R., Willinghan, E. 2021. Hemp seed cake increases fatty acids but does not transfer cannabinoids in eggs and tissues of laying hens. Int. J. Livest. Prod. 12(2): 98–111. doi: 10.5897/ijlp2020.0753

Kotue, T.C., Marlyne, J.M., Wirba, L.Y., Amalene, S., Nkenmeni, D., Kwuimgoin, D.W., Kansci, G., Fokou, E., Fokam, D.P. 2018. Nutritional properties and nutrients chemical analysis of common beans seed. MOJ Biol. Med. 3(3): 41–47.

Mechoulam, R., Hanuš, L.O., Pertwee, R., Howlett, A.C. 2014. Early phytocannabinoid chemistry to endocannabinoids and beyond. Nat. Rev. Neurosci. 15(11): 757–764.

Mierlită, D., 2019. Fatty acids profile and oxidative stability of eggs from laying hens fed diets contaning hemp seed or hempseed cake. S. Afr. J. Anim. Sci. 49: 311–321. doi: 10.4314/sajas.v49i2.11

Neijat, M., Gakhar, N., Neufeld, J., House, J.D. 2014. Performance, egg quality, and blood plasma chemistry of laying hens fed hempseed and hempseed oil. Poult. Sci. 93(11): 2827–2840. doi: 10.3382/ps.2014–03936

Nys, Y., Guyot, N. 2011. Egg formation and chemistry. In Improving the safety and quality of eggs and egg products Woodhead Publ. pp. 83–132.

Oke, D.B., Tewe, O.O., Fetuga, B.L. 1995. The nutrient composition of some cowpea varieties. Niger. J. Anim. Prod. 22(1): 32–36.

Poitevin, E., Nicolas, M., Graveleau, L., Richoz, J., Andrey, D., Monard, F. 2009. Improvement of AOAC official method 984.27 for the determination of nine nutritional elements in food products by inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy after microwave digestion: Single-laboratory validation and ring trial. J. AOAC Int. 92: 1484–1518.

Silversides, F.G. 1994. The haugh unit correction for egg weight is not adequate for comparing eggs from chickens of different lines and ages. J. Appl. Poult. Res. 3(2): 120–126.

Silversides, F.G., Lefrancois, M.R. 2005. The effect of feeding hemp seed meal to laying hens. Br. Poult. Sci. 46(2): 231–235.

Sung, J.Y., Kim, B.G. 2021. Prediction equations for digestible and metabolizable energy concentrations in feed ingredients and diets for pigs based on chemical composition. Anim. Biosci. 34(2): 306–311. doi: 10.5713/ajas.20.0293

Vaclavik, L., Benes, F., Fenclova, M., Hricko, J., Krmela, A., Svobodova, V., Hajslova, J., Mastovska, K. 2019. Quantitation of cannabinoids in cannabis dried plant materials, concentrates, and oils using liquid chromatography–diode array detection technique with optional mass spectrometric detection: Single-laboratory validation study, first action 2018.11. J. AOAC Int. 102(6): 1822–1833.

ผลของการเสริมเบต้ากลูแคนและแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์จากผนังเซลล์ยีสต์ต่อปริมาณการกินได้ น้ำหนักตัวและค่าเมแทบอไลต์ของเลือดในสุนัข

Effects of Beta-glucans and Mannan-oligosaccharides (MOS) from yeast cell wall on daily food intake, body weight, and plasma metabolites in dogs

ศกุนตลา จันทร์แสนตอ[a,*], **พงศ์ธร คงมั่น**[a], **อรรถวิทย์ โกวิทวที**[b]

Sakuntala Chansantor[a,*], Phongthorn Kongmun[a], Attawit Kovitvadhi[b]

[a]ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[b]ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[a]Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

[b]Department of Physiology, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: sakuntala.ch@ku.th

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อเปรียบเทียบสารเสริมเชิงพาณิชย์จากผนังเซลล์ยีสต์ 2 ผลิตภัณฑ์ ที่มีสัดส่วนเบต้ากลูแคนและ MOS ต่างกัน สุนัขบีเกิล 15 ตัว อายุเฉลี่ย 1.44±0.44 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 11.71±1.89 กิโลกรัม ถูกสุ่มเข้าแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ โดยแบ่งสุนัขเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว ดังนี้ T1 สุนัขได้รับอาหารพื้นฐานโดยไม่มีการเสริมเบต้ากลูแคนและ MOS, T2 สุนัขได้รับอาหารพื้นฐานและสารเสริมชนิดที่ 1 (มีเบต้ากลูแคนร้อยละ 23.73 และ MOS 17.20) และ T3 สุนัขได้รับอาหารพื้นฐานและและสารเสริมชนิดที่ 2 (มีเบต้ากลูแคนร้อยละ 25.00 และ MOS 24.00) ทดลอง 42 วัน ผลการทดลองพบว่าสารเสริมทั้ง 2 ชนิดไม่ส่งผลต่อปริมาณการกินอาหาร น้ำหนักตัวและโลหิตวิทยา แต่ส่งผลให้ค่าเคมีโลหิต (BUN, Creatinine และ Total protein) สูงกว่ากลุ่มควบคุม ($p < 0.05$) โดยอยู่ในช่วงอ้างอิงตลอดการทดสอบ จึงสรุปได้ว่าสารเสริมทั้ง 2 ชนิด มีความปลอดภัยจากการที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณการกินอาหาร น้ำหนักตัวและโลหิตวิทยา โดยยังไม่พบประสิทธิภาพส่งเสริมที่สังเกตได้จากผลการทดลองนี้

คำสำคัญ: เบต้ากลูแคน, ผนังเซลล์ยีสต์, แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์, สุนัข

Abstract

This study aimed to compare commercial products containing different proportions of beta-glucan and MOS from yeast cell wall in 15 Beagle dogs (average age: 1.44±0.44 years; average weight: 11.71±1.89 kg). Dogs were randomly assigned to three groups: T1 received basal diet without supplementation, T2 received basal diet and supplemented product A (23.73% beta-glucan and 17.20% MOS), and T3 received basal diet and supplemented product B (25.00% beta-glucan and 24.00% MOS) for 42 days. Results showed that both supplements did not affect food intake, body weight, hematological parameters, but led to higher blood chemistry levels (BUN, Creatinine, and Total protein) compared to the control group ($p < 0.05$). In conclusion, both supplements were deemed safe, as they did not alter food intake, body weight, hematological parameters, and no observed enhancing efficacy from this experiment.

Keywords: Beta-glucans, Dogs, Mannan-oligosaccharides, Yeast cell wall

คำนำ

จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร (Gut Microbiota) ประกอบด้วยแบคทีเรีย อาร์เคียและไวรัส (Tizard and Jones, 2018) ซึ่งสามารถใช้ประโยชน์จากอาหารที่สัตว์ได้รับในการสร้างสารประกอบที่มีประโยชน์ ป้องกันการก่อโรคของเชื้อก่อโรคและเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายสัตว์ การเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารในด้านจำนวนและชนิด ส่งผลให้ร่างกายทำงานผิดปกติ (Gut dysbiosis) โดยการเปลี่ยนแปลงนี้ได้รับอิทธิพลหลักมาจากสารอาหารที่สัตว์ได้รับในช่วงเวลานั้น ๆ โดยเฉพาะสารอาหารกลุ่มเยื่อใย (Dietary fiber) (Pilla and Suchodolski, 2021)

พรีไบโอติกส์ (Prebiotics) เป็นวัตถุดิบฟังก์ชัน (Functional ingredient) ที่ถูกใช้ในอาหารสัตว์เลี้ยงอย่างแพร่หลาย (Rentas et al., 2020) พรีไบโอติกส์ คือ สารอาหารกลุ่มเยื่อใยที่ร่างกายสัตว์ไม่สามารถย่อยได้ แต่ถูกเลือกใช้โดยจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารด้วยกระบวนการหมักและสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตหรือการทำงานที่จำเพาะเจาะจงกับแบคทีเรียในทางเดินอาหาร ส่งผลให้สัตว์มีสุขภาพที่ดีขึ้น (Gibson et al., 2010) จุลินทรีย์เหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นให้เกิดการสร้างสารประกอบต่าง ๆ ในระบบภูมิคุ้มกัน เช่น ไซโตไคน์ (Cytokines) และอิมมูโนโกลบูลิน ส่งผลให้ระบบภูมิคุ้มกันมีการเตรียมพร้อมและตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกายได้ดีขึ้น (Gibson et al., 2017) พรีไบโอติกส์ที่นิยมในใช้ในอาหารสัตว์เลี้ยง ได้แก่ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) แมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ (MOS) เบต้ากลูแคน (Beta-glucans) อินูลิน (Inulin) และผนังเซลล์ยีสต์ (Yeast cell wall) (Rentas et al., 2020)

Saccharomyces cerevisiae คือยีสต์สายพันธุ์หนึ่งที่ถูกนำมาใช้ในการผลิตพรีไบโอติกส์มากที่สุด เนื่องจากผนังเซลล์ของยีสต์ (Yeast cell wall) ประกอบด้วยเบต้ากลูแคนและแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์เป็นหลัก (Ahiwe et al., 2021) เบต้ากลูแคนมีโครงสร้างเหมือนผนังเซลล์ของเชื้อก่อโรค (Pathogen-associated molecule patterns; PAMPs) ทำให้เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด (Innate immune) สามารถรับรู้ถึงการมีอยู่ของเชื้อก่อโรคผ่านตัวรับ (Pathogen recognition receptors; PRRs) และกระตุ้นการทำงานของเม็ดเลือดขาวให้สูงขึ้นได้ (de Oliveira et al., 2019) โครงสร้างโมเลกุลของ MOS มีตัวรับ (Receptor) ที่สามารถจับกับตำแหน่งจับ (Binding site) Type-1 fimbriae ของเชื้อก่อโรคโดยเฉพาะ *E. coli* ทำให้เชื้อก่อโรคไม่สามารถเพิ่มจำนวนในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ (Grieshop et al., 2004) งานวิจัยที่ศึกษาผลของการเสริมเบต้ากลูแคนและ MOS จากผนังเซลล์ยีสต์ในอาหารสุนัข พบว่า การเสริมสารทั้งสองทำให้ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายสัตว์ทำงานได้ดีขึ้น โดยกระตุ้นการทำงานของเม็ดเลือดขาวและสร้างอิมมูโนโกลบูลินเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังส่งผลให้จำนวนประชากรจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ เช่น *Bifidobacterium* และ *Lactobacillus* ในมูลเพิ่มขึ้น และทำให้จำนวนประชากรจุลินทรีย์ก่อโรคลดลง เช่น *E. coli* และ *C. perfringens* (Swanson et al., 2002a; Grieshop et al., 2004; Middelbos et al., 2007; de Oliveira et al., 2019)

งานวิจัยในครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมเบต้ากลูแคนและแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์จากผนังเซลล์ยีสต์ต่อปริมาณการกินอาหาร น้ำหนักตัวและค่าเมแทบอไลต์ของเลือดในสุนัข โดยเปรียบเทียบสินค้าเชิงพาณิชย์ 2 ผลิตภัณฑ์ที่มีสัดส่วนเบต้ากลูแคนและแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์แตกต่างกัน

อุปกรณ์และวิธีการ

สัตว์ทดลอง โรงเรือนและอาหาร

การทดลองนี้ดำเนินการภายใต้การดูแลของสัตว์แพทย์ประจำศูนย์โภชนาการอาหารสัตว์เลี้ยง บริษัท นูทริกซ์ จำกัด สุนัขสายพันธุ์บีเกิล จำนวน 15 ตัว (เพศผู้ 12 ตัวและเพศเมีย 3 ตัว) อายุเฉลี่ย 1.44±0.04 ปี น้ำหนักเฉลี่ย 11.71±1.89 กิโลกรัม มีคะแนนร่างกาย (Body condition scores) อยู่ในช่วง 2–4/9 สุนัขถูกเลี้ยงแยกรายตัวในกรงขนาดกว้าง 2.06 ยาว 4.12 และสูง 2.07 เมตร ภายในโรงเรือนระบบเปิดที่มีพัดลมระบายอากาศใต้หลังคาและให้แสงสว่างโดยใช้แสงธรรมชาติ เนื่องจากสุนัขมีความต้องการพลังงาน (MER) ในแต่ละวัน ไม่เท่ากัน จึงต้องคำนวณปริมาณอาหารในแต่ละวันตามน้ำหนักตัวสุนัข โดยใช้ Equation 1 และ Equation 2 ตามลำดับ แบ่งให้อาหารวันละ 2 ครั้ง เวลา 09.00 น. และ 15.00 น. โดยมีน้ำสะอาดให้สัตว์สามารถเข้าถึงได้ตลอดเวลา

$$\text{MER (Maintenance energy requirements)} = 130 \text{ kcal} \times (\text{Body weight})^{0.75} \quad (1)$$

$$\text{ปริมาณอาหารที่กินต่อวัน (กรัม)} = \text{MER} / \text{พลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ในอาหาร (ME; kcal/g)} \quad (2)$$

การทดลองแบ่งออกเป็น 2 ระยะ

ระยะปรับตัวก่อนเริ่มการทดลอง 14 วัน สุนัขทุกตัวได้รับอาหารพื้นฐาน (Basal diet) ที่มีคุณค่าทางโภชนาการเหมาะสมกับสุนัขโตเต็มวัย (Table 1) ตามมาตรฐานของ Association of American Feed Control Officials (AAFCO, 2023)

Table 1 Chemical composition and ingredients of the basal diet in dry matter unit

Chemical composition	Analyzed content
Metabolizable energy (kcal/kg)	3,923.50
Moisture (%)	5.24
Crude protein (%)	26.72
Crude fat (%)	20.06
Crude fiber (%)	1.55

Ingredient composition: Lamb meal, Rice, Corn gluten meal, Rice bran, Poultry fat, Palm oil, Sunflower oil, Tuna oil, Dicalcium phosphate, Salt, Lecithin, Choline chloride, Methionine, Enzyme, *Yucca schidigera* extract, Vitamin and minerals, Flavor, Vitamin E and C (Preservative), Glucosamine and Chondroitin

ระยะทดลอง 28 วัน เป็นช่วงที่มีการให้สารเสริม โดยสุนัขถูกสุ่มเข้าแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 5 ตัว ดังนี้

กลุ่มการทดลองที่ 1 (T1): สุนัขได้รับอาหารพื้นฐานตลอดการทดลองโดยไม่มีการเสริมเบต้ากลูแคนและแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดจากผนังเซลล์ยีสต์ (Control)

กลุ่มการทดลองที่ 2 (T2): สุนัขได้รับอาหารพื้นฐานโดยเสริมเบต้ากลูแคนและแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดจากผนังเซลล์ยีสต์ปริมาณ 1 กรัมต่อกิโลกรัมของอาหาร ซึ่งมีสัดส่วนของเบต้ากลูแคนร้อยละ 23.73 และ MOS ร้อยละ 17.20

กลุ่มการทดลองที่ 3 (T3): สุนัขได้รับอาหารพื้นฐานโดยเสริมเบต้ากลูแคนและแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ที่สกัดจากผนังเซลล์ยีสต์ปริมาณ 1 กรัมต่อกิโลกรัมของอาหาร ซึ่งมีสัดส่วนของเบต้ากลูแคนร้อยละ 25.00 และ MOS ร้อยละ 24.00

การทดลองในครั้งนี้เป็นการเปรียบเทียบสินค้าเชิงพาณิชย์ 2 ชนิด โดยปริมาณสารเสริมที่สุนัขแต่ละตัวได้รับคำนวณจากปริมาณการกินอาหารของสุนัขในแต่ละวัน ผสมสารเสริมกับมอลโตเดกซ์ทรินในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 โรยบนอาหารทุกวัน และสุนัขในกลุ่มควบคุมได้รับมอลโตเดกซ์ทรินเพียงอย่างเดียวตลอดการทดลอง (Placebo) ใช้ระยะเวลาทดลองทั้งสิ้น 42 วัน

งานทดลองในครั้งนี้ได้รับการพิจารณารับรองจริยธรรมจากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เอกสารรับรองจริยธรรมโครงการเลขที่ ACKU66-AGR-011

การบันทึกข้อมูลปริมาณการกินอาหารและน้ำหนักตัว

นำอาหารออกจากกรงสุนัขเมื่อเวลาผ่านไป 1 ชั่วโมงหลังจากให้อาหาร บันทึกปริมาณอาหารที่เหลือในแต่ละมื้อตลอดการทดลอง รวมถึงบันทึกน้ำหนักตัวและให้คะแนนร่างกายสุนัขทุก 14 วัน

การเก็บตัวอย่างเลือด

เก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำ (Cephalic vein) บริเวณขาหน้าของสุนัข ครั้งละ 2 มิลลิลิตร ในวันที่ 0, 14 และ 28 ของระยะทดลอง แบ่งเลือดออกเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกใส่ในหลอดเก็บตัวอย่างที่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด (EDTA) และเก็บรักษาตัวอย่างเลือดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา ได้แก่ ปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมด (Total white blood cell) นิวโทรฟิล (Neutrophil) ลิมโฟไซต์ (Lymphocyte) โมโนไซต์ (Monocyte) อีโอซิโนฟิล (Eosinophil) และเบโซฟิล (Basophil) แบ่งเลือดอีกส่วนใส่ในหลอดเก็บตัวอย่างที่ไม่มีสารป้องกันการแข็งตัวของเลือด หลังจากนั้นนำเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 13,000 rpm เป็นเวลา 5 นาที ส่งซีรั่มที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าเคมีโลหิต ได้แก่ ครีเอตินิน (CRE) ยูเรียในเลือด (BUN) และปริมาณโปรตีน (Total protein) ที่ห้องปฏิบัติการคณะเทคนิคการสัตวแพทย์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนร่วม (Analysis of covariance; ANCOVA)ของชุดข้อมูลปริมาณการกินอาหารและน้ำหนักตัว และวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ของชุดข้อมูลค่าความสมบูรณ์ของเลือดและค่าเคมีโลหิต จากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มด้วยวิธี Duncan และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มด้วยวิธี paired t-test เพื่อศึกษาผลที่เกิดขึ้นก่อนและหลังการเสริมเบต้ากลูแคนและแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ โดยใช้ SAS software (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) เมื่อ $p < 0.05$ ถือว่าค่าสังเกตนั้นมีความแตกต่างกันทางสถิติ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ปริมาณการกินอาหารต่อวันและน้ำหนักตัว

ปริมาณการกินอาหารต่อวันและน้ำหนักตัวสุดท้ายเมื่อจบการทดลองในสุนัขที่ได้รับการเสริมเบต้ากลูแคนและแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ทั้ง 2 กลุ่ม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (Table 2) โดยมีปริมาณการกินอาหารโดยเฉลี่ย 183.84, 193.13 และ 196.47 กรัมต่อวัน ตามลำดับ ($p > 0.05$) อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบผลที่เกิดขึ้นก่อนและหลังการเสริมเบต้ากลูแคนและแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยวิธี paired t-test พบว่า ปริมาณการกินอาหารต่อวันและน้ำหนักตัวสุดท้ายของสุนัขทุกกลุ่มไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีน้ำหนักตัวเฉลี่ย 11.40, 12.30 และ 11.64 กิโลกรัม ($p > 0,05$) ดังแสดงใน Table 3

Table 2 Effects of supplementation of beta-glucans and MOS on daily food intake and final body weight in dogs[1]

Parameters	Treatments[2]			Contrast	*p*-value
	T1	T2	T3	T1 vs T2, T3	
Daily food intake (g/d)	183.84±5.02	193.13±5.01	196.47±5.02	0.10	0.23
Final body weight (kg)	11.66±0.11	11.79±0.12	11.78±0.11	0.38	0.67

[1] Data are presented as LSmeans±SD

[2] T1=Control, T2= Product A (23.73% Beta-glucans and 17.20% MOS), T3= Product B (25.00% Beta-glucans and 24.00% MOS)

Table 3 Daily food intake and body weight of dogs before and after supplementation of beta-glucans and MOS[1]

Treatments[2]	*n*	D0	D28	*p*-value
Daily food intake (g/d)				
T1	5	193.34±15.41	184.04±13.58	0.13
T2	5	200.12±18.73	193.20±17.22	0.08
T3	5	197.57±14.39	196.20±10.65	0.74
Body weight (kg)				
T1	5	11.48±2.43	11.40±2.46	0.29
T2	4	12.25±2.26	12.30±2.34	0.70
T3	5	11.60±0.94	11.64±0.78	0.77

[1] Data are presented as means±SD

[2] T1=Control, T2= Product A (23.73% Beta-glucans and 17.20% MOS), T3= Product B (25.00% Beta-glucans and 24.00% MOS)

ค่าโลหิตวิทยาและค่าเคมีโลหิต

การเสริมเบต้ากลูแคนและแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์จากผนังเซลล์ยีสต์เป็นระยะเวลา 28 วัน พบว่า ไม่มีความแตกต่างของค่าโลหิตวิทยาและเคมีโลหิตในสุนัขกลุ่มที่ได้รับสารเสริมทั้ง 2 กลุ่ม เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม ($p > 0.05$) ดังแสดงใน Table 4 อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบก่อนและหลังการเสริมเบต้ากลูแคนและ MOS ในอาหารสุนัขเป็นระยะเวลา 28 วัน ด้วยวิธี paired t-test พบว่า ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าเคมีโลหิตและปริมาณเม็ดเลือดขาว ($p > 0.05$) ในสุนัขกลุ่มควบคุมในทางตรงกันข้าม สุนัขในกลุ่มที่ได้รับสารเสริมชนิดที่ 1 (T2) มีค่าครีเอตินิน ($p = 0.02$) และปริมาณโปรตีนในเลือด ($p = 0.05$) เพิ่มขึ้น แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงของระดับ BUN นอกจากนี้ ผลการทดลองพบว่าสุนัขในกลุ่มที่ได้รับสารเสริมชนิดที่ 2 (T3) มีค่าครีเอตินิน BUN และปริมาณโปรตีนในเลือดเพิ่มขึ้น ($p < 0.01$) ดังแสดงใน Table 5

Table 4 Effects of supplementation of beta-glucan and MOS on hematological and blood chemistry in dogs

Parameters	Normal range	Treatments			Contrast	*p*-value	SEM
		T1	T2	T3	T1 vs T2, T3		
Creatinine (mg/dl)	0.80–2.10	0.76±0.11	0.72±0.08	0.78±0.08	0.85	0.61	0.02
BUN (mg/dl)	9.00–26.00	19.25±2.87	18.80±1.48	20.60±1.52	0.71	0.36	0.53
Total Protein (g/dl)	5.50–7.20	5.82±0.47	5.72±0.37	6.04±0.19	0.77	0.39	0.09
Total WBC (10^3/uL)	6.00–17.00	10.22±0.66	11.03±0.32	10.53±0.56	0.12	0.19	0.17
Neutrophil (10^3/uL)	3.62–12.30	6.31±0.48	6.09±1.38	6.65±0.95	0.91	0.68	0.25
Lymphocyte (10^3/uL)	0.83–4.91	3.36±0.48	3.36±0.91	3.37±0.48	0.98	1.00	0.16
Monocyte (10^3/uL)	0.14–1.97	0.29±0.12	0.25±0.05	0.25±0.08	0.41	0.70	0.02
Eosinophil (10^3/uL)	0.04–1.62	0.27±0.25	0.25±0.25	0.25±0.18	0.92	0.99	0.05

[1] BUN = Blood urea nitrogen, WBC = White blood cell

[2] T1=Control, T2= Product A (23.73% Beta-glucans and 17.20% MOS), T3= Product B (25.00% Beta-glucans and 24.00% MOS)

ผลการทดลองพบว่า การเสริมเบต้ากลูแคนและ MOS ไม่ส่งผลถึงปริมาณการกินอาหารและน้ำหนักตัว เนื่องจากในการทดลองครั้งนี้มีการคำนวณปริมาณอาหารตามน้ำหนักตัวของสุนัข ดังนั้นสุนัขจึงได้รับอาหารในปริมาณที่เท่ากันทุกวันตลอดระยะเวลาการทดลอง สอดคล้องกับการทดลองของ Strickling et al. (2000) ที่เสริม MOS ปริมาณ 5 กรัมต่อกิโลกรัมของอาหาร รวมถึงการทดลองของ Bill et al. (2022) ซึ่งเสริมพรีไบโอติกส์ที่สกัดจากผนังเซลล์ยีสต์ 40 กรัมต่อกิโลกรัมของอาหารและการทดลองของ Pawar et al. (2017) ซึ่งทำการเสริม MOS 15 กรัมต่อกิโลกรัมในอาหารสุนัข แต่ในทางตรงกันข้าม Grieshop et al. (2004) ได้ทดลองเสริมพรีไบโอติกส์ในอาหารสุนัข พบว่าปริมาณการกินอาหารมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเสริม MOS ร้อยละ 1 ของอาหาร

เมื่อเปรียบเทียบก่อนและหลังการเสริมเบต้ากลูแคนและ MOS เป็นระยะเวลา 28 วัน ด้วยวิธี paired t-test พบว่าสุนัขกลุ่มที่ได้รับสารเสริมทั้ง 2 กลุ่ม (T2 และ T3) มีปริมาณโปรตีนในเลือดและค่าครีเอตินินเพิ่มสูงขึ้น แต่พบว่าค่า BUN เพิ่มสูงขึ้นในกลุ่มการทดลองที่ 3 เพียงกลุ่มเดียว โดยค่าที่เพิ่มขึ้นยังอยู่ในช่วงอ้างอิงตลอดการทดสอบและไม่ส่งผลให้เกิดปัญหาทางสุขภาพ เนื่องจากผลิตภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิด มีโปรตีนร้อยละ 20 ถึง 25 จึงอาจทำให้เกิดเมแทบอลิซึมของกรดอะมิโนเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะปฏิกิริยา Deamination และส่งผลให้ไตมีการทำงานมากขึ้นเพื่อขับไนโตรเจนออกจากร่างกาย

Table 5 Hematological and blood chemistry of dogs before and after supplementation of beta-glucans and MOS[1]

Parameters	Normal range	D0	D28	*p*-value
Creatinine (mg/dl)	0.80–2.10			
T1		0.68±0.08	0.76±0.11	0.10
T2		0.64±0.11	0.72±0.08	0.02
T3		0.64±0.09	0.78±0.08	<0.01
BUN (mg/dl)	9.00–26.00			
T1		17.00±3.16	19.25±2.87	0.37
T2		15.75±4.50	18.80±1.48	0.14
T3		16.40±2.51	20.60±1.52	<0.01
Total Protein (g/dl)	5.50–7.20			
T1		5.66±0.44	5.72±0.47	0.07
T2		5.36±0.36	5.72±0.37	0.05
T3		4.40±0.56	6.04±0.19	<0.01
Total WBC (10^3/uL)	6.00–17.00			
T1		11.15±0.84	10.22±0.66	0.08
T2		11.65±1.35	11.03±0.32	0.53
T3		10.77±1.05	10.53±0.56	0.64
Neutrophil (10^3/uL)	3.62–12.30			
T1		7.07±0.65	6.31±0.49	0.18
T2		6.61±1.82	6.09±1.38	0.49
T3		6.64±0.92	6.65±0.95	0.99
Lymphocyte (10^3/uL)	0.83–4.91			
T1		3.45±0.74	3.36±0.48	0.72
T2		3.44±0.56	3.36±0.91	0.68
T3		3.44±0.43	3.37±0.49	0.86
Monocyte (10^3/uL)	0.14–1.97			
T1		0.46±0.24	0.29±0.12	0.15
T2		0.33±0.17	0.25±0.05	0.46
T3		0.43±0.26	0.25±0.08	0.22
Eosinophil (10^3/uL)	0.04–1.62			
T1		0.18±0.19	0.27±0.25	0.50
T2		0.24±0.17	0.25±0.25	0.93
T3		0.22±0.22	0.25±0.18	0.82

[1] Data are presented as means±SD, [2] BUN = Blood urea nitrogen, WBC = White blood cell

นอกจากนี้ เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี paired t-test พบว่า ปริมาณเม็ดเลือดขาวในสุนัขกลุ่มควบคุมมีแนวโน้มลดลง ($p < 0.08$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับการเสริมเบต้ากลูแคนและ MOS ทั้ง 2 กลุ่ม (T2 และ T3) เม็ดเลือดขาวเป็นส่วนหนึ่งของระบบภูมิคุ้มกันโดยกำเนิด (Innate immunity) และระบบภูมิคุ้มกันแบบจำเพาะ (Adaptive immunity) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการป้องกันการติดเชื้อในร่างกาย โดยจะมีการเพิ่มจำนวนเพื่อตอบสนองต่อการติดเชื้อและกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่ร่างกาย เซลล์เม็ดเลือดขาวแต่ละชนิดมีหน้าที่ในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมที่แตกต่างกัน การมีปริมาณเม็ดเลือดขาวลดลงอาจทำให้ร่างกายมีความเสี่ยงในการติดเชื้อเพิ่มมากขึ้น (ธีรกุล, 2562)

ทั้งนี้ Grieshop et al. (2004) ได้ทดลองเสริม MOS ร้อยละ 1 ของอาหาร พบว่า ในสุนัขกลุ่มที่ได้รับการเสริมพรีไบโอติกส์มีปริมาณเม็ดเลือดขาวสูงกว่ากลุ่มควบคุมแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในครั้งนี้ ในทางตรงกันข้ามการศึกษาของ Middelbos et al. (2007) ที่เสริมสารสกัดจากผนังเซลล์ยีสต์ร้อยละ 0.25 ในอาหารสุนัข พบว่า สุนัขในกลุ่มที่ได้รับสารเสริมมีแนวโน้มทำให้ปริมาณเม็ดเลือดขาวทั้งหมดลดลง

การศึกษาครั้งนี้ทดลองในสัตว์ที่มีสภาวะร่างกายอยู่ในเกณฑ์ปกติและไม่มีการ challenge เชื้อเข้าไปในตัวสัตว์ จึงไม่สามารถทดสอบการเปลี่ยนแปลงของเม็ดเลือดขาวได้ชัดเจน รวมถึงการประเมินค่าเม็ดเลือดขาวเพียงอย่างเดียวไม่สามารถบ่งบอกได้ว่าการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันดีขึ้น ควรมีการศึกษาพารามิเตอร์อื่นควบคู่ด้วย

สรุป

การเสริมเบต้ากลูแคนและแมนแนนโอลิโกแซคคาไรด์ไม่ส่งผลต่อปริมาณการกินอาหาร น้ำหนักตัวและค่าโลหิตวิทยาแต่ส่งผลให้ค่าเคมีโลหิตเพิ่มขึ้น (ครีเอตินิน ยูเรียในเลือดและปริมาณโปรตีนในเลือด) เมื่อเปรียบเทียบด้วยวิธี paired t-test ซึ่งสามารถบ่งบอกถึงการมีสุขภาพที่ดีและแสดงให้เห็นว่าเบต้ากลูแคนและ MOS มีความปลอดภัยสำหรับใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์เลี้ยง อย่างไรก็ตาม ควรมีการศึกษาต่อไปเพื่อวัดผลว่าการเสริมเบต้ากลูแคนและ MOS มีผลทำให้การตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันเปลี่ยนแปลงหรือไม่ รวมถึงศึกษาในระยะเวลาที่นานขึ้นและเสริมในระดับที่สูงขึ้นด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณบริษัท ออพโกร จำกัดและบริษัท ดีเอสเอ็ม นิวทริชั่นแนล โปรดักส์ (ประเทศไทย) ผู้ให้การสนับสนุนงบประมาณงานวิจัยครั้งนี้ และขอขอบคุณศูนย์โภชนาการอาหารสัตว์เลี้ยง บริษัท นูทริกซ์ จำกัด (มหาชน) ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการทดลองตลอดจนการทดลองสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ธีรกุล อาภรณ์สุวรรณ. 2562. ความรู้พื้นฐานทางภูมิคุ้มกันวิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. กรุงเทพฯ.

Ahiwe, E.U., Dos Santos, T.T., Tedeschi, Graham, H., Iji, P.A. 2021. Can probiotic or prebiotic yeast (*Saccharomyces cerevisiae)* serve as alternatives to in-feed antibiotics for healthy or disease-challenged broiler chickens: a review. J. Appl. Poult. Res. 30(3). doi.org/10.1016/j.japr.2021.100164

Association of Official Analytical Chemists. 2000. Official Methods of Analysis, 17th ed. The Association of Official Analytical Chemists. Gaithersburg, Maryland, MD, USA.

Association of American Feed Control Officials (AAFCO). 2022. Official publication 2023, Washington, D.C., USA.

Bill Kaelle, G.C., Menezes Souza, C.M., Bastos, T.S., Vasconcellos, R.S., Oliveira, S.G.D., Félix, A.P. 2022. Diet digestibility and palatability and intestinal fermentative products in dogs fed yeast extract. Italian, J. Anim. Sci. 21(1): 802–810. doi.org/10.1080/1828051x.2022.2054733

de Oliveira, C.A.F., Vetvicka, V., Zanuzzo, F.S. 2019. beta-Glucan successfully stimulated the immune system in different jawed vertebrate species. Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis. 62: 1–6.

Gibson, G.R., Scott, K.P., Rastall, R.A., Tuohy, K.M., Hotchkiss, A., Dubert-Ferrandon, A., Gareau, M., Murphy, E.F., Saulnier, D., Loh, G. 2010. Dietary prebiotics: Current status and new definition. Food Sci. Technol. 7(1): 1–19.

Gibson, G.R., Hutkins, R., Sanders, M.E., Prescott, S.L., Reimer, R.A., Salminen, S.J., Scott, K., Stanton, C., Swanson, K.S., Cani, P.D. 2017. Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. Nat. Rev. Gastroenterol. Hepatol. 14(8): 491–502. doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75

Grieshop, C., Flickinger, E., Bruce, K., Patil, A.R., Czarnecki-Maulden, G.L., Fahey Jr, G.C. 2004. Gastrointestinal and immunological responses of senior dogs to chicory and mannan-oligosaccharides. Arch. Anim. Nutr. 58(6): 483–493.

Middelbos, I.S., Godoy, M.R., Fastinger, N.D., Fahey Jr, G.C. 2007. A dose-response evaluation of spray-dried yeast cell wall supplementation of diets fed to adult dogs: effects on nutrient digestibility, immune indices, and fecal microbial populations. J. Anim. Sci. 85(11): 3022–3032. doi.org/10.2527/jas.2007-0079

Pawar, M.M., Pattanaik, A.K., Sinha, D.K., Goswami, T.K., Sharma, K. 2017. Effect of dietary mannan-oligosaccharide supplementation on nutrient digestibility, hindgut fermentation, immune response and antioxidant indices in dogs. J. Anim. Sci. Technol. 59: 11. doi: 10.1186/s40781-017-0136-6

Pilla, R. and Suchodolski, J.S. 2021. The Gut Microbiome of Dogs and Cats, and the Influence of Diet. Vet. Clin. North Am. Small Anim. 51(3): 605–621. doi.org/10.1016/j.cvsm.2021.01.002

Rentas, M.F., Pedreira, R.S., Perini, M.P., Risolia, L.W., Zafalon, R.V.A., Alvarenga, I.C., Vendramini, T.H.A., Balieiro, J.C.C., Pontieri, C.F.F., Brunetto, M.A. 2020. Galactoligosaccharide and a prebiotic blend improve colonic health and immunity of adult dogs. PLoS One 15(8): e0238006. doi.org/10.1371/journal.pone.0238006

SAS Institute Inc. 2023. SAS User's Guide: Statistics, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.

Shamri, R., Xenakis, J.J. and Spencer, L.A. 2011. Eosinophils in innate immunity: An evolving story. Cell Tissue Res. 343(1): 57–83. doi.org/10.1007/s00441-010-1049-6

Stercova, E., Kumprechtova, D., Auclair, E., Novakova, J. 2016. Effects of live yeast dietary supplementation on nutrient digestibility and fecal microflora in beagle dogs. J. Anim. Sci. 94: 2909–2918.

Strickling, J.A. 2000. Evaluation of oligosaccharide addition to dog diets: Influences on nutrient digestion and microbial populations. Anim. Feed Sci. Technol. 86: 205–219

Swanson, K.S., Grieshop, C.M., Flickinger, E.A., Bauer, L.L., Healy, H.P., Dawson, K.A., Merchen, N.R., Fahey J., George, C. 2002. Supplemental fructooligosaccharides and mannan-oligosaccharides influence immune function, ileal and total tract nutrient digestibilities, microbial populations and concentrations of protein catabolites in the large bowel of dogs. J. Nutr. 132(5): 980–989. doi.org/10.1093/jn/132.5.980

Tizard, I.R., Jones, S.W. 2018. The microbiota regulates immunity and immunologic diseases in dogs and cats. Vet. Clin. North Am. Small Anim. 48(2): 307–322. doi.org/10.1016/j.cvsm.2017.10.008

ผลของอุณหภูมิต่อการฟักและการพัฒนาของไข่แมลงวันลาย

Effects of temperature on hatching and development of black soldier fly eggs

กัญญาณัฐ แขกระโทก[a,*], **อัญชนา ท่านเจริญ**[a], **ปาริฉัตร ลักษณะวิมล**[b], **ชามา อินซอน**[a]

Kanyanat Khaekratoke[a,*], Anchana Thancharoen[a], Parichart Laksanawimol[b], Chama Inson[a]

[a]ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[b]สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม กรุงเทพฯ 10900

[a]Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

[b]Faculty of Science, Chandrakasem Rajabhat University, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: kanyanat.khae@ku.th

บทคัดย่อ

แมลงวันลายเป็นแมลงมีประโยชน์ในแง่ของการกำจัดขยะอินทรีย์และเป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง แต่ระยะไข่มีระยะเวลาพัฒนาสั้น จึงเป็นข้อจำกัดในการทำฟาร์มแมลง การชะลอการฟักไข่จะช่วยลดอัตราการตายระหว่างการขนส่งและฟักเป็นตัวหนอนเมื่อมีอาหารไม่เพียงพอ อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญในการพัฒนาไข่และการเจริญเติบโตของตัวหนอน ดังนั้น การศึกษานี้จึงมุ่งหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บไข่ โดยทดลองที่อุณหภูมิแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 5, 10, 15 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (กลุ่มควบคุม) เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ทดลอง 20 ซ้ำ บันทึกอัตราการฟักไข่และการพัฒนาของเอมบริโอ ผลการทดลอง พบว่า เมื่อเก็บไข่ในอุณหภูมิต่ำเอมบริโอจะหยุดการพัฒนาและพัฒนาต่อเมื่อสัมผัสอุณหภูมิห้อง ไข่แมลงวันลายที่เก็บที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส มีอัตราการฟักไข่ร้อยละ 38 อัตราการฟักไข่เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 50 ที่ 10 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส มีอัตราการฟักสูงที่สุด ร้อยละ 96

คำสำคัญ: การเจริญพัฒนาของไข่, การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ, อัตราการฟัก, เอมบริโอ, *Hermetia illucens*

Abstract

The black soldier fly is beneficial for organic waste management and high-nutrient animal feed production. However, the short developmental period of its eggs poses challenges in insect farming and transportation. Prolonged hatching can reduce mortality during transportation and avoid larval hatching in cases of substrate shortage. Temperature is an important factor in egg development and larval growth. Therefore, the study aims to investigate the suitable temperature for preserving the eggs at different temperatures: 5, 10, 15°C, and room temperature (control group) for 24 hours. The experiment was conducted with 20 replicates, and the hatching rate and development of embryos were recorded. The results revealed that when the eggs were stored at cold temperatures, embryonic development paused, resuming normal development upon exposure to room temperature. Eggs stored at 5°C showed the lowest hatching rate, at 38% and increased to 50% at 10°C. The results showed the highest hatching rate at 15°C (96%).

Keywords: Cold preservation, Egg development, Embryo, Hatching rate, *Hermetia illucens*

คำนำ

แมลงวันลายหรือ black soldier fly (BSF) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Hermetia illucens* L. อันดับ Diptera วงศ์ Stratiomyidae มีถิ่นกำเนิดในทวีปอเมริกา แพร่กระจายตั้งแต่อาร์เจนตินาไปจนถึงสหรัฐอเมริกาตอนกลาง (Sheppard et al., 1994) ตัวหนอนแมลงวันลายสามารถทนต่อสภาพแวดล้อมได้หลากหลาย เช่น แสง อุณหภูมิ และความชื้น ปรับตัวได้ดี สามารถอาศัยได้ทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่น ไม่เป็นแมลงศัตรูพืช สามารถย่อยสลายอินทรียวัตถุได้หลากหลายชนิด เช่น ขยะจากครัวเรือน มูลไก่ มูลหมู มูลโค และสิ่งขับถ่ายจากมนุษย์ (Diener et al., 2011) โดยตัวหนอนแมลงวันลายสามารถเปลี่ยนอินทรียวัตถุเหล่านี้ให้เป็นสารอาหารที่มีคุณภาพสูง มีโปรตีนร้อยละ 42 ไขมันร้อยละ 35 และช่วยลดปริมาณอาหารลงร้อยละ 50 จากปริมาณอาหารเริ่มต้น (Sheppard et al., 1994) ตัวหนอนแมลงวันลายจึงนำมาใช้ประโยชน์เป็นแหล่งโปรตีนทางเลือกในอาหารสัตว์เพื่อทดแทนแหล่งโปรตีนจากปลาป่น และกากถั่วเหลือง (Makkar et al., 2014) ซึ่งเป็นโอกาสในการสร้างรายได้ให้กับเกษตรกรผู้เลี้ยงหนอนแมลงวันลาย (Chia et al., 2018) เพราะสามารถใช้หนอนแมลงวันลายเป็นอาหารสัตว์ได้หลายชนิด เช่น สุกร สัตว์ปีก และสัตว์น้ำ (Barragan-Fonseca et al., 2017)

วงจรชีวิตของแมลงวันลายแบ่งออกเป็น 4 ระยะ ได้แก่ ไข่ (egg) ตัวหนอน (larva) ดักแด้ (pupa) และตัวเต็มวัย (adult) (Li et al., 2011) ตัวเต็มวัยจะเริ่มผสมพันธุ์หลังจากฟักออกจากดักแด้เป็นระยะเวลา 2 วันและจะวางไข่จากหลังผสมพันธุ์แล้วเป็นเวลา 2 วัน (Hoc et al., 2019) ไข่ที่ปฏิสนธิแล้วจะฟักเป็นตัวหนอนหลังจากวางไข่เป็นเวลา 3–4 วัน (Zhang et al., 2010) ตัวหนอนจะกินอาหารเป็นเวลา 2–4 สัปดาห์ ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ เช่น สภาพแวดล้อม (อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์) ความพร้อมของอาหาร สารอาหารในอาหาร เป็นต้น จากนั้นพัฒนาเป็นระยะก่อนดักแด้ (prepupa) ซึ่งตัวหนอนแมลงวันลายจะหยุดกินอาหารและคลานออกจากอาหารเพื่อหาที่แห้งเพื่อเข้าดักแด้ (Diener et al., 2009) ระยะก่อนดักแด้มีอายุประมาณ 2–6 วัน ระยะดักแด้มีอายุประมาณ 14–20 วัน (Purkayastha and Sarkar, 2022)

อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ส่งผลกระทบต่อพฤติกรรม การแพร่กระจาย อัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดชีวิต การสืบพันธุ์ การพัฒนาของไข่ และการเติบโตในระยะตัวหนอน ซึ่งอาจส่งผลโดยตรงต่อแมลงทั้งด้านคุณภาพและปริมาณ รวมถึงแมลงวันลาย (Cortes Ortiz et al., 2016) การเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิสามารถส่งผลกระทบต่อการพัฒนาของไข่แมลงวัน *Phormia regina* (Meigen) (Diptera: Calliphoridae) ไข่สามารถฟักสำเร็จที่อุณหภูมิ 11.7 องศาเซลเซียส แต่กระบวนการพัฒนาของตัวหนอนจะหยุดลงที่อุณหภูมิต่ำกว่าหรือเท่ากับ 12 องศาเซลเซียส และจะสามารถพัฒนาต่อไปได้ที่อุณหภูมิ 14 องศาเซลเซียส ขึ้นไป (Nabity et al., 2006) อุณหภูมิของอากาศมีผลต่อระยะเวลาและอัตราการฟักไข่ของแมลงวันลายเช่นกัน ที่อุณหภูมิต่ำไข่จะใช้เวลาฟักนานกว่าที่อุณหภูมิสูง โดยไข่แมลงวันลายใช้เวลาในการฟักนานถึง 15 วัน ที่อุณหภูมิ 16 องศาเซลเซียส แต่จะใช้เวลาสั้นลงเหลือ 8 วัน ที่อุณหภูมิ 19 องศาเซลเซียส แต่ไข่ไม่สามารถฟักได้ที่อุณหภูมิ 12 องศาเซลเซียส โดยมีอัตราการฟักไข่เท่ากับ 0%, 13% และ 75% ที่อุณหภูมิ 12, 16 และ 19 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (Holmes et al., 2016) อุณหภูมิมีผลต่อการพัฒนาของระยะตัวหนอนแมลงวันลายเช่นกัน อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดสำหรับตัวหนอน คือ 27–30 องศาเซลเซียสและสำหรับตัวเต็มวัย คือ 27.5–37.5 องศาเซลเซียส (Spranghers et al., 2017) ที่อุณหภูมิ 36 องศาเซลเซียส การพัฒนาของตัวหนอนมีการรอดชีวิตไปจนถึงระยะก่อนดักแด้ 73% แต่มีดักแด้เพียง 0.1% เท่านั้นที่สามารถพัฒนาเป็นตัวเต็มวัยที่สมบูรณ์ได้ (Tomberlin et al., 2009)

ปัญหาที่มักพบในการทำฟาร์มแมลงวันลาย เช่น ความไม่สมดุลของปริมาณไข่ที่เก็บได้และอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงตัวหนอน เก็บไข่ได้ปริมาณมากแต่อาหารไม่เพียงพอต่อการเลี้ยงหนอนแมลงวันลาย ส่งผลให้เจริญเติบโตของหนอนแมลงวันลายไม่สมบูรณ์ และไข่ฟักระหว่างการขนส่ง ทำให้เกิดความชื้นและไข่มีอัตราการฟักน้อยลง ดังนั้น การชะลอการฟักไข่จะสามารถลดอัตราการตายของไข่ระหว่างการขนส่งและเป็นประโยชน์ในการจัดการฟาร์ม การศึกษาจึงนี้มี

วัตถุประสงค์เพื่อศึกษาระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการชะลอการฟักของไข่แมลงวันลาย โดยพิจารณาจากอัตราการฟักไข่เพื่อรองรับการใช้ประโยชน์ในการจัดการฟาร์มและประโยชน์ในเชิงพาณิชย์

อุปกรณ์และวิธีการ

วิธีการเตรียมไข่แมลงวันลายที่ใช้ในการทดลอง

ไข่แมลงวันลาย (Fig. 1A) ที่ใช้ทดลองได้มาจากการวางไข่ของแมลงวันลายที่เลี้ยงในโรงเพาะเลี้ยงของภาควิชากีฏวิทยา (KU BSF farm) มีชุดอุปกรณ์ล่อวางไข่ประกอบด้วย 1) อาหารหมักให้เกิดกลิ่นล่อให้แมลงวันลายวางไข่ประกอบด้วย ผักรวมปั่น รำข้าว และโครงไก่ดิบ และ 2) วัสดุวางไข่ ทำจากแผ่นไม้ขนาด 3.5×30 เซนติเมตร จำนวน 4–5 แผ่น วางซ้อนกันโดยมีช่องว่างระหว่างแผ่น 0.5–1 มิลลิเมตร เพื่อเป็นช่องสำหรับวางไข่ (Fig. 1B) โดยวางชุดอุปกรณ์ล่อวางไข่ให้แมลงวันลายวางไข่เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (9.00–11.00 น.) เพื่อให้ได้ไข่ที่มีอายุ 1 วัน ที่มีอายุใกล้เคียงกันและจะมีการเจริญพัฒนาพร้อมกัน เก็บไข่จากวัสดุวางไข่โดยใช้มีดคัตเตอร์ขูดไข่ออกอย่างเบามือ เขี่ยและนับไข่แมลงวันลาย จำนวน 30 ฟอง ต่อกล่อง ใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอ โดยใช้พู่กันเบอร์ 0 เรียงเป็นแถว แถวละ 10 ฟอง (Fig. 1C) ลงในถ้วยพลาสติกมีฝาปิด (Fig. 1D) การเรียงไข่เป็น 3 แถว เพื่อความสะดวกในการนับจำนวนและตรวจสอบอัตราการฟักไข่

การออกแบบการทดลอง

ทำการทดลองที่อุณหภูมิแตกต่างกัน 4 ระดับ คือ 5, 10, 15 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (26–37 องศาเซลเซียส) (กลุ่มควบคุม) เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ทำการทดลอง 20 ซ้ำ โดยช่วงอุณหภูมิ 5, 10, 15 องศาเซลเซียส ทดลองในตู้เย็นที่สามารถปรับอุณหภูมิได้ ยี่ห้อ ZAGIO โดยก่อนเริ่มทดลองปรับอุณหภูมิภายในตู้เย็นให้ได้อุณหภูมิที่ต้องการให้มีอุณหภูมิคงที่อย่างน้อย 1 ชั่วโมง โดยใส่เครื่อง Data Logger รุ่น Elitech RC–51 ในตู้เพื่อตรวจสอบอุณหภูมิภายในตู้เย็นให้คงที่ตลอดระยะเวลาที่ทำการทดลอง

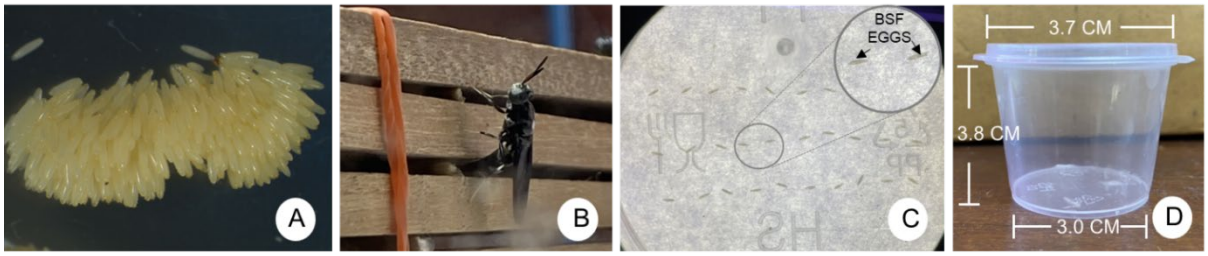


Fig. 1 Preparation of black soldier fly eggs: black soldier fly eggs removed from oviposition substrates (A); a female BSF laying eggs in the gap of the oviposition substrates (B); a three-row arrangement of BSF eggs in an experimental container (C); an experimental container (D)

การตรวจผลการฟักไข่

หลังจากแช่ไข่ในตู้เย็นเป็นเวลา 1 วัน (24 ชั่วโมง) นำถ้วยไข่ที่ทดลองออกมาตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (26–37 องศาเซลเซียส) ความชื้นสัมพัทธ์ (48–97%) เพื่อตรวจสอบการฟักของไข่แมลงวันลายภายใต้กล้องจุลทรรศน์แบบสเตอริโอนับและบันทึกจำนวนไข่ที่ฟักและบันทึกภาพการพัฒนาของไข่ใต้กล้องจุลทรรศน์ทุกวัน เป็นเวลา 4 วัน

เปรียบเทียบอัตราการฟักไข่แมลงวันลายโดยใช้ One-way ANOVA ($p < 0.05$) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มด้วยวิธี LSD โดยใช้โปรแกรม SPSS statistics 21

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

อุณหภูมิมีผลต่อระยะเวลาในการฟักไข่แมลงวันลาย (Chia et al., 2018) จากการทดลองแช่เย็นไข่แมลงวันลายอายุ 1 วัน เป็นเวลา 1 วัน ภายใต้อุณหภูมิที่แตกต่างกันมีรูปแบบการเจริญของเอมบริโอเหมือนกัน พบว่า เอมบริโอภายในไข่แมลงวันลายหยุดการพัฒนาและมีการพัฒนาต่อภายหลังจากนำไข่ออกจากตู้แช่เย็นมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง ไข่สามารถฟักเป็นตัวหนอนได้ภายใน 3 วัน มีอัตราการฟักที่แตกต่างกัน โดยมีขั้นตอนของการพัฒนาของเอมบริโอสอดคล้องกับการศึกษาการพัฒนาของเอมบริโอของแมลงวันหัวเขียว (*Calliphora vicina*) ของ Martín-Vega and Hall (2016) รายงานว่า วันที่ 2 ของการพัฒนาสามารถสังเกตเห็นช่องว่างบริเวณส่วนหัว (anterior) และส่วนท้าย (posterior) ของไข่ เรียกว่า clear gaps มีไข่แดง (yolk) ลดลง มองเห็นได้ชัดในบริเวณส่วนหัว และจะมีการพัฒนาตา (eyes) ปาก (mouthparts) และท่อลม (tracheal trunks) ให้เห็นได้ชัดเจนในวันที่ 3 (Fig. 2)

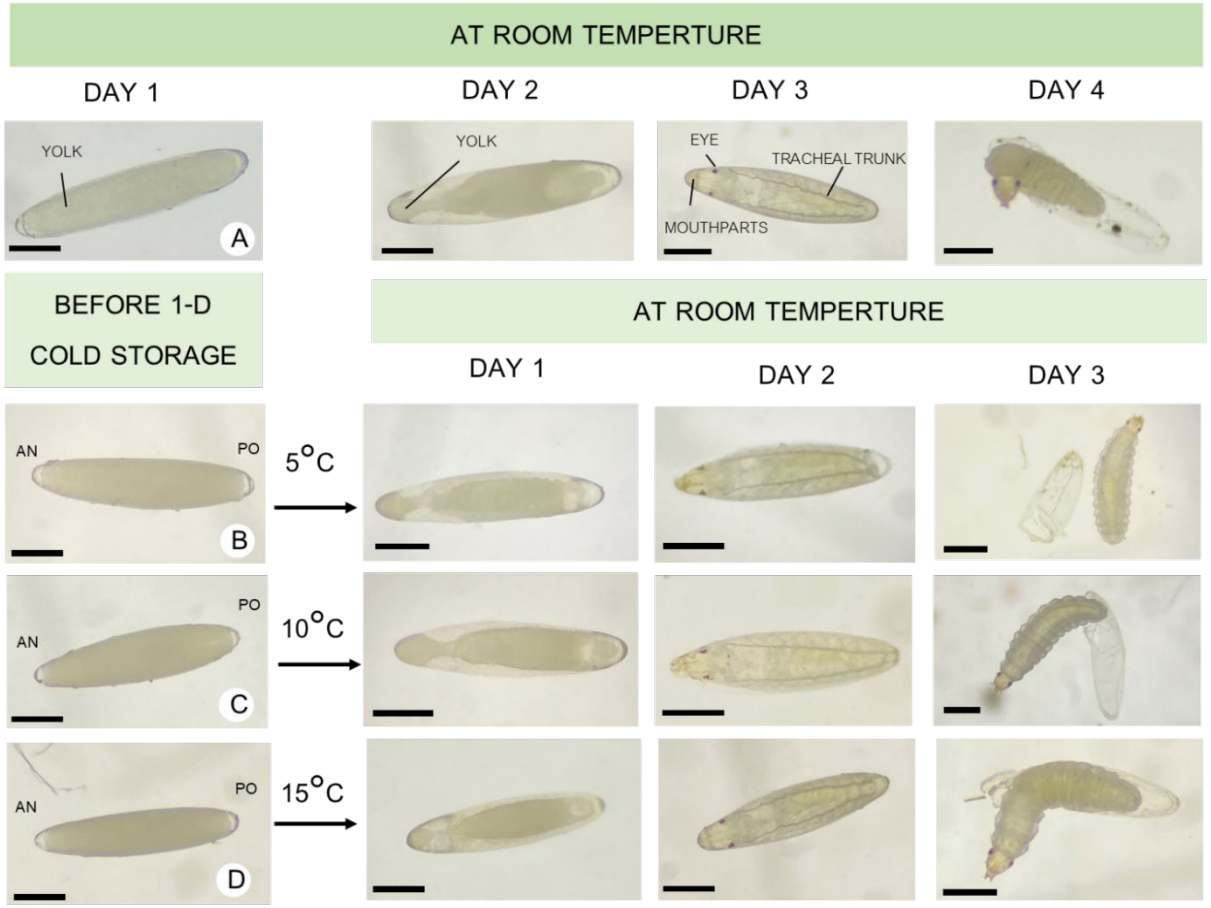


Fig. 2 Development of one-day-old black soldier fly eggs: room temperature (A); 5°C (B); 10°C (C); 15°C (D). Anterior (A) and Posterior (P). Scale bar, 0.25 mm

ไข่แมลงวันลายที่ฟักในสภาวะอุณหภูมิห้องมีอัตราการฟัก ร้อยละ 86 การเก็บรักษาไข่แมลงวันลายภายใต้อุณหภูมิที่แตกต่างกันส่งผลกระทบต่ออัตราการฟักไข่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($F = 66.204$, $df = 3$,

$p < 0.001$) โดยที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส อัตราการฟักไข่ลดลงเหลือ ร้อยละ 38 เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 10 องศาเซลเซียส อัตราการฟักเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 50 และไข่มีอัตราการฟักสูงสุดที่ 15 องศาเซลเซียส (ร้อยละ 96) ซึ่งมีอัตราการฟักไม่แตกต่างกันตามนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับไข่ที่ฟักที่อุณหภูมิห้อง ($p > 0.05$) (Fig. 3) ผลการทดลองสอดคล้องกับการศึกษาของ Villazana and Alyokhin (2019) พบว่า อุณหภูมิและระยะเวลาที่สัมผัสอุณหภูมิต่ำมีผลกระทบแปรผกผันกับอัตราการฟักไข่ โดยการแช่เย็นไข่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าอัตราการฟักไข่ลดลงประมาณ 76% และเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองนี้ทำทดลองที่อุณหภูมิสูงขึ้น 1 องศาเซลเซียส ไข่แมลงวันลายมีอัตราการฟักสูงขึ้น การใช้อุณหภูมิ 5, 10 และ 15 องศาเซลเซียส ในการเก็บรักษาไข่แมลงวันลาย ไข่ที่ฟักสามารถเจริญเติบโตไปเป็นตัวหนอนได้ ซึ่งแตกต่างจากการทดลองของ Chia et al. (2018) ได้ทำการทดลองที่อุณหภูมิ 15, 37 และ 40 องศาเซลเซียส อัตราการฟักไข่ต่ำกว่า 11% เมื่อเทียบกับอุณหภูมิอื่น ๆ ตรวจสอบทุก 6 ชั่วโมง จนกระทั่งไข่ฟัก อัตราการฟักไข่สูงสุดอยู่ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (เท่ากับ 80%) และ 35 องศาเซลเซียส (เท่ากับ 75%) ที่อุณหภูมิ 10 และ 42 องศาเซลเซียส อัตราการฟักไข่ เท่ากับ 0%

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิต่ำส่งผลกระทบต่อการเจริญพัฒนาของเอมบริโอภายในไข่ ส่งผลให้อัตราการตายเพิ่มขึ้น การใช้อุณหภูมิที่ต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียสเพื่อชะลอวงจรชีวิตหรือเพื่อปรับปรุงการขนส่งอาจมีประโยชน์สำหรับหนอนระยะก่อนดักแด้ แต่ไม่ใช่สำหรับระยะ ไข่ หนอนระยะแรก หรือดักแด้ (Villazana and Alyokhin, 2019) แต่อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองนี้ การแช่เย็นไข่แมลงวันลายที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 1 วัน ไข่สามารถฟักได้อย่างปกติ

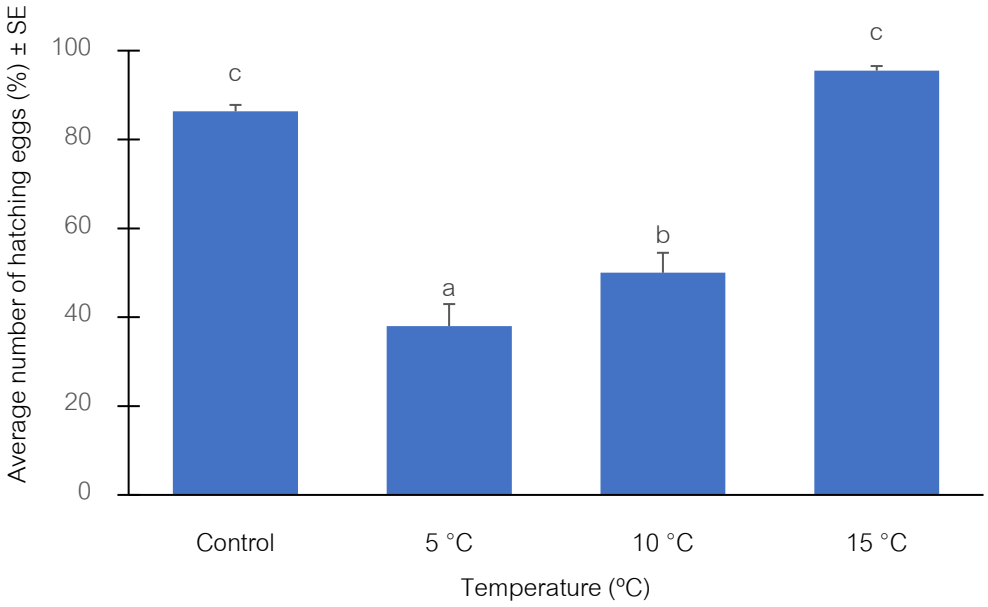


Fig. 3 Hatching rate of black soldier fly eggs under various temperature conditions (One-way ANOVA $F = 66.204$, $df = 3$, $p < 0.001$)

สรุป

อุณหภูมิต่ำส่งผลกระทบต่อการฟักและการเจริญเติบโตของแมลงวันลาย เมื่อเก็บรักษาไข่อายุ 1 วัน ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ไข่แมลงวันลายสามารถฟักได้ปกติ แสดงให้เห็นถึงความสามารถของไข่ที่

สามารถพัฒนาและฟักได้เมื่อเก็บรักษาภายใต้อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม เกษตรกรสามารถชะลอการฟักไข่แมลงวันลายได้ 1 วัน แต่หากต้องการเพิ่มระยะเวลาให้สามารถเก็บไข่ให้ยาวนานขึ้น ควรมีการศึกษาผลกระทบของระยะเวลาและอุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษาไข่ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ และทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนามหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (KURDI) (Grant No. FF(KU) 14.64)

เอกสารอ้างอิง

Alford, A., Boiteau, G. 1983. Synchronization of colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) emergence by temporary storage of eggs at low temperature. Can. Entomol. 115(9): 1233–1234. doi.org/10.4039/Ent1151233-9

Barragan-Fonseca, K.B., Dicke, M., van Loon, J.J. 2017. Nutritional value of the black soldier fly (*Hermetia illucens* L.) and its suitability as animal feed–a review. J. Insects. Food. Feed. 3(2): 105–120. doi.org/10.3920/JIFF2016.0055

Chia, S.Y., Tanga, C.M., Khamis, F.M., Mohamed, S.A., Salifu, D., Sevgan, S., Ekesi, S. 2018. Threshold temperatures and thermal requirements of black soldier fly *Hermetia illucens*: Implications for mass production. Plos One. 13(11). e0206097. doi.org/10.1371/journal.pone.0206097

Cortes Ortiz, J.A., Ruiz, A.T., Morales-Ramos, J.A., Thomas, M., Rojas, M.G., Tomberlin, J.K., Jullien, R.L. 2016. Chapter 6 - Insect mass production technologies. In: A.T. Dossey, J. A. Morales-Ramos, M.G. Rojas (Eds.). Insects as Sustainable Food Ingredients. Academic Press, pp. 153–201. doi.org/10.1016/B978-0-12-802856-8.00006-5

Diener, S., Studt Solano, N.M., Roa Gutiérrez, F., Zurbrügg, C., Tockner, K. 2011. Biological treatment of municipal organic waste using black soldier fly larvae. Waste Biomass Valori. 2(4): 357–363. doi.org/10.1007/s12649-011-9079-1

Diener, S., Zurbrügg, C., Tockner, K. 2009. Conversion of organic material by black soldier fly larvae: establishing optimal feeding rates. Waste Manag. Res. 27(6): 603–610. doi.org/10.1177/0734242x09103838

Hoc, B., Noël, G., Carpentier, J., Francis, F., Caparros Megido, R. 2019. Optimization of black soldier fly (*Hermetia illucens*) artificial reproduction. Plos One. 14(4): e0216160. doi.org/10.1371/journal.pone.0216160

Holmes, L., VanLaerhoven, S., Tomberlin, J. 2016. Lower temperature threshold of black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) development. J. Insects Food Feed. 2(4): 255–262. doi.org/10.3920/JIFF2016.0008

Kostal, V., Havelka, J. 2001. Low temperature storage of larvae and synchronization of adult emergence in the predatory midge *Aphidoletes aphidimyza*. J. Cryobiology 42(2): 112–120. doi.org/10.1006/cryo.2001.2311

Li, Q., Zheng, L., Qiu, N., Cai, H., Tomberlin, J.K., Yu, Z. 2011. Bioconversion of dairy manure by black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae) for biodiesel and sugar production. Waste Manage. 31(6): 1316–1320. doi.org/10.1016/j.wasman.2011.01.005

Makkar, H.P., Tran, G., Heuzé, V., Ankers, P. 2014. State-of-the-art on use of insects as animal feed. Anim. Feed. Sci. Technol. 197: 1–33. doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2014.07.008

Martín-Vega, D., Hall, M.J.R. 2016. Estimating the age of *Calliphora vicina* eggs (Diptera: Calliphoridae): determination of embryonic morphological landmarks and preservation of egg samples. Int. J. Legal. Med. 130(3): 845–854. doi.org/10.1007/s00414-015-1308-x

Nabity, P.D., Higley, L.G., Heng-moss, T.M. 2006. Effects of temperature on development of *Phormia regina* (diptera: calliphoridae) and use of developmental data in determining time intervals in forensic entomology. J. Med. Entomol. 43(6): 1276–1286. doi.org/10.1093/jmedent/43.6.1276

Purkayastha, D., Sarkar, S. 2022. Sustainable waste management using black soldier fly larva: a review. Int. J. Environ. Sci. Technol. 19(12): 12701–12726. doi.org/10.1007/s13762-021-03524-7

Sheppard, D.C., Newton, G.L., Thompson, S.A., Savage, S. 1994. A value added manure management system using the black soldier fly. Bioresour. Technol. 50(3): 275–279. doi.org/10.1016/0960-8524(94)90102-3

Spranghers, T., Noyez, A., Schildermans, K., De Clercq, P. 2017. Cold hardiness of the black soldier fly (Diptera: Stratiomyidae). J. Econ. Entomol. 110(4): 1501–1507. doi.org/10.1093/jee/tox142

Tomberlin, J.K., Adler, P.H., Myers, H.M. 2009. Development of the Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) in Relation to Temperature. Environ. Entomol. 38(3): 930–934. doi.org/10.1603/022.038.0347

Villazana, J., Alyokhin, A. 2019. Tolerance of immature black soldier flies (Diptera: Stratiomyidae) to cold temperatures above and below freezing point. J. Econ. Entomol. 112(6): 2632–2637. doi.org/10.1093/jee/toz186

Zhang, J., Huang, L., He, J., Tomberlin, J.K., Li, J., Lei, C., Yu, Z. 2010. An artificial light source influences mating and oviposition of black soldier flies, *Hermetia illucens*. J. Insect. Sci. 10(1): 202. doi.org/10.1673/031.010.20201

ค่าโภชนะและการย่อยได้ของโปรตีนในหลอดทดลองของหนอนแมลงวันลายสำหรับสุกร

Nutritional values and *in vitro* digestibility of protein in black soldier fly larvae for pigs

นวลจรี แจ้งคำ, นนทวุฒิ จันทรา, สุปรีย์ยา เทพรักษ์, หทัยภัทธ ทองถึง, ชัชชนม์ ชายเขียวบุญวงศ์, เชาวิทย์ ระฆังทอง, ชาญวิทย์ แก้วตาปี*

Nuanjaree Changkam, Nontawut Jantra, Supreeya Thepparak, Hathaipat Thongthung, Chatchon Chaykheawboonwong, Choawit Rakangthong, Chanwit Kaewtapee*

ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: agrcwk@ku.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางโภชนะและการย่อยได้โปรตีนในหลอดทดลองของหนอนแมลงวันลาย ถั่วเหลืองไขมันเต็มและกากถั่วเหลือง โดยนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีศึกษาค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองของโปรตีนโดยใช้เอนไซม์เพปซินเวลา 6 ชั่วโมง (pH 2.0, 40°C) หลังจากนั้นย่อยเอนไซม์แพนคริเอตินเวลา 18 ชั่วโมง (pH 6.8, 40°C) ผลการศึกษาพบว่าโปรตีนหนอนแมลงวันลาย ถั่วเหลืองไขมันเต็มและกากถั่วเหลือง เท่ากับ 47.67 38.18 และ 49.57 % ตามลำดับ นอกจากนี้หนอนแมลงวันลายมีไขมัน (25.12%) สูงกว่าถั่วเหลืองไขมันเต็ม (21.21%) และกากถั่วเหลือง (1.88%) สำหรับค่าการย่อยได้จริงของโปรตีนพบว่าหนอนแมลงวันลาย (83.60%) มีค่าต่ำกว่า ($p < 0.05$) ถั่วเหลืองไขมันเต็ม (88.93%) และกากถั่วเหลือง (86.44%) อย่างไรก็ตามปริมาณการย่อยได้มาตรฐานที่ลำไส้เล็กส่วนท้ายของโปรตีนในหนอนแมลงวันลาย (387.70 g/kg) แต่มีค่าสูงกว่า ($p < 0.05$) ถั่วเหลืองไขมันเต็ม (332.20 g/kg) มีค่าต่ำกว่า ($p < 0.05$) กากถั่วเหลือง (419.51 g/kg) ดังนั้นหนอนแมลงวันลายจึงสามารถใช้เป็นอีกแหล่งโปรตีนทางเลือกสำหรับใช้เป็นอาหารสุกรได้

คำสำคัญ: การย่อยได้ในหลอดทดลอง, ค่าโภชนะ, ถั่วเหลือง, สุกร, หนอนแมลงวันลาย

Abstract

The objective of this research is to study nutritional values and *in vitro* digestibility of crude protein (CP) in that black soldier fly larvae, full-fat soybean and soybean meal. By analyzing the chemical composition. *In vitro* digestibility of CP was used pepsin enzyme for 6 hours (pH 2.0, 40°C), and thereafter pancreatin enzyme for 18 hours (pH 6.8, 40°C). The results showed that CP content was 47.67, 38.18 and 49.57% for black soldier fly larvae, full-fat soybean and soybean meal, respectively. In addition, black soldier fly larvae had higher fat content (25.12%) than full-fat soybean (21.21%) and soybean meal (1.88%). For *in vitro* digestibility, true digestibility of CP in black soldier fly larvae (83.60%) was lower ($p < 0.05$) than full-fat soybean (88.93%) and soybean meal (86.44%). However, the standardized ileal digestible content of CP in black soldier fly larvae (387.70 g/kg) was higher ($p < 0.05$) than full-fat soybean (332.20 g/kg), but lower ($p < 0.05$) than soybean meal (419.51g/kg) Therefore, black soldier fly larvae can be considered as an alternative protein source in pig feed.

Keyword: Black soldier fly larvae, *In vitro* digestibility, Nutritional values, Pig, Soybean

คำนำ

ปัจจุบันจำนวนประชากรของโลกที่สูงเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง คาดการว่าประชากรของโลกจะเพิ่มขึ้นจาก 7.7 พันล้านคน ในปัจจุบัน เป็น 9.7 พันล้านคน ภายในปีพ.ศ. 2593 (Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), 2016) ส่งผลให้ความต้องการบริโภคอาหารเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์จากปศุสัตว์ เพื่อตอบสนองต่อความต้องการดังกล่าว ผู้ผลิตจำเป็นต้องเพิ่มปริมาณผลผลิตให้มากขึ้น ด้วยเหตุนี้จึงมีการผลิตสัตว์เพิ่มสูงขึ้น โดยอาหารสัตว์ถือเป็นต้นทุนการผลิตที่สำคัญโดยคิดสัดส่วนประมาณ ร้อยละ 60–70 ของต้นทุนการผลิตทั้งหมด ในสูตรอาหารมีการใช้วัตถุดิบแหล่งโปรตีนปริมาณที่สูงจากทั้งพืชและสัตว์ ซึ่งวัตถุดิบแหล่งโปรตีนที่สำคัญ คือ กากถั่วเหลืองหรือปลาป่น อย่างไรก็ตาม การใช้วัตถุดิบแหล่งโปรตีนเหล่านี้ อาจมีข้อจำกัดด้านราคาที่เพิ่มสูงขึ้นในอนาคต เนื่องจากวัตถุดิบแหล่งโปรตีนต่างๆ เหล่านี้ ส่วนใหญ่มีการนำเข้าจากต่างประเทศ จึงอาจมีปัจจัยต่าง ๆ ที่ส่งผล เช่น กากถั่วเหลืองที่กำลังประสบปัญหาจากสภาพอากาศที่แปรปรวนของโลก ทำให้เกิดปัญหาด้านการผลิตถั่วเหลือง อย่างไรก็ตามมากกว่า ร้อยละ 95 ของการเพาะปลูกถั่วเหลืองมีความเกี่ยวข้องกับปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมหลายประการ ทั้งการตัดไม้ทำลายป่า การใช้น้ำเพื่อการเพาะปลูกเพิ่มขึ้น การใช้สารเคมี และการกำจัดศัตรูพืช ทำให้สภาพดินที่ใช้ในการเพาะปลูกถั่วเหลืองเสื่อมโทรม (Huis et al., 2015; Wiedemann et al., 2016; Barragan-Fonseca et al., 2017) จากปัญหาดังกล่าวทำให้การผลิตถั่วเหลืองลดลงและยังส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และปลาป่น มีการทำประมงผิดกฎหมาย (FAO, 2010) ส่งผลทำให้ปลาป่นมีราคาสูงขึ้นแต่ผลิตได้น้อยลง (สมาคมผู้ผลิตปลาป่นไทย, 2563) ด้วยเหตุนี้ การมองหาวัตถุดิบแหล่งโปรตีนทางเลือกใหม่ที่มีคุณภาพดีและมีต้นทุนที่ไม่สูงมากนัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งแหล่งโปรตีนมาจากแมลง เช่น จิ้งหรีด หนอนนก และหนอนแมลงวันลาย เป็นต้น ทั้งนี้แมลงวันลายกำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นแมลงที่เลี้ยงง่าย กินอาหารได้หลากหลายชนิด และมีคุณค่าทางโภชนะสูง โตเร็ว วงจรชีวิตสั้นและใช้พื้นที่ในการเลี้ยงน้อย (ธีรพงษ์ และคณะ, 2563)

หนอนแมลงวันลาย (Black soldier fly larvae) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Hermetia illucens* พบได้ทั่วไปในเขตร้อนชื้นหรือเขตอบอุ่น ซึ่งจุดเด่นของแมลงชนิดนี้คือไม่เป็นศัตรูและไม่ก่อโรคทั้งในคน พืช และสัตว์ ช่วยลดจำนวนประชากรแมลงศัตรูพืช (Wang and Shelomi, 2017) ซึ่งหนอนแมลงวันลายมีคุณค่างโภชนะที่สูง โดยเฉพาะโปรตีน ร้อยละ 37.00–47.00 และมีไขมัน ร้อยละ 12.90–41.70 (Aniebo et al., 2009; Mutafela, 2015) นอกจากนี้ยังอุดมไปด้วยวิตามินและแร่ธาตุ (Finke, 2002; Makkar et al., 2014) ทั้งนี้ค่าโภชนะของหนอนแมลงวันลายขึ้นอยู่กับอาหารที่นำมาใช้เลี้ยง โดยจากค่าโภชนะแสดงให้เห็นว่าหนอนแมลงวันลาย มีศักยภาพในการใช้เป็นวัตถุดิบแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์ได้ อย่างไรก็ตาม ถึงแม้จะมีงานวิจัยที่เกี่ยวกับการใช้หนอนแมลงวันลายเพื่อเป็นแหล่งโปรตีนทางเลือกสำหรับสัตว์ แต่งานวิจัยแมลงวันลายในประเทศไทยยังมีไม่มากนัก ปัจจุบันมีการศึกษาหาค่าการย่อยได้จริงในหลอดทดลองและสามารถใช้ประเมินค่าการย่อยได้มาตรฐานของโปรตีนในตัวสัตว์ได้ โดยวิธีนี้จะให้ผลที่รวดเร็วและช่วยประหยัดเวลา ลดค่าใช้จ่ายในงานทดลองในสัตว์ และสามารถทำซ้ำได้ เพื่อเพิ่มความแม่นยำ อีกทั้งยังลดการใช้สัตว์ทดลองได้อีกด้วย (Jezierny et al., 2010) ดังนั้นในงานทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาค่าโภชนะและค่าการย่อยได้ของโภชนะในหลอดทดลองของหนอนแมลงวันลายเปรียบเทียบวัตถุดิบแหล่งโปรตีนประกอบด้วย ถั่วเหลืองไขมันเต็มและกากถั่วเหลือง

อุปกรณ์และวิธีการ

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

วัตถุดิบแหล่งโปรตีนที่ใช้ในงานทดลอง ประกอบด้วยหนอนแมลงวันลาย (Black soldier fly larvae) เลี้ยงด้วยเศษเหลือจากอุตสาหกรรมเกษตรและอาหาร ทำการเก็บเกี่ยวหนอนแมลงวันลายที่อายุประมาณ 18–20 วัน จากนั้นทำแห้งโดยใช้เครื่องไมโครเวฟ (EMM20K18GW, Electrolux AB Ltd, Stockholm, Sweden) ที่กำลังไฟ 500–550 วัตต์ เป็นเวลา 10–12 นาที แล้วนำไปบดละเอียด ถั่วเหลืองไขมันเต็ม (Full-fat soybeans, Thai Vegetable Oil Public Company Limited, Bangkok, Thailand) และกากถั่วเหลือง (Soybean meal, Thai Vegetable Oil Public Company Limited, Bangkok, Thailand) โดยนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนะ คือ ความชื้น เถ้า โปรตีน ไขมันและเยื่อใย ตามวิธีของ AOAC (2010) สุ่มตัวอย่างวัตถุดิบจำนวน 500 กรัม นำไปบดผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร (CT293 Cyclotec™, FOSS Innovation Centre, Hillerod, Denmark) และเก็บรักษาในภาชนะบรรจุภัณฑ์สุญญากาศ เพื่อป้องกันความชื้นในตู้แช่เย็นอุณหภูมิไม่เกิน 8 องศาเซลเซียส โดยวิเคราะห์หาวัตถุแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 95–100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ด้วยวิธีการของ Kjeldahl ซึ่งคำนวณจากปริมาณไนโตรเจนคูณด้วย 6.25 วิเคราะห์หาไขมันด้วยการสกัดโดยใช้ Petroleum ether วิเคราะห์หาปริมาณเยื่อใยด้วยการต้มในกรดและด่าง และวิเคราะห์ปริมาณเถ้าด้วยการเผาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

การย่อยได้ในหลอดทดลอง

วัตถุดิบแหล่งโปรตีนที่ใช้ในงานทดลอง ประกอบด้วยหนอนแมลงวันลาย ถั่วเหลืองไขมันเต็ม และกากถั่วเหลือง โดยการศึกษาหาค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองศึกษาตามวิธีของ Boisen and Fernhndez (1995) โดยการสุ่มตัวอย่างวัตถุดิบ จำนวน 500 กรัม นำไปบดผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร (CT293 Cyclotec™, FOSS Innovation Centre, Hillerod, Denmark) นำตัวอย่างที่ผ่านการอบไล่ความชื้นแล้วตัวอย่างละ 0.5 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ แล้วเติม 25 มิลลิลิตร ของ 0.1 โมลาร์ Phosphate-buffer A pH 6 ผสมให้เข้ากัน เติม 0.2 โมลาร์ ของกรด HCl ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นปรับ pH ให้มีค่าเป็น 2 ด้วย HCl หรือ NaOH แล้วเติมเอนไซม์เพปซิน ความเข้มข้น 0.05 กรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (0.70 FIP-U/mg, EC 3.4.23.1, Merck KGA, Darmstadt, Germany) จึงทำการเติม Chloramphenical 0.10 มิลลิลิตร เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย จากนั้นปิดขวดรูปชมพู่ให้สนิท นำขวดรูปชมพู่ใส่ใน Water bath (FWS-30, Faithful®, Huanghua Faithflu Instrument Co. Ltd, Hebei, China) ที่อุณหภูมิ 40±1 องศาเซลเซียส และเขย่า เป็นเวลา 6 ชั่วโมง (100 รอบต่อนาที) เมื่อครบเวลา เติม 5 มิลลิลิตร ของ 0.6 โมลาร์ NaOH และ เติม 10 มิลลิลิตร ของ 0.2 โมลาร์ Phosphate-buffer B pH 6.8 จากนั้นทำการปรับ pH ให้มีค่าเป็น 6.8 ด้วย HCl หรือ NaOH เพื่อเป็นการจำลองความเป็นกรด-ด่างในลำไส้เล็กของสัตว์ จากนั้นเติมเอนไซม์แพนครีเอติน (P1750-100G, Sigma-Aldrich®, Merck KGaA, Darmstadt, Germany) ความเข้มข้น 0.05 กรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ปิดขวดรูปชมพู่ และนำไปเขย่าใน Water bath ที่อุณหภูมิ 40±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง (100 รอบต่อนาที) เมื่อครบเวลา นำขวดรูปชมพู่มาล้างตะกอนที่ติดรอบ ๆ ด้วยสารละลาย Sulphosalicylic acid (20%) 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเขย่าใน Water bath ที่อุณหภูมิ 20±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดการตกตะกอนของตัวอย่างที่ไม่ถูกย่อย หลังจากนั้นเตรียมถุงไนลอน และกรวยกรองแก้ว นำตัวอย่างค่อย ๆ เทลงในถุงไนลอน (ขนาด 0.1 ไมครอน) โดยผ่านกรวยกรอง หลังจากกรองเสร็จล้างตัวอย่างส่วนที่ไม่ถูกย่อย ด้วย Sulphosalicylic acid (1%) และ Ethanol (96%) 10 มิลลิลิตร นำถุงไนลอนที่มีตัวอย่างที่ไม่ถูกย่อย จุ่มใน Acetone ครั้งละ 3 นาที จำนวน 2 ครั้ง รอให้ถุงไนลอนแห้ง และนำไปอบไล่

ความชื้น ด้วยตู้อบลมร้อนที่ 95–100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง นำไปใส่โถดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที และชั่งน้ำหนัก นำตัวอย่างพร้อมถุงไนลอน ไปวิเคราะห์พร้อมกับวัตถุดิบ เพื่อหาความชื้น เถ้าและโปรตีน โดยวิธีการ Proximate และ Kjedahl (Association of Official Analytical Chemists (AOAC), 2010)

การคำนวณค่าการย่อยได้

นำค่าโภชนะที่วิเคราะห์ได้ไปคำนวณหาค่าการย่อยได้ จากสมการ Equation 1 ดังต่อไปนี้ (Boisen and Fernhndez, 1995)

$$\text{ค่าการย่อยได้ (\%)} = \frac{\text{ปริมาณโภชนะในตัวอย่าง-ปริมาณโภชนะหลังการย่อย}}{\text{ปริมาณโภชนะในตัวอย่าง}} \times 100 \quad (1)$$

โดยค่าที่ได้เทียบได้กับค่าการย่อยได้จริง (True digestibility; TD) จากนั้นนำไปคำนวณหาปริมาณการย่อยได้จริงของโปรตีน (True digestible of crude protein; TD content$_{CP}$) และปริมาณการย่อยได้มาตรฐานที่ลำไส้เล็กส่วนท้ายของโปรตีน (Standardized ileal digestible of crude protein; SID content$_{CP}$) โดยใช้ค่า Specific endogenous losses of crude protein; SEL$_{CP}$ ตามวิธีของ Jezierny et al. (2010) ดังสมการ (Equation 2 Equation 3 Equation 4 และ Equation 5)

$$\text{TD content}_{CP} = \frac{CP_A \times DN}{1000} \quad (2)$$

เมื่อ True digestible of crude protein (TD content$_{CP}$) คือ ปริมาณการย่อยได้จริงของโปรตีน Crude protein content of the assay feed ingredient (CP$_A$) คือ โปรตีนในวัตถุดิบ และ *In vitro* digested nitrogen (DN) คือ ส่วนที่ถูกย่อยจากกระบวนการทำ *In vitro*

$$SEL_{CP} = 0.066 \times UDM \quad (3)$$

เมื่อ Specific endogenous losses of crude protein (SEL$_{CP}$) คือ โปรตีนที่ร่างกายขับออกมาโดยขึ้นกับองค์ประกอบของโภชนะในสูตรอาหาร และ *In vitro* undigested (UDM) คือ ส่วนที่ไม่ถูกย่อยจากกระบวนการทำ *In vitro*

$$CP_{SID} = TD_{CP} - SEL_{CP} \quad (4)$$

เมื่อ Standardized ileal digestible of crude protein (CP$_{SID}$) คือ ปริมาณการย่อยได้มาตรฐานที่ลำไส้เล็กส่วนท้ายของโปรตีน

$$SID_{CP}(\%) = \frac{CP_{SID}}{CP_A} \times 100 \quad (5)$$

เมื่อ Standardized ileal digestibility of CP (SID$_{CP}$) คือ ค่าการย่อยได้มาตรฐานที่ลำไส้เล็กส่วนท้ายของโปรตีน

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลไปทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ One-way Analysis of Variance (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มโดยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยใช้โปรแกรม SAS University Edition (SAS® Studio, SAS Inst., Inc., Cary, NC, USA)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลจากการวิเคราะห์ค่าโภชนะในห้องปฏิบัติการ (Table 1) พบว่า หนอนแมลงวันลายมีค่าโปรตีนเท่ากับ ร้อยละ 47.67 ต่ำกว่า ($p < 0.05$) กากถั่วเหลืองที่มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 49.57 แต่สูงกว่า ($p < 0.05$) ถั่วเหลืองไขมันเต็มที่มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 38.18 นอกจากนี้หนอนแมลงวันลายมีไขมันเท่ากับ ร้อยละ 25.12 ซึ่งมีค่าสูงกว่า ($p < 0.05$) ถั่วเหลืองไขมันเต็ม (ร้อยละ 21.21) และกากถั่วเหลือง (ร้อยละ 1.88) หนอนแมลงวันลายมีเถ้า (ร้อยละ 10.40) สูงกว่า ($p < 0.05$) ในถั่วเหลืองไขมันเต็ม (ร้อยละ 5.05) และกากถั่วเหลือง (ร้อยละ 6.52) เช่นเดียวกับเยื่อใยในหนอนแมลงวันลายที่มีค่าสูงกว่า ($p < 0.05$) ถั่วเหลืองไขมันเต็มและกากถั่วเหลืองโดยมีค่าเท่ากับ ร้อยละ 7.26 4.51 และ 5.52 ตามลำดับ และหนอนแมลงวันลายมีคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ง่ายเท่ากับ ร้อยละ 9.69 ซึ่งมีค่าต่ำกว่า ($p < 0.05$) ถั่วเหลืองไขมันเต็ม (ร้อยละ 31.19) และกากถั่วเหลือง (ร้อยละ 36.59)

Table 1 Analyzed composition of feedstuffs (% dry matter)[1]

	Black soldier fly larvae	Full fat soybean	Soybean meal	*p*-value
Dry matter	91.74±0.13[b]	95.47±0.30[a]	90.88±0.28[c]	<0.0001
Crude protein	47.67±0.17[b]	38.18±0.02[c]	49.57±0.22[a]	<0.0001
Ether extract	25.12±0.36[a]	21.21±0.31[b]	1.88±0.01[c]	<0.0001
Crude fiber	7.26±0.10[a]	4.51±0.31[c]	5.52±0.20[b]	0.0026
Crude ash	10.40±0.07[a]	5.05±0.02[c]	6.52±0.04[b]	<0.0001
Nitrogen-free extract	9.69±0.48[c]	31.19±0.23[b]	36.59±0.34[a]	<0.0001

[1]Mean±standard deviation

[a,b,c] Means in the same row without the same superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

ผลการศึกษาหาค่าการย่อยได้ในห้องปฏิบัติการ (In vitro digestibility)

การศึกษาหาค่าการย่อยได้ในหลอดทดลอง (Table 2) พบว่าหนอนแมลงวันลาย มีค่าการย่อยได้ของวัตถุแห้งสูงสุด ($p < 0.05$) เท่ากับ ร้อยละ 84.62 รองลงมาคือ ถั่วเหลืองไขมันเต็ม และกากถั่วเหลือง มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 78.07 และ 71.43 ตามลำดับ สำหรับค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองของโปรตีน พบว่า หนอนแมลงวันลายมีการค่าการย่อยได้จริง (True digestibility of crude protein; TD_{CP}) เท่ากับ ร้อยละ 83.60 ต่ำกว่า ($p < 0.05$) ถั่วเหลืองไขมันเต็มและกากถั่วเหลืองมีค่า TD_{CP} เท่ากับ ร้อยละ 88.93 และ 86.44 ตามลำดับ เช่นเดียวกับค่า SID_{CP} พบว่า หนอนแมลงวันลายมีค่าเท่ากับ ร้อยละ 81.33 ต่ำกว่า ($p < 0.05$) ถั่วเหลืองไขมันเต็มและกากถั่วเหลืองมีค่า SID_{CP} เท่ากับ ร้อยละ 87.02 และ 84.63 ตามลำดับ การศึกษาปริมาณการย่อยได้จริงของโปรตีน (True digestible content of crude protein; TD $content_{CP}$) พบว่าหนอนแมลงวันลายมีค่าเท่ากับ 398.52 g/kg สูงกว่า ($p < 0.05$) ถั่วเหลืองไขมันเต็มที่มีค่าเท่ากับ 339.50 g/kg แต่มีค่าต่ำกว่า ($p < 0.05$) กากถั่วเหลืองที่มีค่าเท่ากับ 428.46 g/kg เช่นเดียวกับการย่อยได้มาตรฐานที่

ลำไส้เล็กส่วนท้ายของโปรตีน (Standardized ileal digestible content of crude protein; SID content$_{CP}$) พบว่าหนอนแมลงวันลายมีค่าเท่ากับ 387.70 g/kg สูงกว่า ($p < 0.05$) ถั่วเหลืองไขมันเต็มที่มีค่าเท่ากับ 332.20 g/kg มีค่าต่ำกว่า ($p < 0.05$) กากถั่วเหลืองที่มีค่าเท่ากับ 419.51 g/kg

วัตถุดิบแหล่งโปรตีนที่นำมาศึกษามีค่าโภชนะที่วิเคราะห์ได้สอดคล้องกับ National Research Council (NRC) (2012) ที่รายงานว่า กากถั่วเหลืองมีค่าโปรตีนระหว่าง ร้อยละ 44.56–51.17 ขณะที่ถั่วเหลืองไขมันเต็มมีค่าโปรตีนเท่ากับ ร้อยละ 37.56 เช่นเดียวกับค่าโปรตีนในหนอนแมลงวันลายที่มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 21.60–65.50 (Schiavone, 2017; Yildirim-Aksoy, 2020) การศึกษาหาค่า TD$_{CP}$ ในหลอดทดลองในงานวิจัยนี้พบว่า การย่อยได้ของโปรตีนในกากถั่วเหลืองมีค่าเท่ากับ ร้อยละ 86.44 และถั่วเหลืองไขมันเต็มมีค่าเท่ากับ ร้อยละ 88.93 สอดคล้องกับ Chen et al. (2010) ที่รายงานว่าค่าการย่อยได้ของโปรตีนในหลอดทดลองของกากถั่วเหลืองมีค่าเท่ากับ 87.50% และในหนอนแมลงวันลายมีค่าเท่ากับ 83.60% ซึ่งใกล้เคียงกับงานทดลองของ Kim et al. (2023) ที่รายงานค่าการย่อยได้ของโปรตีนในหลอดทดลองของหนอนแมลงวันลายมีค่าเท่ากับ ร้อยละ 84.40 และ 83.20 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่า ค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองของหนอนแมลงวันลาย (ร้อยละ 83.60) ต่ำกว่ากากถั่วเหลือง (ร้อยละ 84.63) และถั่วเหลืองไขมันเต็ม (ร้อยละ 87.02)

Table 2 *In vitro* digestibility of dry matter and protein (% dry matter)[1]

In vitro digestibility	Black soldier fly larvae	Full fat soybean	Soybean meal	*p*-value
TD$_{DM}$	84.62±0.97^{a}	78.07±0.55^{b}	71.43±0.43^{c}	<.0001
TD$_{CP}$	83.60±0.13^{c}	88.93±0.07^{a}	86.44±0.04^{b}	<.0001
SID$_{CP}$	81.33±0.15^{c}	87.02±0.08^{a}	84.63±0.05^{b}	<.0001
TD content$_{CP}$ (g/kg)	398.52±0.63^{b}	339.50±0.25^{c}	428.46±0.20^{a}	<.0001
SID content$_{CP}$ (g/kg)	387.70±0.71^{b}	332.20±0.30^{c}	419.51±0.23^{a}	<.0001

[1]Mean ± standard deviation; TD$_{DM}$ = True digestibility of dry matter; TD$_{CP}$ = True digestibility of crude protein; SID$_{CP}$ = Standardized ileal digestibility of crude protein; TD content$_{CP}$ = True digestible content of crude protein; SID content$_{CP}$ = Standardized ileal digestible content of crude protein

[a,b,c] Means in the same row without the same superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

เมื่อพิจารณาค่าการย่อยได้มาตรฐานของโปรตีนที่ได้จากการคำนวณโดยใช้ค่าการย่อยได้จากหลอดทดลอง พบว่ามีค่าใกล้เคียงกับค่า SID$_{CP}$ ที่ได้จากการศึกษาหาค่าการย่อยได้ในตัวสัตว์ โดยเฉพาะกากถั่วเหลืองในการทดลองนี้มีค่า SID$_{CP}$ เท่ากับ ร้อยละ 84.63 สอดคล้องกับ Stein et al. (2001) รายงานว่าค่า SID$_{CP}$ ของกากถั่วเหลืองที่ใช้ในสูตรอาหารสุกร มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 84.80 และ ค่า SID$_{CP}$ ของถั่วเหลืองไขมันเต็ม มีค่าเท่ากับ ร้อยละ 87.02 สอดคล้องกับค่า SID$_{CP}$ ของถั่วเหลืองไขมันเต็ม มีค่าระหว่าง ร้อยละ 79.00–86.90 (NRC, 2012; Aderibigbe et al., 2020; Kiarie et al., 2020) ทั้งนี้ค่า SID$_{CP}$ ในถั่วเหลืองไขมันเต็มที่สูงกว่ากากถั่วเหลือง เนื่องจากปริมาณไขมันที่สูงมีผลทำให้การเคลื่อนที่ของอาหารในลำไส้ช้าลง ซึ่งช่วยเพิ่มการย่อยและดูดซึมโปรตีนและกรดอะมิโนให้สูงขึ้น (Zhao et al., 2000; Valaja and Silijander-Rasi, 2001) นอกจากนี้ในกระบวนการให้ความร้อนในการสกัดน้ำมันจากกากถั่วเหลืองที่มากเกินไปอาจส่งผลให้โปรตีนและกรดอะมิโนถูกทำลาย ปฏิกิริยาเชิงซ้อนกลุ่มคาร์บอนิลของน้ำตาลรีดิวซ์ เรียกว่า Maillard reaction (Hong et al., 2010) เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่สัตว์ไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้ (Pahm et al., 2008)

การศึกษาค่า SID_{CP} ในหนอนแมลงวันลายพบว่ามีค่าเท่ากับ 81.33% สอดคล้องกับงานทดลองของ Crosbie et al. (2020) ที่ใช้หนอนแมลงวันลายในสูตรอาหารเพื่อศึกษาค่าการย่อยได้มาตรฐานในสุกร พบว่ามีค่า SID_{CP} เท่ากับ ร้อยละ 80.20 เช่นเดียวกับการศึกษาของ Tansil et al. (2022) และ Hosseindoust et al. (2023) ที่รายงานว่า หนอนแมลงวันลาย มีค่า SID_{CP} เท่ากับ ร้อยละ 76.10 และ 71.60 ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ค่า SID_{CP} ในหนอนแมลงวันลายเปรียบเทียบกับถั่วเหลืองพบว่าหนอนแมลงวันลายมีค่าต่ำกว่าถั่วเหลืองไขมันเต็มและกากถั่วเหลือง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณเยื่อใยที่สูงและในหนอนแมลงวันลายยังมีไคติน โดยที่ไคตินจัดเป็นสารประกอบโพลิแซคคาไรด์ ส่งผลให้ค่าการย่อยได้ลดลง เนื่องจากในสัตว์กระเพาะเดี่ยวไม่มีเอนไซม์ที่ใช้ย่อย ทั้งนี้ปริมาณไนโตรเจนในองค์ประกอบของไคติน ส่งผลต่อปริมาณโปรตีนที่สัตว์จะนำไปใช้ประโยชน์ได้ในตัวสัตว์ เนื่องจากไคตินเป็นสารประกอบโพลิแซคคาร์ไรด์ ที่มีโครงสร้างคล้ายกับเซลลูโลสในพืช (Li et al., 2017) ซึ่งประกอบไปด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน (Goering et al., 1973) โดยในสัตว์กระเพาะเดี่ยวไม่มีเอนไซม์ที่ย่อยโครงสร้างเหล่านี้ได้ อีกทั้งยังทำให้อาหารเคลื่อนที่ในระบบทางเดินอาหารเร็วขึ้นและยังไปกระตุ้นให้เกิดการหลุดลอกของเซลล์ออกมามากขึ้น และอาจเกิดการฟอร์มตัวบริเวณชั้นบุผิวลำไส้เล็ก จึงมีผลทำให้การย่อยและดูดซึมของโปรตีนและกรดอะมิโนลดลง (Grala et al., 1998) นอกจากนี้ ปริมาณไนโตรเจนจากไคตินยังมีอิทธิพลต่อปริมาณโปรตีนในหนอนแมลงวันลาย แต่หากพิจารณา CP_{SID} ซึ่งมีการนำปริมาณโปรตีนในวัตถุดิบมาคำนวณพบว่าหนอนแมลงวันลายมีค่าสูงกว่าถั่วเหลืองไขมันเต็ม เนื่องจากมีระดับโปรตีนสูงกว่า ดังนั้นดังนั้นหนอนแมลงวันลายจึงสามารถใช้เป็นอีกแหล่งโปรตีนทางเลือกสำหรับใช้เป็นอาหารสุกรได้

สรุป

หนอนแมลงวันลายมีองค์ประกอบของโปรตีนและโภชนะอื่น ๆ ที่มีประโยชน์ ซึ่งสามารถนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์ได้ แต่ปริมาณเยื่อใยที่สูงในหนอนแมลงวันลายอาจจะเป็นข้อจำกัดในการใช้ประโยชน์และส่งผลให้ค่าการย่อยได้ลดลง อย่างไรก็ตามการศึกษาหาค่าการย่อยได้จริงและค่าการย่อยได้มาตรฐานที่ลำไส้เล็กส่วนท้ายของโปรตีนของหนอนแมลงวันลายจะช่วยประเมินคุณภาพหนอนแมลงวันลายเพื่อใช้สำหรับการประกอบเป็นสูตรอาหารเลี้ยงสัตว์ร่วมกับวัตถุดิบอื่น ๆ ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณห้องปฏิบัติอาหารสัตว์ ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสถานที่ในการวิเคราะห์ค่าเคมีของวัตถุดิบในการทำการวิจัยในครั้งนี้ จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

สมาคมผู้ผลิตปลาป่นไทย. 2563. Illegal Unreported and Unregulated Fishing; IUU. http://www.thaifishmeal.com/index.php?option=com_content&view=article&id=638:iuu–16-28&catid=57&Itemid=104&lang=th, 10 พฤศจิกายน 2566.

ธีรพงษ์ ใจชาญสุขกิจ, ประไพรพรรณ สิทธิกูล, ชูศักดิ์ พูลมา, ปราโมทย์ บุญโพธิ์, ดลฤดี จรัสอุไรธรรม. 2563. การเลี้ยงหนอนแมลงวันลาย (Black Soldier Fly: *Hermetia illucens*) ด้วยมูลสัตว์เพื่อใช้เป็นแหล่งโปรตีนทางเลือกในอาหารสัตว์. รายงานวิจัยคณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ. พระนครศรีอยุธยา, หน้า 7–8.

AOAC, 2010. Official methods of analysis of AOAC int. 18th ed. AOAC Int., Gaithersburg, Maryland, MD, USA.

Aderibigbe, A.S., Park, C.S., Adebiyi, A., Olukosi, O.A., Adeola, O. 2020. Digestibility of amino acids in protein-rich feed ingredients originating from animals, peanut flour, and full-fat soybeans fed to pigs. Animals 10(11): 2062.

Aniebo, A.O., Wekhe, S.N., Okoli, I.C. 2009. Abattoir blood waste generation in river state and its environmental implications in the niger delta. Environ. Toxicol. Chem. 91: 619–625. doi.org/10.3390/ani10112062

Barragan-Fonseca, K.B., Dicke, M., van Loon, J.J. 2017. Nutritional value of the black soldier fly (*Hermetia illucens L*.) and its suitability as animal feed–A review. J. Insects as Food Feed. 3: 105–120. doi.org/10.3920/jiff2016.0055

Boisen, S., Fernandez, J.A. 1995. Prediction of the apparent ileal digestibility of protein and amino acids in feedstuffs and feed mixtures for pigs by *in vitro* analyses. Anim. Feed Sci. Technol. 51: 29–43. doi.org/10.1016/03377-8401(94)00686-4

Crosbie, M., Zhu, C., Shoveller, A.K., Huber, L.A. 2020. Standardized ileal digestible amino acids and net energy contents in full fat and defatted black soldier fly larvae meals (*Hermetia illucens*) fed to growing pigs. Transl. Anim. Sci. 4(3). doi.org/10.1093/tas/txaa104

Chen, C.C., Shih, Y.C., Chiou, P.W.S., Yu, B. 2010. Evaluating nutritional quality of single stage-and two stage-fermented soybean meal. Asian-Australas. J. Anim. Sci. 23(5): 598–606. doi.org/10.5713/ajas.2010.90341

FAO. 2010. Food and agriculture organization of the United Nations statistical databases. http://faostat.fao.org/, 2 February 2024.

FAOSTAT. 2016. Food and agriculture data 2016. Food Agric, Rome, Italy. http://www.fao.org/statistics/en/, 3 February 2024.

Finke, M.D. 2002. Complete nutrient composition of commercially raised invertebrates used as food for insectivores. Zoo Biol. 21: 269–85. doi.org/10.1002/zoo.10031

Grala, W., Verstegen, M.W.A., Jansman, A.J.M., Huisman, J., Van Leeusen, P. 1998. Ileal apparent protein and amino acid digestibilities and endogenous nitrogen losses in pigs fed soybean and rapeseed products. J. Anim. Sci. 76(2): 557–568. doi.org/10.2527/1998.762557x

Goering, H.K., Van Soest, P.J., Hemken, R W. 1973. Relative susceptibility of forages to heat damage as affected by moisture, temperature, and pH. J. Dairy Sci. 56(1): 137–143. doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(73)85127-6

Hong, J.H., Jung, D.W., Kim, Y.S., Lee, S.M., Kim, K.O. 2010. Impacts of glutathione maillard reaction products on sensory characteristics and consumer acceptability of beef soup. J. Food Sci. 75(8): 427–434. doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01783.x

Huis, A.V., Dicke, M., van Loon, J.J.A. 2015. Insects to feed the world. J. Insects as Food Feed. 1(1): 3–5. doi.org/10.3920/jiff2015.x002

Hosseindoust, A., Mun, J., Ha, S.H., Kim, J. 2023. Effects of meal processing of black soldier fly on standardized amino acids digestibility in pigs. J. Anim. Sci. Technol. 65(5): 1014–1023. doi.org/10.5187/jast2023.e28

Jezierny, D., Mosenthin, R., Sauer, N., Eklund, M. 2010. *In vitro* prediction of standardised ileal crude protein and amino acid digestibilities in grain legumes for growing pigs. Animal 4(12): 1987–1996. doi.org/10.1017/s1751731110001114

Kiarie, E.G., Parenteau, I.A., Zhu, C., Ward, N.E., Cowieson, A.J. 2020. Digestibility of amino acids, energy, and minerals in roasted full-fat soybean and expelled-extruded soybean meal fed to growing pigs without or with multienzyme supplement containing fiber-degrading enzymes, protease, and phytase. J. Anim. Sci. 98(6): 174. doi.org/10.1093/jas/skaa174

Kim, H., Ji, S.Y., Kim, B.G. 2023. *In vitro* nutrient digestibility values of black soldier fly as a swine feed ingredient can be estimated by nitrogen concentrations. J. Insects as Food Feed. 1: 1–13. doi.org/10.1163/23524588-20230050

Li, S., Ji, H., Zhang, B., Zhou, J., Yu, H. 2017. Defatted black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae meal in diets for juvenile Jian carp (Cyprinus carpio var. Jian): Growth performance, antioxidant enzyme activities, digestive enzyme activities, intestine and hepatopancreas histological structure. Aquaculture. 477: 62–70. doi.org/10.1016/j.aquaculture.2017.04.015

Makkar, H.P., Tran, G., Heuzé, V., Ankers, P. 2014. 'State-of-the-art on use of insects as animal feed. Anim. Feed Sci. Technol. 197: 1–33. doi.org/10.1016.j.anifeedsci.2014.07.008

Mutafela, R.N. 2015. High value organic waste treatment via black soldier fly bioconversion: onsite pilot study. MSc-thesis, Royal Institute of Technology, KTH. Stockholm, Sweden, pp. 103.

NRC. 2012. Nutrient requirements of swine. The 10th ed. National Academy Press, Washington, D.C., USA.

Pahm, A.A., Pedersen, C., Stein, H.H. 2008. Application of the reactive lysine procedure to estimate lysine digestibility in distillers dried grains with solubles fed to growing pigs. J. Agric. Food Chem. 56: 9441–9446. doi.org/10.1021/jf801618g

Schiavone, A., De Marco, M., Martínez, S., Dabbou, S., Renna, M., Madrid, J., Gasco, L. 2017. Nutritional value of a partially defatted and a highly defatted black soldier fly larvae (*Hermetia illucens L.*) meal for broiler chickens: apparent nutrient digestibility, apparent metabolizable energy and apparent ileal amino acid digestibility. J. Anim. Sci. Biotechnol. 8(1): 51. doi.org/10.1186/s401404-017-0181-5

Stein, H.H., Kim, S.W., Nielsen, T.T., Easter, R.A. 2001. Standardized ileal protein and amino acid digestibility by growing pigs and sows. Anim. Sci. J. 79(8): 2113–212.

Tansil, F., Pezzali, J.G., Cargo-Froom, C., Huber, L.A., Kiarie, E.G., Courtney-Martin, G., Shoveller, A.K. 2023. Evaluation of standardized ileal digestibility of amino acids and metabolic availability of methionine, using the indicator amino acid oxidation method, in black soldier fly larvae (*Hermetia illucens*) meal fed to growing pigs. J. Anim. Sci. 101: 420. doi.org/10.1093/jas/skac420

Valaja, J., Silijander–Rasi, H. 2001. Dietary fat supplementation affects apparent ileal digestibility of amino acids and digesta passage rate of rapeseed meal–based diets. *In* Linberg J.E., and Ogle, B. (Eds.). Digestive Physiology of Pigs. CABI Publishing, New York, NY, USA. doi: 10.1079/9780851995175.0175

Wang, Y., Shelomi, M. 2017. Review of black soldier fly (*Hermetia illucens*) as animal feed and human food. Front. Sustain. Food Syst. 1(14).

Wiedemann, S.G., McGahan, E.J., Murphy, C.M. 2016. Environmental impacts and resource use from Australian pork production assessed using life-cycle assessment. 1. Greenhouse gas emissions. Anim. Prod. Sci. 56(9): 1418–1431. doi.org/10.1071/AN15881

Yildirim-Aksoy, M., Eljack, R., Schrimsher, C., Beck, B.H. 2020. Use of dietary frass from black soldier fly larvae, *Hermetia illucens*, in hybrid tilapia (Nile x Mozambique, Oreocromis niloticus x O. mozambique) diets improves growth and resistance to bacterial diseases. Aquac. Rep. 17: 100373. doi.org/10.1016/j.aqrep.2020.100373

Zhao, X.T., Wang, L., Lin, H.C. 2000. Slowing of intestinal transit by fat depends on naloxone–blockable efferent opioid pathway. Am. J. Physiol. Gastrointest Liver Physiol. 278(6): 866–870. doi.org/10.1152/ajpgi.2000.278.6.G866

การพัฒนาแบบจำลองจำแนกคุณภาพน้ำนมโคดิบตามจำนวนโซมาติกเซลล์โดยใช้การวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์และโครงข่ายประสาทเทียม กรณีศึกษา: เกษตรกรฟาร์มโคนมในจังหวัดสระบุรี

Development of a model to classify raw cow milk quality based on somatic cell count using logistic regression and artificial neural network analyses: A case study of dairy farmers in Saraburi Province

โอม ศรีนวกรณ์[a], **เกรียงไกร แก้วตระกูลพงษ์**[a,*], **สมพงษ์ เจษฎาธรรมสถิต**[a], **รักศักดิ์ เสริมศักดิ์**[a], **ยุพดี ฟูประเสริฐ**[a], **ถวัลย์ศักดิ์ เผ่าสังข์**[a], **อาณัติ จันทร์ถิระติกุล**[b]

Ohm Srinawakron[a], Kriengkri Kaewtrakulpong[a,*], Sompong Jesadathamsathit[a], Raksak Sermsak[a], Yuphadee Fuprasert[a], Thawansak Phaosang[a], Anut Chantiratikul[b]

[a]ภาควิชาเกษตรกลวิธาน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ10900

[b]ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม มหาสารคาม 44150

[a]Department of Farm Mechanics, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

[b]Department of Agricultural Technology, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Mahasarakham 44150, Thailand

* Corresponding author. E-mail address: agrkkk@ku.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาแบบจำลองสำหรับจำแนกคุณภาพน้ำนมโคดิบด้วยค่าจำนวนโซมาติกเซลล์ โดยอาศัยข้อมูลด้านพันธุกรรมของโค ข้อมูลด้านสิ่งแวดล้อม และข้อมูลด้านการจัดการภายในฟาร์ม จึงศึกษาและออกแบบสอบถามที่ประกอบด้วย ตัวแปรอิสระ จำนวน 70 ตัวแปร แบบสอบถามดังกล่าวถูกใช้สำรวจข้อมูลจากเกษตรกรที่เป็นสมาชิกของสหกรณ์โคนมแห่งหนึ่งในจังหวัดสระบุรี จำนวน 60 ราย นำข้อมูลที่ได้จากการสำรวจมาทดสอบความเป็นอิสระของตัวแปรอิสระทุกตัวและวิเคราะห์สหสัมพันธ์ ภายหลังการทดสอบดังกล่าวพบว่า 5 ตัวแปรอิสระ มีความสัมพันธ์เชิงเส้นกับจำนวนโซมาติกเซลล์ จากนั้นจึงพัฒนาแบบจำลองด้วยวิธีการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์และโครงข่ายประสาทเทียมจากการฝึกฝนและทดสอบข้อมูลด้วยวิธีการทดสอบแบบไขว้โดยแบ่งข้อมูลออกเป็น 10 ส่วน ทำซ้ำจำนวน 3 ครั้ง (10-folds cross-validation with 3 replications) พบว่า โครงข่ายประสาทเทียมให้ค่าความถูกต้องของการจำแนกคุณภาพน้ำนมโคดิบเท่ากับร้อยละ 81 ซึ่งสูงกว่าวิธีการการถดถอยโลจิสติกส์ที่มีค่าความถูกต้องของการจำแนกเท่ากับร้อยละ 73.83 ดังนั้นแบบจำลองที่พัฒนาขึ้นในการศึกษาครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นเครื่องมือที่ช่วยในบริหารจัดการฟาร์มเพื่อให้ได้น้ำนมโคดิบที่มีคุณภาพตามมาตรฐานที่กำหนดได้ต่อไป

คำสำคัญ: การวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์, คุณภาพน้ำนมโคดิบ, โครงข่ายประสาทเทียม

Abstract

This research focuses on developing models for classifying raw milk quality using logistic regression and analytical neural network methods. The models are constructed based on genetic information of cow as well as environmental and management data from farms. Somatic cell count, a crucial parameter, serves as the basis for classification. A specific questionnaire consisting of 70 variables was designed to collect aforementioned data from farmers and the dairy cooperative. The data were collected from 60 dairy farmers, who are members of one of the dairy cooperatives in Saraburi province, located in the Central part of Thailand. These data were used as predictor variables for classifying the quality of raw milk supplied to the dairy cooperative. Feature reduction techniques, including low variance thresholding, Variance Inflation Factor (VIF), and correlation analysis, were applied to optimize model performance. The finding indicated that five key variables are associated with the somatic cell count parameter. Subsequently, data training and model validation were conducted using a 10-folds cross-validation with 3 replications to prevent overfitting. Comparative accuracy testing revealed that the analytical neural network achieves an accuracy of 81.00%, surpassing the 73.83% accuracy obtained from logistic regression. This study underscores the effectiveness of analytical neural networks in enhancing raw milk quality classification based on somatic cell count. The aim is to contribute to the advancement of dairy industry.

Keywords: Logistics regression analysis, Neural network, Raw cow milk quality

คำนำ

ในการผลิตน้ำนมโคให้มีคุณภาพดี มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค รวมถึงเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมมีรายได้ดีเป็นเป้าหมายที่สำคัญของการส่งเสริมการเลี้ยงโคนมภายในประเทศไทย ด้วยเหตุนี้คุณภาพของน้ำนมดิบ เช่น จำนวนโซมาติกเซลล์ในน้ำนมดิบ ไขมัน การตรวจเมททิลีนบูล เนื้อนมไม่รวมไขมัน การตรวจรีซาซูรีน เนื้อนมทั้งหมด ความเป็นกรด–ด่างในน้ำนม ยาปฏิชีวนะ เป็นต้น (สหกรณ์โคนมมวกเหล็ก จำกัด, 2548) จึงถูกนำมาใช้ในการกำหนดราคารับซื้อน้ำนมดิบของเกษตรกร โดยเฉพาะจำนวนโซมาติกเซลล์ในน้ำนม ซึ่งส่วนใหญ่เป็นเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ร่างกายสร้างขึ้นและส่งมาที่เต้านมเพื่อต่อต้านสิ่งแปลกปลอมที่เข้าไปในเต้านม จึงมักถูกใช้เป็นตัวบ่งชี้การติดเชื้อในเต้านม (อรัญ, 2554) รวมถึงยังมีผลต่อราคาน้ำนมดิบที่ทำให้ค่าตอบแทนที่ได้รับจากการขายน้ำนมดิบลดลง ซึ่งการตรวจจำนวนโซมาติกเซลล์ โดยการตรวจด้วยน้ำยาซีเอ็มที กล้องจุลทรรศน์ และเครื่องตรวจนับอัตโนมัติ เป็นวิธีที่ใช้กันมากในการชี้วัดคุณภาพน้ำนมและสุขภาพของเต้านม (ศุภณิดา และคณะ, 2548) โดยปัญหาด้านคุณภาพของน้ำนมโคที่ผลิตในประเทศที่มีจำนวนโซมาติกเซลล์และจำนวนจุลินทรีย์สูงเกินกว่าเกณฑ์มาตรฐานอยู่มาก ย่อมส่งผลให้คุณภาพของน้ำนมโคไม่สามารถแข่งขันกับผลิตภัณฑ์นมที่นำเข้าจากประเทศคู่ค้าที่มีคุณภาพดีกว่า รวมถึงการส่งผลิตภัณฑ์ไปขายยังต่างประเทศ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีประเทศที่มีข้อกำหนดมาตรฐานคุณภาพอาหารสูง (ประวีร์ และเนาวรัตน์, 2556)

ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพน้ำนมโคดิบ ได้แก่ พันธุกรรม สิ่งแวดล้อม และการจัดการ เป็นต้น หากสามารถหาความสัมพันธ์ของปัจจัยที่ส่งผลต่อคุณภาพน้ำนมโคดิบได้ก็จะเป็นประโยชน์ในการวางแผนการการผลิต การจัดการฟาร์ม รวมถึงการนำไปใช้เป็นข้อมูลสำหรับการป้องกันความเสียหายที่อาจจะเกิดขึ้นเนื่องจากคุณภาพน้ำนมโคดิบต่ำกว่ามาตรฐานที่กำหนด นอกจากนี้หากสามารถทราบปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพน้ำนมโคดิบและนำไปใช้ในการพัฒนาแบบจำลองสำหรับการจำแนกคุณภาพน้ำนมโคดิบ ที่ช่วยกำหนดแนวทางเพื่อประกอบการวางแผนการผลิตและการจัดการฟาร์มได้ ก็จะถือได้ว่าเป็นเครื่องมือที่มีประโยชน์มาก

งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่การพัฒนาแบบจำลองสำหรับจำแนกคุณภาพน้ำนมดิบด้วยวิธีการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์และโครงข่ายประสาทเทียม โดยศึกษาและรวบรวมข้อมูลจากเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม ซึ่งเป็นสมาชิกของสหกรณ์โคนมแห่งหนึ่งในจังหวัดสระบุรี โดยจังหวัดสระบุรี เป็นพื้นที่ที่มี จำนวนโคนมมากกว่า 172,000 ตัว และมีจำนวนเกษตรกรผู้ประกอบอาชีพเลี้ยงโคนมประมาณ 4,700 ราย (กรมปศุสัตว์, 2565)

อุปกรณ์และวิธีการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้แบ่งออกเป็น 4 ขั้นตอน ได้แก่

1. ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพน้ำนมดิบและจัดทำแบบสอบถาม

ศึกษากระบวนการผลิตน้ำนมโคดิบและกระบวนการขนส่งน้ำนมโคดิบที่ส่งมายังศูนย์รับน้ำนมดิบ พร้อมทั้งศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพน้ำนมโคดิบ ได้แก่ (1) ปัจจัยด้านพันธุกรรม (2) ปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อม และ (3) ปัจจัยด้านการจัดการ ทำการศึกษาภาคสนามที่ฟาร์มของเกษตรกร รวมถึงศึกษาบทความวิจัยที่เกี่ยวข้อง ทำการสัมภาษณ์นักวิจัยผู้เชี่ยวชาญ เกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมและเจ้าหน้าที่สหกรณ์ จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาใช้ในการออกแบบและจัดทำแบบสอบถาม

2. การรวบรวมข้อมูลและจัดทำข้อมูล

นำแบบสอบถามที่ได้ออกแบบไปสำรวจข้อมูลจากเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมจำนวน 60 ราย ในช่วงเดือนกันยายน พ.ศ. 2564 ถึง เดือนพฤษภาคม พ.ศ. 2565 (9 เดือน) และใช้ข้อมูลคุณภาพน้ำนมโคดิบของเกษตรกร จากผลตรวจคุณภาพน้ำนมโคดิบของเกษตรกรรายนั้น ๆ ทุกวันทั้งรอบการส่งน้ำนมโคดิบเช้าและเย็น จากสหกรณ์ โดยเป็นค่าเฉลี่ยในช่วง 9 เดือน ซึ่งข้อมูลผลตรวจคุณภาพน้ำนมโคดิบที่นำมาใช้ในการศึกษาวิจัยครั้งนี้คือ จำนวนโซมาติกเซลล์ (somatic cell count; SCC) และจัดกลุ่มข้อมูล SCC ออกเป็น 2 กลุ่ม โดยหากค่า SCC มากกว่าหรือเท่ากับ 500,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จะจัดให้เป็นคุณภาพน้ำนมโคดิบที่ไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน และกำหนดให้มีค่าตัวแปรเป้าหมาย (Target variable) เท่ากับ 0 และหากค่า SCC น้อยกว่า 500,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร จะจัดให้เป็นคุณภาพน้ำนมโคดิบที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน กำหนดให้มีค่าค่าตัวแปรเป้าหมาย เท่ากับ 1

3. การวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อหาตัวแปรอิสระที่มีผลต่อคุณภาพน้ำนมโคดิบ

นำข้อมูลที่เป็นตัวแปรอิสระที่ได้จากการสำรวจข้อมูล มาตรวจสอบความแปรปรวนของตัวแปรอิสระเพื่อนำตัวแปรที่มีค่าความแปรปรวนน้อยออก จากนั้นวิเคราะห์เพื่อนำตัวแปรอิสระที่มีความสัมพันธ์กันเองเกินกว่าระดับที่ยอมรับได้ออก เพื่อไม่ให้เกิดปัญหาความสัมพันธ์เชิงพหุ (Multicollinearity) โดยพิจารณาจากปัจจัยที่ทำให้ค่าความแปรปรวนเพิ่มขึ้น (Variance Inflation Factor; VIF) ถ้าค่า VIF มีค่ามากกว่า 5 จะแสดงถึงการเกิดความสัมพันธ์เชิงพหุ และนำตัวแปรอิสระที่เกิดความสัมพันธ์เชิงพหุนั้นออก รวมถึงพิจารณาจาก ค่าสหสัมพันธ์ (correlation) เพื่อให้คงเหลือเฉพาะตัวแปรอิสระที่มีผลต่อ SCC เท่านั้น

4. ออกแบบและพัฒนาแบบจำลองการจำแนกคุณภาพน้ำนมโคดิบ

4.1 สร้างแบบจำลองสำหรับการจำแนกคุณภาพน้ำนมโคดิบจากตัวแปรอิสระที่มีผลต่อคุณภาพน้ำนมโคดิบด้วยวิธีการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์และโครงข่ายประสาทเทียม

4.1.1) การวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์ ใช้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรตามกับตัวแปรอิสระ และทำการสร้างสมการถดถอยขึ้นมาเพื่อทำนายหรือประมาณตัวแปรตาม (กัลยา, 2551) ตาม Equation 1

$$Y = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2 + \cdots + \beta_i x_i + \varepsilon \quad (1)$$

เมื่อ Y คือ ตัวแปรตามที่ถูกทำนายจากตัวแปรอิสระแต่ละตัวคูณกับสัมประสิทธิ์การถดถอย

β_0 คือ จุดตัดแกน Y

β_i คือ ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอยของตัวแปรอิสระตัวที่ i

x_i คือ ค่าของตัวแปรอิสระตัวที่ i

ε คือ ความคลาดเคลื่อน

4.1.2) โครงข่ายประสาทเทียม เป็นแบบจำลองที่ออกแบบให้ทำงานเช่นเดียวกับสมองมนุษย์ ซึ่งมีส่วนประกอบ 5 ส่วน ได้แก่ (1) ข้อมูลนำเข้า (input) คือข้อมูลที่นำเข้าโครงข่าย (2) ค่าน้ำหนัก (weights) คือ สิ่งที่ได้จากการเรียนรู้ของโครงข่ายประสาทเทียม (3) ฟังก์ชันรวม (Summation) คือ ผลรวมของข้อมูลป้อนเข้า (4) ฟังก์ชันการเปลี่ยนแปลง (Transfer function) เป็นการคำนวณของโครงข่าย เช่น ซิกมอยด์ฟังก์ชัน (Sigmoid Function)

ไฮเปอร์โบลิกแทนเจนต์ (Hyperbolic Tangent Function) เป็นต้น และ (5) ข้อมูลส่งออก (output) คือผลลัพธ์ที่ได้จากกระบวนของโครงข่าย (ธนาวุฒิ, 2552) ดังแสดงใน Fig. 1

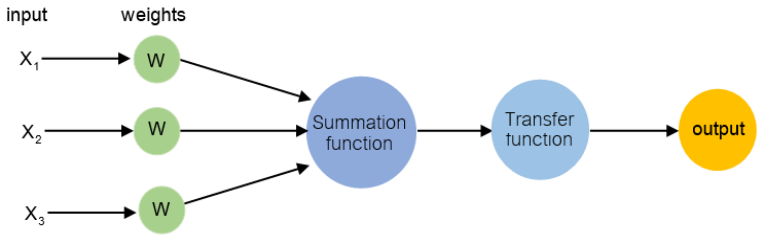


Fig. 1 Artificial Neural Network Structure

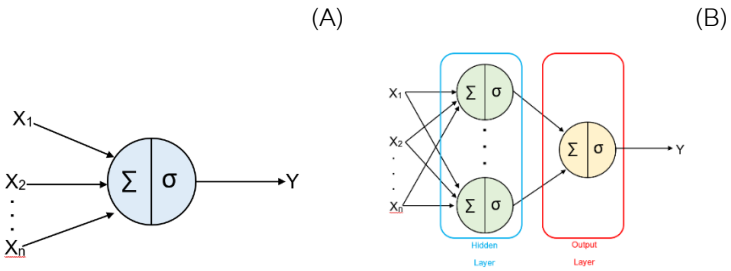


Fig. 2 Model: Logistic Regression (A); Artificial Neural Network (B)

ในการศึกษาครั้งนี้ คณะผู้วิจัยได้ใช้วิธีการถดถอยโลจิสติกส์ ซึ่งเป็นแบบจำลองเชิงเส้นที่ใช้สำหรับการจำแนกข้อมูล 2 ประเภท (Binary Classification; กัมพล, 2553) โดยแบบจำลองจะทำการคำนวณสองขั้นตอน คือ ขั้นแรกเป็นการคำนวณผลรวมเชิงเส้น (Linear combination) ของ input กับ parameter ของแบบจำลอง (∑) ขั้นที่สองเป็นการนำผลลัพธ์จากขั้นแรกมาคำนวณหาค่าความน่าจะเป็นด้วยฟังก์ชันซิกมอยด์ (Sigmoid function) (σ) โดยค่าที่ได้ (Y) จะมีค่าอยู่ระหว่าง 0 ถึง 1 ดังแสดงใน Fig. 2(A) วิธีการโครงข่ายประสาทเทียม (ANN) จะสร้างแบบจำลองด้วยโหนดที่เชื่อมต่อถึงกันเป็นชั้น ๆ คือ ชั้นซ่อน (Hidden Layer) และชั้นผลลัพธ์ (Output Layer) โดยชั้นซ่อนก็จะมีจำนวนโหนดอยู่หลาย ๆ โหนด ซึ่งแต่ละโหนดของชั้นซ่อนจะคำนวณหาค่า Linear combination กับค่าความน่าจะเป็นด้วย Sigmoid function เหมือนกับโหนดในวิธีการถดถอยโลจิสติกส์ แต่วิธีการโครงข่ายประสาทเทียมมีขั้นตอนการคำนวณที่ซับซ้อนกว่า เพราะมีจำนวนโหนดที่มากกว่า หลังจากนั้นจะนำผลลัพธ์ที่ได้จากทุกโหนดของชั้นจะส่งต่อเป็น input ให้กับชั้นผลลัพธ์และคำนวณหาค่าความน่าจะเป็น (Y) ที่มีค่าระหว่าง 0 ถึง 1 ดังแสดงใน Fig. 2(B) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าวิธีการโครงข่ายประสาทเทียมเป็นการคำนวณจากหลาย ๆ โหนด มีความซับซ้อนและสามารถจัดการกับความสัมพันธ์ของตัวแปรที่ไม่ใช่เชิงเส้นได้ดีกว่า รวมถึงสามารถเรียนรู้รูปแบบที่ซับซ้อนของข้อมูลและมีความยืดหยุ่นในการคำนวณที่สูงกว่าวิธีการถดถอยโลจิสติกส์ แต่อย่างไรก็ตามวิธีการโครงข่ายประสาทเทียม ก็จำเป็นต้องอาศัยจำนวนข้อมูล และทรัพยากรการคำนวณที่มากเพียงพอ (Evwiekpaefe et al., 2020)

4.2 ประเมินประสิทธิภาพและเปรียบเทียบประสิทธิภาพของแบบจำลองที่สร้างขึ้นด้วยวิธีการทดสอบแบบไขว้ที่แบ่งข้อมูลออกเป็น 10 ส่วน และทำซ้ำจำนวน 3 ซ้ำ (10-folds cross-validation with 3 replications) โดยใช้ค่าพารามิเตอร์สำหรับทดสอบประสิทธิภาพของแบบจำลอง ดังนี้

ค่าความถูกต้อง (Accuracy) คือ ร้อยละความถูกต้อง (จำนวนที่ทำนายถูก/จำนวนทั้งหมด) ตาม Equation 2

ความแม่นยำ (Precision) ความแม่นยำที่สดใจผลลัพธ์เทียบกับค่าจริง ตาม Equation 3

ค่าความระลึก (Recall) คือ ความแม่นยำที่สดใจผลลัพธ์เทียบกับค่าจริง ตาม Equation 4

ค่าความถ่วงดุล (F1-score) คือ ค่าเฉลี่ยของค่าความแม่นยำและค่าความระลึก ตาม Equation 5

โดยใช้ตาราง Confusion Matrix เป็นตารางที่ใช้ประเมินประสิทธิภาพของแบบจำลองการจำแนกคุณภาพน้ำนมโคดิบ ดังแสดงใน Fig. 3 และนำมาเปรียบเทียบเพื่อเป็นเกณฑ์ที่ใช้ในการพิจารณาแบบจำลองที่ให้ผลการจำแนกที่ดีที่สุด

Actual Class	Predicted Class	
	Positive (1)	Negative (0)
Positive (1)	True Positive (TP)	False Negative (FN)
Negative (0)	False Positive (FP)	True Negative (TN)

Fig. 3 Confusion Matrix

จาก Fig. 3 สามารถอธิบายได้ดังนี้

จำแนกถูกต้องสำหรับผลในทางบวก (True Positive; TP) = ผลการวิเคราะห์ที่เป็น 1 ตรงกับค่าจริงที่เป็น 1

จำแนกถูกต้องสำหรับผลในทางลบ (True Negative; TN) = ผลการวิเคราะห์ที่เป็น 0 ตรงกับค่าจริงที่เป็น 0

จำแนกผิดโดยให้ผลเป็นบวก (False Positive; FP) = ผลการวิเคราะห์ที่เป็น 1 ไม่ตรงกับค่าจริงที่เป็น 0

จำแนกผิดโดยให้ผลเป็นลบ (False Negative; FN) = ผลการวิเคราะห์ที่เป็น 0 ไม่ตรงกับค่าจริงที่เป็น 1

$$\text{Accuracy (\%)} = \frac{(\text{TN}+\text{TP})}{(\text{FN}+\text{TN}+\text{FP}+\text{TP})} \quad (2)$$

$$\text{Precition} = \left(\frac{\text{TP}}{\text{TP}+\text{FP}}\right) \quad (3)$$

$$\text{Recall} = \left(\frac{\text{TP}}{\text{TP}+\text{FN}}\right) \quad (4)$$

$$\text{F1} - \text{score} = 2\text{x}\left(\frac{\text{Precition x Recall}}{\text{Precition x Recall}}\right) \quad (5)$$

ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. ผลการออกแบบสอบถาม

คณะผู้วิจัยออกแบบสอบถามเพื่อสำรวจข้อมูลจากเกษตรกร โดยผลการออกแบบสอบถาม พบว่าในแบบสอบถามมีตัวแปรที่มีผลต่อคุณภาพน้ำนมโคดิบอยู่ จำนวน 70 ตัวแปร ดังนี้ ประสบการณ์การเลี้ยงโคนม (X_1) การฝึกอบรม (X_2) ระดับการศึกษา (X_3) สายพันธุ์แม่โคในฟาร์ม (X_4) ลักษณะเต้านม/หัวนมของแม่โครีดนมในฟาร์ม (X_5) แผลบริเวณเต้านม (X_6) วันคลอดถึงวันผสมติดเฉลี่ยภายในฟาร์ม (X_7) ขนาดของฟาร์ม (X_8) รูปแบบการเลี้ยงโคนม (X_9) ฟาร์มได้รับมาตรฐาน (Good Agricultural Practices; GAP) (X_{10}) ฟาร์มมีระบบการป้องกันโรคและเลี้ยงสัตว์ที่เหมาะสม (Good Farming Management; GFM) (X_{11})ระยะเวลาพักแม่โครีดนม (X_{12}) ระยะเวลารีดนมแม่โค 1 ตัว (X_{13}) แหล่งน้ำที่ใช้ในฟาร์ม (X_{14}) มีแปลงหญ้าสด (X_{15}) ให้หญ้าหมัก (X_{16}) ให้หญ้าแห้ง (X_{17}) ให้วัสดุทางการเกษตร (X_{18}) อาหารเลี้ยงโคนม อื่นๆ (X_{19}) จำนวนครั้งให้อาหารหยาบต่อวัน (X_{20}) ชนิดของอาหารข้น (X_{21}) จำนวนครั้งให้อาหารข้นต่อวัน (X_{22}) อาหารผสมสำเร็จรูป (TMR) (X_{23}) จำนวนครั้งให้อาหารTMR ต่อวัน (X_{24}) การเสริมแร่ธาตุให้แม่โครีดนม (X_{25}) วิธีการรีดนมของฟาร์ม (X_{26}) จำนวนครั้งรีดนมในฟาร์ม (X_{27}) รูปแบบการขนส่ง (X_{28}) ศูนย์รับน้ำนม (X_{29}) ระยะทางจากฟาร์มไปศูนย์รับน้ำนมดิบ (X_{30}) เวลาที่ใช้ในการขนส่ง (X_{31}) การเก็บรักษาน้ำนมโคดิบในฟาร์ม (X_{32}) โรคเต้านมอักเสบ (X_{33}) วิธีการรักษา

โรคเต้ามนมอักเสบในฟาร์ม (X_{34}) โรคแท้งติดต่อ (X_{35}) โรควัณโรคโค (X_{36}) โรคปากเท้าเปื่อย (X_{37}) โรคไข้สามวัน (X_{38}) โรคไข้เห็บ(X_{39}) โรคกระเพาะพลิก (X_{40}) โรคท้องอืดในโค (X_{41}) โรคกีบและเท้าอักเสบ (X_{42}) โรคลัมปีสกิน (X_{43}) สร้างโรงเรือนแยกสำหรับโคป่วย (X_{44}) มีการดูแลโคป่วย (X_{45}) ฉีดวัคซีนปากเท้าเปื่อย (X_{46}) ฉีดวัคซีนคอบวม (X_{47}) ฉีดวัคซีนแท้งติดต่อ (X_{48}) ถ่ายพยาธิให้โคนม (X_{49}) กำจัดสัตว์พาหะในฟาร์ม (X_{50}) ทำความสะอาดแม่โคก่อนรีดนม (X_{51}) ล้างและเช็ดเต้ามนมแม่โครีดนมทุกครั้งก่อนรีด (X_{52}) การใช้ผ้าทำความสะอาดแม่โครีดนม (X_{53}) ตรวจเต้านมทุกครั้งและนมต้นสายด้วย Strip Cup Test (X_{54}) ตรวจน้ำนมด้วยน้ำยา (CMT) (X_{55}) จุ่มล้างหัวนมหลังรีดนมเสร็จ (X_{56}) ปล่อยแม่โคให้ยืนหลังรีด 20 นาที (X_{57}) ให้อาหารระหว่างแม่โคยืนหลังรีดนม (X_{58}) ทำความสะอาดอุปกรณ์ที่สัมผัสกับนมหรือภาชนะที่ใส่นมเป็นประจำทุกวัน (X_{59}) ทำความสะอาดและเปลี่ยนอุปกรณ์หรือภาชนะที่ใส่น้ำนมประจำงวด (X_{60}) เปลี่ยนยางไลเนอร์ตามรอบ (6 เดือน/2,500 ครั้ง) (X_{61}) รอบการล้างท่อลม (X_{62}) แช่ ยางรีดนม (ไลเนอร์) ในสารละลายโซดาไฟ (X_{63}) ทำความสะอาดโรงรีดนมทุกครั้งก่อนและหลังรีด (X_{64}) ผู้รีดนมมีสุขภาพที่ดี ทำความสะอาดร่างกายก่อนการรีดนม (ตัดเล็บ, สวมรองเท้าบูธ, สวมกางเกงขายาว, สวมหมวก) (X_{65}) จัดลำดับการรีดนมของแม่โครีดนม (X_{66}) รีดนมแม่โคส่งศูนย์รับน้ำนมดิบหลังจากแม่โคคลอดผ่านไปแล้ว 5–7 วัน (X_{67}) มีบันทึกในฟาร์ม (X_{68}) ปริมาณน้ำนมโคดิบ (X_{69}) จำนวนแม่โครีดนม (X_{70})

2. ผลการรวบรวมข้อมูลและวิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้น

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการสัมภาษณ์เกษตรกร จำนวน 60 ราย ดังแสดงใน Table 1

Table 1 Number and percentage of farm size and somatic cell count

Farm size	Number	%
- Small (less than 20 cows)	18	70.00
- Medium (from 21 to 100 cows)	42	30.00
- Large (100 and more cows)	0	0.00
SCC		
- SCC < 500,000 cells/ml	26	43.33
- SCC ≥ 500, 000cells/ml	34	56.67

นอกจากนี้ได้พบว่าค่าเฉลี่ย (mean) ของ SCC มีค่าเท่ากับ 555,171.50 เซลล์ต่อมิลลิลิตร มีส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation; SD) เท่ากับ 257,243.92 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และจากการตรวจสอบการกระจายตัวของข้อมูล โดยพบว่า ชุดข้อมูล SCC ที่มาจากการสำรวจไม่มีข้อมูลที่มีค่าผิดปกติ (outlier)

3. ผลการคัดเลือกตัวแปรอิสระ

หลังจากการตรวจสอบความแปรปรวนของตัวแปรทั้งหมดจำนวน 70 ตัวแปร พบว่า มีตัวแปรอิสระจำนวน 5 ตัวแปร ที่มีค่าความแปรปรวนต่ำ จึงทำการนำ 5 ตัวแปร ดังกล่าวออกไป จากนั้น จึงได้นำตัวแปรที่เหลือจำนวน 65 ตัวแปรมาทำการทดสอบ Multicollinearity ด้วยการคำนวณหาค่า VIF จากนั้นพิจารณานำตัวแปรที่มีค่า VIF มากกว่า 5 ออกไป ซึ่งจากการวิเคราะห์พบว่า มีจำนวน 21 ตัวแปร ทำให้คงเหลือตัวแปรอิสระที่ส่งผลต่อ SCC จำนวน 44 ตัวแปร จากนั้นตรวจสอบค่าสัมประสิทธิสหสัมพันธ์ (correlation coefficient) ที่มีค่ามากกว่า 0.2 และน้อยกว่า -0.2 โดยพบว่า มีจำนวน 5 ตัวแปร ที่ส่งผลต่อปริมาณ SCC คือ ระยะเวลาพักแม่โครีดนม (X_{12}) ระยะเวลารีดนมแม่โค 1 ตัว (X_{13}) กำจัดสัตว์พาหะในฟาร์ม (X_{50}) ทำความสะอาดแม่โคก่อนรีดนม (X_{51}) และ แช่ ยางรีดนม (ไลเนอร์) ในสารละลายโซดาไฟ (X_{63})

โดยที่ (1) ระยะเวลาพักแม่โครีดนม (X_{12}) เป็นตัวแปรที่สอดคล้องกับ Dang et. al. (2008) ได้รายงานว่า แม่โคจะต้องมีระยะพักรีดนม 40 วัน เพื่อที่จะซ่อมแซมเซลล์น้ำนม และเป็นการลดปริมาณ SCC ในรอบการให้นมรอบถัดไป (2) ระยะเวลารีดนมแม่โค 1 ตัว (X_{13}) สอดคล้องกับ อาณัติ (2555) ที่ได้ศึกษาและสรุปว่า การทำงานของฮอร์โมนออกซิโตซินจะมีอิทธิพลต่อการหลั่งนมและจะลดปริมาณอย่างรวดเร็วจึงควรใช้เวลาไม่ควรเกิน 8 นาที ไม่เช่นนั้นจะเหลือนมค้างเต้า โดยหากรีดออกมาไม่หมดจะกลายเป็นแหล่งอาหารของเชื้อโรคที่เข้ามาเจริญและทำลายอวัยวะต่าง ๆ ในเต้านมเกิดเป็นโรคเต้านมอักเสบ (เสาร์ และสำรวย, 2556) ซึ่งผู้รีดจะต้องรีดน้ำนมให้หมดเต้าจึงจะช่วยลดภาวะเสี่ยงต่อการเป็นโรคเต้านมอักเสบ (3) กำจัดสัตว์พาหะในฟาร์ม (X_{50}) สอดคล้องกับ อรัญ (2554) ที่ได้ศึกษาและสรุปว่า การติดเชื้อโรคจากสิ่งแวดล้อมรอบตัวโคซึ่งอาจมาจากสัตว์พาหะเป็นสาเหตุของการเกิดโรคเต้านมอักเสบซึ่งเป็นสิ่งที่ส่งผลกับปริมาณ SCC (4) ทำความสะอาดแม่โคก่อนรีดนม (X_{51}) เป็นตัวแปรที่สอดคล้องกับ ศิริเกศ (2549) ที่ได้รายงานว่า การล้างทำความสะอาดแม่โคเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อค่าเฉลี่ยโซมาติกส์ในฟาร์มอย่างมีนัยสำคัญ และ (5) แช่ยางรีดนม (ไลเนอร์) ในสารละลายโซดาไฟ (X_{63}) สอดคล้องกับ บุณฑริกา และคณะ, (2558) ที่ได้รายงานว่า ปัจจัยทำความสะอาดแผ่นยางบุหัวรีด (ยางรีดนม) เป็นปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อโซมาติกเซลล์ในถังรวมของฟาร์มโคนม จากนั้นได้นำข้อมูลของตัวแปรจำนวน 5 ตัวแปรดังกล่าว มาทำการฝึกฝนและทดสอบระบบจำแนกคุณภาพน้ำนมดิบด้วยวิธีการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์และโครงข่ายประสาทเทียม

4. ผลการออกการออกแบบและพัฒนาแบบจำลองสำหรับจำแนกคุณภาพน้ำนมโคดิบด้วยวิธีการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์และโครงข่ายประสาทเทียม

Table 2 แสดงผลการทดสอบการจำแนกของแบบจำลอง โดยพบว่า วิธีการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์ให้ค่า Precision Recall และ F1-score ที่จำแนกไม่ผ่านเกณฑ์ (0) เท่ากับ 0.75 1.00 และ 0.86 ตามลำดับ และที่จำแนกผ่านเกณฑ์ (1) เท่ากับ 1.00 0.67 และ 0.80 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับวิธีการวิเคราะห์โครงข่ายประสาทเทียมที่จำแนกไม่ผ่านเกณฑ์ (0) เท่ากับ 0.00 0.00 และ 0.00 ตามลำดับ และที่จำแนกผ่านเกณฑ์ (1) เท่ากับ 0.92 1.00 และ 0.96 ตามลำดับ

Table 2 Results on Precision, Recall, F1-score, and accuracy of the developed model using logistic regression analysis and artificial neural network

Model	Logistic Regression Analysis				Artificial Neural Network			
	Precision	Recall	F1-score	support	Precision	Recall	F1-score	support
Class 0	0.75	1.00	0.86	6	0.00	0.00	0.00	1
Class 1	1.00	0.67	0.80	6	0.92	1.00	0.96	11
Accuracy			0.83	12			0.92	12
Macro avg	0.88	0.83	0.83	12	0.46	0.50	0.48	12
Weighted avg	0.88	0.83	0.83	12	0.84	0.92	0.88	12

5. ผลการทดสอบความถูกต้อง

การวัดประสิทธิภาพแบบจำลองที่นำมาใช้พิจารณาคือ ค่าความถูกต้องในการจำแนกของแบบจำลอง ซึ่งแสดงถึงความถูกต้องของการจำแนกได้ตรงกับความเป็นจริง โดยจะพิจารณาจากการจำแนกความถูกต้องรวม ดังแสดงใน Table 3

Table 3 Results on accuracy of designing and developing model by the method of logistic regression and artificial neural network

Model	Accuracy (%)		
	Training data set	Testing data set	average
Logistic Regression Analysis	64.33	83.33	73.83
Artificial Neural Network	70.00	92.00	81.00

จาก Table 3 พบว่า วิธีการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์และโครงข่ายประสาทเทียม ให้ค่าความถูกต้อง ร้อยละ 73.83 และ 81.00 ตามลำดับ ซึ่งวิธีการวิเคราะห์โครงข่ายประสาทเทียมให้ค่าความถูกต้องที่ดีกว่าวิธีการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์ ซึ่งเป็นในทิศทางเดียวกับค่า Weighted avg ของ Recall และ F1-score ของวิธีการวิเคราะห์โครงข่ายประสาทเทียมที่มีค่าสูงกว่าวิธีการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์ จะมีเพียงค่า Precision ที่วิธีการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์มีค่าสูงกว่าวิธีการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์ ดังที่แสดงใน Table 2

สรุป

งานวิจัยนี้ได้นำเสนอการออกแบบและพัฒนาแบบจำลองสำหรับจำแนกคุณภาพน้ำนมโคดิบด้วยค่าจำนวนโซมาติกเซลล์ด้วยวิธีการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์และโครงข่ายประสาทเทียม พบว่า ตัวแปรอิสระจำนวน 70 ตัวแปร มีผลต่อคุณภาพน้ำนมโคดิบ จึงวิเคราะห์เพื่อลดจำนวนตัวแปรด้วยการตรวจสอบความแปรปรวน พิจารณาค่า VIF และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ พบว่า ตัวแปรอิสระจำนวน 5 ตัวแปร มีความสัมพันธ์กับค่า SCC จึงนำข้อมูลของทั้ง 5 ตัวแปรมาใช้ในการฝึกฝนและทดสอบระบบจำแนกคุณภาพน้ำนมดิบด้วยวิธีการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์และโครงข่ายประสาทเทียม พบว่า แบบจำลองที่พัฒนาขึ้นสามารถจำแนกคุณภาพน้ำนมโคดิบด้วยค่าจำนวนโซมาติกเซลล์อย่างถูกต้อง โดยแบบจำลองโครงข่ายประสาทเทียมให้ค่าความถูกต้องในการจำแนกคุณภาพน้ำนมโคดิบเท่ากับร้อยละ 81.00 ซึ่งสูงกว่าแบบจำลองที่พัฒนาขึ้นด้วยวิธีการวิเคราะห์การถดถอยโลจิสติกส์ที่ให้ค่าความถูกต้องในการจำแนกคุณภาพน้ำนมโคดิบเท่ากับร้อยละ 73.85 การศึกษาในครั้งนี้เป็นการแสดงให้เห็นถึงประโยชน์ที่ได้จากการคัดเลือกคุณลักษณะ (feature selection) เพื่อลดจำนวนตัวแปรอิสระด้วยวิธีการทางสถิติ และการนำชุดข้อมูลของตัวแปรอิสระที่คัดเลือกแล้วมาทำการเรียนรู้ด้วยเครื่อง (machine learning) ที่ยังคงให้ค่าความถูกต้องที่ใกล้เคียงกับแบบจำลองที่สร้างขึ้นจากตัวแปรอิสระทั้งหมดจำนวน 70 ตัวแปร ที่ให้ค่าความถูกต้องเท่ากับร้อยละ 89.50 และร้อยละ 91.00 สำหรับวิธีการถดถอยโลจิสติกส์ และวิธีการโครงข่ายประสาทเทียม ตามลำดับ ดังนั้นแบบจำลองที่ได้จากการศึกษาในครั้งนี้สามารถนำไปใช้เป็นเครื่องมือที่ช่วยในการบริหารจัดการฟาร์มเพื่อให้ได้น้ำนมโคดิบที่มีคุณภาพตามมาตรฐานที่กำหนดได้ อย่างไรก็ตามควรทำการสำรวจและเก็บข้อมูลเพิ่มเติมเพื่อนำมาวิเคราะห์และใช้ในการปรับปรุงแบบจำลองเพื่อให้ได้ค่าความถูกต้องที่สูงขึ้นต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ สหกรณ์โคนมมวกเหล็ก จำกัด จังหวัดสระบุรี และเกษตรกรที่เป็นสมาชิกของสหกรณ์ที่อนุญาตให้คณะผู้วิจัยได้เข้าสัมภาษณ์ ให้ความอนุเคราะห์เอื้อเฟื้อข้อมูล และอำนวยความสะดวกระหว่างการรวบรวมข้อมูลตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษา

เอกสารอ้างอิง

กัมพล กมลรัตน์ธาดา. 2553. ระบบสัญญาณเตือนภัยล่วงหน้าทางการเงิน: การเปรียบเทียบระหว่างวิธีการถดถอยโลจิสติกส์และโครงข่ายประสาทเทียม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กรมปศุสัตว์. 2565. ข้อมูลเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนม รายจังหวัด ปี 2565. https://ict.dld.go.th/webnew/images/stories/stat_web/yearly/2565/province/T3-1-Dairy.pdf, 5 ธันวาคม 2566.

กัลยา วานิชย์บัญชา. 2551. การวิเคราะห์ข้อมูลหลายตัวแปร พิมพ์ครั้งที่ 3. สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร.

ธนาวุฒิ ประกอบผล. 2552. โครงข่ายประสาทเทียม. วารสาร มฉก.วิชาการ 12: 73–87.

บุณฑริกา กระจ่างวงษ์, สุวิชา เกษมสุวรรณ, วราพร พิมพ์ประไพ. 2558. ความชุกและปัจจัยเสี่ยงที่สัมพันธ์กับจำนวนเซลล์โซมาติกในถังรวมน้ำนมดิบมากกว่า 500,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตรของฟาร์มโคนมในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์. วารสารสัตวแพทย์ 25: 205–114

ประวีร์ วิชชุลตา, เนาวรัตน์ กำภูศิริ. 2556. มาตรฐานคุณภาพน้ำนมดิบของประเทศไทยกับประเทศคู่ค้า. Food Focus Thailand Magazine 87: 86–89

ฤทัยรัตน์ ผจญไพรี, สิรินทร์พร สินธุวณิชย์, ศศิธร นาคทอง, ธีระ รักความสุข. 2553. การใช้จำนวนเซลล์โซมาติกในการประเมินปัจจัยด้านการรีดนมและการจัดการฟาร์มในฟาร์มโคนมของสหกรณ์โคนมท่าม่วง. Naresuan University Journal: Science and Technology 18: 74–79

สหกรณ์โคนมมวกเหล็ก จำกัด, จ.สระบุรี. 2548. ระเบียบสหกรณ์โคนมมวกเหล็ก จำกัด ว่าด้วยการให้ราคาน้ำนมดิบ พ.ศ. 2548.

เสาร์ ศิวิจชัย, สำรวย เรือนศรี. 2556. การรีดนมและเครื่องรีดนม (Milking and Milking Machine. ใน: กองพัฒนาการเลี้ยงโคนม องค์การส่งเสริมกิจการการเลี้ยงโคนมแห่งประเทศไทย (บรรณาธิการ). คู่มือการเลี้ยงโคนม, ฉบับปรับปรุงครั้งที่ 8. องค์การส่งเสริมกิจการการเลี้ยงโคนมแห่งประเทศไทย. สระบุรี, หน้า 117–148.

ศุภณิดา สุระวงศ์, ธัชฎาพร ไชยคุณ, ศุกลรัตน์ บุณยยาตรา, ขวัญชาย เครือสุคนธ์, วิทยา สุริยาสถาพร. 2548. ปัจจัยที่สัมพันธ์กับปริมาณเซลล์โซมาติกในน้ำนมของแม่โคระยะท้ายการรีดนม. เชียงใหม่สัตวแพทยสาร 3: 43–53.

อรัญ จันทร์ลุน. 2554. เครื่องรีดนมกับปัญหาโรคเต้านมอักเสบ. https://vet.kku.ac.th/aran/data/clinic4_2554/06–mastitis.pdf, 1 ธันวาคม 2566

อรัญ จันทร์ลุน. 2554. โซมาติกเซลล์ (Somatic cell). https://vet.kku.ac.th/aran/data/clinic4_2554/02-SCC%202552.pdf, 1 ธันวาคม 2566

อาณัติ จันทร์ถิระติกุล. 2555. การผลิตโคนม. มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. มหาสารคาม.

Dang, A.K., Kapila, S., Singh, C., Sehgal, J.P. 2008. Milk differential cell counts and compositional changes in cows during different physiological stages. Milchwissenschaft. 63: 239–242.

Evwiekpaefe, A.E., Bitrus, E. Ajakaiye, F. 2020. Selecting forward players in a football team using artificial neural networks. Int. J. Comput. Appl. 176, 8–13.

การสำรวจความหลากชนิดและการแพร่กระจายปูนาในประเทศไทย

A preliminary survey on rice-field crabs diversity and distribution in Thailand

กมลชนก วงศ์อิสรกุล[a,*], **รัชนีวรรณ สุมิตรากิจ**[a], **พันธุ์ทิพย์ วิเศษพงษ์พันธ์**[b], **เรืองฤทธิ์ พรหมดำ**[c]

Kamonchanok Wongissarakul [a,*], Ratchaneewarn Sumitrakij[a], Puntip Wisespongpand [b], Rueangrit Promdam[c]

[a]สำนักวิชาการพิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา องค์การพิพิธภัณฑ์วิทยาศาสตร์แห่งชาติ ปทุมธานี 12120

[b]ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[c]พิพิธภัณฑสถานธรรมชาติวิทยา ๕๐ พรรษา สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ สงขลา 90110

[a]Office of Natural Science Research, National Science Museum, Pathumthani 12120, Thailand

[b]Department of Marine Science, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

[c]Princess Maha Chakri Sirindhorn Natural History Museum, Prince of Songkla University, Songkla 90110, Thailand

*Corresponding author. Email address: kamonchanok@nsm.or.th

บทคัดย่อ

ปูนาเป็นปูน้ำจืดพบขุดรูอาศัยในพื้นที่ราบลุ่ม นาข้าว ลำน้ำหรือคลองสาขาและในถ้ำ จากการเก็บรวบรวมตัวอย่างตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2565–มกราคม 2566 และ มิถุนายน–ตุลาคม 2566 ครอบคลุม 33 จังหวัด ในพื้นที่ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันออกของประเทศไทย โดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและลักษณะอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ในการระบุชนิด พบปูนา 2 สกุล 9 ชนิด ดังนี้ *Sayamia bangkokensis*, *Sayamia germaini*, *Sayamia sexpunctata*, *Esanthelphusa chiangmai*, *Esanthelphusa denchaii*, *Esanthelphusa fangensis*, *Esanthelphusa nani*, *Esanthelphusa dugasti* และ *Esanthelphusa* sp. ปูนา *S. germaini* มีการแพร่กระจายกว้างที่สุด นอกจากนี้ยังพบการแพร่กระจายพื้นที่ใหม่ของปูนา *S. bangkokensis* และ *S. germaini* ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ผลจากการศึกษาครั้งนี้นำมาซึ่งองค์ความรู้พื้นฐานต่อการศึกษาและอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพของทรัพยากรธรรมชาติในประเทศไทย

คำสำคัญ: การแพร่กระจาย, ความหลากชนิด, ปูนา, ปูนาสยาม, ปูนาอีสาน

Abstract

Rice-field crabs are freshwater crabs, dwelling inside muddy burrows along wetland areas, rice fields, streams, or canals adjacent to rice field and in caves. Specimens are collected during June 2022–January 2023 and June–October 2023 covering 33 provinces in the northern, central, northeastern, and eastern regions of Thailand. The rice-field crabs are identified by the morphological characters and shape of male gonopods. As a result, two genera and nine species are found as follows: *Sayamia bangkokensis*, *Sayamia germaini*, *Sayamia sexpunctata*, *Esanthelphusa chiangmai*, *Esanthelphusa denchaii*, *Esanthelphusa fangensis*, *Esanthelphusa nani*, *Esanthelphusa dugasti* and *Esanthelphusa* sp. The most widely distribution is *S. germaini*. In addition, an extended distribution areas for *S. bangkokensis* and *S. germaini* are found in northeastern region. The results of this study provide essential information for the research and conservation of biodiversity in natural resources in Thailand.

Keywords: Distribution, Diversity, *Esanthelphusa*, Rice-field crab, *Sayamia*, Thailand

คำนำ

ปูนาเป็นปูน้ำจืดที่ดำรงชีวิตด้วยการขุดรูและอาศัยได้หลากหลายแหล่งอาศัยไม่ว่าจะเป็นในพื้นที่ราบลุ่ม นาข้าว ลำน้ำหรือคลองสาขา และในถ้ำ (Promdam et al., 2022) ปูนาจึงมีบทบาทสำคัญต่อระบบนิเวศด้วยการเป็นผู้ให้บริการทางนิเวศ จากกิจกรรมการขุดรูเป็นการเติมออกซิเจนให้กับดินที่อยู่ชั้นล่าง ทำให้ดินเหล่านั้นเกิดการย่อยสลายดี ปูนายังเป็นอาหารที่อยู่คู่กับวัฒนธรรมการกินของประเทศไทยมานาน (สัญญา, 2545) นอกจากนี้ ปูนายังเป็นพาหะของโรคพยาธิใบไม้ปอดหากรับประทานปูนาแบบดิบหรือกึ่งสุกกึ่งดิบที่มีตัวอ่อนของพยาธิอาศัยอยู่ (ธารารัตน์ และธนพล, 2564)

ปัจจุบันประเทศไทยมีรายงานพบปูนาทั้งหมด 1 วงศ์ 2 สกุล 11 ชนิด จากทั้งหมด 14 ชนิดทั่วโลก ในจำนวนดังกล่าวพบว่าปูนา 9 ชนิดเป็นปูนาเฉพาะถิ่นที่มีรายงานพบในประเทศไทยเท่านั้น (Naiyanetr, 2007) ทำให้ประเทศไทยเป็นแหล่งแพร่กระจายและแหล่งพันธุกรรมที่สำคัญของปูนา แต่อย่างไรก็ตามปูนาเป็นสัตว์ศัตรูพืชที่ทำให้ต้นข้าวเกิดความเสียหาย เกษตรกรจึงใช้สารเคมีในการกำจัดปูนา และบางพื้นที่นิยมจับปูนามาบริโภคและแปรรูปอาหารหลากหลายรูปแบบ ทำให้ปูนาเหลือน้อยลงในธรรมชาติ ซึ่งอาจส่งผลให้ความหลากหลายทางชีวภาพของปูนาลดลง

แม้ว่าเคยมีผู้ศึกษาความหลากชนิดและอนุกรมวิธานของปูนาในประเทศไทยมาแล้ว แต่การศึกษาส่วนใหญ่เป็นการศึกษาเฉพาะพื้นที่และขาดความต่อเนื่องและข้อมูลการแพร่กระจาย โดยปูนาแพร่กระจายกว้างทั่วประเทศไทย บางชนิดแพร่กระจายซ้อนทับกันและมีลักษณะสัณฐานวิทยาที่คล้ายคลึงกันมาก จึงเกิดความสับสนและนำไปสู่ความผิดพลาดในการจำแนกชนิด จนอาจส่งผลกระทบต่อสถานะและฐานข้อมูลความหลากหลายทางชีวภาพของสิ่งมีชีวิตประเทศไทย ดังนั้น จึงทำการศึกษาความหลากชนิดและการแพร่กระจายของปูนาในประเทศไทย โดยองค์ความรู้ที่ได้จะเป็นประโยชน์ต่อการอนุรักษ์ความหลากหลายทางชีวภาพของทรัพยากรพันธุกรรมปูในประเทศไทย ซึ่งเป็นรากฐานสำคัญต่อการศึกษาต่อยอดไม่ว่าจะเป็นด้านการเพาะเลี้ยงเพื่อพัฒนาสู่การเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจและด้านการแพทย์

อุปกรณ์และวิธีการ

พื้นที่เก็บตัวอย่าง

เก็บรวบรวมตัวอย่างในพื้นที่นาข้าวและแหล่งน้ำบริเวณใกล้เคียง ซึ่งเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของปูนาระหว่างเดือนมิถุนายน 2565–มกราคม 2566 และมิถุนายน–ตุลาคม 2566 ครอบคลุม 33 จังหวัด ในพื้นที่ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันออกของประเทศไทย

วิธีการเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างโดยเสียมแซะขุดรูปูตามคันนา ใช้สวิงมือช้อนตามแหล่งน้ำในท้องนา เนื่องจากปูนาออกหาอาหารในเวลากลางคืนจึงเดินสำรวจและเก็บตัวอย่างด้วยมือเปล่าในเวลากลางคืน ตั้งแต่เวลา 20.00–00.00 น. นอกจากนี้เก็บตัวอย่างจากตลาดสดท้องถิ่นที่ชาวบ้านจับปูนาในพื้นที่นาของตัวเองพร้อมทั้งสอบถามข้อมูลแหล่งที่เก็บและวิธีการเก็บตัวอย่างอย่างละเอียด (Fig. 1)

(A) (B) (C)



Fig. 1 Specimens collecting (A); Digging crab in levee (B); Lifting from small canal (C); Fresh specimens caught in local market

การศึกษาและการจำแนกชนิดตามหลักอนุกรมวิธาน

ตัวอย่างปูนาที่รวบรวมได้ถูกสลบด้วยวิธีการลดอุณหภูมิ จากนั้นนำมาล้างทำความสะอาด บันทึกภาพ ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา คงสภาพด้วย 70% แอลกอฮอล์และเก็บรักษาถาวรในพิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา องค์การพิพิธภัณฑ์วิทยาศาสตร์แห่งชาติ (THNHM)

จำแนกชนิดปูโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของกระดอง ส่วนท้อง และอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้คู่ที่ 1 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์สเตอริโอ ตามวิธีการจำแนกชนิดของ Chuensri (1974), Ng (1988), Ng and Naiyanetr (1993) และ Naiyanetr (1994) และศึกษาตัวอย่างปูนาที่ถูกเก็บรักษาไว้ในพิพิธภัณฑ์ธรรมชาติวิทยา องค์การพิพิธภัณฑ์วิทยาศาสตร์แห่งชาติ (THNHM) ตำบลคลองห้า อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2565–มกราคม 2566 และมิถุนายน–ตุลาคม 2566 ครอบคลุม 33 จังหวัด ในพื้นที่ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันออกของประเทศไทย จำนวน 1,028 ตัวอย่าง พบความหลากชนิดของปูนา 2 สกุล 9 ชนิด (Table 1) ซึ่งปูนา *Sayamia germaini* (Fig. 3B) แพร่กระจายทั้งในพื้นที่ของภาคเหนือ ภาคกลาง และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ปูนาชนิดนี้มีรายงานการแพร่กระจายทั่วในเขตภูมิภาคอินโดจีน นอกจากพบในประเทศไทยแล้ว ยังสามารถพบได้ในประเทศเวียดนาม กัมพูชาและมาเลเซีย (Shih et al., 2011)

เมื่อพิจารณาการแพร่กระจายของปูนาในแต่ละพื้นที่ พบการแพร่กระจายที่แตกต่างกัน โดยภาคเหนือพบความหลากชนิดของปูนา 2 สกุล 7 ชนิด รองลงมาคือภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคกลาง โดยพบปูนา 2 สกุล 4 ชนิด และ 1 สกุล 2 ชนิด ตามลำดับ ในขณะที่ภาคตะวันออกพบปูนาเพียง 1 สกุล 1 ชนิด ซึ่งสาเหตุที่ส่งผลต่อการแพร่กระจายของปูนาในแต่ละภูมิภาคคือลักษณะทางภูมิศาสตร์ของแต่ละภูมิภาคในประเทศไทยไม่เหมือนกัน โดยภาคเหนือมีเทือกเขาสลับซับซ้อนกว่าและแม่น้ำหลายสายจึงทำให้มีความหลากชนิดของปูนามากกว่าภูมิภาคอื่น นอกจากนี้ปูนาสกุล *Esanthelphusa* ที่พบในภาคเหนือทุกชนิดล้วนเป็นปูนาที่พบเฉพาะถิ่น โดย *E. chiangmai* (Fig. 2A) พบในจังหวัดเชียงใหม่และลำพูน *E. denchaii* (Fig. 2B) พบในจังหวัดแพร่ *E. fangensis* (Fig. 2D) พบในจังหวัดลำปาง และ *E. nani* (Fig. 2E) พบในจังหวัดน่าน ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ ถวิล (2533) และ Naiyanetr (2007) จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างสามารถพบปูนาเฉพาะถิ่นทั้ง 4 ชนิดนี้ในแหล่งอาศัยที่เป็นทุ่งนาที่ล้อมรอบด้วยภูเขา โดยเทือกเขาต่าง ๆ

ที่ขวางกั้นในแต่ละพื้นที่เป็นปัจจัยที่ขวางกั้นการแพร่กระจายของปูนา สำหรับปูนา *S. bangkokensis* (Fig. 3A) และ *S. germaini* พบอาศัยในทุ่งนาที่เป็นพื้นที่ลุ่ม ซึ่งผลการศึกษานี้สามารถใช้ปูนาเป็นสิ่งมีชีวิตบ่งชี้ที่แสดงความสัมพันธ์ทางภูมิศาสตร์ของประเทศไทยได้

Table 1 Species and distribution of rice-field crab from this study

Species	Vernacular name	Distribution (Province)			
		Northern	Central	Northeastern	Eastern
Family Gecarcinucidae					
Esanthelphusa chiangmai (Ng & Naiyanetr, 1993)	ปูนาเชียงใหม่	Chiang Mai Lamphun			
E. denchaii (Naiyanetr, 1984)	ปูนาเด่นชัย	Phrae			
E. dugasti (Rathbun, 1902)	ปูนาดูกัส			Nakhon Phanom Mukdahan Sakon nakhon	
E. fangensis (Naiyanetr, 1987)	ปูนาฝาง	Lamphang			
E. nani (Naiyanetr, 1984)	ปูนาน่าน	Nan			
Esanthelphusa sp.	ปูนาอีสาน	Phetchabun		Udonthani Nongkai Khon Kaen Maha Sarakham Surin Nong Bua Lamphu Si Sa Ket Ubon Ratchathani Kalasin Roi Et Yasothon	
Sayamia bangkokensis (Naiyanetr, 1982)	ปูนากรุงเทพ	Chiang Mai Lamphun Phrae Uttaradit Phitsanulok	Chai nat Pathumthani Nakon Sawan	Nong Khai Nong Bua Lamphu	
S. germaini (Rathbun, 1902)	ปูนาม่วง	Chiang Rai Lampang Lamphun Phayao Nan Phetchabun	Lop buri Saraburi Nakhon Nayok Pathumthani Samut sakhon Nakhon Pathom Ratchaburi	Loei	
S. sexpunctata (Lanchester, 1906)	ปูนาก้ามขาว				Chanthaburi Sa Kaeo Prachin buri

ในการสำรวจและเก็บตัวอย่างปูนาในภาคตะวันออกเฉียงเหนือในครั้งนี้ พบปูนา 4 ชนิด โดย *E. dugasti* (Fig. 3C) นั้นพบแพร่กระจายในจังหวัดนครพนม มุกดาหารและสกลนคร ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ ถวิล (2533), Naiyanetr (2007) และจิตรลดา (2553) โดยปูนาชนิดนี้เป็นปูนาเฉพาะถิ่นที่ในขณะนี้มีรายงานพบในจังหวัดนครพนม มุกดาหารและสกลนครเท่านั้น เมื่อเปรียบเทียบกับ Naiyanetr (2007) ซึ่งได้รายงานชนิดปูนาที่พบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือไว้เพียง 1 ชนิด แต่ในการศึกษาครั้งนี้พบปูนา *S. bangkokensis* และ *S. germaini* แพร่กระจายในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ซึ่งเป็นรายงานใหม่ของปูนาที่พบในภูมิภาคอีกด้วย



Fig. 2 Species diversity of rice-field crab from this study; *Esanthelphusa chiangmai* (A); *E. denchaii* (B); *E. dugasti* (C); *E. fangensis* (D); *E. nani* (E); *E.* sp (F). Scale bar: 1.0 cm

จากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาปูนา *Esanthelphusa* sp. (Fig. 2F) ยังไม่สามารถระบุชนิดได้ เนื่องจากลักษณะสัณฐานวิทยาและอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้นั้นแตกต่างจาก *E. dugasti* ชัดเจน จากการตรวจสอบอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ของปูนา *E.* sp พบว่ามีความคล้ายคลึงกับ *E. nimoafi* แต่ปูนาชนิดนี้มีการแพร่กระจายในประเทศลาว (Yeo, 2004)

ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาในบริเวณภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น การศึกษาของ Ponchunchoovong (2006) และเอกพล และพันธุ์ทิพย์ (2553) ที่พบปูนา *Esanthelphusa* spp. ที่ไม่สามารถระบุชนิดได้ถึง 6 และ 8 ชนิด ตามลำดับ จากการเปรียบเทียบส่วนปลายของอวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ที่ได้จากพื้นที่เดียวของการศึกษาครั้งนี้ พบว่าเป็นความผันแปรของลักษณะดังกล่าว โดยคาดว่าอาจจะเป็นปูนารายงานใหม่ประเทศไทย อย่างไรก็ตามต้องมีการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาเพิ่มเติมของปูนาชนิดนี้อย่างละเอียด รวมไปถึงศึกษาในระดับพันธุกรรมเพื่อจะได้ระบุชนิดได้อย่างถูกต้อง

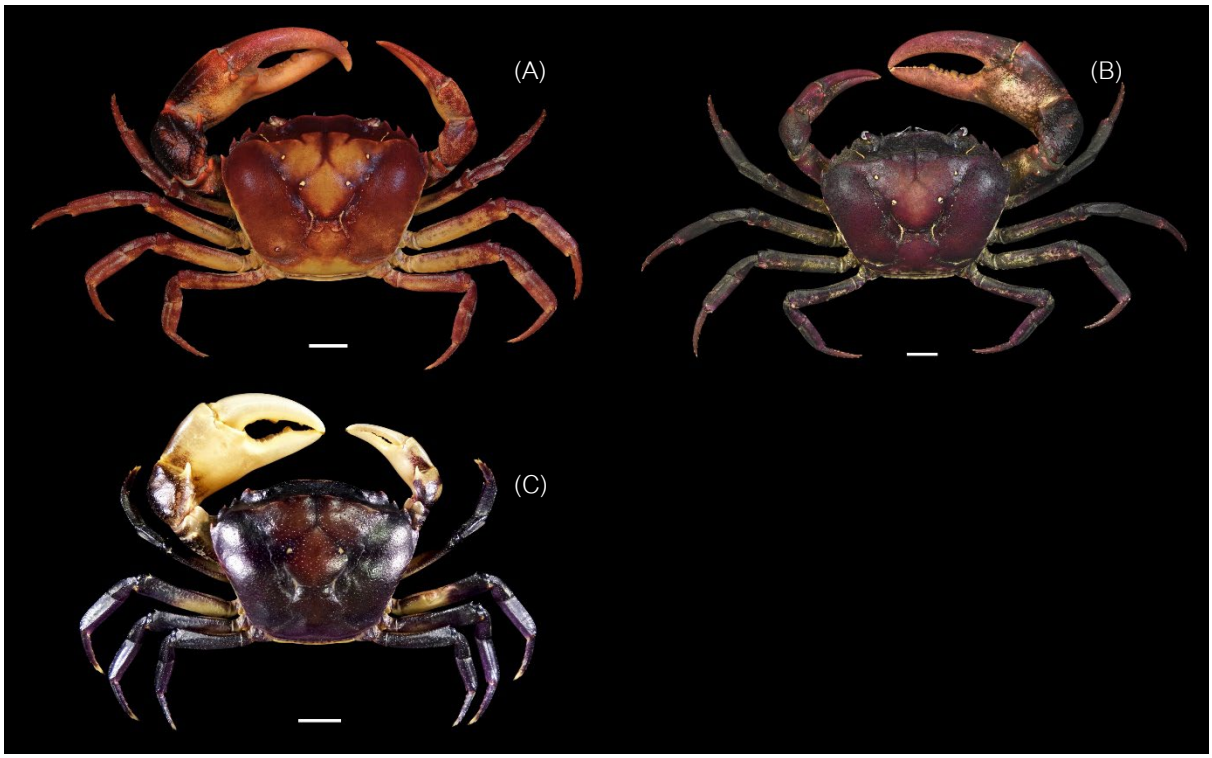


Fig. 3 Species diversity of rice-field crab from this study; *Sayamia bangkokensis* (A); *S. germaini* (B); *S. sexpunctata* (C). Scale bar: 1.0 cm

ภาคกลางมีลักษณะภูมิประเทศเป็นพื้นที่ราบลุ่ม สภาพแหล่งอาศัยของปูนาจึงไม่หลากหลาย ในการศึกษาครั้งนี้พบปูนา 2 ชนิด คือ *S. bangkokensis* และ *S. germaini* ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษา ถวิล (2533) และ Naiyanetr (2007) ในการศึกษาครั้งนี้พบปูนา *S. sexpunctata* (Fig. 3C) ในพื้นที่ภาคตะวันออกเท่านั้น เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาของ Ng (1988), Ng and Naiyanetr (1993) และ Naiyanetr (2007) ที่ได้รายงานการแพร่กระจายของปูนาชนิดนี้ในภาคกลาง ภาคตะวันตก และภาคใต้ของประเทศไทยด้วย ดังนั้นจึงควรศึกษาในพื้นที่ดังกล่าวเพิ่มเติมเพื่อให้ได้ข้อมูลการแพร่กระจายของปูนาที่สมบูรณ์ในประเทศไทย

สรุป

สำรวจและเก็บรวบรวมตัวอย่างตั้งแต่เดือนมิถุนายน 2565–มกราคม 2566 และมิถุนายน–ตุลาคม 2566 ในพื้นที่ภาคเหนือ ภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันออกของประเทศไทย จากจำนวนตัวอย่างทั้งสิ้น 1,028 ตัวอย่าง จำแนกชนิดปูนา 2 สกุล 9 ชนิด ปูนา *S. germaini* เป็นปูนาที่มีการแพร่กระจายกว้างที่สุดและภาคเหนือพบความหลากชนิดของปูนาสูงที่สุด ควรศึกษาเพิ่มเติมให้ครอบคลุมทุกพื้นที่ในประเทศไทย รวมทั้งศึกษาในระดับโมเลกุลเพื่อให้สามารถระบุชนิดปูนาในประเทศไทยได้อย่างถูกต้อง จะนำมาซึ่งองค์ความรู้ของความหลากหลายทางชีวภาพของปูนาไทย ซึ่งส่วนใหญ่เป็นปูนาประจำถิ่นและแพร่กระจายในประเทศไทย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยการศึกษาความหลากชนิดของปูนาในประเทศไทย โดยได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ประจำปีงบประมาณ 2565–2566 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณองค์การพิพิธภัณฑ์วิทยาศาสตร์แห่งชาติ (อพวช.) ที่ให้การสนับสนุนในการดำเนินงานวิจัย และขอขอบคุณนักวิชาการ อพวช. ทุกท่านที่ช่วยเก็บรวบรวมตัวอย่างในการปฏิบัติภาคสนาม

เอกสารอ้างอิง

จิตรลดา แก้วคำแสน. 2553. ความสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการเชิงโมเลกุลของปูนา. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ถวิล ประมวล. 2533. อนุกรมวิธานของปูนาและลักษณะของโกโนพอด, โอมาติเดีย โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ธารารัตน์ หนูนุ่ม, ธนพล อยู่เย็น. 2564. การระบุชนิดปลิงน้ำจืดที่พบในปูนาในพื้นที่ตำบลลานข่อย อำเภอป่าพะยอม จังหวัดพัทลุง. ใน: รายงานการประชุมวิชาการระดับชาติครั้งที่ 11. วิทยาลัยเทคโนโลยีภาคใต้. นครศรีธรรมราช, หน้า 31–37.

สัญญา ศุภจันทรา. 2545. อนุกรมวิธานของปูน้ำจืดในภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เอกพล วังคะฮาต, พันธุ์ทิพย์ วิเศษพงษ์พันธุ์. 2553. การศึกษาเบื้องต้นของความหลากชนิดและการแพร่กระจายของปูนาในเขตพื้นที่จังหวัดมหาสารคาม. ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ, หน้า 159–166.

Chuensri, C. 1974. Freshwater crabs of Thailand. J. Fish. Environ. 7: 12–40.

Naiyanetr, P. 1994. On three genera of Thai ricefield crabs allied to *Somanniathelphusa* Bott, 1968 (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Parathelphusidae). Raffles Bulletin of Zoology 42(3): 695–700.

Naiyanetr, P. 2007. Checklist of Crustaceans fauna in Thailand (Decapoda, Stomatopoda, Anostraca, Myodocopa and Isopoda). Office of Natural Resources and Environmental Policy and Planning. Bangkok, Thailand.

Ng, P.K.L. 1988. The Freshwater Crabs of Peninsular Malaysia and Singapore. Department of Zoology, National University of Singapore, Shinglee Press. Singapore.

Ng, P.K.L., Naiyanetr, P. 1993. New and recently described freshwater crabs (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Potamidae, Gecarcinucidae and Parathelphusidae) from Thailand. Zool. Verh. 824: 1–117.

Ponchunchoovong, S. 2006. Species identification of thai rice-field crab in the lower north-eastern region of Thailand. Suranaree J. Sci. Technol. 13: 245–249.

Promdam, R., Martin, E., Jantarit, S. 2022. Brachyuran crabs (Crustacea: Decapoda) in the limestone caves of Thailand, with a checklist of freshwater cave-dwelling crabs in Southeast Asia. Edaphologia. 110: 1–17. doi.org/10.20695/edaphologia.110.0_1

Shih, H–T., Shy, J–Y., Naruse, T., Hung, H. –T., Yeo, D., Ng, P.K.L. 2011. Introduction of an indochinese freshwater crab *Sayamia germaini* (Crustacea: Brachyura: Gecarcinucidae) to Taiwan: Morphological and molecular evidence. Raffles Bull. Zool. 59(1): 83–90.

Yeo, D.C. 2004. A new species of *Esanthelphusa* (Crustacea: Brachyura: Parathelphusidae) from Laos, and a redescription of Potamon (Parathelphusa) dugasti Rathbun, 1902. Raffles Bull. Zool. 52: 219–226.

สาขาสัตวแพทยศาสตร์

(Subject: Veterinary Medicine)

ภาคบรรยาย

(Oral Presentation)

การตรวจหาและศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสในไก่ไข่ในจังหวัดฉะเชิงเทราและนครปฐม

Detection and genetic characterization of Avian Metapneumovirus in layers in Chachoengsao and Nakorn Pathom Provinces

ณัฐชยา สัตยะพงษ์พันธุ์[a,*], สุดารัตน์ วรรณรัตน์[a], ฉัตรนภา จันทร์มีเทศ[b],นันทนา โสดา[b], วิไลรัตน์ ฉ่ำสิงห์[c], มานะกร สุขมาก[c], เกรียงไกร วิฑูรย์เสถียร[c]

Natchaya Satayaphongpan[a,*], Sudarat Wanarat[a], Chatnapa Janmeethat[b],Nantana Soda[b] , Wilairat Chumsing[c], Manakorn Sukmak[c], Kriangkrai Witoonsatian[c]

[a]สาขาวิชาคลินิกศึกษาทางสัตวแพทย์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

[b]ศูนย์ชันสูตรโรคสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

[c]ภาควิชาเวชศาสตร์และทรัพยากรการผลิตสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

[a]Veterinary clinical studies, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University Kampang Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

[b]Kamphaeng Saen Diagnostic Center, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Nakhon Pathom 73140, Thailand

[c]Department of Farm Resources and Production Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University Kampang Saen Campus), Nakhon Pathom 73140

*Corresponding author. Email address: Natchaya.sata@ku.th

บทคัดย่อ

เชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัส (Avian metapneumovirus) เป็นสาเหตุของโรคเยื่อจมูกและหลอดลมอักเสบติดต่อในสัตว์ปีก จัดเป็นโรคในระบบทางเดินหายใจที่สำคัญ ไก่ป่วยจะพบลักษณะหัวบวม ไอ จาม น้ำมูกไหล เยื่อบุตาอักเสบ ซึม และเบื่ออาหาร ในไก่ระยะไข่จะส่งผลให้ผลผลิตไข่ลดลง เปลือกไข่บางหรือสีซีด ก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจอย่างมากในหลายประเทศทั่วโลก ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาครั้งนี้เพื่อตรวจหาเชื้อและศึกษาลักษณะของสารพันธุกรรมของเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสในไก่ไข่ในจังหวัดฉะเชิงเทราและนครปฐม ตัวอย่างจากการป้ายสำลีในหลอดลม (Tracheal swab) จำนวน 28 ตัวอย่างจากฟาร์มไก่ไข่ที่ไม่มีประวัติการให้วัคซีนต่อเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสในจังหวัดฉะเชิงเทราและนครปฐมจำนวน 4 ฟาร์ม ระหว่างเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2565–พฤศจิกายน พ.ศ. 2566 ถูกนำมาตรวจหายีนไกลโคโปรตีนจี (G glycoprotein) ของเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสด้วยวิธี nested reverse transcription - polymerase chain reaction และยืนยันซับไทป์จากลำดับสารพันธุกรรมของยีนไกลโคโปรตีนจี ผลการศึกษาพบเฉพาะเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสซับไทป์บี ในฟาร์มทั้ง 4 ฟาร์ม (ร้อยละ 100) เป็นจำนวน 15 ตัวอย่าง (ร้อยละ 53.6) พบความเหมือนของสารพันธุกรรมระหว่างเชื้อที่พบกับวัคซีนที่ใช้ในประเทศไทยเท่ากับร้อยละ 96.5–99.6 ซึ่งใกล้เคียงกับเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสสายพันธุ์วัคซีนและท้องถิ่น ดังนั้นการศึกษาตรวจหาเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสในประชากรไก่ไข่ให้ครอบคลุมทุกภูมิภาคจะเป็นข้อมูลที่แสดงภาพรวมการพบเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสของประเทศไทย

คำสำคัญ: ไก่ไข่, เชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัส, วิเคราะห์ลักษณะทางพันธุกรรม

Abstract

Avian metapneumovirus (aMPV) is a causative agent of avian rhinotracheitis, an important respiratory disease with swollen head syndrome , coughing, sneezing, depression, stunning, and reduction of egg production, thin eggshell, and pale color in layers and causes significant economic losses worldwide. Therefore, the purpose of this study was to detection, the molecular identification and subtyping of aMPV infected layer flocks in Chachoengsao and Nakorn Pathom provinces. Totally 28 tracheal swab samples from 4 non aMPV vaccinated layer farms were collected during November 2021–November 2022. These samples were processed for aMPV detection by using specific nested reverse transcription PCR based on the G glycoprotein gene and confirmed by using the nucleotide sequencing. There were 4 farms (100%) and 15 samples (53.6%) of aMPV detections and all of them belonged to aMPV subtype B. Additionally, by genetic characterization, the similarity levels of nucleotides between samples and vaccines that are used in Thailand were 96.5%–99.6%. In conclusion, the nucleotide sequencing of the G glycoprotein gene was related to vaccine strain and field strain. Therefore, the additional research on avian metapneumovirus within the layer population across diverse regions will be performed to show the whole picture of Thailand.

Keywords: Avian metapneumovirus, Genetic analysis, Layers

คำนำ

เชื้อไวรัสเอเวียนเมตานิวโมไวรัส (Avian metapneumovirus; aMPV) จัดอยู่ภายในตระกูลวงศ์ Paramyxoviridae จีนัส Metapneumovirus มีสารพันธุกรรมชนิดอาร์เอนเอ (RNA) และมีไกลโครโปรตีน (Glycoprotein) เป็นโครงสร้างเปลือกหุ้มอนุภาคของไวรัส สามารถจำแนกเชื้อไวรัสออกเป็น 4 ซับไทป์ ได้แก่ เอ บี ซี และดี ตามลักษณะที่แตกต่างกันของยีนไกลโครโปรตีนจี (G glycoprotein) (Bayon-Auboyer et al., 2000) เชื้อไวรัสเอเวียนเมตานิวโมไวรัสเป็นสาเหตุของโรคเยื่อโพรงจมูกและหลอดลมอักเสบในสัตว์ปีกหลายชนิดโดยเฉพาะในไก่งวง (Hartmann et al.,2015) กรณีไก่ไข่ ไก่เนื้อและไก่พันธุ์ พบลักษณะหัวบวม ไอ จาม น้ำมูกไหล เยื่อบุตาอักเสบ การผลิตไข่ลดลง และพบไข่ผิดรูป เปลือกบาง หรือสีซีด (Velayudhan et al., 2008) โดยอัตราการป่วยและอัตราการตายเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 2-5 เป็นร้อยละ 25 ในกรณีที่มีการติดเชื้อร่วมกับเชื้อโรคอื่น เช่น โรคกล่องเสียงอักเสบติดต่อในสัตว์ปีก โรคหวัดหน้าบวม และโรคติดเชื้อไมโคพลาสมา เป็นต้น (Jones et al., 1986).

ปัจจุบันอุตสาหกรรมการผลิตไก่ไข่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นทั้งการบริโภคไข่ภายในประเทศและส่งออกภายนอกประเทศ (กรมปศุสัตว์, 2565) ดังนั้นการจัดการสุขภาพไก่ไข่ การควบคุมและป้องกัน เพื่อให้ได้ผลผลิตไข่ตามมาตรฐานสายพันธุ์จัดเป็นเป้าหมายของผู้ผลิต การควบคุมและป้องกันบนข้อมูลการสำรวจหาเชื้อ การศึกษาสารพันธุกรรม การศึกษาการดำเนินไปของโรค เป็นส่วนสำคัญที่เพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมและป้องกันโรคกรณีของโรคติดเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัส ซึ่งก่อให้เกิดความสูญเสียทางเศรษฐกิจต่ออุตสาหกรรมการผลิตสัตว์ปีกโดยเฉพาะไก่งวง จึงได้มีการสำรวจหาเชื้อและศึกษาการเกิดโรคในหลายประเทศทั่วโลก (Cook et al., 2000) รวมทั้งในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ประเทศมาเลเซีย (Seetha and Gob, 2009) พม่า (Ye et al., 2019) และเวียดนาม (Nguyen et al., 2021) ซึ่งการสำรวจหาเชื้อและจำแนกชนิดของเชื้อจากการวิเคราะห์สารพันธุกรรมจัดการเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการศึกษาต่อยอดทั้งในห้องปฏิบัติการและภาคสนามเกี่ยวกับกระบวนการในการดำเนินไปของโรค (Cook et al., 2000) การตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน (Choi et al., 2010) การควบคุมและป้องกันโรค (Ganapathy and Jones, 2007) สำหรับประเทศไทยพบรายงานการตรวจหาและศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสในไก่งวงในจังหวัดราชบุรีและอุตรดิตถ์ในระหว่างปี พ.ศ. 2564–2565 (Wanarat et al., 2022) และพบรายงานการสำรวจหาเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสในไก่ไข่เชิงอุตสาหกรรมของทุกภูมิภาคในประเทศไทยระหว่างปี พ.ศ. 2564–2565 (Witoonsatian et al., 2023) ซึ่งข้อมูลการตรวจหาและศึกษาลักษณะทางพันธุกรรมของเชื้อนี้ในประเทศไทยยังมีอยู่จำกัด จึงควรมีสำรวจหาเชื้อและเฝ้าระวังการติดเชื้อภายในฝูงสัตว์ปีกอย่างต่อเนื่อง เพื่อประโยชน์ในการวางแผนการควบคุม ป้องกันโรค และการพิจารณาสายพันธุ์ของวัคซีนที่ตรงกับสายพันธุ์ที่ก่อโรคในภาคสนาม ดังนั้นวัตถุประสงค์ของการศึกษาในครั้งนี้เพื่อตรวจหาและศึกษาลักษณะสารพันธุกรรมของเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสในไก่ไข่ในจังหวัดฉะเชิงเทราและนครปฐม

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างจากการป้ายสำลีจากหลอดลม (Tracheal swab) และการป้ายสำลีจากช่องว่างเพดานปาก (Choanal cleft swab) ในไก่ไข่จังหวัดฉะเชิงเทราและนครปฐม จากฟาร์มที่ไม่มีประวัติการให้วัคซีนต่อเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสจำนวน 2 ฟาร์มและตัวอย่างสัตว์ป่วยที่เจ้าของฟาร์มนำมาส่งที่ศูนย์ชันสูตรโรคสัตว์จำนวน 2 ฟาร์ม รวมทั้งสิ้นจำนวน 28 ตัวอย่าง โดยมีการเลือกสุ่มตัวอย่างตามสะดวก (Convenience sampling) ระหว่างเดือนพฤศจิกายน

พ.ศ. 2565 ถึง พฤศจิกายน พ.ศ. 2566 การศึกษาครั้งนี้ได้รับการรับรองผ่านมาตรฐานงานวิจัยการดำเนินการต่อสัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ (IACUC) ภายใต้หมายเลข ACKU66-VET-021

เก็บรักษาสภาพตัวอย่าง โดยทำการเก็บก้านสำลีที่ทำการป้ายเชื้อใส่ลงในภาชนะพลาสติกที่บรรจุสารละลายนำส่งสิ่งตรวจสำหรับไวรัส (Viral transport media;VTM) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จำนวน 5 ก้านสำลีต่อขวด ตัวอย่างที่ได้จะถูกนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสสำหรับขั้นตอนต่อไป

การสกัดสารพันธุกรรมและการตรวจหาเชื้อ aMPV ด้วยวิธี nested reverse transcription - polymerase chain reaction

ตัวอย่างทั้งหมดจะนำส่งเข้าห้องปฏิบัติการเพื่อทำการสกัดสารพันธุกรรมด้วยชุดสกัด Direct-zola RNA Mini prep Kits (Zymo research, Irvine, CA, USA) และทำการสังเคราะห์ cDNA ด้วยชุดสังเคราะห์ RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo Fisher Scientific, Massachusetts, USA) สารพันธุกรรม cDNA เป็นสารพันธุกรรมตั้งต้นสำหรับการตรวจหาเชื้อ aMPV ด้วยวิธี nested reverse transcription - polymerase chain reaction (nested RT-PCR) (Wanarat et al., 2022) โดยใช้ชุด Phusion Hot Start II High-Fidelity PCR Master Mix (Thermo-Scientific, Carlsbad, CA, USA) โดยมีองค์ประกอบในการสังเคราะห์สารพันธุกรรมดังนี้ สารพันธุกรรม cDNA ตั้งต้นจำนวน 1 ไมโครลิตร ไพร์เมอร์จำนวน 0.2 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น รวมทั้งสิ้น 20 ไมโครลิตร โดยไพรเมอร์ที่ใช้อ้างอิงจากงานศึกษาวิจัยครั้งก่อน (Rivera-Benitez et al., 2014) ข้อมูลกระบวนการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและเวลาในกระบวนการสังเคราะห์สารพันธุกรรมแสดงใน Table 1 ตรวจหาแถบสารพันธุกรรมเป้าหมายด้วยเทคนิคเจลอิเล็กโตรโฟรีซิส (Gel electrophoresis) การพบแถบสารพันธุกรรมเป้าหมาย นำสารพันธุกรรมดังกล่าวไปศึกษาลำดับสารพันธุกรรมด้วยเทคนิค Sanger sequencing (first BASE, Malaysia) และข้อมูลลำดับสารพันธุกรรมนำไปวิเคราะห์ความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมกับเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสที่มีรายงานในฐานข้อมูล Genbank ต่อไป

Table 1 Thermal profile that was used for nested RT-PCR.

PCR type	Forward/Reverse	Thermal profile
Outer	APV1.444G1+ (Forward) APV1/2.444G6- (Reverse)	1X (98 °C 3 min) 40X (98 °C 20 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s) 1X (72 °C 5 min)
Inner	APV1.268.361G5- (Reverse)	1X (98 °C 3 min) 40X (98 °C 20 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s) 1X (72 °C 5 min)
Subtype A	APV1.268G8+ (Forward)	
Subtype B	APV1.361G9+ (Forward)	

การวิเคราะห์แผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม

ลำดับเบสที่ได้จากการใช้เทคนิค Sanger sequencing จะถูกนำมาคัดเลือกและแก้ไข ร่วมกับนำมาเปรียบเทียบลำดับเบสของยีนไกลโคโปรตีนจีจำนวนอื่นซึ่งนำมาจาก Genbank ทำการจัดเรียงลำดับสายพันธุกรรมด้วยเครื่องมือ ClustalW และทำการเปรียบเทียบร้อยละความเหมือนระหว่างเชื้อที่พบจากการศึกษาและการให้วัคซีนในประเทศไทยด้วยวิธี Sequence Identity Matrix โดยใช้โปรแกรม Bioedit (Hall, 1999) จากนั้นทำการสร้างแผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมระหว่างยีนไกลโคโปรตีนจีของเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัส โดยใช้วิธี neighbour–joining และ Kimura

2– parameter และทำการวิเคราะห์สายพันธุกรรมจำนวน 353 นิวคลิโอไทด์ ที่ค่า 1000 Booststrap ผ่านการใช้โปรแกรม MEGA X (Kumar et al., 2018) ตามลำดับ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาหาเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสในไก่ไข่ในจังหวัดฉะเชิงเทราและนครปฐมพบว่ามีการตรวจพบเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัส 15 ตัวอย่าง จากตัวอย่างทั้งหมด 28 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 53.6 โดยจาก 4 ฟาร์มพบเชื้อทั้งหมด 4 ฟาร์ม คิดเป็นร้อยละ 100 และเป็นเชื้อชนิดซับไทป์บี โดยความเหมือนของลำดับเบสเมื่อเปรียบเทียบระหว่างเชื้อที่พบจากการศึกษากับเชื้อจากวัคซีนที่ใช้ในประเทศไทยมีค่าเท่ากับร้อยละ 96.5–99.6 จากแผนภูมิแสดงความสัมพันธ์ทางพันธุกรรมดังที่แสดงใน Fig. 1 บ่งชี้ว่าเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสจาการศึกษาครั้งนี้สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่พบสารพันธุกรรมในกลุ่มเดียวกับสายพันธุ์วัคซีนจำนวน 3 ตัวอย่างและกลุ่มที่พบสารพันธุกรรมในกลุ่มเดียวกับสายพันธุ์ท้องถิ่นจำนวน 12 ตัวอย่าง ตามที่เคยมีรายงานการในตัวอย่างไก่ไข่ของทุกภูมิภาคในประเทศไทย (Witoonsatian et al., 2023) และในไก่งวงในจังหวัดราชบุรีและอุตรดิตถ์ (Wanarat et al., 2022) ซึ่งเป็นเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสซับไทป์บีเช่นกัน แสดงให้เห็นว่ายังพบการติดเชื้อเอเวียนเมตต้านิวโมไวรัสในไก่ไข่ในฟาร์มแหล่งอื่นที่ยังไม่มีประวัติการให้วัคซีนต่อเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสในจังหวัดฉะเชิงเทราและนครปฐม จัดเป็นข้อมูลสำคัญประกอบการพิจารณาในการกำหนดแนวทางการควบคุมและป้องกันการเกิดโรคในฟาร์ม อีกทั้งเป็นแนวทางในการตรวจหาเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสในจังหวัดอื่นๆเพื่อเป็นข้อมูลระดับประเทศต่อไป

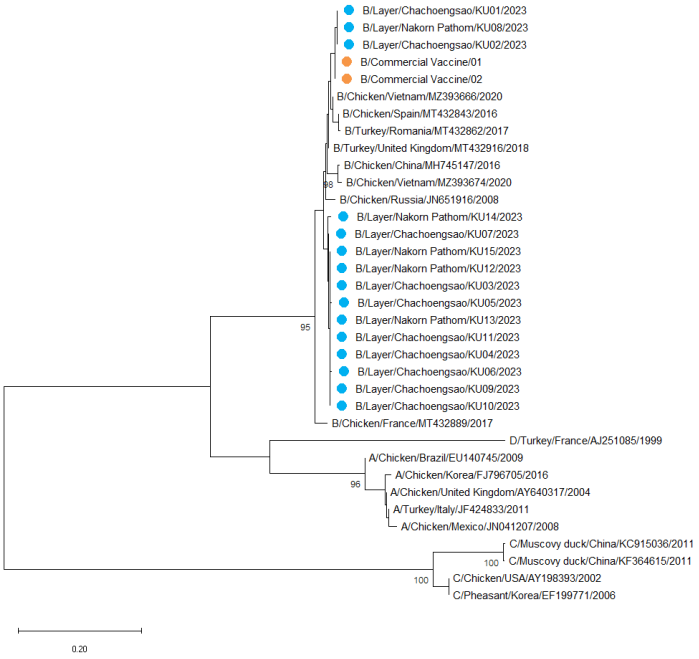


Fig. 1 Phylogenetic tree based on the partial G glycoprotein gene sequence (353 nucleotides). The sequences generated in this study were representative of blue filled circles and 2 commercial vaccines were representative of orange filled circles.

จากจากผลการศึกษาพบว่าเชื้อที่พบในจังหวัดฉะเชิงเทราและนครปฐมพบความเหมือนของลำดับนิวคลิโอไทด์จำนวน 353 นิวคลีโอไทด์ เทียบกับวัคซีนเท่ากับร้อยละ 96.5–99.6 ซึ่งมีผลใกล้เคียงกับเชื้อที่พบจากการศึกษาของประเทศเวียดนามตอนเหนือ โดย Nguyen และคณะในปี พ.ศ. 2564 พบว่าเชื้อจากการศึกษาจำนวน 3 ตัวอย่าง แสดงความสัมพันธ์ของลักษณะสารพันธุกรรมที่สามารถจัดอยู่ในกลุ่มเดียวกับลักษณะสารพันธุกรรมของเชื้อเอเวียนเมตตานิวโมไวรัสสายพันธุ์วัคซีน ซึ่งอาจมีสาเหตุจากการปนเปื้อนเชื้อสายพันธุ์วัคซีนในสิ่งแวดล้อมภายนอก จากการศึกษาของ Cecchinato และคณะในปี พ.ศ. 2555 พบว่านกอพยพเป็นสาเหตุหนึ่งในการนำเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสจากพื้นที่ที่พบการเกิดโรคไปสู่พื้นที่อื่นและพบว่าเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสซับไทป์บีเป็นซับไทป์ที่มีรายงานในพื้นที่อื่นทั่วโลก ในทวีปเอเชีย เชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสที่พบมักพบเป็นซับไทป์เอและบีเป็นส่วนใหญ่ (Chaboki et al., 2018.) โดยในพื้นที่เอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เช่น ประเทศเวียดนาม รวมถึงในยุโรปบางประเทศมีการพบการกระจายตัวของเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสซับไทป์บีเพียงชนิดเดียวเช่นกัน (Chaboki et al., 2018; Andreopoulou et al., 2019; Maria Tucciarone et al., 2019; Nguyen et al., 2021) ดังนั้นการตรวจพบเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสซับไทป์บีในการศึกษาครั้งนี้จัดเป็นข้อมูลเพิ่มเติมการตรวจพบเชื้อในประเทศในแถบภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ อย่างไรก็ตามการตรวจหาเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสซับไทป์อื่น รวมทั้งการศึกษาลักษณะความสัมพันธ์ทางสารพันธุกรรมของเชื้อเทียบกับเชื้อที่มีรายงานในประเทศต่างๆ โดยเฉพาะในภูมิภาคเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ จัดเป็นข้อมูลเชิงระบาดวิทยาเพื่อประกอบการพิจารณาหาแนวทางในเฝ้าระวังและติดตามที่พื้นที่อื่น ๆ โดยเฉพาะประเทศที่ยังไม่พบรายงาน

สรุป

พบเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสในไก่ไข่ในจังหวัดฉะเชิงเทราและนครปฐมระหว่างเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2565–พฤศจิกายน พ.ศ. 2566 ในฟาร์มที่ไม่มีประวัติการให้วัคซีนต่อเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสจำนวน 4 ฟาร์ม คิดเป็นร้อยละ 100 และจากตัวอย่างทั้งหมดจำนวน 28 ตัวอย่าง พบเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสจำนวน 15 ตัวอย่างคิดเป็นร้อยละ 53.6 โดยพบความเหมือนของลำดับสารพันธุกรรมเมื่อเทียบกับเชื้อเอเวี่ยนเมตานิวโมไวรัสซับไทป์บีร้อยละ 96.5–99.6 โดยเชื้อจำนวน 12 ตัวอย่างพบลักษณะสารพันธุกรรมในกลุ่มร่วมกันกับสายพันธุ์ท้องถิ่นและเชื้อจำนวน 3 ตัวอย่างพบลักษณะสารพันธุกรรมในกลุ่มร่วมกันกับสายพันธุ์วัคซีน แม้ว่าการศึกษาครั้งนี้พิจารณาเก็บตัวอย่างในจังหวัดฉะเชิงเทราและนครปฐม ซึ่งเป็นจังหวัดที่การเลี้ยงไก่ไข่จำนวนมาก แต่ผลการศึกษาเป็นเพียงข้อมูลระดับจังหวัด ดังนั้นเพื่อเป็นข้อมูลการตรวจพบเชื้อเอเวี่ยนเมตานิวโมไวรัสระดับประเทศไทยควรมีการศึกษาหาเชื้อเอเวียนเมตานิวโมไวรัสในฟาร์มไก่ไข่ที่ไม่มีประวัติการให้วัคซีนต่อเชื้อเอเวี่ยนแมตานิวโมไวรัสให้ครอบคลุมตามภูมิภาคต่างๆของประเทศไทยต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาวิจัยฉบับนี้ได้รับการสนับสนุนจาก เจ้าของฟาร์มไก่ไข่ และศูนย์ชันสูตรโรคสัตว์กำแพงแสน คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน สำหรับคำแนะนำที่เป็นประโยชน์ในการศึกษา ให้ความอนุเคราะห์การเก็บตัวอย่าง และขอขอบคุณภาควิชาเวชศาสตร์และทรัพยากรการผลิตสัตว์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสนที่ให้ความอนุเคราะห์เข้าใช้ห้องปฏิบัติการและอุปกรณ์ทางวิทยาศาสตร์ ส่งผลให้การศึกษาวิจัยนี้สำเร็จตามวัตถุประสงค์

เอกสารอ้างอิง

กรมปศุสัตว์. 2565. สถานการณ์ไก่ไข่และไข่ไก่ในประเทศไทย. https://Public.Tableau.Com/App/Profile/Digi.Thailand/Viz/DLDMovingForwardDIGIDataCamp/Sheet0, 25 พฤศจิกายน 2566.

Andreopoulou, M., Franzo, G., Tucciarone, C.M., Prentza, Z., Koutoulis, K.C., Cecchinato, M., Chaligianni, I. 2019. Molecular epidemiology of infectious bronchitis virus and avian metapneumovirus in Greece. Poult. Sci. 98:5374–5384. doi.org/10.3382/ps/pez360

Bäyon-Auboyer, M.H., Arnauld, C., Toquin, D., Eterradossi, N. 2000. Nucleotide sequences of the F, L and G protein genes of two non-A/non-B avian pneumoviruses (APV) reveal a novel APV subgroup. J. Gen. Virol. 81: 2723–2733.

Chaboki, P.M., Ghalyanchilangeroudi, A., Karimi, V., et al. 2018. Prevalence of avian metapneumovirus subtype B in live bird market in Gilan province, Iran. Vet. Res. Forum. 9: 93.

Cecchinato M., Lupini C., Ricchizzi E., Falchieri M., Meini A, Richard C.J., Catelli, E. 2012. Italian field survey reveals a high diffusion of avian Metapneumovirus subtype B in layers and weaknesses in the vaccination strategy applied. Avian Dis. 56: 720–724.

Choi, K.S., Lee, E.K., Jeon, W.J., Park, M.J., Yoo, Y.N., Kwon, J.H. 2010. Diagnostic utility of egg yolk for the detection of avian Metapneumovirus antibodies in laying hens. Avian Dis. 54: 1230–1236. doi.org/10.1637/9382-042710-REG.1

Cook, J.K.A., Chesher, J., Orthel, F., Woods, M.A., Orbell, S.J., Baxendale, W., Huggins, M.B. 2000. Avian pneumovirus infection of laying hens: Experimental studies. Avian Pathology. 29(6): 545–556. doi.org/10.1080/03079450020016788

Ganapathy, K., Jones, R.C. 2007. Vaccination of chicks with live attenuated subtype B avian metapneumovirus vaccines: Protection against challenge and immune responses can be unrelated to vaccine dose. Avian Dis. 51(3): 733–737. doi.org/10.1637/00052086(2007)51[733:VOCWLA]2.0.CO;2

Hall, T.A. 1999. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. Nucleic Acids Symp. Ser. 41: 95–98.

Hartmann, S., Sid, H., Rautenschlein, S. 2015. Avian metapneumovirus infection of chicken and turkey tracheal organ cultures: comparison of virus-host interactions. Avian Pathol. 44: 480–489. doi.org/10.1080/03079457.2015.1086974

Jones, C., Baxter-Jones, C., Wilding, P., Kelly, F. 1986. Demonstration of a candidate virus for turkey rhinotracheitis in experimentally inoculated turkeys. Vet. Rec. Open. 24: 599–600.

Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C., Tamura, K. 2018. MEGA X: Molecular Evolutionary Genetics Analysis across computing platforms. Mol. Biol. Evol. 35: 1547–1549. doi.org/10.1093/molbev/msy096

Maria Tucciarone, C., Franzo, G., Lupini, C., et al. 2019. Avian Metapneumovirus circulation in Italian broiler farms. Poult. Sci. 97: 503–509. doi.org/10.3382/ps/pex350

Nguyen, V.G., Chung, H.C., Do, H.Q., et al. 2021. Serological and molecular characterization of avian Metapneumovirus in chickens in Northern Vietnam. Vet. Sci. 8: 206. doi.org/10.3390/VETSCI8100206.

Rivera-Benitez, J.F., Martínez-Bautista, R., Ríos-Cambre, F., Ramírez-Mendoza, H. 2014. Molecular detection and isolation of avian metapneumovirus in Mexico. Avian. Pathol. 43(3):217–223. doi.org/10.1080/03079457.2014.903557

Seetha, J., Gob, Y. 2009. Detection of Avianmetapneumovirus (aMPV) field infection via reverse transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR) and ELISA in two layer farm in Johor. J. Vet. Malaysia. 21: 9–13.

Velayudhan, B.T., Noll, S.L., Thachil, A.J., Halvorson, D.A., Shaw, D.P., Goyal, S.M., Nagaraja, K.V. 2008. Comparative pathogenicity of early and recent isolates of avian metapneumovirus subtype C in turkeys. Can. J. Vet. Res. 72: 371.

Wanarat, S., Sukmak, M., Witoonsatian, K. 2022. Molecular characterization of avian Metapneumovirus isolated from turkey in Thailand. In: The 20th KU KPS National Conference. Kasetsart University. Nakhon Pathom, pp. 228–233. [in Thai]

Witoonsatian, K., Sinwat, N., Kulprasertsri, S., et al. 2023. Molecular Characterization and Serological Prevalence of Avian Metapneumovirus in Layers in Thailand. In: WVPAC 2023 poultry digest. WVPAC. Bangkok.

Ye, H.A., Uirich, N., Silke, R. 2019. Presence of avian metapneumovirus as an emerging infectious respiratory infection, in commercial layer flocks and broiler breeder flock in Myanmar. In: Proceedings of the seventh annual research conference held in Nay Pyi Taw. Livestock and fishery sciences. Yangon, Myanmar, pp. 28–54.

สาขาประมง

(Subject: Fisheries)

ภาคบรรยาย

(Oral Presentation)

การทำการประมงลอบหมึกสายและการศึกษาด้านความตระหนักในการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสายของชาวประมงในพื้นที่หาดเจ้าสำราญ จังหวัดเพชรบุรี

Assessing Octopus Fisheries and Fisher Awareness for Conservation at Chao Sam Ran Beach, Phetchaburi Province.

ภาวิดา ประสพสุข[a], **จรวย สุขแสงจันทร์**[a,*], **เยาวลักษณ์ มั่นธรรม**[a], **นิภา กุลานุจารี**[b], **สนธยา ผุยน้อย**[c], **แพรวา คงมีผล**[c]

Pawida Prasopsook[a], Charuay Sukhsangchan[a,*], Yaowaluck Munthum[a], Nipa Kulanujaree[b], Sonthaya Phuynoi[c], Preawa Kongmeephol[c]

[a]ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[b]กลุ่มประเมินสภาวะทรัพยากรประมง กองวิจัยและพัฒนาประมงทะเล กรมประมง กรุงเทพฯ 10900

[a]Department of Marine science, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

[b]Stock assessment Marine Fisheries Research and Development Bureau, Department of Fisheries, Bangkok 10900, Thailand

[c]Aquaculture, Fisheries collage, Ocean University of China, Qingdao 266003, P.R. China

* Corresponding author. E-mail address: ffiscrs@ku.ac.th

บทคัดย่อ

การทำการประมงลอบหมึกสายและการศึกษาด้านความตระหนักในการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสายของชาวประมงในพื้นที่หาดเจ้าสำราญ จังหวัดเพชรบุรี ดำเนินการโดยรวบรวมข้อมูลการทำประมงหมึกสายจากการบันทึกข้อมูลการทำประมง ระหว่างเดือนมีนาคม 2565 ถึง กุมภาพันธ์ 2566 พร้อมแบบสอบถามด้านความตระหนักเกี่ยวกับความรู้ความเข้าใจในด้านการอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์น้ำ พบว่า ชาวประมงลอบหมึกสายส่วนใหญ่เป็นเพศชาย มีลอบหมึกสายครอบครอง 7,000–21,000 ลอบ/ลำ วางลอบหมึกสายไว้ในทะเล 3–5 วันจึงเก็บกู้ สามารถทำการประมงได้เกือบตลอดทั้งปี หมึกสายที่จับได้ส่วนใหญ่เป็นหมึกสายขาว (*Amphiocotopus aegina*) ขนาดกลาง รองลงมาเป็นขนาดเล็ก และขนาดใหญ่ ที่ 49.42%, 32.75% และ 17.83% ตามลำดับ ด้านความตระหนักในการอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์น้ำของชาวประมง พบว่า ส่วนใหญ่มีความตระหนักในการอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์น้ำสูงถึง 93.10% ข้อมูลด้านเพศ อายุ ระดับการศึกษา และประสบการณ์ในการทำประมงที่แตกต่างกันมีความตระหนักในการอนุรักษ์ที่ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$; 1.212, 0.901, 0.653, 0.275 ตามลำดับ)

คำสำคัญ: การอนุรักษ์ทรัพยากร, ความตระหนัก, จังหวัดเพชรบุรี, หาดเจ้าสำราญ, หมึกสาย

Abstract

Data regarding octopus fisheries and fisher awareness for conservation at Chao-SamRan Beach in the Phetchaburi Province were collected from octopus trap logbooks over a one-year period from March 2022 to February 2023. Additionally, an awareness questionnaire aimed at assessing knowledge and understanding of the conservation of aquatic animal resources in the area was administered. The results showed that the majority of fishermen were male. On average, there were 7,000 to 21,000 octopus traps per boat. Fishers typically left the octopus traps in the area for 3–5 days before retrieval, and this practice occurred almost year-round. The predominant type of octopus caught was the marbled octopus (*Amphiocotopus aegina*) in medium-sized quantities, followed by small and large sizes, accounting for 49.42%, 32.75%, and 17.83% respectively. A study conducted on the awareness of aquatic animal resource conservation among local fishers revealed that a majority, 93.1%, were cognizant of these efforts. The study also explored the influence of gender, age, education, and experience on awareness levels. However, despite variations across these demographics, the differences in awareness were not statistically significant at the 95% confidence level ($p > 0.05$; 1.212, 0.901, 0.653, 0.275 respectively)

Keywords: Awareness, Chao Sam Ran Beach, Conservation resource, Octopus, Phetchaburi Province

คำนำ

หมึกสายขาว Marbled octopus (*Amphioctopus aegina*, Gray 1849) จัดอยู่ในครอบครัว Octopodidae มีลักษณะเด่นคือ มีรยางค์หรือแขน (Arm) 8 เส้น ลำตัวคล้ายลูกโป่ง บริเวณกึ่งกลางลำตัวด้านหลัง (Dorsal side) มีแถบสีขาวจำนวน 1 เส้นพาดกลาง มีเพศแยก เพศผู้สามารถแยกเพศได้จากแขนคู่ที่ 3 ด้านขวาพัฒนาไปทำหน้าที่สำหรับส่งเซลล์สืบพันธุ์ (บพิธ และนันทพร, 2558) อาศัยบริเวณชายฝั่งระดับความลึก 5–20 เมตร ลักษณะพื้นท้องน้ำเป็นดินทรายหรือทรายปนโคลน (Jereb et al., 2016) กินอาหารจำพวกปู กุ้ง และปลาขนาดเล็ก ประเทศไทยพบการแพร่กระจายทั้งทะเลฝั่งอ่าวไทย และทะเลฝั่งอันดามัน (จรวย, 2558)

หมึกสายเป็นทรัพยากรสัตว์น้ำชนิดหนึ่งที่นิยมบริโภค และถูกจับขึ้นมาใช้ประโยชน์เป็นจำนวนมาก จากสถิติการประมงปี 2565 ประเทศไทยจับหมึกสายทั้งสิ้นจำนวน 8,100 ตัน คิดเป็นมูลค่า 903.3 ล้านบาท ส่งขายทั้งตลาดภายในประเทศ และต่างประเทศ เช่น ประเทศเกาหลีใต้ ไต้หวัน ญี่ปุ่น กัมพูชา และ ลาว เป็นต้น (กรมประมง, 2565) อย่างไรก็ตามพบว่าหมึกสายขาวถูกจับมาใช้ประโยชน์ในปริมาณที่เพิ่มขึ้นเกือบทุกปี และมีแนวโน้มว่าขนาดตัวของหมึกสายขาวที่จับได้จะมีขนาดที่เล็กลงเมื่อเปรียบเทียบกับขนาดของหมึกสายขาวในอดีต (จินดา และฐิติพร, 2557) ดังนั้นแนวทางในการอนุรักษ์และฟื้นฟูทรัพยากรหมึกสายโดยเน้นการสร้างการมีส่วนร่วมของชุมชน จึงเป็นทางเลือกหนึ่งเพื่อนำมาใช้ในการบริหารจัดการทรัพยากรสัตว์น้ำกลุ่มหมึกสายเพื่อสร้างความยั่งยืนในการประกอบอาชีพประมง ทั้งนี้กิจกรรมหรือโครงการที่ชุมชนมีส่วนร่วมและประสบความสำเร็จและมีการดำเนินกิจกรรมทั่วประเทศ เช่น โครงการธนาคารปูม้า และธนาคารไข่หมึก เป็นต้น (จินตนา และพงษ์ศักดิ์, 2561) การมีส่วนร่วมของชุมชนหรือชาวประมงในการอนุรักษ์และฟื้นฟูทรัพยากรก่อให้เกิดความรู้สึกเป็นเจ้าของทรัพยากรร่วมกัน มีทัศนคติที่ดีต่อการจัดการทรัพยากรสัตว์น้ำ (แสงเทียน, 2553) การสร้างทัศนคติที่ดีของชาวประมงต่อการอนุรักษ์ และฟื้นฟูทรัพยากรสัตว์น้ำให้เห็นประโยชน์อย่างชัดเจนสามารถสร้างความร่วมมือในการบริหารจัดทรัพยากรสัตว์น้ำได้ (อรสา และคณะ, 2559)

ดังนั้นเพื่อเป็นการสร้างแนวทางในการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสาย ทีมผู้วิจัยจึงได้ทำการศึกษาและเก็บรวบรวมข้อมูลด้านการทำการประมง และปัจจัยข้อมูลที่ส่งผลต่อความตระหนักในการอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์น้ำของชาวประมงในพื้นที่บริเวณหาดเจ้าสำราญ จังหวัดเพชรบุรี เพื่อเป็นแนวทางในการอนุรักษ์เพื่อประโยชน์ในด้านการอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์น้ำและใช้ทรัพยากรสัตว์น้ำกลุ่มหมึกสายอย่างยั่งยืนต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาการทำการประมงลอบหมึกสายและความตระหนักในการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสายของชาวประมงในพื้นที่หาดเจ้าสำราญ จังหวัดเพชรบุรี แบ่งการศึกษา ออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่ ข้อมูลจากสมุดบันทึกการทำการประมง และการศึกษาด้านความตระหนักในการอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์น้ำให้แก่ชาวประมง และคนในพื้นที่ ดังนี้

1. *สมุดบันทึกการทำประมง*

มอบสมุดบันทึกการทำประมงพื้นบ้าน ให้กับชาวประมงหมึกสายบริเวณ หาดเจ้าสำราญทุกลำ จำนวนทั้งสิ้น 6 ลำ จดบันทึกข้อมูลการทำการประมงทุกครั้งที่ออกทำการประมงหมึกสาย เป็นระยะเวลา 12 เดือน ระหว่างเดือนกุมภาพันธ์ 2565 ถึงเดือนมีนาคม 2566 เช่น ข้อมูลทั่วไปของชาวประมง ปริมาณเครื่องมือประมง ปริมาณสัตว์น้ำที่จับได้จากการทำการประมง รายได้จากการจับสัตว์น้ำ และขนาดสัตว์น้ำที่จับได้จำแนกตามความยาวลำตัว (Mantle length)

นำข้อมูลที่ได้จากการสมุดบันทึกไปวิเคราะห์ผล เช่น ระดับการศึกษา ประสบการณ์ในการทำประมง ข้อมูลการทำประมง จำนวนเครื่องมือ และขนาดของหมึกสาย เป็นต้น

2. *การศึกษาด้านความตระหนักในการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสาย*

ข้อมูลด้านความตระหนักของชาวประมงในการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสายโดยใช้แบบสอบถามเกี่ยวกับความตระหนักของชาวประมงเกี่ยวกับการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสาย และกำหนดค่าตัวแปรและเกณฑ์การวัด ดังนี้

- เพศ แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ เพศชาย และเพศหญิง

- อายุ แบ่งออกเป็น 7 ระดับ ได้แก่ น้อยกว่า 20 ปี, 21–30 ปี, 31–40 ปี, 41–50 ปี, 51–60 ปี, 61–70 ปี และ 71–80 ปี

- ระดับการศึกษาแบ่งออกเป็น 4 ระดับ ได้แก่ ระดับต่ำกว่าชั้นประถมศึกษา, ประถมศึกษา, มัธยมศึกษา ปวช. ปวส. และปริญญาตรี หรือสูงกว่า

- ประสบการณ์การทำงาน แบ่งออกเป็น 6 ระดับ ได้แก่ อายุงานน้อยกว่า 10 ปี, อายุงานระหว่าง 11–20 ปี, อายุงานระหว่าง 21–30 ปี, อายุงานระหว่าง 31–40 ปี, อายุงานระหว่าง 41–50 ปี และอายุงานระหว่าง 51–60 ปี

- แบบสอบถามด้านความตระหนักของชาวประมงแบ่งออกเป็น 3 หัวข้อ ได้แก่

1. ความรู้และความเข้าใจเกี่ยวกับทรัพยากรและการอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์น้ำ จำนวน 10 ข้อ ซึ่งมีเกณฑ์คำถามที่วัดความรู้ ความเข้าใจเกี่ยวกับทรัพยากร การอนุรักษ์ทรัพยากร และการทำประมง (1 คะแนน เมื่อตอบถูก, ตอบผิด ได้ 0 คะแนน) และแบ่งเกณฑ์ในการวัดตัวแปรปัจจัยด้านความรู้ และความเข้าใจเกี่ยวกับทรัพยากรและการอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์น้ำ แบ่งเป็น 3 ระดับโดยใช้เกณฑ์ในการประเมินความรู้ ได้แก่ ช่วง 0–3 คะแนน (มีความรู้น้อย), ช่วง 4–6 คะแนน (มีความรู้ปานกลาง) และ 7–10 คะแนน (มีความรู้มาก)

2. ความรู้สึกของชาวประมงในการอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์น้ำ จำนวน 10 ข้อ ซึ่งมีเกณฑ์คำถามที่วัดความรู้สึกของชาวประมงเกี่ยวกับทรัพยากร การอนุรักษ์ทรัพยากรและการทำประมง แบ่งคะแนนได้ ดังนี้ (1 คะแนน เมื่อตอบไม่เห็นด้วยอย่างยิ่ง, 2 คะแนน เมื่อตอบไม่เห็นด้วย, 3 คะแนน เมื่อตอบไม่แน่ใจ, 4 คะแนน เมื่อตอบเห็นด้วย และ 5 คะแนน เมื่อตอบเห็นด้วยอย่างยิ่ง) และเกณฑ์ในการวัดตัวแปรปัจจัยด้านความรู้สึกของชาวประมงในการอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์น้ำ แบ่งเป็น 3 ระดับโดยใช้เกณฑ์ ในการประเมินความรู้สึก ได้แก่ ช่วง 0–29 คะแนน (มีความรู้สึกเชิงลบ), ช่วง 30–39 คะแนน (มีความรู้สึกไม่แน่ใจ) และ ช่วง 40–50 คะแนน (มีความรู้สึกเชิงบวก)

3. ด้านพฤติกรรมของชาวประมงในการมีส่วนร่วมอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์น้ำ จำนวน 10 ข้อ ซึ่งมีเกณฑ์คำถามที่พฤติกรรมของชาวประมงเกี่ยวกับทรัพยากร การอนุรักษ์ทรัพยากร และการทำประมง แบ่งคะแนนได้ ดังนี้ (1 คะแนน เมื่อตอบ ไม่ใช่, 2 คะแนน เมื่อตอบไม่แน่ใจ และ 3 คะแนน เมื่อตอบใช่) และเกณฑ์ในการวัดตัวแปรปัจจัยด้านพฤติกรรมของชาวประมงในการอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์น้ำ แบ่งเป็น 3 ระดับโดยใช้เกณฑ์ในการประเมินพฤติกรรม ได้แก่ ช่วง 0–20 คะแนน (มีส่วนร่วมน้อย), ช่วง 21–25 คะแนน (มีส่วนร่วมปานกลาง) และ ช่วง 26–30 คะแนน (มีส่วนร่วมมาก)

- ความตระหนักถึงความสำคัญของการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสาย จากผลรวมของปัจจัยตัวแปรทั้ง 3 ด้าน ทั้งความรู้และความเข้าใจ ความรู้สึกของชาวประมง และพฤติกรรมของชาวประมง จากนั้นนำมาหาค่าเฉลี่ยของความตระหนัก สามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ระดับ ได้แก่ ช่วง 1–40 คะแนน (มีความตระหนักต่ำ), ช่วง 41–50 คะแนน (มีความตระหนักค่อนข้างต่ำ), ช่วง 51–70 คะแนน (มีความตระหนักค่อนข้างสูง) และ ช่วง 71–90 (มีความตระหนักสูง) จากนั้นใช้โปรแกรมสำเร็จรูปคอมพิวเตอร์ประมวลผล และจัดทำตารางวิเคราะห์ผลทางสถิติ ประกอบด้วย: (1) สถิติเชิงพรรณนา

ใช้วิเคราะห์ข้อมูลเกี่ยวกับปัจจัยส่วนบุคคล เช่น เพศ อายุ ระดับการศึกษา ประสบการณ์การทำงาน แปรผลโดยใช้ค่าความถี่ ค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน; และ (2) สถิติเชิงอนุมาน (One-way ANOVA) ใช้ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่าง อายุ การศึกษา และประสบการณ์การทำงาน ต่อปัจจัยความตระหนัก โดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์

ผลและวิจารณ์ผล

1. *การทำการประมงหมึกสายบริเวณหาดเจ้าสำราญ จังหวัดเพชรบุรี*

จากข้อมูลสมุดบันทึกการทำประมงพบว่า ชาวประมงหมึกสาย บริเวณหาดเจ้าสำราญ จังหวัดเพชรบุรี ส่วนใหญ่เป็นเพศชาย มีอายุระหว่าง 42–57 ปี (เฉลี่ย 51 ปี) จบการศึกษาตั้งแต่ชั้นประถมศึกษาถึงปริญญาตรี มีประสบการณ์ในการทำประมง 20–40 ปี (เฉลี่ย 30 ปี) ประกอบอาชีพประมงเป็นหลักและมีอาชีพค้าขายเป็นอาชีพเสริม โดยชาวประมงหมึกสายทุกคนมีเรือประมงเป็นของตัวเอง ขนาดความยาวเรือ 5.1- 7.5 เมตร เครื่องยนต์กลางลำ ขนาด 3.8–4.2 ตันกรอส ใช้แรงงานในการทำประมง 2–5 คน ขึ้นอยู่กับจำนวนลอบหมึกสาย โดยชาวประมงมีลอบหมึกสายครอบครอง 7,000–21,000 ลูก/ลำ (เฉลี่ย 14,000 ลูก/ลำ) การทำการประมงโดยชาวประมงจะวางลอบหมึกสายไว้ในทะเลเพื่อให้หมึกสายเข้าลอบ 3–5 วันจึงเก็บกู้ ทำการประมงห่างจากชายฝั่งระยะทาง 800–8,000 เมตร ที่ระดับความลึกน้ำ 5–18 เมตร สามารถทำการประมงได้เกือบตลอดทั้งปี (เว้นช่วงการทำประมงในเดือนกันยายน ถึงเดือนธันวาคม เนื่องจากเป็นช่วงปลายฤดูฝนถึงต้นฤดูหนาว มีปริมาณน้ำจืดไหลจากแผ่นดินลงมาถึงพื้นที่ทำประมงค่อนข้างมาก ทำให้คุณภาพน้ำในพื้นที่เปลี่ยนแปลง เกิดการอพยพย้ายถิ่นของสัตว์น้ำรวมทั้งหมึกสาย ทำให้ปริมาณหมึกสายที่จับได้มีจำนวนที่ลดลง) ผลจับหมึกสายของชาวประมงในพื้นที่เฉลี่ย 60 กิโลกรัม/ลำ/ครั้ง ขนาดความยาวหมึกสายที่จับได้ส่วนใหญ่เป็นหมึกสายขนาดกลาง หรือมีความยาวลำตัวระหว่าง 4–6 เซนติเมตร คิดเป็น 49.42% รองลงมาเป็นหมึกสายขนาดเล็ก มีความยาวลำตัวน้อยกว่า 4 เซนติเมตร คิดเป็น 32.75% และหมึกสายที่มีปริมาณการจับน้อยที่สุดคือหมึกสายขนาดใหญ่ ที่มีความยาวลำตัวมากกว่า 6 เซนติเมตร คิดเป็น 17.83% ราคาขายต่อกิโลกรัมหน้าท่าแบบคละขนาดอยู่ที่ 160–165 บาทต่อกิโลกรัม

2. *ความตระหนักในการอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์น้ำ*

มีจำนวนชาวประมงในพื้นที่หาดเจ้าสำราญ จังหวัดเพชรบุรีให้ความร่วมมือกรอกแบบสอบถามทั้งหมด 34 คน (คิดเป็น 94.40% ของชาวประมงทั้งหมดในพื้นที่) ผลการวิเคราะห์ข้อมูลพบว่า กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่เป็นเพศชายจำนวน 23 คน (คิดเป็น 67.60%) มีอายุระหว่าง 51–60 ปีมากที่สุด (47.10%) รองลงมาเป็นช่วงอายุ 31–40 ปี (6.51%) ส่วนใหญ่จบการศึกษาในระดับประถมศึกษา (44.10%) รองลงมาเป็นระดับมัธยมศึกษา (35.30%) กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีประสบการณ์การทำงานระหว่าง 0–10 ปี (ร้อยละ 38.2%) รองลงมาคือประสบการณ์การทำงานระหว่าง 31–40 ปี (20.60%)

ความรู้เกี่ยวกับทรัพยากรและการอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์น้ำของชาวประมง จากกลุ่มตัวอย่าง 34 คน พบว่าในภาพรวมชาวประมงมีความรู้สูง 61.80% รองลงมาเป็นระดับปานกลาง 38.2% ในขณะระดับความรู้ต่ำหรือความรู้น้อยไม่ปรากฏบนการประเมิน ส่วนด้านความรู้สึกของชาวประมงต่อการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสาย จากกลุ่มตัวอย่าง 32 คน (ไม่ตอบคำถาม 2 คน) พบว่า ชาวประมงส่วนใหญ่มีความรู้สึกในการอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์น้ำในเชิงบวกสูงที่ 71.90% รู้สึกไม่แน่ใจที่ 25.00% และมีความรู้สึกในเชิงลบด้านการอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์น้ำที่ 3.10% ในด้านพฤติกรรมของชาวประมงต่อการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสาย จากกลุ่มตัวอย่าง 31 คน (ไม่ตอบคำถาม 3 คน) พบว่าชาวประมงมีการ

แสดงออกโดยการมีส่วนร่วมในกิจกรรมต่าง ๆ ด้านการอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์น้ำในระดับที่สูงมาก 74.20% ในภาพรวมความตระหนักของชาวประมงถึงความสำคัญในการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสาย จากกลุ่มตัวอย่าง 29 คน (ไม่ตอบคำถาม 5 คน) พบว่าระดับความตระหนักของชาวประมงในพื้นที่หาดเจ้าสำราญ จังหวัดเพชรบุรี ส่วนใหญ่มีความตระหนักเกี่ยวกับการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสายค่อนข้างสูง 93.10% (Table 1)

การทดสอบสมมติฐานระหว่างปัจจัยส่วนบุคคลด้านเพศ อายุ ระดับการศึกษา และประสบการณ์ในการทำงานและค่าความตระหนัก พบว่าปัจจัยส่วนบุคคลด้านเพศ ค่าความตระหนักเฉลี่ยสูงสุดพบในเพศชาย 76.17% ในขณะที่เพศหญิง 72.36% ซึ่งผลการทดสอบสมมติฐานโดยการทดสอบความแตกต่างระหว่างตัวแปรด้านเพศกับความตระหนักถึงความสำคัญในการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสายโดยใช้สถิติ t-test พบว่าเพศที่ต่างกันมีความตระหนักถึงความสำคัญในการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสายที่ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$; t = 1.212) (Fig. 1A)

ด้านอายุ กลุ่มตัวอย่างมีค่าความตระหนักเฉลี่ยสูงสุดอยู่ในช่วง 31–40 77.38% รองลงมาเป็นช่วงอายุ 51–60 ปี มีค่าความตระหนักเฉลี่ย 75.00% ซึ่งผลการทดสอบสมมติฐานโดยการทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอายุกับความตระหนักถึงความสำคัญในการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสายโดยใช้สถิติ F-test พบว่าระดับอายุที่ต่างกัน มีความตระหนักถึงความสำคัญในการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสายไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$; F = 0.901) (Fig. 1B)

ด้านระดับการศึกษา พบว่าค่าความตระหนักเฉลี่ยสูงสุดอยู่ในระดับปริญญาตรี 77.00% รองลงมาเป็นการศึกษาระดับมัธยมศึกษา ปวช. และปวส. มีค่าความตระหนักเฉลี่ยที่ 75.75% ในระดับประถมศึกษามีค่าความตระหนักเฉลี่ยที่ 74.50% และในระดับต่ำกว่าประถมศึกษามีค่าความตระหนักที่ 68.00% ตามลำดับ ซึ่งผลการทดสอบสมมติฐานโดยการทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรระดับการศึกษากับความตระหนักถึงความสำคัญในการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสายโดยใช้สถิติ F-test พบว่าระดับการศึกษาที่ต่างกัน มีความตระหนักถึงความสำคัญในการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสายที่ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$; F = 0.653) (Fig. 1C)

ด้านประสบการณ์ในการทำงาน ค่าความตระหนักเฉลี่ยสูงสุดอยู่ในช่วง 31–40 ปี ร้อยละ 79.71 รองลงมาเป็นช่วง 0–10 ปี มีค่าความตระหนักเฉลี่ยที่ 76.76% ซึ่งผลการทดสอบสมมติฐานโดยการทดสอบความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรด้านประสบการณ์ในการทำงานกับความตระหนักถึงความสำคัญในการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสายโดยใช้สถิติ F-test พบว่าระดับประสบการณ์ที่ต่างกัน มีความตระหนักถึงความสำคัญในการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสายที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$; F =0.275) (Fig. 1D)

Table 1 Number of percentages and average levels of knowledge, feeling, and behavior in participating in conservation and awareness of octopus resource of artisanal fishermen in Chao Sam Ran Beach area Phetchaburi province

Criterion	Knowledge		Feeling		Behavior		Awareness	
	(*n*)	%	(*n*)	%	(*n*)	%	(*n*)	%
Low	0	0	1	3.1	0	0	0	0
Middle	13	38.2	8	25.0	8	25.8	2	6.9
high	21	61.8	23	71.9	23	74.2	27	93.1
Average±SD	7.155±1.708		42.13±4.57		27.03±2.601		2.93±0.258	
Perspective	High-level Knowledge		Positive Feeling		Participatory Behavior		High-level Awareness	

*(*n*) number of artisanal fishermen (person)

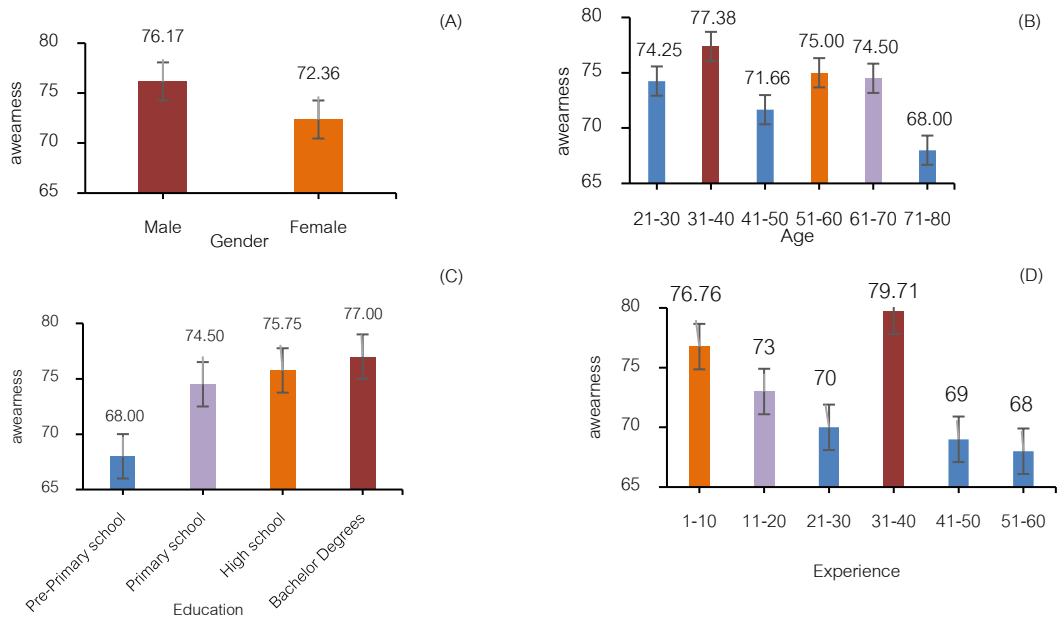


Fig. 1 Awareness of octopus conservation sustainable (A: Gender, B: Age, C: Education and D: Experience)

วิจารณ์ผล

1. *การทำการประมงหมึกสายบริเวณหาดเจ้าสำราญ จังหวัดเพชรบุรี*

การทำประมงหมึกสายบริเวณหาดเจ้าสำราญ จังหวัดเพชรบุรี ชาวประมงส่วนใหญ่เป็นเพศชาย ประกอบอาชีพประมงเป็นหลัก มีเรือสำหรับทำการประมงยาว 7.5–11.0 เมตร มีลอบหมึกสายครอบครองเฉลี่ย 14,000 ลูก/ลำ ทำการประมงโดยชาวประมงจะวางลอบหมึกสายไว้ในทะเล 3–5 วัน จึงเก็บกู้ สามารถทำการประมงได้เกือบตลอดทั้งปี (ยกเว้นช่วงปลายฤดูฝนถึงต้นฤดูหนาว) ผลจับหมึกสายของชาวประมงในพื้นที่เฉลี่ย 60 กิโลกรัม/ลำ/ครั้ง ขนาดความยาวหมึกสายที่จับได้ส่วนใหญ่เป็นหมึกสายขนาดกลาง หรือมีความยาวลำตัวระหว่าง 4–6 เซนติเมตร สอดคล้องกับการศึกษาของจินดา และธิติพร (2557) เรื่องผลกระทบของการประมงลอบหมึกสายบริเวณอ่าวไทยตอนกลาง และ ธีรยุทธ และหัสพงษ์ (2554) เรื่องการประมงหมึกสายโดยเปลือกหอยจุกพรามณ์ในอ่าวไทย (table 2) นอกจากนี้ปริมาณการครอบครองหรือจำนวนเครื่องมือลอบหมึกสายในปัจจุบันมีปริมาณที่เพิ่มมากขึ้นจากอดีต เนื่องหมึกสายยังคงมีความต้องการของตลาดเป็นสัตว์น้ำที่มีราคาที่สูง ใช้เวลาในการทำประมงไม่นาน และการดูแลทำความสะอาดเครื่องมือไม่ยุ่งยาก ทั้งนี้หากมีการจัดการและมาตรการในการครอบครองที่เหมาะสม สามารถมีส่วนช่วยในการอนุรักษ์ทรัพยากรให้ยั่งยืนขึ้น

Table 2 Octopus fishing in The Gulf of Thailand

Information	Phetchaburi Province	Middle Gulf of Thailand	Eastern Gulf of Thailand	Lower Gulf of Thailand
	This Research	Petchkamnerd and Suppanirun (2557)	Srikum and Somchanakit (2011)	
Fishing boat length (m.)	7.5–11.0	6–12	6–11	4.5–12
Number of Octopus Trap (Trap)	7,000–21,000	600–15,000	200–5,000	1,000–2,500
Number of fishing date (Day)	3–5	1-3	5	5-7
Fishing periods	Jan.– Aug.	All year round	Nov.– May.	Apr.– Oct.
Catch (Kg/10 Trap)	0.42	0.10	0.11	0.12
Size (cm.)	Mantle length	Mantle length	Total length	Total length
	4.00–6.00	2.25–9.00	7.75–32.0	7.00–30.00
Depth (m.)	5–18	1.5–16	6–18	3–10
Distance from coastal line (m.)	800–8,000	100–15,000	400–8,000	500–5,000

2. *ความตระหนักในการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสาย ของชาวประมงบริเวณหาดเจ้าสำราญ จังหวัดเพชรบุรี*

จากการศึกษาความตระหนักในการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสาย โดยทดสอบความสัมพันธ์ระหว่าง เพศ อายุ ระดับการศึกษา และประสบการณ์ในการทำประมง พบว่าเพศที่แตกต่างกันมีความตระหนักที่ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$; t = 1.212) ระดับการศึกษาที่แตกต่างกันมีความตระหนักที่ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$; f = 0.653) อายุที่แตกต่างกันมีความตระหนักไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$; f = 0.901) และประสบการณ์ในการทำงานที่แตกต่างกันมีความตระหนักที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$; f = 0.275) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาเรื่องการมีส่วนรวมของสมาชิกสภาองค์การบริหารส่วนตำบล ในการจัดการทรัพยากรป่าไม้บริเวณรอบพื้นที่อุทยานแหงชาติภูผาม่าน จังหวัดขอนแก่น พบว่า เพศ อายุ และระดับการศึกษาต่อทัศนคติในการจัดการทรัพยากรไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (รัชนก, 2547) ในขณะที่การศึกษาเรื่องปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับความคิดเห็นของราษฎรท้องถิ่นต่อบทบาทในการทรัพยากรในเขตห้ามล่าสัตว์ป่า เขื่อนป่าสักชลสิทธิ์ จังหวัดลพบุรี พบว่าปัจจัยด้านเพศ และอายุ ต่อทัศนคติในการจัดการทรัพยากรไม่มีแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่ผลด้านการศึกษา และประสบการณ์ในการทำงานมีผลต่อทัศนคติในการจัดการทรัพยากรมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ปาพจน์, 2547) และการศึกษาของ นิภา และคณะ (2550) เกี่ยวกับทัศนคติในการจัดการทรัพยากรปูม้า พบว่าปัจจัยส่วนบุคคลด้านเพศ และการศึกษา ไม่มีผลต่อทัศนคติในการจัดการทรัพยากรปูม้า ในขณะที่ อายุ และประสบการณ์ในการทำประมง มีผลต่อทัศนคติในการจัดการทรัพยากรปูม้าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ผลการศึกษาด้านความตระหนักของชาวประมงในพื้นที่หาดเจ้าสำราญ จังหวัดเพชรบุรี จากการเก็บรวบรวมข้อมูลศึกษาความความสัมพันธ์ระหว่าง เพศ อายุ ระดับการศึกษา และประสบการณ์ในการทำประมง พบว่าในแต่ละพารามิเตอร์ที่ทำการศึกษาให้ผลการศึกษาด้านความตระหนักที่ไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ดีผลการศึกษาด้านความตระหนักในการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสาย ของชาวประมงบริเวณหาดเจ้าสำราญ จังหวัดเพชรบุรี พบว่ามีค่าที่อยู่ในเกณฑ์ค่อนข้างสูง ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากการการแสดงออกถึงความสำคัญในการอนุรักษ์ทรัพยากรของชาวประมง การถ่ายทอดองค์ความรู้ภายในครัวเรือน และชุมชนเกิดการชักชวนการมีส่วนร่วมในการอนุรักษ์ งดใช้เครื่องมือประมงผิดกฎหมาย ลดการใช้สัตว์น้ำขนาดเล็ก สร้างแหล่งพื้นที่ในการอนุรักษ์ในทะเล ตลอดจนเพิ่มโอกาสให้บุตรหลานเข้ามามีบทบาทในการอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์น้ำอย่างต่อเนื่อง

สรุปผล และข้อเสนอแนะ

การวิเคราะห์ข้อมูลจากแบบสอบถามการทำประมงของชาวประมงลอบหมึกสายบริเวณหาดเจ้าสำราญ จังหวัดเพชรบุรี พบว่าชาวประมงในพื้นที่สามารถประกอบอาชีพประมงได้เกือบตลอดทั้งปีเนื่องจากเป็นพื้นที่ที่มีความอุดมสมบูรณ์ของทรัพยากรสัตว์น้ำ โดยเฉพาะทรัพยากรสัตว์น้ำกลุ่มหมึกสาย โดยพบว่า ชาวประมงสามารถจับหมึกสายได้ไม่น้อยกว่า 100 กิโลกรัม/คน/เดือน โดยมีราคาขายแบบคละขนาดอยู่ที่ 160–165 บาท/กิโลกรัม อย่างไรก็ตามผลการศึกษาด้านชีววิทยาของหมึกสายที่ถูกจับพบว่า หมึกสายที่ถูกจับส่วนใหญ่เป็นหมึกสายขนาดกลาง และขนาดเล็ก ซึ่งส่วนใหญ่ยังเป็นหมึกสายที่ยังไม่สามารถสืบพันธุ์หรือขยายพันธุ์ได้ ส่วนผลการศึกษาด้านความตระหนักในการอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์น้ำของชาวประมงในพื้นที่ พบว่าชาวประมงมีความตระหนักในด้านการอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์น้ำที่ค่อนข้างสูง จากข้อมูลดังกล่าวสามารถสรุปได้ว่า ชาวประมงในพื้นที่หาดเจ้าสำราญ จังหวัดเพชรบุรีสามารถเป็นชุมชนที่เข้มแข็งในด้านการอนุรักษ์ทรัพยากรสัตว์น้ำได้ หากได้รับการสนับสนุน และให้ความรู้ ความเข้าใจที่ถูกต้องจากองค์กรภาครัฐ และหน่วยงานด้านการศึกษา

กิตติกรรมประกาศ

ในการศึกษาเรื่อง การทำการประมงลอบหมึกสายและการศึกษาด้านความตระหนักในการอนุรักษ์ทรัพยากรหมึกสายของชาวประมงในพื้นที่หาดเจ้าสำราญ จังหวัดเพชรบุรี เป็นส่วนหนึ่งของงานวิจัยเรื่อง ธนาคารหมึกสายเพื่อการฟื้นฟูทรัพยากรหมึกสาย: การพัฒนาเทคนิคการอนุบาลลูกหมึกสายที่เหมาะสม บริเวณหาดเจ้าสำราญ จังหวัดเพชรบุรี ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ประจำปีงบประมาณ 2565 ขอขอบคุณชาวประมงพื้นบ้านบริเวณหาดเจ้าสำราญ-แหลมผักเบี้ย และบางกุฬา สำหรับข้อมูลและความร่วมมือจนทำให้การศึกษาวิจัยเสร็จสมบูรณ์

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. 2565. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2564. เอกสารฉบับที่ 14/2565. กองนโยบายและแผนพัฒนาการประมง กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

จินตนา จินดาลิขิต, พงศ์ศักดิ์ สุพรรณพยัคฆ์. 2561. การเพิ่มผลผลิตปูม้าเมื่อปล่อยสู่ธรรมชาติ. กองวิจัยและพัฒนาประมงทะเล กรมประมง. กรุงเทพฯ.

จรวย สุขแสงจันทร์. 2558. หมึกทะเล. ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

จินดา เพชรกำเนิด, ฐิติพร ศุภนิรันดร์. 2557. ผลกระทบของการประมงลอบหมึกสายบริเวณอ่าวไทยตอนกลาง. เอกสารวิชาการฉบับที่ 12/2557. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงทะเล กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

นิภา กุลานุจารี, สัมพันธ์ ปานจรัตน์, ธีรยุทธ ศรีคุ้ม, นพรัตน์ นาสุชล, นพรัตน์ เรืองปฏิกรณ์, มนตรี สุมณฑา, จารุภา ศิริ, ปิยวรรณ หัสดี, กำพล ลอยชื่น, จันทร์ทิพย์ บันลือเดช. 2550. ทัศนคติของชาวประมงต่อการจัดการทรัพยากรปูม้า. เอกสารวิชาการฉบับที่ 15/2550. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงอ่าวไทยตอนบน (สมุทรปราการ) สถาบันวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีประมงทะเล สำนักวิจัยและพัฒนาประมงทะเล กรมประมง. กรุงเทพฯ.

บพิธ จารุพันธุ์, นันทพร จารุพันธุ์. 2558. สัตววิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ปาพจน์ สุขาทร. 2547. ปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับความคิดเห็นของราษฎรท้องถิ่นต่อบทบาทในการจัดการทรัพยากรธรรมชาติในเขตห้ามล่าสัตว์ป่าเขื่อนป่าสักชลสิทธิ์ จังหวัดลพบุรี. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

รัชนก ทุยเวียง. 2547. การมีส่วนร่วมของสมาชิกสภาองค์การบริหารส่วนตำบล ในการจัดการทรัพยากรป่าไม้บริเวณรอบพื้นที่อุทยานแห่งชาติภูผาม่าน จังหวัดขอนแก่น. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ธีรยุทธ ศรีคุ้ม, พัสพงศ์ สมชนะกิจ. 2554. การประมงหมึกสายโดยเปลือกหอยจุกพรามณ์ในอ่าวไทย. เอกสารวิชาการฉบับที่ 14/2555. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงทะเล กรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

แสงเทียน อัจจิมางกูร. 2553. แนวคิดทฤษฎีทางสังคม. ใน: เอกสารประกอบโครงการฝึกอบรมศึกษาศาสตร์กับงานวิจัยด้านประมงทะเล วันที่ 2–8 มิถุนายน 2553. คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ, หน้า 1–55.

อรสา เพชรสลับศรี, วิทยา พันธะกิจ, อิสริยะ อีดเกิด. 2559. ทัศนคติของชาวประมงพื้นบ้านต่อแหล่งอาศัยสัตว์ทะเลบ้านบ่อดาน อำเภอท้ายเหมือง จังหวัดพังงา. เอกสารวิชาการฉบับที่ 11/2559. กองวิจัยและพัฒนาประมงทะเล. กรมประมง. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ

Jereb, P., Roper, C.F.E. Norman, M.D., Finn, J.K. 2016. Cephalopods of the world an annotated and illustrated catalogue of cephalopods species known to date. In: FAO Species Catalogue for Fishery Purposes No. 4, Vol. 3. Food and agriculture organization of the United Nations. Rome,

ผลของระยะเวลาการขนส่งต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพหัวเชื้อ *Isochrysis* aff. *galbana* (T-Iso)

Effects of transportation period on change in *Isochrysis* aff. *galbana* (T-Iso) inoculum quality

ชลดา ลีอร่าม, รุ่งทิวา คนสันทัด,วาสนา อากรรัตน์*

Chonlada Leearam, Rungtiwa Konsantad, Wasana Arkronrat*

สถานีวิจัยประมงคลองวาฬ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประจวบคีรีขันธ์ 77000

Klongwan Fisheries Research Station, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Prachuap Khiri Khan 77000, Thailand

*Corresponding Author E-mail Address: ffiswna@ku.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาการขนส่งแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* aff. *galbana* (T-Iso) ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพหัวเชื้อ โดยแบ่งออกเป็น 5 ชุดการทดลอง ชุดละ 4 ซ้ำ คือ หัวเชื้อแพลงก์ตอนพืชที่เก็บรักษาตามระยะเวลาการขนส่งมาแล้ว 0(Control), 1(T1), 3(T2), 5(T3) และ 7(T4) วัน พบว่า T-Iso ในชุดการทดลอง Control และ T1 เมื่อนำไปเพาะขยาย เซลล์เพิ่มจำนวนสูงสุดเท่ากับ (9.77±4.00) x 10^5 และ (7.08±0.79) x 10^5 เซลล์/มล. ซึ่งสูงกว่า T2, T3 และ T4 (p<0.05) สำหรับค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะในชุดการทดลอง Control และ T1 มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะคือ 0.87±0.29 และ 0.79±0.05 เซลล์/วัน ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่า (p<0.05) ชุดการทดลอง T2, T3 และ T4 นอกจากนี้ในแต่ละชุดการทดลองมีระยะเวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่าไม่ต่างกันทางสถิติ (p>0.05) ดังนั้น สามารถใช้ระยะเวลาขนส่ง T-Iso ที่ 1 วัน ได้โดยไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตเมื่อนำไปเพาะขยายต่อ จึงสามารถพัฒนาและเพิ่มศักยภาพการผลิตแพลงก์ตอนพืชที่ใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนต่อไป

คำสำคัญ: คุณภาพหัวเชื้อ, ปริมาณมาก, ระยะเวลาการขนส่ง, ไอโซไครซิส

Abstract

The purpose of this study was to investigate effects of transportation period on change in *Isochrysis* aff. *galbana* (T-Iso) inoculum quality. Five experiments with four replicates: T-Iso inoculum that had been stored for 0(Control), 1(T1), 3(T2), 5(T3) and 7(T4) days. It was found that the Control and T1 was maximum cell density equal to (9.77±4.00) x 10^5 and (7.08±0.79) x 10^5 cells/ml., which were higher than those in T2, T3, and T4 (p<0.05). For the specific growth rate in the Control and T1, the highest were 0.87±0.29 and 0.79±0.05 cells/day, respectively, which were higher (p<0.05) than the T2, T3, and T4. In addition, in each of experiments for cells to divide into two folds is not statistically different (p>0.05). Therefore, the T-Iso transportation storage duration can be used at 1 day without affecting the growth when used for further cultivation. Able to develop and increase the production potential of phytoplankton used in nursing juvenile aquatic animals.

Keywords: Inoculum quality, *Isochrysis* aff. *galbana* (T-Iso), Mass culture, Transportation storage duration

คำนำ

Isochrysis aff. *galbana* (T-Iso) มีลักษณะเซลล์คล้ายกับ *I. galbana* ซึ่งมีการแยกเชื้อมาจากประเทศ Tahiti สำหรับอนุบาลสัตว์น้ำในโรงเพาะฟักเขตร้อนเพราะสามารถเจริญเติบโตได้ดีในที่อุณหภูมิสูง 25-30 องศาเซลเซียส เป็นแพลงก์ตอนพืชเซลล์เดียวที่มีขนาด 5–6 ไมโครเมตร (ลัดดา, 2542; สุนิตา, 2561) สามารถเคลื่อนที่ได้ด้วย flagella มีองค์ประกอบทางสรีระที่ไม่มีผนังเซลล์จึงถูกย่อยได้ง่ายเมื่อสัตว์น้ำกิน มีโภชนาการที่อุดมไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (PUFAs) ในกลุ่มโอเมก้า-3 เช่น EPA (Eicosatetraenoic Acid) และ DHA (Docosahexaenoic Acid) ที่ช่วยปรับปรุงด้านการเจริญเติบโต การสืบพันธุ์ และภูมิคุ้มกันของสัตว์น้ำ มีสารสี carotenoid ในกลุ่มของ fucoxanthin ในปริมาณสูง ซึ่งทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Sun et al., 2019; Bhattacharya et al., 2020) การเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชในปริมาณมากสามารถเพาะเลี้ยงในบ่อกลางแจ้งรวมไปถึงภาชนะอื่น ๆ หรือในโรงเรือนที่แสงส่องถึง มีปัจจัยด้านสิ่งแวดล้อมที่สำคัญ คือ แสง อุณหภูมิ และสารอาหาร การเพาะเลี้ยงโดยใช้แสงธรรมชาติ แพลงก์ตอนพืชต้องเผชิญกับสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงในระหว่างวัน วันต่อวัน ตลอดจนการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาล ปัจจุบันมีกระบวนการเก็บเกี่ยวหรือการเก็บรักษาแพลงก์ตอนพืชเพื่อให้มีความหนาแน่นมากแต่ปริมาตรน้อยทำได้หลายวิธี เช่น การกรอง (Filtration) การทำให้ตกตะกอนด้วยสารเคมี (Chemical flocculation) การปั่นเหวี่ยงให้ตกตะกอนด้วยความเร็ว (Centrifugation) เป็นต้น (Borowitzka, 2016; Bhattacharya et al., 2020) ในระบบโรงเพาะฟักและการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำหลายแห่งมีการนำ *Isochrysis* sp. ไปใช้เป็นอาหารมีชีวิตสำหรับสัตว์น้ำหลายชนิด เช่น ตัวอ่อนหอย ฟาร์มอนุบาลลูกกุ้งทะเล และลูกปลาทะเล แต่การเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชนั้นมีข้อควรคำนึงถึงอยู่หลายประการ เช่น ปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืช วิธีการขยายพันธุ์ รวมไปถึงระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการนำแพลงก์ตอนพืชไปอนุบาลลูกสัตว์น้ำ (ลัดดา, 2542; 2543) จากกรณีการเพาะขยายหัวเชื้อแพลงก์ตอนพืชของเกษตรกรในพื้นที่ห่างไกล เริ่มจากการนำหัวเชื้อจากห้องปฏิบัติการ เช่น ห้องปฏิบัติการของสถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล สถานีวิจัยทางการประมง หรือจากฟาร์มการค้า ที่มีการผลิตหัวเชื้อแพลงก์ตอนเพื่อจำหน่ายหรือจ่ายแจก หัวเชื้อเหล่านี้จะถูกนำมาเพิ่มจำนวนให้มีปริมาตรและจำนวนมากขึ้นภายในฟาร์ม แต่มักประสบกับปัญหาในเรื่องของขั้นตอนการผลิต เพาะขยายไม่ขึ้น มีคุณภาพและปริมาณที่ไม่แน่นอน (ลัดดา, 2543; วาสนา และวุฒิชัย, 2555; Borowitzka, 2016; Flynn et al., 2017; Oostlander et al., 2020; Kumar et al., 2023) ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาการขนส่งแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* aff. *galbana* T-Iso สำหรับเกษตรกรในพื้นที่ห่างไกลที่ต้องการนำไปเพาะขยายพันธุ์ต่อ ซึ่งระยะเวลาการขนส่งอาจส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพหัวเชื้อทั้งระยะเวลาเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อการนำไปเพาะขยายแบบปริมาณมาก ทั้งนี้เพื่อการพัฒนาหรือเพื่อเพิ่มศักยภาพการผลิตแพลงก์ตอนพืชที่ใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design; CRD) เพื่อศึกษาระยะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็ว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; μ) และระยะเวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่า (Doubling time; Td) ของแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* aff. *galbana* T-Iso โดยแบ่งชุดการทดลองเป็น 5 ชุดการทดลอง

ชุดการทดลองละ 4 ซ้ำ คือ หัวเชื้อแพลงก์ตอนพืชที่เก็บรักษาตามระยะเวลาการขนส่งมาแล้ว 0 (หัวเชื้อ T-Iso ที่ไม่ได้ผ่านการบรรจุในกล่องโฟม; Control), 1(T1), 3(T2), 5(T3) และ 7(T4) วัน ตามลำดับ

การเตรียมบรรจุหัวเชื้อแพลงก์ตอนพืช

นำสายพันธุ์แพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* aff. *galbana* (T-Iso) ที่ได้มาจากศูนย์วิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งประจวบคีรีขันธ์ กรมประมง (สุนิตา, 2561) มาเพาะขยายที่ระดับความเค็ม 28 ppt ภายในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอนพืชของสถานีวิจัยประมงคลองวาฬ เพื่อทำเป็นหัวเชื้อ (stock culture) ใช้ในการศึกษา แล้วบรรจุหัวเชื้อแพลงก์ตอนพืช ปริมาตร 1 ลิตร ในถุงพลาสติกใสซ้อน 2 ชั้น ขนาด 14×22 นิ้ว แล้วมัดถุงด้วยยาง กำหนดให้มีการใส่ขวดน้ำแข็งปริมาตรน้ำ 600 มล. จำนวน 2 ขวด ต่อแพลงก์ตอนพืช 4 ถุง ลงในกล่องโฟม ขนาด 15×11.5×13.5 นิ้ว พร้อมด้วยเทอร์มอมิเตอร์ชนิดปรอท 1 อัน และปิดผลึกกล่องโฟมด้วยเทปกาว เก็บกล่องโฟมที่บรรจุหัวเชื้อแพลงก์ตอนตามจำนวนวันที่ใช้ในการขนส่ง คือ 1, 3, 5 และ 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (Fig. 1)

(A) (B)



Fig. 1 *Isochrysis* aff. *galbana* (T-Iso) inoculum in the laboratory (A) Styrofoam box packed T-Iso inoculum (B)

การเตรียมน้ำและภาชนะเพาะเลี้ยง

ล้างทำความสะอาดอุปกรณ์ให้อากาศ (สายให้อากาศ และหัวทราย) และถังทดลอง (ถังพลาสติกสีขาว) ขนาด 10 ลิตร จำนวน 20 ถัง พร้อมตากให้แห้ง แล้วล้างทำความสะอาดถังพลาสติกขนาด 200 ลิตร สำหรับเตรียมน้ำทะเลความเค็ม 30 ppt ผ่านถุงกรองขนาด 5 ไมครอน ลงในถังพลาสติกปริมาตร 200 ลิตร ฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนผง 65% ระดับความเข้มข้น 5 ppm พร้อมทั้งให้อากาศ รอจนคลอรีนสลายหมดและมีตรวจสอบคลอรีนโดยใช้โพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) จากนั้นปิดอากาศพักให้น้ำตกตะกอนและดูดตะกอนออก

วิธีการดำเนินการทดลอง

เก็บตัวอย่างแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* aff. *galbana* (T-Iso) เพื่อหาเซลล์เริ่มต้นก่อนบรรจุลงในกล่องโฟม ระยะเวลา 0 (หัวเชื้อ T-Iso ที่ไม่ได้ผ่านการบรรจุในกล่องโฟม; Control) , 1(T1), 3(T2), 5(T3) และ 7(T4) วัน ตามลำดับ โดยไม่มีการเคลื่อนย้ายใด ๆ ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบกำหนดจึงนำแพลงก์ตอนพืชจากกล่องโฟมมาเพาะขยายแพลงก์ตอนพืชแบบปริมาณมากเป็นการเลี้ยงแบบ outdoor ใช้แสงธรรมชาติ ในถังทดลองปริมาตร 10 ลิตร ด้วยอาหารสูตรดัดแปลงมาจาก (ธิดา, 2542) สำหรับแพลงก์ตอนพืชกลุ่มสีเขียว โดยใช้สารละลายแต่ละส่วนในอัตราส่วน 1 มล./น้ำเลี้ยง 1 ลิตร และใส่หัวเชื้อแพลงก์ตอน 1 มล./น้ำเลี้ยง 25 มล. ระหว่างการทดลองสุ่มตรวจนับปริมาณความหนาแน่นของเซลล์แพลงก์

ตอนพืช โดยใช้ Haemacytometer นับด้วย hand counter ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ทุก 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 7 วัน (168 ชั่วโมง) เพื่อศึกษาระยะเพิ่มจำนวนสูงสุด อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) ของแพลงก์ตอนพืชในแต่ละชุดการทดลอง ตาม Equation 1

$$\mu = \frac{\ln N_2 - \ln N_1}{t_2 - t_1} \quad (1)$$

Where; N_2 and N_1 are the number of cells (N) at the start (t_2) and end (t_1), respectively, of the logarithmic growth phase (สุนิตา, 2561)

นำค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) ที่ได้มาคำนวณระยะเวลาการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่า (Td) ซึ่งเป็นระยะเวลาที่เซลล์สาหร่ายใช้ในการแบ่งเซลล์ออกเป็นสองเซลล์มีหน่วยเป็นชั่วโมง และสามารถคำนวณได้ ตาม Equation 2

$$Td = \frac{\ln 2}{\mu} \quad (2)$$

Where; ln2 = 0.693 and specific growth rate (μ) (สุนิตา, 2561)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเพื่อหาความแตกต่างของข้อมูลในแต่ละชุดการทดลองด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยวิเคราะห์และประมวลผลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป IBM SPSS Statistics for Windows (Version 24.0; IBM Corp., Armonk, NY. USA)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การนำหัวเชื้อแพลงก์ตอนพืช *Isochrysis* aff. *galbana* (T-Iso) ที่มีความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 1.43±0.77 x 10^5 เซลล์/มล. มีอุณหภูมิเริ่มต้นเฉลี่ยอยู่ที่ 27 °C บรรจุในกล่องโฟมที่มีขวดน้ำแข็งตามระยะเวลาการขนส่งที่ 1(T1), 3(T2), 5(T3) และ 7(T4) วัน เมื่อครบกำหนดการเก็บรักษาหัวเชื้อระหว่างการขนส่งมีอุณหภูมิเฉลี่ยหลังเปิดกล่องบรรจุอยู่ที่ 26 °C มาเพาะขยายอีกครั้ง พบว่า T-Iso สามารถเพาะขยายและเพิ่มจำนวนสูงสุดซึ่งมีค่าเท่ากับ (7.08±0.79) × 10^5, (1.59±0.13) × 10^5, (5.13±4.55) × 10^5 และ (4.25±1.94) × 10^5 เซลล์/มล. ตามลำดับ สำหรับ T-Iso ที่ไม่ผ่านการเก็บรักษา (Control) สามารถเพาะขยายและเพิ่มจำนวนสูงสุดไม่ต่างกับชุดการทดลอง T1 เท่ากับ (9.77±4.00) x 10^5 เซลล์/มล. ซึ่งสูงกว่าชุดการทดลอง T2, T3 และ T4 ($p < 0.05$) (Fig. 2) สำหรับค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) พบว่า T-Iso ที่เก็บรักษาระหว่างการขนส่งในชุดการทดลอง Control และ T1 มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดคือ 0.87±0.29 และ 0.79±0.05 เซลล์/วัน ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่า ($p < 0.05$) ที่เก็บรักษาระหว่างการขนส่งในชุดการทดลอง T2, T3 และ T4 โดยมีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดไม่ต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) มีค่าเท่ากับ 0.08±0.10, 0.14±0.12 และ 0.13±0.09 เซลล์/วัน ตามลำดับ (Fig. 3) นอกจากนี้ การเก็บรักษา T-Iso ระหว่างการขนส่งตามระยะเวลาในชุดการทดลอง Control, T1, T2, T3 และ T4 ระยะเวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่า (Td) มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.89±0.40, 0.87±0.06, 1.95±2.25,

3.15±2.50 และ 2.91±1.99 วัน ตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า ในแต่ละชุดการทดลองมีระยะเวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่าไม่ต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) (Fig. 4)

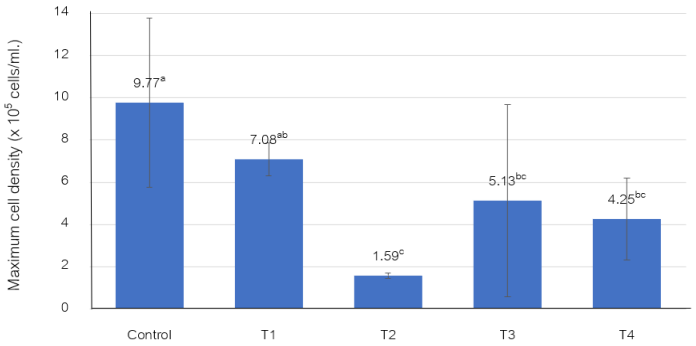


Fig. 2 Maximum cell density of *Isochrysis* aff. *galbana* (T-Iso) re-cultures ability after stored for 0 (Control), 1 (T1), 3 (T2), 5 (T3) and 7 (T4) days

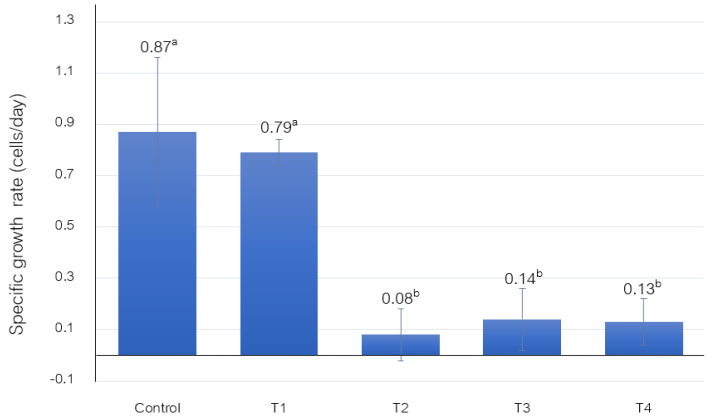


Fig. 3 Specific growth rate of *Isochrysis* aff. *galbana* (T-Iso) re-cultures ability after stored for 0 (Control), 1 (T1), 3 (T2), 5 (T3) and 7 (T4) days

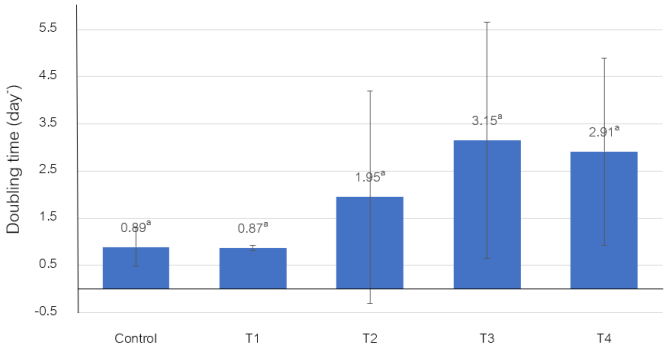


Fig. 4 Doubling time of *Isochrysis* aff. *galbana* (T-Iso) re-cultures ability after stored for 0 (Control), 1 (T1), 3 (T2), 5 (T3) and 7 (T4) days

การนำหัวเชื้อบริสุทธิ์จากห้องปฏิบัติการมาบรรจุเตรียมไว้สำหรับการขนส่งตามระยะเวลา 0, 1, 3, 5 และ 7 วัน หลังจากนั้นนำไปเพาะขยายภายนอกห้องปฏิบัติการ (กลางแจ้ง) คุณภาพของแพลงก์ตอนพืชเป็นสิ่งสำคัญโดยเฉพาะระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวหรือนำไปขยายต่อเพื่อนำไปอนุบาลลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนต่อไป ประสิทธิผลของการเพาะเลี้ยง *I. galbana* แบบมหมวลนั้นขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเซลล์เริ่มต้นเพื่อให้ได้ผลผลิตดีขึ้น (Abdul Sani et al., 2021) จากการเก็บรักษาหัวเชื้อแพลงก์ตอนในกล่องโฟมโดยปราศจากแสง และสารอาหาร ทำให้เมื่อนำ T-Iso มาเพาะขยาย แพลงก์ตอนจะอยู่ระยะปรับตัว (lag phase) นานกว่าปกติ ในระยะแรกของการเพาะขยายแพลงก์ตอนพืชจะไม่มีการแบ่งเซลล์หรือการเจริญเติบโต เนื่องจากเป็นระยะที่เซลล์เริ่มปรับตัวให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมใหม่ ซึ่งถ้าเซลล์ไม่สามารถปรับตัวได้ก็จะตายลง การที่แพลงก์ตอนพืชใช้ระยะเวลาปรับตัวในระยะนี้ช้าหรือเร็วขึ้นอยู่กับความอุดมสมบูรณ์ของอาหาร สภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงและความแข็งแรงของเซลล์แพลงก์ตอนพืช (Jalal et al., 2013; สุนิตา, 2561) จากผลของระยะเวลาการเก็บรักษาระหว่างการขนส่งที่ 3, 5 และ 7 วัน นั้นเป็นช่วงเวลาที่นานเกินไปและไม่เหมาะสมเมื่อเปรียบเทียบกับระยะเวลาการขนส่งที่ 0 และ 1 วัน จึงสามารถนำไปเพาะขยายต่อได้โดยที่การเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชไม่แตกต่างกัน สอดคล้องกับรายงานของ Borowitzka (2016); Nalder et al. (2015) กล่าวว่า สาหร่ายขนาดเล็ก (Microalgae) มีกลไกการปรับตัวหลายอย่างและใช้ระยะเวลาในการปรับตัวให้เข้ากับลักษณะสภาพแวดล้อมที่เกิดขึ้น เช่น คุณภาพแสง อุณหภูมิต่ำ ความเค็มสูง และสารอาหารต่ำ รวมไปถึงการเติมอากาศเพียงพอมีผลกระทบอย่างมากทั้งต่ออัตราการเจริญเติบโตและผลผลิตของสาหร่ายขนาดเล็ก แต่การเติมอากาศมากเกินไปอาจทำให้เซลล์เสียหายได้บางส่วน (Jalal et al., 2013) ดังนั้นถ้านำเซลล์แพลงก์ตอนพืชที่อยู่ในระยะเอกซ์โพแนนเชียลมาทำการถ่ายเทเชื้อใหม่ (sub culture) จะทำให้ช่วงระยะเวลาในการปรับตัวเร็วขึ้นเนื่องจากเซลล์ในระยะนี้มีความแข็งแรง แต่อย่างไรก็ตามผลของการเก็บรักษาแพลงก์ตอนพืชในระหว่างการขนส่งภายใต้สภาวะที่ไม่มีแสง ทำให้ความสามารถในการปรับตัวได้ของเซลล์แพลงก์ตอนพืชลดลง โดยเฉพาะแพลงก์ตอนพืชที่มีเส้นสาย (flagellate)

สรุป

ผลของระยะเวลาการขนส่งต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพหัวเชื้อ *Isochrysis* aff. *galbana* (T-Iso) ที่เก็บรักษาในกล่องโฟม พบว่า T-Iso ในชุดการทดลอง Control และ T1 สามารถเพาะขยายและเพิ่มจำนวนสูงสุดเท่ากับ (9.77±4.00) × 10^5 และ (7.08±0.79) × 10^5 เซลล์/มล. สูงกว่าชุดการทดลอง T2, T3 และ T4 ($p < 0.05$) สำหรับค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะในชุดการทดลอง Control และ T1 มีค่าเท่ากับ 0.87±0.29 และ 0.79±0.05 เซลล์/วัน ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่า ($p < 0.05$) ชุดการทดลอง T2, T3 และ T4 นอกจากนี้ ในแต่ละชุดการทดลองมีระยะเวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์เป็นสองเท่าไม่ต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) ทั้งนี้ สามารถใช้ระยะเวลาการขนส่งที่ 1 วัน ได้โดยที่ไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของแพลงก์ตอนพืชเมื่อมีการนำไปขยายต่อ การศึกษาครั้งนี้สามารถพัฒนาและเพิ่มศักยภาพการผลิตแพลงก์ตอนพืชที่ใช้ในการอนุบาลลูกสัตว์น้ำวัยอ่อนต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ดร.วุฒิชัย อ่อนเอี่ยม หัวหน้าสถานีวิจัยประมงคลองวาฬ ที่อำนวยความสะดวกในการดำเนินการวิจัย และได้ให้คำแนะนำอันเป็นประโยชน์ จนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงตามเป้าประสงค์

เอกสารอ้างอิง

วาสนา อากรรัตน์, วุฒิชัย อ่อนเอี่ยม. 2555. ผลของแสงสีต่อการผลิตแพลงก์ตอนพืช (*Isochrysis* sp., *Thalassiosira* spp., *Chlorella* sp. และ *Tetraselmis* spp.) ในห้องปฏิบัติการ. ใน: เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50: สาขาสัตว์, สาขาสัตวแพทยศาสตร์, สาขาประมง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ, หน้า 574–581.

ลัดดา วงรัตน์. 2542. แพลงก์ตอนพืช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ลัดดา วงรัตน์. 2543. คู่มือการเลี้ยงแพลงก์ตอน. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

สุนิตา เลี่ยมใหม่. 2561. เทคนิคการผลิตโรติเฟอร์โภชนาการสูงด้วย *Isochrysis* aff.*galbana* clone T-Iso เสริมไนเตรทภายใต้ความเค็มและความเข้มแสงที่เหมาะสม. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธิดา เพชรมณี. 2542. คู่มือการเพาะเลี้ยงแพลงก์ตอน. สถาบันวิจัยการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง สงขลา, กรมประมง, กรุงเทพฯ.

Abdul Sani, E.R., Yong, W.T.L., Chin, G.J.W.L., Misson, M. 2021. Growth and Lipid Production of *Isochrysis galbana* in an Upscale Cultivation System. Transactions on Science and Technology. 8: 203–209.

Bhattacharya, M., Goswami, S. 2020. Microalgae – A green multi-product biorefinery for future industrial prospects. BAB. 25: 101580. doi:10.1016/j.bcab.2020.101580

Borowitzka, M.A. 2016. Algal physiology and large-scale outdoor cultures of microalgae. The Physiology of Microalgae. 6: 601–652.

Flynn, K.J., Kenny, P., Mitra, A. 2017. Minimising losses to predation during microalgae cultivation. J. Appl. Phycol. 29: 1829–1840.

Jalal, K.C.A., Shamsuddin, A.A., Rahman, M.F., Nurzatul, N.Z., Rozihan, M. 2013. Growth and Total Carotenoid, Chlorophyll a and Chlorophyll b of Tropical Microalgae (*Isochrysis* sp.) in Laboratory Cultured Conditions. Journal of Biological Sciences. 13: 10–17. doi: 10.3923/jbs.2013.10.17

Kumar, A.N., Sridhar, S., Jayappriyan K.R., Raja, R. 2023. Chapter 33 - Applications of microalgae in aquaculture feed. Handbook of Food and Feed from Microalgae. pp. 421–433. doi.org/10.1016/B978-0-323-99196-4.00011-5

Nalder, T., Miller, M.R., Packer, M.A. 2015. Changes in lipid class content and composition of *Isochrysis* sp. (T-Iso) grown in batch culture. Aquacult Int. 20: 1-20. doi:10.1007/s10499-015-9884-9

Oostlander, P.C., van Houcke, J., Wijffels, R.H., Barbosa, M.J. 2020. Microalgae production cost in aquaculture hatcheries. Aquaculture. 525: 735310. doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735310

Sun, Z., Wang, X., Liu, J. 2019. Screening of *Isochrysis* strains for simultaneous production of fucoxanthin and docosahexaenoic acid. Algal Res. 41: 101545. doi.org/10.1016/j.algal.2019.101545

สาขาส่งเสริมการเกษตร
และคหกรรมศาสตร์
(Subject: Agricultural Extension and Home Economic)

ภาคบรรยาย
(Oral Presentation)

Factors affecting the success in carrying out the Khok Nongna, Mea Yao Chiang Rai Province: Case study Trintawat Thuraworn (Dr. Chi)

Anupong Wongchai[a,b,*], Piyatida Bunbun[a], Sudarin Rodmanee[a], Luksana Chotikut[a]

[a]Department of Holistic Learning in Education, Faculty of Education, Arsom Silp Institute of the Arts, Bangkok 10150, Thailand

[b]School of Economics and Investment, Bangkok University, Pathumthani 12120, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: Pblrthailand@hotmail.com

Abstract

This study aims to (1) studying the factors affecting Trintawat Thuraworn (Dr. Chi)'s achievement of success; (2) study the general area of natural agriculture in Trintawat Thuraworn (Dr. Chi)'s area; and (3) study problems and obstacles in carrying out the natural agriculture of Trintawat Thuraworn (Dr. Chi). This research was the qualitative research. This research was the qualitative research. We gather the data from an in-Depth interview. In addition, we propose the study results by using the descriptive research. From the research, we found that Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) allocated the area in carrying on the natural agriculture to create the sustainable and complete food source by completing the Agro Forestry and Khok Nong Na Model. For the study of factors affecting the success in carrying out the natural agriculture, Dr. Chi has 4 success factors including (1) leadership, (2) network or participation, (3) motivation, and (4) management. However, before Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) was successful, he needed to face various problems and obstacles, but Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) does not give up for the problems. He took time to study and prove himself to others. Right now, Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) was accepted by people in the community and natural agriculture network abroad.

Keywords: Agro Forestry, Khok Nong Na, Natural Agriculture, Success

Introduction

Nowadays, the world changes according to the generation, time and culture. The living conditions that depend on nature and forest, is negatively blended with the comfort of technology. In the past, the majority of area were forest and mountain. There were a large number of plants and herbs. Right now, those areas become the concrete forest. Such forests are full of homes, buildings and industrial factories. That's why the forest area is reduced. The Ministry of Natural Resources and Environment (2021) reported that the Thai forest area reduced from 106,319,237.50 rais in the year 1998 to 102,212,434.37 rais in the year 2021. The ratio of forest area reduction was equal to 186,672.87 rais per year. Seeding and herbs that used to be abundant were destroyed along with the forest. It may be the cause of global warming and natural disaster in the future. When there is such problem in the future, the global food shortage will occur. The forest was destroyed. The entrepreneurs buy the rice field for building construction. There is instability in life as well.

The information mentioned above is in line with the idea of Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) (Fig. 1) He is the Pw aka nyaw tribal ethnicity. In the past, Dr. Chi used to work and stay in the city. Up to a certain time in his life, Dr. Chi thought that there was no stability in his life. That's why he was back to his home town. He lives his life according to the preaching of Pw aka nyaw tribal ethnicity ancestors. For example, he follows the self-sufficiency and sustainable food supply (7 baskets). Later on, Dr. Chi has combined the instruction of his ancestors with the bible and mixed with the doctrine of King Rama 9 (the King's Philosophy and natural agriculture). Then, he can live happily. In the past, villagers and his families did not agree with what Dr. Chi does. So, he was not accepted by the community as well. However, Dr. Chi uses his faith and combines with the time to prove. Until now, Dr. Chi is more accepted by people in this area. He also has the network abroad such as Myanmar, Laos and New Zealand, etc.



Fig 1. Trintawat Thuraworn (Dr. Chi)

The success in making Khok Nong Na of Dr. Chi enables the researchers to be interested in studying the factors affecting Trintawat Thuraworn or Dr. Chi's achievement of success. They would like to know the success factors, problems and obstacles in his operation. They also study the general condition of the natural

agriculture in the area of Trintawat Thuraworn. The study result will be the guidelines and benefits for those who would like to develop themselves.

Literature Review

Pw aka nyaw tribal ethnicity

Karen consists of many groups of people. Some of the big groups are Pw aka nyaw (Sgaw), Plong (Pow), Tong Su (Pa-O) and Bakae (Bawe). In the past, the Karen settled down in Salaween Upstream River, Myanmar. Later on, they evacuated into the stitch along the border area of Thailand, Myanmar and the Western region of Thailand (Kruaraya, 2020). Pw aka nyaw is the group of people who makes a living by respecting the nature. They live their lives based on the resource and land rotation. It reflects the wisdom in managing the area, food, resource, forest and land conservation. Moreover, they are the group of people who love peace, simple life and easiness. We can notice from their clothes that was of simple woven. There is not much decoration of these clothes. (The Princess Maha Chakri Sirindhorn Anthropology Centre, 2023)

Factors that Affecting the Success

1. *Concept about the Precedence or Leadership*

Precedence means the ability of each person to motivate others to be eager to achieve the objectives (By, 2021). Leaders need to recognize the importance of participation and ability development. Moreover, they need to provide the incentive for the success of people (Thanh et al, 2022). Siripong Srichairomrat (1999) said that the leaders' characteristics should consist of Knowledge, Initiative, Courage and Firmness, Human Relations, Fairness and Honesty, Patience, Alertness, Loyalty and Modesty. Therefore, we can conclude that the leaders should respect comments of others. They should take initiative and dare to take risks with new things. They need to manage problems very well and lead the followers into success.

2. *Concept about Cooperation*

Cooperation means those who work together for the success and goal achievement (Pansawang, 2006). When there is problem, they are able to search for the solution together. They think with each other to analyze and increase the opportunity to solve problems (Gray, 1989). Cooperation occurs from 2 persons onwards. They share the same goal (Kaewjunan, 2000). Cooperation is an important factor in creating the network (Agrnoff, 2006). That's why we can conclude that cooperation happens from 2 persons onwards. There also share the same thoughts and objectives. They help each other in carrying on certain activity until the achievement of success and goals.

3. *Concept about Motivation*

Motivation is the process in encouraging people to make the endeavor. They would like to serve the certain need to achieve the success (Lovell, 1980). Motivation is a positive attitude towards the work. It is the happiness that comes from the operation and remuneration (Lakornpol et al, 2020). Various physical and mental processes were stimulated from stimulus. It will show via the behavior. It will enable people to achieve the needed goals and objectives (Srijarumetheeyarn and Udmuangpia, 2020). There are many types of motivation. They change very fast as well (Odgen and Hills, 2008). Motivation is a certain part that enables people to dedicate for their goal achievement (Dörnyei, 2001). Therefore, we can conclude that the motivation arouses people to dedicate for their works until achieving the success according to the goals.

4. Concept about Management

Management in this place is the problems management. The problems management need to pass the thinking processes. Problems solving is the complicated processes. They need the intelligence, experience and acknowledgement (Issarapreeda, 1980). The problems solving needs the communication from 2 persons onwards. They need to exchange their ideas, knowledge and information in problems solving. Then, they will receive the skills, knowledge and ability to use them in their daily lives appropriately (Johnson & Morrow, 1981). Four problems-solving procedures includes (1) problems indication, (2) problems analysis, (3) problems solutions methods proposal, and (4) results checking (Weir, 1974). That's why we can conclude that the problems management is the process that needs the utilization of various skills. If the problems are solved by 2 persons onwards, we can solve problems in a better manner.

From the review of the literature about factors affecting the success, we found that the majority of research work use 4 factors. They are Leadership Factors, Cooperation Factors, Management Factors and Motivation Factors. That's why the researcher uses these 4 factors mentioned above. He studies factors affecting the success in carrying out the natural agriculture of Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) in Mae Yao Sub-District, Muang District, Chiang Rai Province.

Methodology

Data Collection

This research is the qualitative research with the source of data collection as follows.

Primary Source is the information from the In-Depth Interview about the natural agriculture of Trintawat Thuraworn (Dr. Chi).

Tools Used in the Research

This research tool is the interview. It is the In-depth interview with open-ended questions. In this way, Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) is able to give the comments independently and get a wide variety of information.

Data Analysis and Presentation Methods

For the data analysis, researcher uses the data from the interview of Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) to analyze the major themes. Then, they have separated the major themes into the sub-themes and categories according to the Qualitative Research. The presentation method of study results is the Descriptive Research.

Results

General Area Conditions of the Natural Agriculture in the Area of Trintawat Thuraworn (Dr. Chi)

The area of Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) is located in Theeporkee Village, Mae Yao Sub-District, Muang District, Chiang Rai Province. Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) area is located in totally 11 rais of land. This area is separated into 2 parts. The 1st part of 8 rais is the agro forestry in Pw aka nyaw tribal ethnicity model. He also builds 3 homestay units including his home. The 2nd part of 3 rais is the area for carrying out the natural agriculture (Khok Nong Na). For the area used in the agro forestry, Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) grows herbs, keeps bee, raises chickens and grows plants for food according to the instruction of ancestors called "7 Grabung". These baskets include: (1) Rice, (2) Taro, (3) Cassava, (4) Home-Grown Vegetables, (5) Fruits, (6) Cereals, and (7) Ornamental Plants. For the area in carrying out the natural agriculture, Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) separates the area for rice planting and 2 pool digging. The pool will help to reserve water for utilization in summer. There is the fish feeding for food as well. For the area around the pool, Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) plant bananas, lemon grass and gurmar. The division of such area is the sustainable source of food and generate income for Trintawat Thuraworn (Dr. Chi). It shows that Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) area can be the source of sustainable and complete food supply. In line with the work of Thammaso et al (2022). They studied the Khok Nong Na Idea Model for the sustainable development. From the study results, Khok Nong Na Model is the source of food that was used to help each other. There is no selfishness. There is the opportunity in creating the honest livelihood for the family's security. It is the honest career and keep up with Sustainable Development Goals (SDGs) in the concrete manner.

Factors Affecting the Success in Carrying Out the Natural Agriculture of Trintawat Thuraworn (Dr. Chi)

From the interview of Trintawat Thuraworn (Dr. Chi), we can categorize 4 success factors as follows:

1. Leadership Factor from the interview, Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) has great commitment and intention. He sacrifices himself and braves to express his ideas that are different from others. Moreover, he listens to the comments or suggestion from others. He is patient and enthusiastic in doing many things. In addition, he can create the motivation for others to take part in his work. in line with the research carried out by Prapaipetch et al (2023). He said that the leadership factor does not happen alone or occur in certain situation. But the pattern of behavior that occur indicate the continuous steps until achievement of success.

2. Cooperation Factors from the interview, we found that Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) joined the Self Reliance for the Country, Class 4 Project. After project participation, Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) gained more knowledge and experience. He also had more network. He adapted these things with his area. It took about 10

years until villagers and nearby community accept his work. These people started to study his work. Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) created the network from the Christian Church in the community and young people. Nowadays, Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) has the network abroad including Laos, Myanmar and New Zealand, etc. He showed people that the Self Reliance for the Country, Class 4 Project is a good start in making Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) be successful in creating the natural agriculture network. in line with the research of Chaleomklin (2020). It indicated that the network has great impact on the success. It also increased the productivity. It is important for the success in carrying on the business and creates the difference beyond the competitors.

3. Motivation Factor from the interview, we found that Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) is confident in the instruction of Pw aka nyaw tribal ethnicity ancestors. It is the warning about changes in the way of life. There will be chaotic and crisis in the world. Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) has the motivation in creating the sustainable source of food. He lives his life by depending on himself and nature. Therefore, Trintawat Thuraworn's motivation comes from the preaching named "3 Tha's Lessons". These lessons indicate that the generation changes cause the way of life Pw Aka Nyaw tribal ethnicity change. That's why the descendants need to stick on the rice stubble. Moreover, we need to keep the plant species in the basket. When anything happens in the world, we will not be afraid. Descendants need to grow 7 groups of plants including: (1) Rice, (2) Taro, (3) Cassava, (4) Home-Grown Vegetables, (5) Fruits, (6) Cereals, and (7) Ornamental Plants. These things are called 7 baskets. With these instructions, Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) has adapted them in his area. He carried on the agro forestry and Khok Nong Na. In addition, Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) had faith in himself and his ancestors' preaching. is line with the research of Wanthanesuna and Lertamornsak (2023). They said that the motivation in performing the work of government-based teachers in effective instruction helps to arouse the motivation in the success and pride in their works. It will enable people to achieve the success in their works or in their personal lives.

4. Management Factors from the interview, we found that Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) lives his life in sufficiency economy according to the King Rama 9 philosophy. Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) separates his area into 3 parts including: (1) Habitat, (2) Area for Khok Nong Na and agro forestry, and (3) Homestay area. We can see that Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) can generate income from homestay. Additionally, he can reduce expenses in his family by carrying on the Khok Nong Na and agro forestry. For the management of his fatigue or despondent, Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) follows the instruction of his ancestors and preaching in the bible for his spiritual anchor. in line with the work of Thienchaipruek (2017). It stated that the effective management played major roles in human resources development of new organization. It resulted in the effective work according to the goal of the organization.

Problems and Obstacles in Carrying Out the Natural Agriculture of Trintawat Thuraworn (Dr. Chi)

Problems and obstacles that Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) found were the long duration in managing his area. It's because Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) manages the area alone. There is a shortage of tools and machineries in space adjustment as well. Moreover, Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) did not receive cooperation from people in the community or even his family members. Everybody in the community used to hear the words Khok Nong Na or Natural Agriculture. But they didn't understand whether it will be worth for their investment and contribution or not. What Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) did resulting in the objection of the community and his family members. There was the ideas opposition. Additionally, there is the conflict and no cooperation from the community.

Conclusion and Recommendation

From the fieldwork to survey the area, we can conclude that the natural agriculture area of Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) was divided into 2 parts. Part 1 is used for the agro forestry, homestay and habitat. Part 2 is used for Khok Nong Na. For the Factors Affecting the Success in Carrying Out the Natural Agriculture of Trintawat Thuraworn (Dr. Chi), we found that there are 4 success factors including: (1) Leadership Factor (2) Network or Participation, (3) Motivation, and (4) Management. However, before Trintawat Thuraworn (Dr. Chi)'s achievement of success, he needed to face various kinds of problems and obstacles. For example, the obstacles in ideas with his family members and community from Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) did. He did not get the cooperation or participation from the community and short of machinery for space adjustment, etc.These problems are solved by time period. Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) took time to learn and prove himself to others. He had faith in himself, the instruction of Pw aka nyaw tribal ethnicity, the preaching of bible and the royal guidance of Kong Rama 9. Nowadays, Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) is well-accepted from people in the community. He is also acknowledged by the natural agriculture network abroad. Therefore, the achievement of success is time-consuming. There should be the Leadership Factor who are dare to think differently but respect and listen to others. They should keep on creating the network and having faith in themselves. When there is any problems or obstacles, they need to have the methods to solve these things smoothly.

Acknowledgements

Thank you to Trintawat Thuraworn (Dr. Chi) for providing information for this research.

References

Agranoff, R. 2006. Inside collaborative networks: Ten lessons for public managers. Public Adm. Rev. 66: 56–65.

By, R.T. 2021. Leadership: in Pursuit of Purpose. J. Change Manag. 21: 30–44.

Chaleomklin, P. 2020. Business Network Management in the Aspects of Factors That Affect the Success of Business Operations. Journal of Roi Kaensarn Academi 5: 142–151.

Dörnyei, Z. 2001. Motivational strategies in the language classroom. Cambridge University Press. Cambridge, UK.

Gray, B. 1989. The pathways of my research: A journey of personal engagement and change. J. Appl. Behav. Sci. 25: 383–398.

Issarapreeda, P. 1980. Psychology of learning and study. Graphic Art. Bangkok, Thailand.

Jonson, K., Marrow, K. 1981. Communication in the classroom: Applications and methods for a communicative approach. Longman. Harlow Essex, UK.

Kaewjunan, T. 2000. Cooperation of farmers for the arrangement of land in singburi province. Master of Social Work, Thesis.

Kruaraya, T. 2020. Pw Aka Nyaw. https://art-culture.cmu.ac.th/Lanna/article Detail/1253.

Lakornpol, S., Jarutirasarn, P., Yolao, D., Punthai, K. 2020. Factors affecting the success of salespersons for the modern medicine production business in Thailand. Humanities and Social Science Research Promotion Network Journal 3: 39–50.

Lovell, R.B. 1980. Adult learning. John Wiley & Sons, Inc. New York, NY, USA.

Ministry of Natural Resources and Environment. 2021. Executive summary for forest area information project in the year 2021. https://forestinfo.forest.go.th/Content/file/ForestArea /ForestArea_2564.pdf.

Ogden, J., Hills, L. 2008. Understanding sustained behavior change: The role of life crises and the process of reinvention. Health 12: 419–437.

Pansawang, P. 2006. Human behavior and personal development. Department of Psychology and Guidance Pibulsongkram Rajabhat University. Phitsanulok, Thailand.

Praphaiphet, S., Kundaeng, S., Loetvathong, R., Praphaiphet, S. 2023. Leadership: Concepts, Theories, and Elements. Journal of Intellect Education 2: 59–73.

Srichairomrat, S. 1999. Keys for the excellence in managing people. Bangkok, Thailand.

Srijarumetheeyarn, C., Udmuangpia, S. 2020. Motivation at Work: Theory and Application. Journal of MCU UBON Review 5: 424–436.

Thammaso, P.M.H., Wachirapanyo, D.P.A., Sakabucha, S., Photipaijit, N. 2022. Nong Kok Na model for sustainable development. Journal of Arts Management 6: 419–434.

Thanh, N.H., Quang, N.V., Anh, N.N. 2022. The relationship between leadership style and staff work engagement: An empirical analysis of the public sector in Vietnam. Humanit. Soc. Sci. 9: 1–12.

Thienchaipruek, P. 2017. The effective management. Journal of MCU Social Science Review, 6: 253–268.

Wanthainsuna, U. Lertamornsak, K. 2023. Creation of invention for teachers operation, Effective instruction [Presentation Documents]. The 5th UTCC National Conference, Thailand.

Weir, J.J. 1974. Problem solving is everybody's problem, The Science Teacher. Zoom Publisher. Bangalore, India. pp. 16–18.

ปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ธนาคารเพื่อการเกษตรและสหกรณ์การเกษตรของลูกค้า สาขามีนบุรี กรุงเทพมหานคร

Marketing mix factors affecting customers' decision to purchase lottery savings from the Bank for Agriculture and Agricultural Cooperatives, Minburi branch, Bangkok

วรกานต์ แสงสร้อย*,ปัญญา หมั่นเก็บ

Worakan Sangsoi*, Panya Mankeb

[a]คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

[a]School of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

*Corresponding author. Email address: 63040382@kmitl.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ธนาคารเพื่อการเกษตรและสหกรณ์การเกษตร (ธ.ก.ส.) สาขามีนบุรี กรุงเทพมหานคร โดยใช้แบบสอบถามเป็นเครื่องมือในการเก็บรวบรวมข้อมูลจากลูกค้าที่ซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. สาขามีนบุรี จำนวน 154 คน ผลการศึกษาพบว่า ปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. ในภาพรวมอยู่ในระดับมากที่สุด ค่าเฉลี่ย 4.61 เมื่อพิจารณาเป็นรายด้าน พบว่า อยู่ในระดับมากที่สุด 6 ด้าน โดยเรียงลำดับดังนี้ การให้บริการ ช่องทางการจัดจำหน่าย ราคา บุคคล ผลิตภัณฑ์ และ การส่งเสริมการตลาด ตามลำดับ ส่วนด้านลักษณะทางกายภาพอยู่ในระดับมาก เมื่อเปรียบเทียบปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. จำแนกตามปัจจัยส่วนบุคคลและพฤติกรรมการซื้อ พบว่า เพศ อายุ ระดับการศึกษา อาชีพและรายได้เฉลี่ยต่อเดือน งบประมาณในการซื้อ ความถี่ในการซื้อและระยะเวลาในการถือครองสลากออมทรัพย์ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

คำสำคัญ: การตัดสินใจซื้อ, ธนาคารเพื่อการเกษตรและสหกรณ์การเกษตร, ปัจจัยส่วนประสมทางการตลาด, สลากออมทรัพย์

Abstract

The objective of this research was to study the marketing mix factors affecting the decision to purchase lottery savings of the Bank for Agriculture and Agricultural Cooperatives (BAAC), Minburi Branch, Bangkok. Questionnaires were employed to gather data from 154 respondents who purchased BAAC lottery savings. The results showed that the overall marketing mix factors affecting the decision to purchase BAAC lottery savings were at the highest level with an average of 4.46. When considering each aspect, it was found that 6 aspects were at the highest level, arranged as follows: service, distribution channel, price, people, products, and marketing promotion, respectively. As for physical characteristics, they were at a high level. Comparing the marketing mix factors that affect the decision to purchase BAAC lottery savings classified by demographic characteristic factors and purchasing behavior, it was found that gender, age, education level, occupation, average monthly income, the budget for purchasing, the frequency of purchasing, and the duration of holding BAAC lottery savings have a statistically significantly different ($p < 0.01$).

Keywords: Bank for Agriculture and Agricultural Cooperatives, Marketing mix factors, Lottery savings, Purchase decision

คำนำ

ธนาคารเพื่อการเกษตรและสหกรณ์การเกษตร (ธ.ก.ส.) เป็นหนึ่งในธนาคารเฉพาะกิจของรัฐ จากทั้งหมด 8 ธนาคาร ซึ่งอยู่ภายใต้การกำกับของกระทรวงการคลังและธนาคารแห่งประเทศไทย ธ.ก.ส. ก่อตั้งเมื่อวันที่ 1 พฤศจิกายน 2509 โดยมีวัตถุประสงค์ให้ความช่วยเหลือทางด้านการเงินแก่เกษตรกร กลุ่มเกษตรกรและสหกรณ์การเกษตร ปัจจุบันขยายการให้บริการสินเชื่อไปสู่บุคคล กลุ่มบุคคล ผู้ประกอบการ กองทุนหมู่บ้านหรือชุมชน องค์กรที่เกี่ยวข้องและสหกรณ์ทุกประเภท (ธ.ก.ส., 2563; ธ.ก.ส., 2566)

สถานการณ์ปัจจุบันหนี้ครัวเรือน เป็นปัจจัยหนึ่งที่สะท้อนให้เห็นถึงแนวโน้มการใช้จ่ายที่เพิ่มขึ้น ทำให้ที่ผ่านมารัฐบาล โดยกระทรวงการคลังต้องมีการออกแนวทางการส่งเสริมการออมทั้งระบบ เพื่อให้ประชาชนตระหนักรู้ถึงความสำคัญของการบริหารการเงิน ให้รู้จักออมและรู้จักใช้จ่ายอย่างเพียงพอและเหมาะสม ซึ่งในส่วนนี้เองเป็นปัจจัยหนึ่งที่ช่วยลดปัญหาหนี้สินและมีเงินออมเพื่อใช้หลังเกษียณอายุอย่างเพียงพอ (ครองขวัญ, 2561) จากผลสำรวจของสำนักงานสถิติแห่งชาติ พบว่า หนี้สินเฉลี่ยต่อครัวเรือนมีอัตราเพิ่มขึ้น โดยในปี 2564 ครัวเรือนไทยมีหนี้สินอยู่ที่ 164,055 บาท และในปี 2566 (6 เดือนแรก) เพิ่มขึ้นเป็น 208,331 บาท (สำนักงานสถิติแห่งชาติ, 2566) เมื่อรายได้ของคนไทยไม่เพียงพอกับค่าใช้จ่ายที่มีการเสี่ยงโชคจึงกลายเป็นความหวังของคนไทย ทำให้สังคมไทยไม่สามารถแยกออกจากวิธีทางการเสี่ยงโชคได้ แต่ยังมีวิธีการลุ้นโชคอีกรูปแบบหนึ่งที่สามารถเปลี่ยนวิธีการลงทุนหรือการเสี่ยงโชคจากที่เสี่ยงโชคแล้วทำให้ต้นทุนหมดไปกลายเป็นเสี่ยงโชคที่ได้คือทั้งเงินที่จ่ายไปและได้ลุ้นโชคที่เรียกว่า “หวยออมเงิน” หรือ “สลากออมทรัพย์” ของ ธ.ก.ส. (นิศารัตน์ และ พัฒน์, 2561)

ธ.ก.ส. ได้ออกผลิตภัณฑ์ที่เรียกว่าสลากออมทรัพย์ครั้งแรกในปี พ.ศ. 2540 โดยเป็นการเปิดรับฝากทั่วประเทศเพื่อวัตถุประสงค์เพิ่มช่องทางในการออมเงินให้กับลูกค้าของธนาคารพร้อมได้ลุ้นรับโชคทุกเดือน ซึ่งปัจจุบันได้รับความนิยมเป็นอย่างมากไม่ว่าจะลูกค้าเกษตรกร หรือลูกค้าทั่วไป โดยจะกำหนดระยะเวลาในการฝากและอัตราผลตอบแทนที่แน่นอน เพื่อสร้างทางเลือกให้แก่ประชาชน นอกจากนี้ผลตอบแทนที่ได้ ยังได้ทั้งดอกเบี้ยและรางวัลพิเศษที่ได้จากการสุ่มจับหมายเลขสลาก โดยมีมูลค่าเงินรางวัลลดหลั่นกันไปตามเงื่อนไขของสลากแต่ชุด และมีการกำหนดสลากเป็นหน่วย มูลค่าต่อสลากต่อหน่วย ระยะเวลาการรับฝาก อัตราดอกเบี้ย เมื่อครบกำหนดไถ่ถอน มูลค่าเงินรางวัล จำนวนครั้งที่มีสิทธิถูกรางวัล ตลอดเงื่อนไขพิเศษขึ้นอยู่กับแต่ละประเภท (ธ.ก.ส., 2566)

การศึกษาครั้งนี้ เป็นการศึกษาปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดที่ผลต่อการตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. ของลูกค้า สาขามีนบุรี กรุงเทพมหานคร เนื่องจากปัจจัยส่วนประสมทางการตลาด (7 Ps) ประกอบด้วย ด้านผลิตภัณฑ์ ด้านราคา ด้านช่องทางการจัดจำหน่าย ด้านการส่งเสริมการตลาด ด้านบุคลากร ด้านลักษณะทางกายภาพและด้านกระบวนการให้บริการ เป็นเครื่องมือสำคัญที่มีผลต่อผู้บริโภคในการตัดสินใจซื้อหรือเลือกใช้บริการ ซึ่งส่วนประกอบแต่ละส่วนที่ถูกผสมทางการตลาดจะมีผลกระทบซึ่งกันและกันและต้องสอดคล้องกันเพื่อให้การดำเนินงานด้านการตลาดประสบความสำเร็จตามวัตถุประสงค์ (ชิตวรรณ และ ฐิติวรรณ, 2558 ผลการศึกษาจะเป็นประโยชน์ต่อ ธ.ก.ส. ในการกำหนดกลยุทธ์ทางการตลาดให้เหมาะสมและตอบสนองต่อความต้องการของลูกค้า รวมทั้งเป็นแนวทางในการขยายตลาดต่อไป

วิธีการศึกษา

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือลูกค้า ธ.ก.ส. ที่มาซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. ณ ที่ทำการ สาขามีนบุรี กรุงเทพมหานคร เนื่องจากไม่ทราบจำนวนประชากรที่แน่นอน จึงคำนวณหาขนาดกลุ่มตัวอย่างโดยใช้สูตร Crochran (1977) ที่ระดับความเชื่อมั่น 90% ดังนี้

สูตร $n = \frac{P(1-P)Z^2}{e^2}$

n คือ จำนวนหรือขนาดตัวอย่างที่ต้องการ

P คือ สัดส่วนของประชากรที่ผู้วิจัยต้องการสุ่ม

ซึ่งการวิจัยครั้งนี้ผู้วิจัยได้กำหนดสัดส่วนประชาการเท่ากับ 0.5 เนื่องจากจะทำให้ได้กลุ่มตัวอย่างมากที่สุด

Z คือ ระดับความเชื่อมั่นที่กำหนดไว้ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.10 เท่ากับ 1.65

e คือ สัดส่วนความคลาดเคลื่อนที่ยอมรับได้ ซึ่งการวิจัยครั้งนี้กำหนดให้มีค่าความคลาดเคลื่อนเท่ากับ 0.10

แทนค่า $n = \frac{0.50(1-0.50)1.65^2}{0.10^2} = 68.06$

= 68 คน

จากการคำนวณได้ขนาดกลุ่มตัวอย่างเท่ากับ 68 คน สำหรับการวิจัยครั้งนี้สำรองเผื่อไว้ 86 คน ดังนั้นกลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ จำนวน 154 คน เก็บข้อมูลระหว่างเดือน กรกฎาคม – ตุลาคม 2566 โดยการสุ่มแบบบังเอิญ (accidental sampling)

เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา

การศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยใช้แบบสอบถาม (questionnaire) เป็นเครื่องมือในการเก็บรวบรวมข้อมูล ซึ่งมีคำถามแบบปลายปิด (close-ended question) และปลายเปิด (open-ended question) โดยมีการทดสอบความเที่ยงตรงเชิงเนื้อหา (content validity) โดยผู้เชี่ยวชาญจำนวน 3 ท่านเพื่อประเมินความสอดคล้องของข้อคำถามกับวัตถุประสงค์ (index of item objective congruence: IOC) และเลือกเฉพาะข้อคำถามที่มีค่า IOC มากกว่าหรือเท่ากับ 0.5 (บุญชม, 2545) แล้วจึงนำไปทดลองใช้ (tryout) กับลูกค้า ธ.ก.ส. สาขามีนบุรี ที่ไม่ใช่กลุ่มตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้จำนวน 30 คน เพื่อหาความเชื่อมั่น (reliability) โดยวิธีหาค่าสัมประสิทธิ์แอลฟาของครอนบาค (Cronbach's alpha coefficient) ได้ค่าความเชื่อมั่นทั้งฉบับเท่ากับ 0.946 ซึ่งเป็นค่ามากกว่า 0.70 เป็นค่าที่สามารถนำไปใช้ในการเก็บข้อมูลเพื่อการวิจัยครั้งนี้ได้ (Nunnally and Bernstein, 1944)

การวิเคราะห์ข้อมูล

1. สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลได้แก่ สถิติเชิงพรรณนา (descriptive statistics) เช่น ค่าความถี่ (frequency) ค่าร้อยละ (percentage) ค่าเฉลี่ย (mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation) และสถิติอนุมานได้แก่การทดสอบที (*t*-test) และการทดสอบเอฟ (F-test)

2. เกณฑ์การแปลผล ผู้วิจัยได้แบ่งระดับการประเมินค่าเฉลี่ยปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. แบ่งออกเป็น 5 ระดับ จากมากไปน้อย โดยกำหนดเป็นอันตรภาคชั้น ดังนี้ (พวงรัตน์, 2543)

$$\text{อันตรภาคชั้น} = \frac{\text{คะแนนสูงที่สุด - คะแนนต่ำที่สุด}}{\text{จำนวนชั้น}}$$

$$= \frac{5 - 1}{5}$$

$$= 0.80$$

จากเกณฑ์ดังกล่าว สามารถแปลความหมาย ค่าเฉลี่ยปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส ดังนี้

คะแนนเฉลี่ย 4.21 – 5.00 หมายถึง มากที่สุด

คะแนนเฉลี่ย 3.41 – 4.20 หมายถึง มาก

คะแนนเฉลี่ย 2.61 – 3.40 หมายถึง ปานกลาง

คะแนนเฉลี่ย 1.81 – 2.60 หมายถึง น้อย

คะแนนเฉลี่ย 1.00 – 1.80 หมายถึง น้อยที่สุด

ผลและวิจารณ์ผลการศึกษา

1. *ข้อมูลส่วนบุคคลของลูกค้า*

จากการศึกษาพบว่า ลูกค้าที่มาซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. สาขามีนบุรี ส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง ร้อยละ 69.48 มีอายุ 41-50 ปี ร้อยละ 47.40 มีสถานภาพสมรส ร้อยละ 53.90 มีระดับการศึกษาปริญญาตรี ร้อยละ 49.37 ประกอบอาชีพพนักงานบริษัท ร้อยละ 33.77 มีรายได้เฉลี่ย 15,001–30,000 บาท ร้อยละ 50.65

2. *พฤติกรรมการซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส.*

จากการศึกษาพบว่า ลูกค้าซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. โดยมีวัตถุประสงค์ในการซื้อเพื่อการออมทรัพย์ ร้อยละ 27.27 งบประมาณในการซื้อเฉลี่ยครั้งละ 15,001–30,000 บาท ร้อยละ 48.70 ส่วนใหญ่ซื้อ 1–3 ครั้งต่อปี ร้อยละ 62.34 โดยเกินครึ่งจะซื้อเมื่อสะสมเงินได้มากพอ ร้อยละ 57.79 ส่วนใหญ่จะถือครองสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. จนครบกำหนด 3 ปี ร้อยละ 59.74 และแหล่งในการศึกษาข้อมูลในการซื้อ คืออินเทอร์เน็ต/เว็บไซต์ ร้อยละ 54.55 โดยจะตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. ด้วยตัวเอง ร้อยละ 47.40

3. *ปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส.*

จาก Table 1 พบว่า ปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. ในภาพรวมอยู่ในระดับมากที่สุด มีค่าเฉลี่ย 4.46 เมื่อพิจารณาเป็นรายด้าน พบว่า อยู่ในระดับมากที่สุด 6 ด้าน โดยเรียงลำดับจากมากไปน้อยดังนี้ (1) การให้บริการ, (2) ช่องทางการจัดจำหน่าย, (3) ราคา, (4) บุคคล, (5) ผลิตภัณฑ์, และ (6) การส่งเสริมการตลาด มีค่าเฉลี่ย 4.61, 4.61, 4.58, 4.57, 4.46, และ 4.31 ตามลำดับ ส่วนด้านลักษณะทางกายภาพอยู่ในระดับมาก มีค่าเฉลี่ย 4.09

เมื่อพิจารณาเป็นรายด้าน มีรายละเอียด ดังนี้

1.) ด้านผลิตภัณฑ์ ในภาพรวมอยู่ในระดับมากที่สุด เมื่อพิจารณาเป็นรายข้อพบว่าอยู่ในระดับมากที่สุด 5 ข้อ โดยเรียงลำดับ ดังนี้ (1) ดอกเบี้ยเงินรางวัลไม่หักภาษี, (2) การถอนคืนสลากได้เต็มมูลค่าเมื่อครบกำหนด, (3) เป็นหลักทรัพย์ค้ำประกันกับเงินกู้กับธนาคาร, (4) ผลิตภัณฑ์สามารถถอนคืนก่อนครบอายุสลาก, และ (5) อัตราผลตอบแทน (ดอกเบี้ย) ของสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. ตามลำดับ และอยู่ในระดับมาก 1 ข้อ คือ รูปแบบและความสวยงามของสลากออมทรัพย์

2.) ด้านราคา ในภาพรวมอยู่ในระดับมากที่สุด เมื่อพิจารณาเป็นรายข้อ พบว่าอยู่ในระดับมากที่สุดทั้งหมด โดยเรียงลำดับ ดังนี้ (1) ราคาสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส.มีความคุ้มค่าในการลงทุน, (2) ราคาต่อหน่วยของสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส., (3) ราคาการไถ่ถอนก่อนครบกำหนดมีความสมเหตุสมผล, (4) มีการประกันราคาคงที่, และ (5) ราคาสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. มีความเหมาะสมกับผลตอบแทนที่ได้รับ

3.) ด้านช่องทางการจัดจำหน่าย ในภาพรวมอยู่ในระดับมากที่สุด เมื่อพิจารณาเป็นรายข้อ พบว่า อยู่ในระดับมากที่สุดทั้งหมด โดยเรียงลำดับ ดังนี้ (1) การซื้อสลากผ่านระบบ Internet Bank/Mobile Banking, (2) ลูกค้ารับสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. ได้ทันทีหลังการซื้อ, (3) การรับรางวัลสลากออมทรัพย์ ได้ที่ ธ.ก.ส.ทุกสาขา, และ (4) สามารถซื้อได้ที่ ธ.ก.ส.ทุกสาขา

4.) ด้านการส่งเสริมการตลาด ในภาพรวมอยู่ในระดับมากที่สุด เมื่อพิจารณาเป็นรายข้อ พบว่า อยู่ในระดับมากที่สุด 4 ข้อ โดยเรียงลำดับ ดังนี้ (1) จัดกิจกรรมลุ้นของรางวัล เช่น ทองคำ, (2) ลูกค้าสามารถติดตามข่าวสารการออกสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. ได้ทางสื่อสิ่งพิมพ์ สื่อโทรทัศน์ และสื่ออื่นๆ, (3) มีข้อมูลแนะนำสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. ผ่านทางแผ่นพับของธนาคาร และ (4) มีข้อมูลสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. ประชาสัมพันธ์ทางเว็บไซต์ของ ธ.ก.ส และอยู่ในระดับมาก 1 ข้อ คือ การให้ดารานักแสดงที่เป็นพรีเซ็นเตอร์ในการโฆษณา

5.) ด้านบุคคล ในภาพรวมอยู่ในระดับมากที่สุด เมื่อพิจารณาเป็นรายข้อ พบว่า อยู่ในระดับมากที่สุดทั้งหมด โดยเรียงลำดับ ดังนี้ (1) พนักงานมีความสามารถในการแก้ไขปัญหาให้กับลูกค้า, (2) พนักงานมีมารยาท บุคลิกภาพความน่าเชื่อถือ, (3) พนักงานมีความกระตือรือร้น เอาใส่ใจในการบริการ, (4) พนักงานมีให้บริการลูกค้าอย่างเท่าเทียม, (5) พนักงานมีความรู้ ความสามารถในการให้คำแนะนำที่ตอบสนองความต้องการได้, และ (6) พนักงานมีจำนวนเพียงพอในการให้บริการ

6.) ด้านลักษณะทางกายภาพ ในภาพรวมอยู่ในระดับมากที่สุด เมื่อพิจารณาเป็นรายข้อ พบว่า อยู่ในระดับมากที่สุด 4 ข้อ โดยเรียงลำดับ ดังนี้ (1) การเดินทางสะดวก ด้วยระบบขนส่งมวลชนได้, (2) บรรยากาศภายในธนาคารปลอดโปร่ง เย็นสบาย มีการจัดสถานที่ให้บริการสวยงาม, (3) มีเครื่องมืออุปกรณ์ในการให้บริการที่ทันสมัย, (4) สิ่งอำนวยความสะดวกอื่นๆ เช่น บริการเครื่องดื่ม และอยู่ในระดับมาก 1 ข้อ คือ ที่นั่งสำหรับรองรับการบริการอย่างเพียงพอ และอยู่ในระดับปานกลาง 1 ข้อ คือ ที่จอดรถสะดวก และเพียงพอ

7.) ด้านกระบวนการให้บริการ ในภาพรวมอยู่ในระดับมากที่สุด เมื่อพิจารณาเป็นรายข้อ พบว่า อยู่ในระดับมากที่สุดทั้งหมด โดยเรียงลำดับ ดังนี้ (1) การมีระบบออกรางวัลที่โปร่งใส เชื่อถือได้, (2) วิธีการตรวจสลากที่สะดวกรวดเร็ว เข้าใจง่าย, และ (3) ธนาคารมีขั้นตอนในการให้บริการที่สะดวกรวดเร็ว เช่น มีระบบคิวในการรอ

Table 1 Marketing mix factors affecting decision to purchase BAAC lottery savings

Items	$\bar{x}$	SD	Results	Rank
1. Product	4.46	0.45	Highest	5
2. Price	4.58	0.52	Highest	3
3. Distribution channel	4.61	0.45	Highest	1
4. Promotion	4.31	0.44	Highest	6
5. Personal	4.57	0.46	Highest	4
6. Physical evidence	4.09	0.45	High	7
7. Service	4.61	0.48	Highest	1
Overall	4.46	0.39	Highest	

4. *เปรียบเทียบปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. จำแนกตามปัจจัยส่วนบุคคลและพฤติกรรมการซื้อ*

จาก Table 2 พบว่า ปัจจัยส่วนบุคคลได้แก่ เพศ อายุ ระดับการศึกษา อาชีพและรายได้เฉลี่ยต่อเดือน แตกต่างกัน ปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดในภาพรวมต่อการตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ส่วนสถานภาพสมรสที่แตกต่างกัน ปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดในภาพรวมต่อการตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. ไม่แตกต่างกัน

ส่วนพฤติกรรมการซื้อ ได้แก่ งบประมาณในการซื้อ ความถี่ในการซื้อและระยะเวลาในการถือครองสลากออมทรัพย์ของ ธ.ก.ส. แตกต่างกัน ปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดในภาพรวมต่อการตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) ส่วนวัตถุประสงค์ในการซื้อ โอกาสในการซื้อ แหล่งข้อมูลในการซื้อและบุคคลที่มีอิทธิพลในการซื้อ ปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดในภาพรวมต่อการตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. ไม่แตกต่างกัน

ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก ลูกค้า ธ.ก.ส. ที่ซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. ส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง มีอายุ 41–50 ปี มีระดับการศึกษาปริญญาตรี ประกอบอาชีพพนักงานบริษัท มีรายได้เฉลี่ย 15,001-30,000 บาท ทั้งนี้เพศหญิงเป็นผู้ดูแลด้านการเงินในครอบครัวอยู่ในวัยการทำงาน มีงานทำที่มั่นคงและมีรายได้ประจำและมากพอสำหรับการออมเพื่อลงทุนหรือสร้างความมั่นคงให้กับครอบครัวหรือหลังเกษียณ ซึ่งผลการศึกษาสอดคล้องกับ ชิตวรรณ และ ฐิติวรรณ (2558) พบว่าอายุแตกต่างกัน การตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส.ของลูกค้า ธ.ก.ส. สาขาจังหวัดกาฬสินธุ์ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางทางสถิติ ($p < 0.05$) และสอดคล้องกับการศึกษาของ นิศารัตน์ และ พัฒน์ (2562) อายุ อาชีพ และรายได้มีผลต่อการต่อการตัดสินใจใช้บริการเงินฝากสลากออมทรัพย์ของลูกค้า ธ.ก.ส. สาขาแหลมฉบังอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการศึกษาของรุ่งกานต์ (2563) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ของ ธ.ก.ส. ในจังหวัดพัทลุง พบว่า รายได้ต่อเดือน มีผลต่อการตัดสินใจใช้บริการเงินฝากประเภทสลากออมทรัพย์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

Table 2 Compares marketing mix factors affecting customers' decision to purchase lottery savings of BAAC classified according to demographic characteristic factors and purchasing behavior

Items	n	$\bar{x}$	S.D.	t/F	*p*_value
Demographic characteristic factors					
Sex					
Male	47	4.53	0.31	1.426	0.008**
Female	107	4.43	0.42		
Age					
20 – 30 years	17	4.27	0.54	3.813	0.006**
31 – 40 years	34	4.56	0.06		
41 – 50 years	73	4.40	0.36		
51 – 60 years	17	4.59	0.34		
> 60 years	13	4.68	0.15		
Marital status					
Single	60	4.54	0.42	2.223	0.112
Married	83	4.41	0.36		
Widowed/Divorced	11	4.46	0.36		
Education					
Elementary school	5	4.46	0.50	7.132	0.000**
Junior high school	9	4.58	0.30		
High school/Vocation certificate	33	4.29	0.40		
Associate Diploma/ High vocational certificate	49	4.46	0.30		
Elementary school	53	4.60	0.37		
Junior high school	5	3.96	0.39		
Occupation					
Farmer	28	4.65	0.27	7.132	0.000**
Government office	18	4.68	0.26		
Company employee	52	4.40	0.42		
State enterprise employees	41	4.39	0.30		
Average monthly income					
< 15,000 Baht	22	4.10	0.42	11.146	0.000**
15,001–30,000 Baht	78	4.45	0.35		
30,001–60,000 Baht	46	4.62	0.31		
> 60,000 Baht	8	4.55	0.33		
Purchasing behavior of respondents					
Purpose of purchasing BAAC savings lottery					
Savings	42	4.57	0.41	1.933	0.092
Gambling	26	4.51	0.39		
Reserve expenses	15	4.29	0.50		
Receiving a certain return	29	4.34	0.35		
Planning for retirement	37	4.51	0.25		
As a gift	5	4.41	0.33		
Budget for purchasing					
< 15,000 Baht	54	4.32	0.42	7.769	0.001**
15,001–30,000 Baht	75	4.54	0.31		
30,001–60,000 Baht	25	4.58	0.36		
Average purchase frequency per year					
1 – 3 times/year	96	4.41	0.40	2.126	0.099
4 – 6 times/year	44	4.53	0.33		
7 – 9 times/year	10	4.47	0.39		
> 10 times/year	4	4.79	0.16		
Purchasing opportunity					
Regular purchase	40	4.45	0.36	0.019	0.981
When having accumulated enough money	89	4.46	0.37		
Buy on special occasions	25	4.46	0.46		
Period of holding BAAC lottery savings					
< 3 months	12	3.97	0.40		
1 year	23	4.48	0.33	10.218	0.000**
2 years	27	4.35	0.39		
Due 3 years	92	4.55	0.34		

Table 2 (Continued) Compares marketing mix factors affecting customers' decision to purchase lottery savings of BAAC classified according to demographic characteristic factors and purchasing behavior

Items	n	$\bar{x}$	S.D.	t/F	*p*_value
Sources for purchasing information					
BAAC bank employees	23	4.34	0.47	2.267	0.083
Relative or friend	36	4.47	0.32		
Radio, television media	11	4.25	0.49		
Internet/websites	84	4.51	0.36		
Persons who influence purchasing decisions					
BAAC bank employees	4	4.21	0.48	2.443	0.066
Family	62	4.55	0.37		
Friend	15	4.49	0.31		
Own self	73	4.39	0.39		

**$p < 0.01$

สรุป

ลูกค้าที่ซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. ส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง มีอายุระหว่าง 41–50 ปี สถานภาพสมรส จบการศึกษาระดับปริญญาตรี ประกอบอาชีพพนักงานบริษัท มีรายได้เฉลี่ย 15,001–30,000 บาท วัตถุประสงค์ในการซื้อเพื่อการออมทรัพย์ งบประมาณในการซื้อต่อครั้งเฉลี่ย 15,001–30,000 บาท โดยจะซื้อเฉลี่ย 1–3 ครั้งต่อปี จะซื้อเมื่อสะสมเงินได้มากพอ มีระยะเวลาในการถือครองสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. ครบกำหนด 3 ปี โดยจะศึกษาข้อมูลในการซื้อจากอินเทอร์เน็ต/เว็บไซต์ ผู้ที่มีอิทธิพลต่อการตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. คือตัวลูกค้าเอง ปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. ภาพรวมอยู่ในระดับมากที่สุด (ค่าเฉลี่ย 4.46) เมื่อเปรียบเทียบปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ของลูกค้า ธ.ก.ส. จำแนกตามปัจจัยส่วนบุคคลและพฤติกรรมการซื้อ พบว่า เพศ อายุ ระดับการศึกษา อาชีพและรายได้เฉลี่ยต่อเดือน ส่วนพฤติกรรมการซื้อ ได้แก่ งบประมาณในการซื้อ ความถี่ในการซื้อและระยะเวลาในการถือครองสลากออมทรัพย์ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.01$)

ข้อเสนอแนะจากการวิจัย

1. ธ.ก.ส. สาขามีนบุรี ควรมีการปรับปรุงแก้ไขอย่างเร่งด่วนในด้านลักษณะทางกายภาพ คือ (1) ความสะดวกและความพอเพียงของที่จอดรถ, และ (2) ความเพียงพอของที่นั่งรองรับลูกค้า

2. ปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดที่เป็นจุดเด่นของ ธ.ก.ส.สาขามีนบุรี ที่ควรรักษาคุณภาพต่อไป ได้แก่ ด้านผลิตภัณฑ์ เช่น ดอกเบี้ยเงินรางวัลไม่หักภาษี ด้านราคา เช่น ราคาสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส.มีความคุ้มค่าในการลงทุน ด้านช่องทางการจัดจำหน่าย เช่น การซื้อสลากผ่านระบบ Internet Banking/Mobile Banking ด้านส่งเสริมการตลาด เช่น จัดกิจกรรมลุ้นของรางวัล เช่น ทองคำ ด้านบุคคล เช่น พนักงานมีความสามารถในการแก้ไขปัญหาให้กับลูกค้า ด้านลักษณะทางกายภาพ เช่น บรรยากาศภายในธนาคารปลอดโปร่ง เย็นสบาย มีการจัดสถานที่ให้บริการสะอาดสวยงาม ด้านกระบวนการให้บริการ เช่น การมีระบบออกรางวัลที่โปร่งใส เชื่อถือได้

3. จากการศึกษาพบว่าปัจจัยส่วนบุคคลได้แก่ เพศ อายุ ระดับการศึกษา อาชีพและรายได้เฉลี่ยต่อเดือน ส่วนพฤติกรรมในการซื้อ ได้แก่ งบประมาณ ความถี่ในการซื้อและระยะเวลาในการถือครองสลากออมทรัพย์ มีผลต่อปัจจัยส่วนประสมทางการตลาดที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ของลูกค้า ธ.ก.ส ซึ่งในการกำหนดกลยุทธ์ทางการตลาด ธ.ก.ส. ควรต้องคำนึงถึงปัจจัยดังกล่าวเหล่านี้ด้วย

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ คุณวราพร ลงสุวรรณ์ พนักงานบริหารทั่วไป 8 ธนาคารเพื่อการเกษตรและสหกรณ์การเกษตร สาขามีนบุรี ที่ช่วยประสานงาน สนับสนุนและช่วยเหลือในการเก็บรวบรวมข้อมูล ตลอดทั้งลูกค้า ธ.ก.ส. ที่ให้ความร่วมมือในการให้ข้อมูลเป็นอย่างดียิ่ง จนงานวิจัยนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

ครองขวัญ รอดหมวน. 2561. ส่งเสริมวินัยการออม. https://www.thaipost.net/main/detail/1257, 12 ธันวาคม 2566.

ชิตวรรณ ดวงพัตร, ฐิติวรรณ ศรีเจริญ. 2558. ปัจจัยที่มีผลต่อการตัดสินใจเลือกซื้อสลากออมทรัพย์ ธ.ก.ส. ของธนาคารเพื่อการเกษตรและสหกรณ์การเกษตร สาขากาฬสินธุ์ จังหวัดกาฬสินธุ์. ใน: ประชุมวิชาการทางธุรกิจและนวัตกรรมทางการจัดการระดับชาติและนานาชาติ ประจำปี 2558. วิทยาลัยบัณฑิตศึกษาการจัดการ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น. หน้า 1105-1113.

ธนาคารเพื่อการเกษตรเพื่อการเกษตรและสหกรณ์การเกษตร (ธ.ก.ส.). 2566. ผลิตภัณฑ์และบริการ สลากออมทรัพย์. https://www.baac.or.th/th/content, 12 ธันวาคม 2566.

ธนาคารเพื่อการเกษตรและสหกรณ์การเกษตร (ธ.ก.ส.). 2563. BBA Fact Sheet. https://www.baac.or.th/cg/Baac_FactSheet_MAR_2020.pdf, 15 พฤศจิกายน 2566.

นิศารัตน์ ชยันต์นคร, พัฒน์ พัฒนรังสรรค์. 2562 ปัจจัยที่มีผลต่อการตัดสินใจใช้บริการเงินฝากสลากออมทรัพย์ของลูกค้าธนาคารเพื่อการเกษตรและสหกรณ์การเกษตร (ธ.ก.ส.) สาขาแหลมฉบัง. วารสารวิทยบริการ. 30: 98–109.

บุญชม ศรีสะอาด. 2545. การวิจัยเบื้องต้น. พิมพ์ครั้งที่ 7. สุวีริยาสาส์น.กรงเทพฯ.

พวงรัตน์ ทวีรัตน์. 2543. วิธีการวิจัยทางพฤติกรรมศาสตร์และสังคมศาสตร์. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. กรุงเทพฯ.

รุ่งกานต์ เรืองยศ. 2563. ปัจจัยที่มีผลต่อการตัดสินใจซื้อสลากออมทรัพย์ ธนาคารเพื่อการเกษตรและสหกรณ์การเกษตรจังหวัดพัทลุง. การศึกษาค้นคว้าอิสระ. วิชาเอกบริการธุรกิจ คณะบริหารธุรกิจ สาขาวิทยบริการเฉลิมพระเกียรติมหาวิทยาลัยรามคำแหง. จังหวัดตรัง,

สำนักงานสถิติแห่งชาติ. 2566. สรุปผลที่สำคัญการสำรวจภาวะเศรษฐกิจและสังคมของครัวเรือน พ.ศ. 2566 (6 เดือนแรก). https://www.nso.go.th/nsoweb/nso/statistics_and_indicators, 12 ธันวาคม 2566.

Cochran, W.G. 1977. Sampling techniques, 3rd ed. John Wiley & Sons. New York, NY, USA.

Nunnally, J.C., Bernstein, I.H. 1994. Psychometric theory, 3rd ed. McGraw-Hil. New York, NY, USA.

สาขาพืช

(Subject: Plants)

ภาคโปสเตอร์

(Poster Presentation)

Effects of water deficit on physiological processes, growth, and yield of sugarcane

Pennapa Srisawat, Sodchol Wonprasaid, Thitiporn Machikowa*

School of Crop Production Technology, Institute of Agricultural Technology, Bangkok 10520, Thailand

Suranaree University of Technology, Muang, Nakhon Ratchasima, 30000, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: machiko@sut.ac.th

Abstract

This research aimed to investigate the effects of water deficit at two specific growth stages, 3 and 7 months after planting (MAP) on the growth, physiological processes, and yield of sugarcane. The experiment was conducted under greenhouse condition using the Khon Kaen 3 sugarcane cultivar, employing a randomized complete block design (RCBD) with three replications. The treatments included three watering conditions: i) well-irrigated (control), ii) water deficit at 3 MAP, and iii) water deficit at 7 MAP. The results indicated that the well-irrigated consistently maintained appropriate physiological processes throughout all growth stages. Both water deficit conditions had significantly negative effects on physiological processes, particularly during their respective water deficit periods, resulting in negative impacts on cane yield. The cane yield of the well-irrigated treatment was 44.4% and 52.6% more than water deficit conditions at 3 MAP and 7 MAP, respectively. In summary, it can be concluded that well-irrigated treatment consistently produced higher yields compared to the water deficit conditions at both 3 and 7 MAP. Additionally, the water deficit at 7 MAP had a more pronounced negative impact on yield than the water deficit at 3 MAP.

Keywords: Drought stress, *Saccharum officinarum* L., Water Balance Model, Water management

Introduction

Sugarcane holds significant industrial importance in Thailand, ranking as the world's fourth-largest producer and the second-largest exporter of sugar globally, trailing only behind Brazil. In the 2021/22 production year, the survey encompassed 47 provinces engaged in sugarcane cultivation in Thailand, covering a total area of 11,022,348 rai. Notably, the northeast region accounted for 4.66 million rai of sugarcane cultivation, boasting an average yield of 10.8 tons per rai, surpassing other regions in the country (Office of the Cane and Sugar Board, 2022). The widespread adaptability of sugarcane cv. Khon Kaen 3 (KK 3) to loamy sand soils has made it notably popular in the northeastern, where it consistently achieves high yields. On average, this sugarcane cultivar produces approximately 18.1 tons per rai for plant cane and 16.5 tons per rai for ratoon cane.

New planting or regerminated sugarcane often faces a severe water deficit which directly impacts both quality and quantity of sugarcane production. Production efficiency may be limited by chemical and physical properties of the soil, slope of areas, availability of water, and unpredictable rainfall. Water deficit during the early growth stage has been observed to hinder various aspects of plant growth. Khonghintaisong et al. (2017) observed a reduced rate of daily height increment in the KK 3 cultivar, particularly evident between 105–120 days after planting (DAP), during periods of water deficit in the early growth stage (90–135 DAP). Concerning water needs, most of the sugarcane faces a shortfall in adequate water supply throughout each season, as it necessitates water for 10 months while only benefiting from rainfall for 5–6 months. Optimal growth and yield of sugarcane are achievable when it receives ample water consistently throughout its entire growth period. Drip irrigation stands out as an efficient method, demonstrating the potential to enhance water use efficiency by 60-200% and conserve water by 20–60%, as indicated by (Kaushal et al., 2012). Hence, employing drip irrigation for sugarcane cultivation proves most advantageous during the initial planting phase, as it ensures optimal soil moisture levels and mitigates the impact of drought stress on growth, physiological processes, and yield. However, there was still limited information on physiological responses of sugarcane to water deficit and well-irrigated condition in Thailand. Therefore, the objective of this research was to investigate the growth and physiological processes of sugarcane grown under drip irrigated conditions with limited and full irrigated water supply.

Materials and Methods

Experimental design and planting

The experiment was conducted under greenhouse condition at Suranaree University of Technology Farm, Muang, Nakhon Ratchasima, Thailand (14°52’38.4”N 102°00’23.0”E). Sugarcane cv. KK 3 was cultivated in 150-liter pots filled with sandy clay loam soil. The experimental design employed a randomized complete block design (RCBD) with three replications (3 pots/replication). The study included three irrigation methods

as treatments: T1-Irrigation (Control), T2-Water deficit condition at 3 months after planting (MAP), and T3-Water deficit condition at 7 MAP.

Irrigation management

In all treatments, water was supplied to the sugarcane through a drip irrigation system with a flow rate of 8 liters per hour. The irrigation followed the water balance model outlined by Pereira et al. (2020) in the Equation 1.

$$I=ETc+DR+RO+\Delta W-P \quad (1)$$

where I is irrigation, ETc is evapotranspiration, DR is drainage, RO is surface runoff, ΔW is amount of available water (AW), and P is precipitation. DR, RO and are equivalent to 0 as the experiment was performed in the green house.

Irrigation for each treatment was performed as follows: In Treatment 1 (Fig. 1A), the water supply pattern, in terms of frequency and quantity, was determined by the water balance model utilizing ETc and soil water holding capacity (SWHC). During the 1–2 MAP, the AW was calculated at a depth of 0—20 cm, and after 2 MAP, it was recalculated at a depth of 0–40 cm. Irrigation was initiated when 60% of the AW was utilized by sugarcane.

For treatment 2 (Fig. 1B), water was supplied similarly to T1 until 3 MAP (stress period 1). Subsequently, no water was irrigated for 14 days to induce water deficit conditions. Following this stress period, water irrigation resumed until harvesting. In Treatment 3 (stress period 2) (Fig. 1C), water was supplied similarly to T1 until 7 MAP. Afterward, no water was irrigated for 16 days to establish water deficit conditions. Subsequently, water irrigation was recommended until the harvesting period.

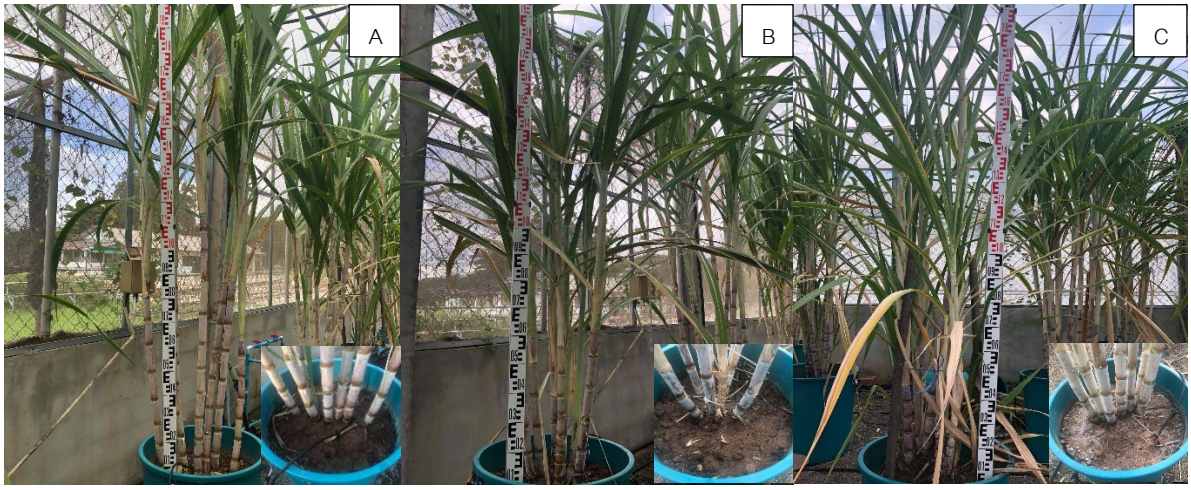


Fig. 1 The impact of irrigation and water deficit conditions on potted plants under greenhouse conditions: T1: Irrigation (control) (A); T2: Water deficit conditions at 3 MAP (B); T3: Water deficit conditions at 7 MAP (C)

Data collection

1. Every seven days after water stress in both periods, sugarcane growth parameters, including plant height, shoot number, and the number of leaves, were collected. Plant height was measured randomly from the soil base to the top visible dewlap (TVD). The shoot number and the number of leaves were counted in the pot plants across all treatments.

2. Every seven days after water stress in both periods, physiological process, including SPAD chlorophyll meter reading (SCMR), leaf water potential (LWP), photosynthetic rate, transpiration rate, and stomatal conductance were measured. SCMR was measured on the 3rd leaf using a Chlorophyll Meter (SPAD). LWP was measured from 10.00–12.00 hrs on the 3rd–5th leaf using a photosynthesis LCi-SD model (Sornpha et al., 2021). The photosynthetic rate, transpiration rate, and stomatal conductance were measured on the 3rd leaf from 10.00–12.00 hrs as described by Sornpha et al. (2021), using a photosynthesis LCi-SD model.

3. Yield and yield components including the stalk length, stalk diameter, stalk number, stalk weight, and total soluble solid (TSS) were measured at 12 MAP. Stalk length was measured from the base of the plant to the TVD in the potted plant of all treatments. Stalk diameter (middle of stalk) was measured on the main stalk using a vernier caliper in the potted plant of all treatments. Stalk weight was recorded for each pot in all treatments. Stalk number (stalk/pot) was counted in each potted plant across all treatments. The yield (kg/pot) was recorded for each pot in all treatments. TSS (^{o}Brix) was analyzed using a reflectometer.

Statistical analysis

The data of plant growth, yield, and yield components were subjected to analysis using the Statistical Package for the Social Science (SPSS) version 16.0. Mean comparisons were conducted utilizing Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) at $p = 0.05$.

Results

Plant height: The results of plant height are shown in Fig. 2 (A). During stress period 1, the water deficit conditions at 3 MAP (T2) resulted in the lowest plant height, while the non-stress treatments (T1 and T3) exhibited similar plant heights. In stress period 2, T2 continued to show a lower plant height compared to the irrigation treatment (T1), and the water deficit condition at 7 MAP (T3).

Shoot number: The results for shoot number are depicted in Fig. 2 (B). During stress period 1, T2 exhibited a tendency to yield higher shoot numbers compared to the T and T3. Conversely, during stress period 2, T1 showed a tendency to produce higher shoot numbers than T2 and T3.

Number of leaves: The results of the number of leaves are shown in Fig. 2 (C). In stress period 1, T1 showed a tendency to produce a higher number of leaves, while the lowest number of leaves was found in T2. Conversely, during stress period 2, T3 tended to result in the lowest number of leaves, while T1 led to the highest number.

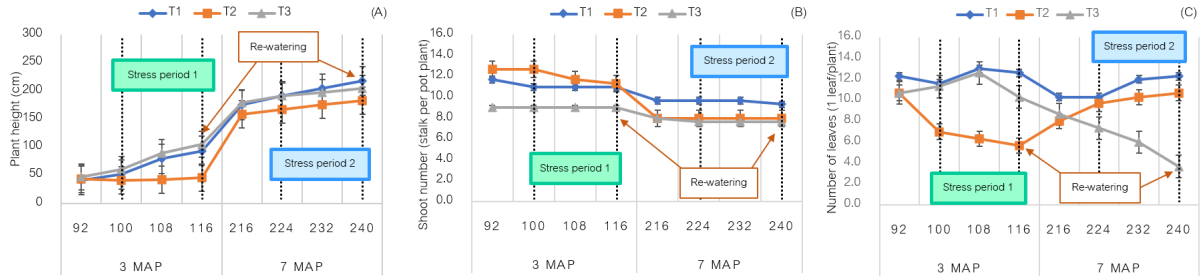


Fig. 2 Effects of irrigation methods: plant height (A); shoot number(B); number of leaves (C)

Physiological process

The SPAD chlorophyll meter reading (SCMR): The results for SCMR are presented in Fig. 4. In stress period 1, the irrigation treatment (T1) exhibited a tendency to have the highest SCMR values, while T2 had the lowest values. In stress period 2, the water deficit condition at 7 MAP (T3) resulted in the lowest SCMR, while the water deficit condition at 3 MAP (T2) showed SCMR values similar to the irrigation treatment (T1) (Fig. 3A).

Leaf water potential (LWP): The results for LWP are depicted in Fig. 3B. In stress period 1, the water deficit conditions at 3 MAP (T2) exhibited lower LWP compared to T1 and T3. In stress period 2, the water deficit condition at 7 MAP (T3) resulted in the lowest LWP, while the water deficit condition at 3 MAP (T2) and the irrigation treatment (T1) showed similar, higher LWP values.

Photosynthetic rate, Transpiration rate, and Stomatal conductance: The results of leaf photosynthetic rate, transpiration rate, and stomatal conductance measurements indicated that during stress period 1, T2 exhibited lower photosynthetic rate, transpiration rate, and stomatal conductance compared to the irrigation treatment (T1) and the water deficit condition at 7 MAP (T3). Conversely, in stress period 2, the irrigation treatment (T1) tended to yield the highest photosynthetic rate, transpiration rate, and stomatal conductance compared to the water deficit treatments (T2 and T3) (Fig. 3C-D).

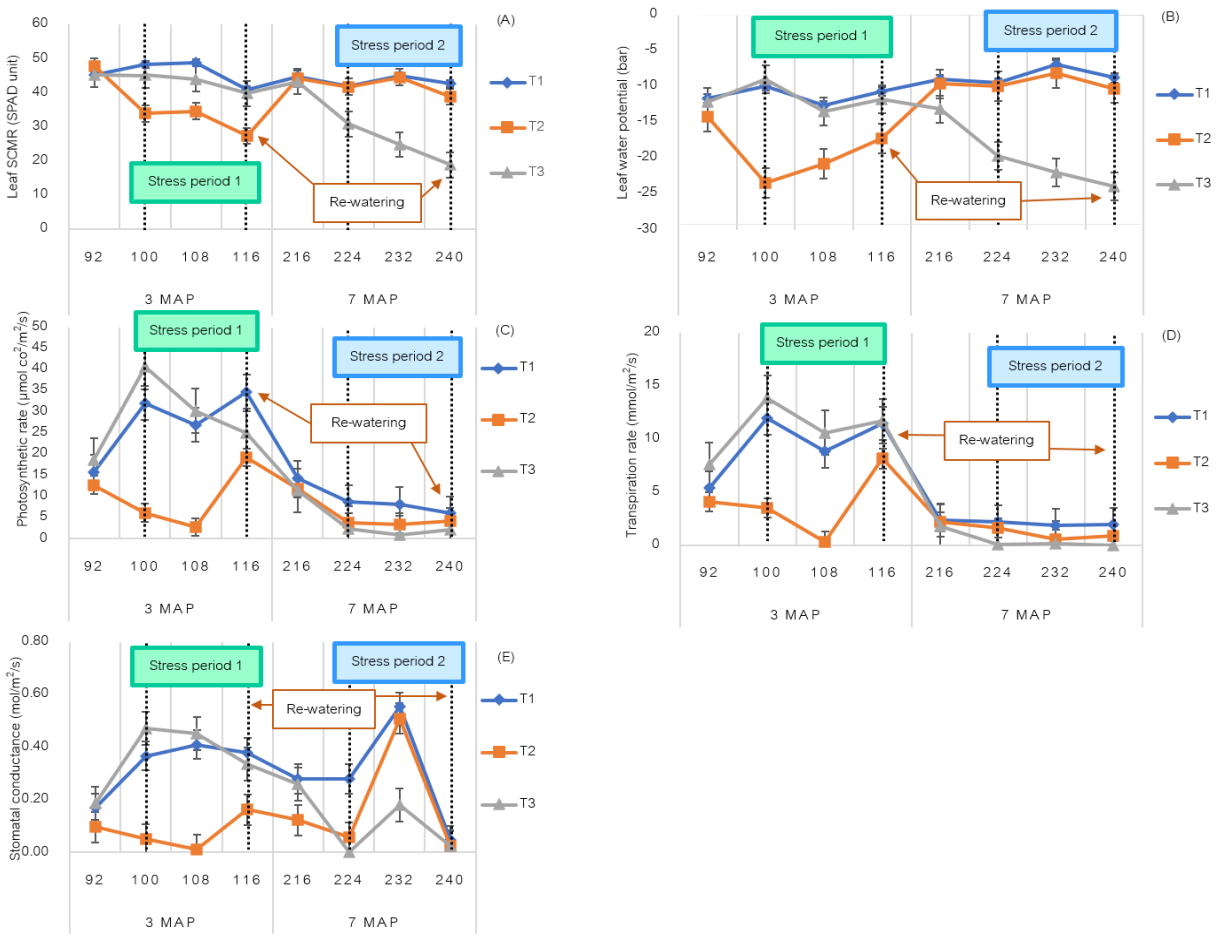


Fig. 3 Effects of irrigation methods on Leaf SCMR (A); Leaf water potential (B); Photosynthetic rate (C); Transpiration rate (D); Stomatal conductance (E)

Yield and yield components

The analysis of yield and yield components is presented in Table 1, where T1 significantly yielded the highest production (11.8 kg/pot), while T3 significantly yielded the lowest (7.73 kg/pot). Although stalk length, NMC, stalk weight, and total soluble solids (TSS) did not exhibit significant differences among treatments, the irrigation treatment (T1) demonstrated a tendency to produce higher values compared to the water deficit conditions (T2 and T3). T2 also significantly produced the lowest stalk diameter.

Table 1 Effects of irrigation methods on cane yield

Treatments	Yield (kg/pot)	Stalk length (cm)	Stalk diameter (cm)	NMC (stalk/pot plant)	Stalk weight (kg/stalk)	TSS (°Brix)
T1 Irrigation (Control)	11.8[a]	230	2.75[ab]	9	1.39	21.9
T2 water deficit conditions at 3 MAP	8.17[ab]	206	2.65[b]	7	1.18	21.6
T3 water deficit conditions at 7 MAP	7.73[b]	185	3.00[a]	7	1.11	20.1
F test	*	ns	*	ns	ns	ns
C.V. (%)	15.6	9.23	3.24	7.53	22.4	10.9

*Means in the same columns with different letters are significant differences based on DMRT at $p < 0.05$

Discussion

This experiment aimed to compare the effects of two water deficit periods (water deficit at 3 and 7 MAP) and full irrigation in sugarcane under greenhouse conditions. Different irrigation methods resulted in variations in growth and yield. Plant height exhibited a tendency to be the lowest in water deficit conditions at 3 MAP (T2), while irrigation (T1) and water deficit conditions at 7 MAP (T3) tended to produce similarly higher plant height during this period. The impact of water deficit in the early growth stage led to a stalling of growth in various aspects. According to the research by Khonghintaisong et al. (2017), it was observed that the KK3 cultivar experienced a decrease in the rate of daily height increment, particularly during 105–120 DAP, under water deficit conditions in the early growth stage (90–135 DAP). Given the controlled water supply management in the greenhouse setup of this experiment, external weather conditions did not influence growth. The KK 3 cultivar also exhibited diminished growth in both plant height and shoot number when subjected to water deficit. During stress period 1, particularly in the initial 3–4 months, as soil moisture in the pots gradually decreased, competition among the sugarcane plants affected tillering and leaf production. The plants-maintained balance by shedding leaves, leading to a reduction in leaf production. These findings align with the results reported by Kapetch et al. (2010), who observed that insufficient soil moisture content resulted in a greater reduction in the number of shoots per rai in the no-irrigation treatment compared to other irrigation methods. The values remained relatively stable until harvesting. Ethan et al. (2016) also noted that deficit irrigation during the mid-season stage had the most significant impact on sugarcane yield, with the number of shoots per rai at harvesting decreasing by 18.6% compared to the full irrigation treatment. Endres et al. (2018) reported that the impact of water deficit primarily influenced the leaf number of sugarcane during the early growth stage. In stress period 2, under water deficit conditions at 7 months (T3) during the elongation stage, the reduction in the number of shoots was slight, but it had a significant impact on cane yield. These findings align with Dingre and Gorantiwar (2021), who reported that water deficit during the elongation stage had the most significant impact on yields. Mall et al. (2016) also highlighted the elongation stage as a key growth phase

affecting sugarcane yield. Furthermore, Hsiao (1973) reported that water deficit primarily affected leaf formation and stem elongation.

The SCMR serves as a tool for indirectly detecting chlorophyll content and leaf nitrogen status. Jangpromma et al. (2010) identified SCMR as a rapid tool for chlorophyll detection. Additionally, Nageswara Rao et al. (2001) established a positive relationship between leaf chlorophyll and leaf nitrogen. In this study, the results indicated that drought stress conditions at the initial stage (T2) and elongation stage (T3) resulted in lower leaf SCMR compared to water-sufficient conditions (T1). This finding aligns with Arunyanark et al. (2009), who observed the influence of drought stress on SCMR, and Jangpromma et al. (2012), who noted that drought conditions negatively impacted chlorophyll content. For the analysis of physiological traits (photosynthesis, transpiration, and stomatal conductance) and leaf water potential (LWP), the results revealed that the lowest physiological traits and LWP were observed under drought stress at the early stage (T2) and elongation stage (T3). However, under rewatering conditions, sugarcane exhibited recovery by increasing physiological traits and LWP, although the recovery did not reach the levels observed under water-sufficient conditions. This outcome is consistent with findings by Silva et al. (2011) and Santos et al. (2014), who observed a negative relationship between water deficit conditions and photosynthesis, stomatal conductance, water transpiration, and leaf water potential. Chen et al. (2012) and Jongdee et al. (2002) also reported that water stress conditions limiting available soil water had an effect of reducing sugarcane LWP.

The sugarcane yield and stalk diameter varied between the water deficit and full irrigation methods. The full irrigation treatment (T1) resulted in the highest values for stalk diameter, and overall yield, while the water deficit treatment produced the lowest values for these parameters. This aligns with the findings of Ethan et al. (2016), who reported that sugarcane yield was 11.9 tons/rai under water deficit during the mid-season stage and 15.7 tons/rai under fully irrigated conditions. Soil moisture during the initial 1–2 MAP period was sufficient across all treatments, as an equal amount of water, calculated at the field capacity (FC) value, was provided to the sugarcane at the outset in all treatments. However, the introduction of water deficit conditions at 3 months (tillering stage) and 7 months (stalk elongation stage) resulted in reduced sugarcane growth during those periods due to stress conditions. Upon returning to irrigation, sugarcane exhibited recovery in both stress phases but still did not attain an equivalent status to the full irrigation treatment, resulting in a reduction in final cane yield for both stress treatments compared to the full irrigation treatment. These findings align with studies such as those by Doorenbos et al. (1980), who reported that water stress during the germination, tillering, and elongation stages was most sensitive to yield, while the maturation phase was least sensitive to water stress. Rossler et al. (2013) observed that water stress during the stalk elongation phase led to a reduction in cane yield by 6–11 tons/ha (5–9%). Puengpa and Boontham (2012) reported a positive correlation between an appropriate amount of soil water, particularly during the elongation stage of the sugarcane growth period, and sugarcane growth and yield.

The comprehensive findings reveal that crop practices emerged as the predominant factor significantly influencing physiological processes, encompassing growth, yield, photosynthetic rate, transpiration rate, and stomatal conductance. Both water deficit practices (at 3 MAP and 7 MAP) led to a reduction in physiological processes, impeding the growth and yield performance of sugarcane in comparison to well-irrigated conditions. Stomatal conductance, serving as an indicator of leaf water status, demonstrated that well-irrigated sugarcane maintained superior water status compared to conditions of water deficit. For optimal physiological processes, the well-irrigated practice resulted in cane yields 44.4% and 52.6% higher than water deficit conditions at 3 MAP and 7 MAP, respectively. Furthermore, water deficit during the stalk elongation stage (7 MAP) exhibited a more pronounced negative impact on growth and physiological processes than water deficit conditions during the tillering stage (3 MAP), leading to a yield reduction of 5.7%.

References

Arunyanark, A., Jogloy, S., Vorasoot, N., et al. 2009. Stability of relationship between chlorophyll density and soil plant analysis development chlorophyll meter readings in peanuts across different drought stress conditions. Asian J. Plant Sci. 8: 102–110.

Chen, H., Wang, P., Li, J., et al. 2012. Canopy spectral reflectance feature and leaf water potential of sugarcane inversion. Physics Procedia. 25: 595–600.

Dingre, S.K., Gorantiwar, S.D. 2021. Soil moisture-based deficit irrigation management for sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) in semiarid environment. Agric. Water Manag. 245: 106549.

Doorenbos, J., Kassam, A., Bentvelsen, C., et al. 1980. Yield response to water. Food & Agriculture Organization. Italy.

Endres, L., Santos, C.M.D., Souza, G.V.D. et al. 2018. Morphological changes recorded in different phenophases of sugarcane plants subjected to water stress in tropical field conditions. Aust. J. Crop Sci. 12: 1041–1050.

Ethan, S., Olagoke, O., Yunusa, A. 2016. Effect of deficit irrigation on growth and yield of sugarcane. Direct Res. J. Agric. Food Sci. 4: 122–126.

Hsiao, T.C. 1973. Plant responses to water stress. Annu. Rev. Plant Physiol. 24: 519–570.

Jangpromma, N., Songsri, P., Thammasiri, S., et al. 2010. Rapid assessment of chlorophyll content in sugarcane using a SPAD chlorophyll meter across different water stress conditions. Asian J. Plant Sci. 9: 368–374.

Jangpromma, N., Thammasirirak, S., Jaisil, P., et al. 2012. Effects of drought and recovery from drought stress on above ground and root growth, and water use efficiency in sugarcane (*Saccharum officinarum* L.). Aust. J. Crop Sci. 6: 1298–1304.

Jongdee, B., Fukai, S., Cooper, M. 2002. Leaf water potential and osmotic adjustment as physiological traits to improve drought tolerance in rice. Field Crops Res. 76: 153–163.

Kapetch, P., Sansayawichai, T., Kirasak, K., et al. 2010. Responses of a sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) cultivar, Khon Kaen 3 to limited irrigation rates. Thai Agric. Res. J. 28: 306–316.

Kaushal, A., Patole, R., Singh, K.G. 2012. Drip irrigation in sugarcane: A review. Agric. Rev. 33: 211–219.

Khonghintaisong, J., Songsri, P., Jongrungklang, N. 2017. Growth and physiological patterns of sugarcane cultivars to mimic drought conditions in late rainy season system. Naresuan University Journal 25: 102–112.

Mall, R.K., Sonkar, G., Bhatt, D., et al. 2016. Managing impact of extreme weather events in sugarcane in different ago-climatic zones of Uttar Pradesh. MAUSAM. 67: 233–250.

Nageswara Rao, R.C., Talwar, H.S., Wright, G.C. 2001. Rapid assessment of specific leaf area and leaf nitrogen in peanut (*Arachis hypogaea* L.) using a chlorophyll meter. J. Agron. Crop Sci. 186: 175–182.

Office of the Cane and Sugar Board. 2022. Report on sugarcane planting areas production year 2021/22.

Pereira, L., Paredes, P., Jovanovic, N. 2020. Soil water balance models for determining crop water and irrigation requirements and irrigation scheduling focusing on the FAO56 method and the dual Kc approach. Agric. Water Manag. 241.

Puengpa, N., Boontham, A. 2012. Study on the optimum quantity of irrigation water application for different stages of sugarcane growth. The 9th National Kasetsart University Kamphaeng Saen Conference. Thai Roong Ruang Industry Co.,Ltd. Uthaithani, Thailand, pp. 2240–2247.

Rossler, R.L., Singels, A., Olivier, F.C., et al. 2013. Growth and yield of a sugarcane plant crop under water stress imposed through deficit drip irrigation. SASTA. 86: 170–183.

Santos, C.M.S., Silva, M.D.A., Lima, G.P.P., et al. 2014. Physiological changes associated with antioxidant enzymes in response to sugarcane tolerance to water deficit and rehydration. Sugar Tech. 17: 291–304.

Silva, M.D.A., Jifon, J.L., Sharma, V., et al. 2011. Use of physiological parameters in screening drought tolerance in sugarcane genotypes. Sugar Tech. 13: 191–197.

Sornpha, W., Harakotr, P., Jongrungklang, N. 2021. Relationship between chlorophyll content and SCMR of diverse sugarcane genotypes in stalk elongation stage. Agriculture and Technology J. 2: 28–40.

ผลของไกลโฟเซตต่อปริมาณจุลินทรีย์ดินและแนวทางในการใช้ย่อยสลายทางชีวภาพ

Effects of glyphosate on soil microorganisms and their potential for biodegradation

อำนาจ เอี่ยมวิจารณ์*, จิตรา เกาะแก้ว, บุณฑริก ฉิมชาติ, กนกอร บุญพา, มนต์ชัย มนัสสิลา, สนธยา ขำติ๊บ

Amnat Eamvijarn*, Jitra Kokaew, Boontarik Chimchat, Kanokon Bunpha, Monchai Manassila, Sontaya Khamtib

กลุ่มวิจัยปฐพีวิทยา กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900

Agronomy Research Group, Agricultural Production Science Research and Development Division, Department of Agriculture, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: am-nat@windowslive.com

บทคัดย่อ

การศึกษาปริมาณจุลินทรีย์ในปลูกแปลงมันสำปะหลังจังหวัดนครราชสีมาและลพบุรีที่ใช้สารไกลโฟเซต พบปริมาณแบคทีเรียเฉลี่ยในแปลงควบคุมและแปลงพ่นไกลโฟเซต 6.31–6.98 Log_{10}CFU/g และ 6.51–7.02 Log_{10}CFU/g ส่วนปริมาณราเฉลี่ยในแปลงควบคุมและแปลงพ่นไกลโฟเซต 4.45–4.78 Log_{10}CFU/g และ 4.39–5.05 Log_{10}CFU/g ซึ่งหลังพ่นสาร 15 และ 30 วัน มีปริมาณจุลินทรีย์เฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ แยกแบคทีเรียที่สามารถเจริญในอาหารผสมไกลโฟเซตเป็นแหล่งฟอสฟอรัสได้ จำนวน 14 ไอโซเลท พบว่าสายพันธุ์ GS-LRI-CO.1 มีอัตราการเจริญสูงสุด 754.6% รองลงมาเป็น *Bacillus* sp. (GS-NMA-CO.5), *Chitinophaga terrae* (GS-NMA-CO.1) และ *Dyadobacter fermentans* (GS-LRI-CO.3) มีอัตราการเจริญ 266.7% 113.3% และ 53.3% และแยกราที่ทนต่อไกลโฟเซตได้ จำนวน 20 ไอโซเลท โดย *Trichoderma* sp. 9 ไอโซเลท *Rhizopus* sp. และ *Aspergillus flavus* สามารถเจริญในอาหารผสมไกลโฟเซตได้เร็วที่สุด ขณะที่ Sterile mycelium (GS-481-2, 488-1 และ 488-4) และ *A. niger* (GS-541) เจริญได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 10 mM มีความกว้างของโคโลนี 46.5, 46, 55 และ 67.2 มม. ตามลำดับ ส่วน *Talaromyces* และ *Penicillium* ไม่ทนต่อไกลโฟเซต

คำสำคัญ: ไกลโฟเซต, จุลินทรีย์ดิน, ย่อยสลายทางชีวภาพ

Abstract

Study on population of microorganism in cassava field treated with glyphosate in Nakhon Ratchasima and Lopburi provinces. The abundance of bacteria in control and glyphosate treatments were 6.31–6.98 Log_{10}CFU/g and 6.51–7.02 Log_{10}CFU/g and fungi were 4.45–4.78 Log_{10}CFU/g and 4.39–5.05 Log_{10}CFU/g. However, the amount of microorganism was significant at 15 and 30 days after spraying. Fourteen of bacterial isolates were selected by specific medium that mixed with glyphosate as phosphorus source. Strain GS-LRI-CO.1 showed highest growth rate at 754.6%, followed by *Bacillus* sp. (GS-NMA-CO.5), *Chitinophaga terrae* (GS-NMA-CO.1) and *Dyadobacter fermentans* (GS-LRI-CO.3) by 266.7 113.3 and 53.3% respectively. Screening of fungal strains for glyphosate tolerance, 20 isolates had potential to growth on specific medium. Nine strains of *Trichoderma* sp., *Rhizopus* sp. and *Aspergillus flavus* can be able to grow rapidly. Moreover, sterile mycelium (GS-481-2, 488-1 and 488-4) and *A. niger* (GS-541) showed efficacy to grow in high concentration of glyphosate and colony diameter were 46.5, 46, 55 and 67.2 mm. respectively. While *Talaromyces* and *Penicillium* are not tolerant to glyphosate.

Keywords: Biodegradation, Glyphosate, Microorganism

คำนำ

ไกลโฟเซต (Glyphosate) หรือ N-(phosphonomethyl) glycine ($C_3H_8NO_5P$) เป็นสารประกอบจำพวกออแกโนฟอสฟอรัส (organophosphorus compound) จัดเป็นสารกำจัดวัชพืชประเภทดูดซึม (systemic herbicide) กำจัดวัชพืชประเภทไม่เลือกทำลาย ใช้หลังวัชพืชงอก สามารถใช้กำจัดวัชพืชได้มากกว่า 150 ชนิด และได้ผลิตเข้าสู่ตลาดเพื่อการเกษตรกรรมในปี ค.ศ. 1974 ภายใต้ชื่อทางการค้าว่า Roundup® (Dill et al., 2010) ค่าเฉลี่ยครึ่งชีวิตของไกลโฟเซตในดินมีค่าระหว่าง 2 ถึง 197 วัน ทั้งนี้ชนิดดินและสภาพภูมิอากาศมีผลต่อการคงอยู่ของไกลโฟเซตในดิน (Henderson et al., 2010) ไกลโฟเซตถูกดูดซับโดยสารฮิวมิกบริสุทธิ์และพบไกลโฟเซตในปริมาณที่มีนัยสำคัญเกี่ยวข้องกับอินทรียวัตถุในดิน ไกลโฟเซตถูกดูดซับด้วยสารฮิวมิกตามธรรมชาติในดินได้ง่ายกว่าการดูดซับโดยผลึกของเหล็กและอะลูมินัมออกไซด์ (Albers et al., 2009) มีการศึกษาผลกระทบของการใช้ไกลโฟเซตต่อจุลินทรีย์ดิน เช่น Valerie et al. (2016) มีรายงานการใช้ไกลโฟเซตต่อการเจริญของราดิน *Aspergillus nidulans* ในห้องปฏิบัติการ พบว่าที่ความเข้มข้นของสารต่ำกว่าอัตราแนะนำสามารถยับยั้งการงอกของสปอร์และการเจริญของเส้นใยของราดิน และพบว่าการใช้ไกลโฟเซตทำให้โรคพืชมีความรุนแรงและความถี่ในการเกิดมากขึ้น เนื่องจากความสมดุลของจุลินทรีย์และธาตุอาหารที่เปลี่ยนแปลงบริเวณรากพืช เช่น เชื้อ *Fusarium solani* f. sp. *Glycines* สาเหตุโรค Sudden death syndrome ในถั่วเหลืองพันธุ์ต้านทางไกลโฟเซต ซึ่งจะมีอาการโรคที่รุนแรงในแปลงที่มีการฉีดพ่นสารมากกว่าแปลงที่ไม่ใช้สาร (Sanogo et al., 2000) นอกจากนี้มีรายงานจุลินทรีย์ที่ทนทานและสามารถย่อยสลายไกลโฟเซตโดยใช้เป็นแหล่งของอาหารที่ใช้ในการเจริญเติบโต Massot et al. (2021) แยกแบคทีเรียจากดินและดินรอบรากพืชที่มีการใช้สารไกลโฟเซต พบว่า แบคทีเรียจำนวน 16 สายพันธุ์ สามารถใช้ไกลโฟเซตเป็นแหล่งของฟอสฟอรัส เมื่อนำไปทดสอบการย่อยสลายสารไกลโฟเซต สายพันธุ์ *Ochrobactrum haematophilum* สามารถย่อยสลายได้ถึง 97 เปอร์เซ็นต์ ภายใน 20 วัน และ *Achromobacter, Agrobacterium, Alcaligenes, Alterbacter, Bacillus, Comamonas, Enterobacter, Pseudomonas* และ *Streptomycete* สามารถย่อยสลายไกลโฟเซตได้เช่นกัน (Zhan et al., 2018) ในทางเดียวกันมีการศึกษาราดินหลายชนิด เช่น *Aspergillus, Trichoderma, Penicillium, Mucor* และ *Fusarium* สามารถทนทานและย่อยสลายไกลโฟเซตโดยใช้เป็นแหล่งของคาร์บอนและฟอสฟอรัสในการเจริญเติบโต (Spinelli et al., 2021) ดังนั้นการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพและทดสอบการย่อยสลายไกลโฟเซตจึงจำเป็นเพื่อเป็นการหาแนวทางลดการปนเปื้อนของสารในดินให้เหมาะสมกับการทำการเกษตรในปัจจุบัน

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การนับปริมาณราและแบคทีเรียในดิน

เก็บตัวอย่างดินแปลงปลูกมันสำปะหลังในจังหวัดนครราชสีมาและลพบุรี โดยเก็บดินก่อนและหลังฉีดพ่นที่ 2 ชั่วโมง, 15, 30 และ 60 วัน รวม 5 ครั้ง และชั่งตัวอย่างดิน 10 กรัม ใส่ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 90 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นเจือจางลำดับส่วนจนได้ระดับ 10^{-1}–10^{-7} นำตัวอย่างไปนับปริมาณด้วยวิธี Spread plate บนอาหาร Nutrient agar สำหรับนับปริมาณแบคทีเรีย เติมไซโคลเฮกซิไมด์ความเข้มข้น 5,000 ppm จำนวน 2 มิลลิลิตร/ลิตร และอาหาร Glucose ammonium nitrate agar สำหรับนับปริมาณเชื้อรา ที่เติมสเตรปโตมัยซินความเข้มข้น 2,000 ppm จำนวน 10 มิลลิลิตร/ลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3–7 วัน และคัดเลือกสายพันธุ์ราที่เจริญบนอาหารเพื่อใช้ทดสอบต่อไป

2. การแยกแบคทีเรียจากดินด้วยอาหาร Basal salt-glyphosate medium broth (MSB-Gly) (Radosevich et al., 1995)

เตรียมอาหาร MSB โดยเติมไกลโฟเซตความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม/ลิตร ชั่งตัวอย่างดินจากแปลงปลูกมันสำปะหลัง จำนวน 2 กรัม เทลงในอาหาร ใช้อลูมิเนียมฟอยล์ห่อเพื่อป้องกันแสง นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อแบบเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบ/นาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน เมื่อครบกำหนด นำตัวอย่างไปแยกแบคทีเรียด้วยวิธี spread plate บนอาหาร Basal salt-glyphosate medium agar (MSA-Gly) ที่เติมวุ้น 15 กรัม/ลิตร และเติมไซโคลเฮกซิไมด์เพื่อยับยั้งการเจริญของรา บ่มจานเพาะเชื้อในที่มืด อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3–5 วัน คัดเลือกแบคทีเรียที่เจริญไปทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายสารไกลโฟเซตต่อไป

3. การทดสอบการใช้ไกลโฟเซตเป็นแหล่งของฟอสฟอรัส (Radosevich et al., 1995)

นำแบคทีเรียที่คัดเลือกได้เลี้ยงบนอาหาร Basal salt-glyphosate medium agar (MSA) และ MSA-Gly ความเข้มข้น 500 มิลลิกรัม/ลิตร โดยการเพาะจุลินทรีย์แบบจุด (Spot inoculation) บ่มจานเพาะเชื้อในที่มืด อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน วัดความกว้างของโคโลนี และประเมินประสิทธิภาพการเจริญของแบคทีเรีย (Equation 1)

$$\% \text{ Growth} = \frac{\text{Growth rate of colony on MSA-Gly - Growth rate of colony on MSA} \times 100}{\text{Growth rate of colony on MSA}} \quad (1)$$

4. การทดสอบการทนทานไกลโฟเซตของเชื้อรา (Spinelli et al., 2021)

นำเชื้อราที่คัดเลือกได้เลี้ยงบนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) ที่มีการเติมไกลโฟเซตความเข้มข้น 1 และ 10 mM โดยการเพาะเชื้อราแบบจุด บ่มจานเพาะเชื้อในที่มืด อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน วัดความกว้างของโคโลนี

5. การจำแนกจุลินทรีย์

แบคทีเรีย ด้วยเทคนิคทางอณูชีววิทยา (molecular identification) โดยเลี้ยงแบคทีเรียในอาหาร NB เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ปั่นตกตะกอนเซลล์และสกัดดีเอ็นเอด้วยชุดสกัด Genomic DNA Mini Kit (tissue) (Geneaid Biotech Ltd., Taiwan) เพิ่มปริมาณดีเอ็นเอบริเวณยีน 16S rRNA และนำลำดับนิวคลีโอไทด์ไปเปรียบเทียบความคล้ายคลึงกันกับฐานข้อมูลของ The National Center for Biotechnology Information เพื่อจำแนกสกุลและชนิดแบคทีเรียเบื้องต้น (กรมวิชาการเกษตร, 2566)

รา โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) ได้แก่ สี และรูปแบบการเจริญของโคโลนี การสร้างสปอร์ รูปร่าง และสีสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และการเจริญบนอาหารจำเพาะ (specific media) เพื่อจำแนกสกุลและชนิดรา (Domsch et al., 1993)

6. การตรวจปริมาณไกลโฟเซตในดิน

ทำการสกัดตัวอย่างดินด้วยสารผสมระหว่าง Disodium hydrogen phosphate (Na_2HPO_4) และ Trisodium citrate ($C_6H_5Na_3O_7$) จากนั้นทำการเปลี่ยนอนุพันธ์ (derivatization) ด้วยสารละลาย 9-Fluoremyl-methylchloroformate (FMOC-Cl) ในสารละลายบอเรตบัฟเฟอร์ (borate buffer) และทำการตรวจวัดด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatograph with Fluorescence Detector (HPLC-FLD) โดยใช้คอลัมน์ชนิด C18 (Miles et al., 1986)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ปริมาณจุลินทรีย์ในดินแปลงปลูกมันสำปะหลังในจังหวัดนครราชสีมา พบว่า แปลงควบคุมมีปริมาณแบคทีเรียเฉลี่ย 6.31–6.81 Log_{10}CFU/g และแปลงพ่นสารไกลโฟเซตมีปริมาณแบคทีเรียเฉลี่ย 6.51–6.82 Log_{10}CFU/g ซึ่งหลังพ่นสารที่ 30 วัน มีปริมาณแบคทีเรียเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยมีปริมาณแบคทีเรียในแปลงพ่นสารไกลโฟเซตเฉลี่ย 6.81 Log_{10}CFU/g สูงกว่าแปลงควบคุม ส่วนปริมาณราเฉลี่ยในแปลงควบคุม 4.45–4.78 Log_{10}CFU/g และแปลงพ่นสารไกลโฟเซตมีปริมาณราเฉลี่ย 4.39–4.86 Log_{10}CFU/g ซึ่งหลังพ่นสารที่ 15 และ 30 วัน มีปริมาณราเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในขณะที่จังหวัดลพบุรีมีปริมาณแบคทีเรียเฉลี่ยในแปลงควบคุมมีปริมาณแบคทีเรียเฉลี่ย 6.68–6.98 Log_{10}CFU/g และแปลงพ่นสารไกลโฟเซตมีปริมาณแบคทีเรียเฉลี่ย 6.65–7.02 Log_{10}CFU/g ซึ่งปริมาณไม่แตกต่างกันทางสถิติ และพบว่าปริมาณราหลังพ่นสาร 2 ชั่วโมง มีปริมาณราเฉลี่ยแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยมีปริมาณราในแปลงพ่นสารไกลโฟเซตเฉลี่ย 5.05 Log_{10}CFU/g สูงกว่าแปลงควบคุม (Table 1) เมื่อครบ 60 วันปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียและราไม่แตกต่างกันทางสถิติ ทั้งนี้มีรายงานว่าจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถย่อยสลายไกลโฟเซตและใช้เป็นแหล่งของคาร์บอนและฟอสฟอรัสในการเจริญเติบโต (Zhan et al., 2018; Massot et al., 2021; Spinelli et al., 2021) ปริมาณไกลโฟเซตในดินจังหวัดนครราชสีมาแปลงควบคุม 1.17–2.99 mg/kg และแปลงพ่นสารไกลโฟเซต 1.38–6.94 mg/kg ส่วนปริมาณไกลโฟเซตในดินจังหวัดลพบุรีแปลงควบคุม 0.70–0.88 mg/kg และแปลงพ่นสารไกลโฟเซต 1.12–1.24 mg/kg ซึ่งผลการวิเคราะห์ดินพบว่าดินแปลงปลูกจังหวัดนครราชสีมาเป็นดินเหนียวทำให้ปริมาณการตรวจพบสารไกลโฟเซตสูงกว่าและดินแปลงปลูกจังหวัดลพบุรีซึ่งเป็นดินร่วน สอดคล้องกับ Albers et al. (2009) รายงานว่าไกลโฟเซตถูกดูดซับได้ดีในดินเหนียวซึ่งมีปริมาณอินทรียวัตถุสูงกว่าดินร่วน

Table 1 Microbial density in soil from cassava field

Time	Nakhon Ratchasima province[1]				Lopburi province[1]			
	Bacteria (Log_{10}CFU/g)		Fungi (Log_{10}CFU/g)		Bacteria (Log_{10}CFU/g)		Fungi (Log_{10}CFU/g)	
	Control	Glyphosate	Control	Glyphosate	Control	Glyphosate	Control	Glyphosate
Pretreatment	6.31	6.51	4.45	4.39	6.68	6.65	4.66	4.89
2 Hr.	6.55	6.61	4.47	4.52	6.80	6.77	4.75*	5.05*
15 D	6.59	6.68	4.71*	4.56*	6.98	7.02	4.70	4.67
30 D	6.67*	6.81*	4.47*	4.58*	6.78	6.83	4.64	4.68
60 D	6.81	6.82	4.78	4.86	6.81	6.90	4.78	4.94

[1] Average of data from 12 replicates

* Significance level of 0.05

แยกแบคทีเรียจากแปลงปลูกมันสำปะหลังได้ จำนวน 14 ไอโซเลท ผลทดสอบความสามารถในการใช้ไกลโฟเซตเป็นแหล่งฟอสฟอรัสในอาหารเพียงอย่างเดียว พบว่า อัตราการเจริญอยู่ในช่วง 11.1–754.6% โดยสายพันธุ์ GS-LRI CO.1 มีอัตราการเจริญสูงสุดที่ 754.6% มีความกว้างของโคโลนี 31.3±6.7 มิลลิเมตร รองลงมา *Bacillus* sp. (GS-NMA CO.5), *Chitinophaga terrae* (GS-NMA CO.1) และ *Dyadobacter fermentans* (GS-LRI CO.3) มีอัตราการเจริญ 266.7%, 113.3% และ 53.3% ตามลำดับ (Table 2, Fig. 1) โดยแบคทีเรียในวงศ์ Bacillaceae เช่น *Bacillus subtilis*, *B. cereus* มีความสามารถย่อยไกลโฟเซตได้ถึง 98.84 และ 94.47% โดยมีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์ย่อยไกลโฟเซตให้เป็น

AMPA ไกลออกซิเลท ซาโคซีน ไกลซีน และฟอร์มัลดีไฮด์ เพื่อใช้เป็นแหล่งของอาหารที่ใช้ในการเจริญ (Fan et al., 2012) ทั้งนี้อัตราการเจริญของแบคทีเรียมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสกุลและชนิดของแบคทีเรีย

Table 2 Diametric values of bacterial colonies after 7 days of growth on MSA and MSA-Gly at 30°C

Strain	MSA (mm)	MSA-Gly (mm)	% Growth
GS-LRI CO.1	3.7±0.6*	31.3±6.7	754.6
GS-LRI CO.2	4.0±0.0	6.0±0.0	50.0
Dyadobacter fermentans (GS-LRI CO.3)	5.0±0.0	7.7±0.0	53.3
GS-LRI CO.4	3.7±0.6	5.0±0.6	15.4
D. fermentans (GS-LRI CO.5)	6.0±0.0	8.3±1.0	38.9
D. fermentans (GS-LRI CO.9)	6.0±0.0	6.7±0.6	11.1
Chitinophaga terrae (GS-NMA CO.1)	5.0±0.0	10.7±0.6	113.3
GS-NMA CO.3	3.3±0.6	5.0±0.0	50.0
GS-NMA CO.4	5.3±0.6	8.0±0.0	50.0
Bacillus sp. (GS-NMA CO.5)	5.0±0.0	18.3±1.2	266.7
Bacillus sp. (GS-NMA CO.6)	17.3±2.5	21.3±0.6	23.1
GS-NMA CO.7	4.3±0.6	5.7±0.6	24.6
GS-NMA CO.8	3.7±0.6	5.3±0.6	30.2
GS-NMA CO.10	5.0±0.0	7.3±0.6	31.5

* mean±SD

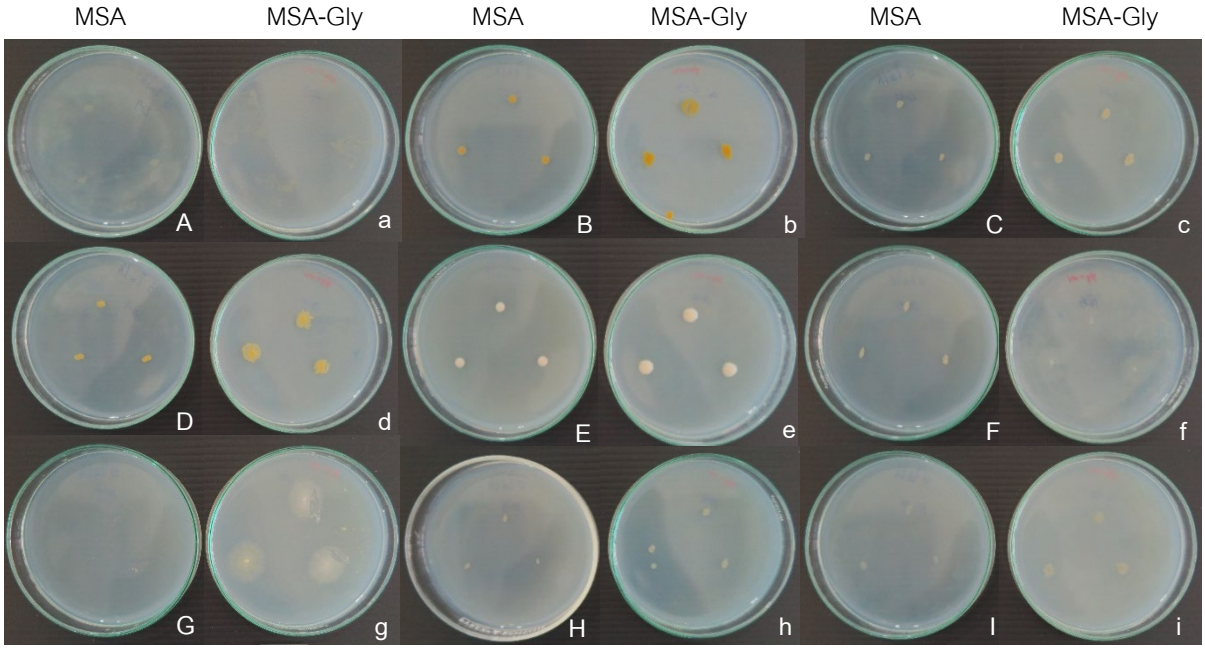


Fig. 1 Bacterial colonies on MSA and MSA-Gly at 7 days of incubation

GS-LRI CO.1 (A, a); *Dyadobacter fermentans* (GS-LRI CO.3) (B, b); GS-LRI CO.4 (C, c); *Chitinophaga terrae* (GS-NMA CO.1) (D,d); GS-NMA CO.4 (E, e); *Bacillus* sp. (GS-NMA CO.5) (F, f); *Bacillus* sp. (GS-NMA CO.6) (G, g); GS-NMA CO.8 (H, h); GS-NMA CO.10 (I, i)

ราหลายชนิด เช่น *Aspergillus fumigatus, A. niger, A. nidulans, A. flavus, Fusarium verticillioides, Penicillium simplicissimum, Trichoderma harzianum* และ *T. gamsii* สามารถย่อยสลายไกลโฟเซตให้เป็นแหล่งของคาร์บอน ฟอสฟอรัส และไนโตรเจนเพื่อใช้ในการเจริญ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการ ผลิตเอนไซม์ glyphosate oxidoreductase and C–P lyase และ glyphosate oxidoreductase (Castrejón-Godínez et al., 2021) การทดลองนี้แยกราจากแปลงปลูกมันสำปะหลังได้ จำนวน 20 ไอโซเลท ผลการทดสอบการทนทานต่อไกลโฟเซตของรา พบว่า *Trichoderma* 9 ไอโซเลท (GS-485, 486, 486-1, 504, 510, 515, 517, 549 และ 522) *Rhizopus* (GS-523) และ *Aspergillus flavus* (GS-531) สามารถเจริญบน PDA ที่ผสมไกลโฟเซต ความเข้มข้น 1 และ 10 mM ได้สูงที่สุด มีความกว้างของโคโลนี 90 มิลลิเมตร ขณะที่ Sterile mycelium (GS-481-2, 488-1 และ 488-4) และ *Aspergillus niger* (GS-541) เจริญได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 10 mM มีความกว้างของโคโลนี 46.5, 46, 55 และ 67.2 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วน *Talaromyces* sp. (GS-483, 488-3, 508) และ *Penicillium* sp. (GS-523-1) ไม่ทนต่อไกลโฟเซตเนื่องจากความกว้างของโคโลนีลดลง (Table 3, Fig. 2)

Table 3 Diametric values of fungal colonies after 14 days of growth exposed to Glyphosate on Potato Dextrose Agar (PDA) at 25°C

Strain	Diameter (mm)		
	PDA	PDA 1mM Gly	PDA 10 mM Gly
Sterile mycelium (GS-481-2)	38.0±0.0*	35.7±1.2	46.5±0.0
Talaromyces sp. (GS-483)	49.3±0.6	46.8±0.3	46.5±1.3
Trichoderma sp. (GS-485)	90.0±0.0	90.0±0.0	90.0±0.0
Trichoderma sp. (GS-486)	90.0±0.0	90.0±0.0	90.0±0.0
Trichoderma sp. (GS-486-1)	90.0±0.0	90.0±0.0	90.0±0.0
Sterile mycelium (GS-488-1)	39.0±1.0	42.0±0.0	46.0±0.0
Talaromyces sp. (GS-488-3)	52.7±2.5	49.5±0.5	45.7±0.6
Sterile mycelium (GS-488-4)	34.7±0.6	32.8±0.3	55.0±0.0
Trichoderma sp. (GS-504)	90.0±0.0	90.0±0.0	90.0±0.0
Talaromyces sp. (GS-508)	63.3±1.5	63.8±0.8	60.7±0.6
Trichoderma sp. (GS-510)	90.0±0.0	90.0±0.0	90.0±0.0
Paecilomyces sp. (GS-511)	34.8±0.3	44.3±0.6	44.7±0.3
Trichoderma sp. (GS-515)	90.0±0.0	90.0±0.0	90.0±0.0
Trichoderma sp. (GS-517)	90.0±0.0	90.0±0.0	90.0±0.0
Rhizopus sp. (GS-523)	90.0±0.0	90.0±0.0	90.0±0.0
Penicillium sp. (GS-523-1)	43.0±0.0	40.0±1.0	39.7±0.3
Aspergillus flavus (GS-531)	90.0±0.0	90.0±0.0	90.0±0.0
Aspergillus niger (GS-541)	64.8±1.3	61.3±0.6	67.2±0.8
Trichoderma sp. (GS-549)	90.0±0.0	90.0±0.0	90.0±0.0
Trichoderma sp. (GS-552)	90.0±0.0	90.0±0.0	90.0±0.0

* mean±SD

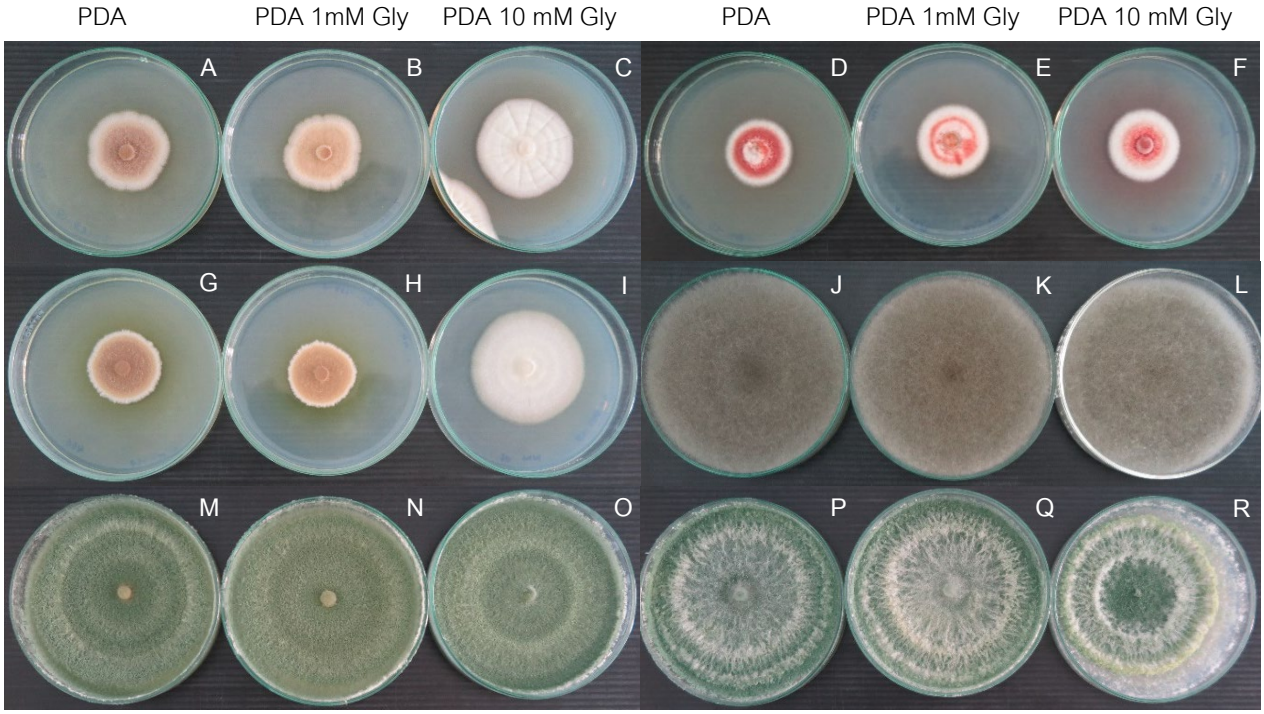


Fig. 2 Fungal colonies on PDA, PDA 1mM Gly and PDA 10 mM Gly at 14 days of incubation Sterile mycelium (GS-481-2) (A, B, C); Sterile mycelium (GS-488-1) (D, E, F), Sterile mycelium (GS-488-4) (G, H, I); *Rhizopus* sp. (GS-523) (J, K, L); *Trichoderma* sp. (GS-486) (M, N, O); *Trichoderma* sp. (GS-552) (P, Q, R)

สรุป

ผลการทดลองในจังหวัดนครราชสีมาและลพบุรี มีปริมาณแบคทีเรียเฉลี่ยในแปลงควบคุม 6.31–6.98 Log_{10}CFU/g และแปลงพ่นสารไกลโฟเซตมีปริมาณแบคทีเรียเฉลี่ย 6.51–7.02 Log_{10}CFU/g ปริมาณราเฉลี่ยในแปลงควบคุม 4.45–4.78 Log_{10}CFU/g และแปลงพ่นสารไกลโฟเซตมีปริมาณราเฉลี่ย 4.39–5.05 Log_{10}CFU/g และแยกแบคทีเรียได้ 14 ไอโซเลท สายพันธุ์ GS-LRI CO.1 มีอัตราการเจริญในอาหารผสมไกลโฟเซตเป็นแหล่งฟอสฟอรัสได้สูงสุดที่ 754.6% รองลงมาเป็น *Bacillus* sp. (GS-NMA CO.5), *Chitinophaga terrae* (GS-NMA CO.1) และ *Dyadobacter fermentans* (GS-LRI CO.3) ส่วนรา *Trichoderma* sp. *Rhizopus* sp. (GS-523) และ *Aspergillus flavus* (GS-531) สามารถเจริญบน PDA ที่ผสมไกลโฟเซตได้รวดเร็วที่สุด ขณะที่ Sterile mycelium (GS-481-2, 488-1 และ 488-4) และ *Aspergillus niger* (GS-541) เจริญได้ดีที่สุดที่ความเข้มข้น 10 mM ส่วน *Talaromyces* sp. (GS-483, 488-3, 508) และ *Penicillium* sp. (GS-523-1) ไม่ทนต่อไกลโฟเซต

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2566. คู่มือตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพ. กรุงเทพฯ.

Albers, C.N., Banta, G.T., Hansen, P.E., Jacobsen, O.S. 2009. The influence of organic matter on sorption and fate of glyphosate in soil-comparing different soils and humic substances. Environ. Pollut. 157(10): 2865–2870.

Castrejón-Godínez, M.L., Tovar-Sánchez, E., Valencia-Cuevas, L., Rosas-Ramírez, M.E., Rodríguez, A., Mussali-Galante, P. 2021. Glyphosate pollution treatment and microbial degradation alternatives, a review. Microorganisms 9: 2322.

Dill, G.M., Sammons, R.D., Feng, P.C., Kohn, F., Kretzmer, K., Mehrsheikh, A., Bleeke, M., Honegger, J.L., Farmer, D., Wright, D., Haupfear, E.A. 2010. Glyphosate: Discovery, development, applications, and properties In: Nandula V.K. (Ed.). Glyphosate Resistance in Crops and Weeds, pp. 1–33.

Domsch, K.H., Gams, W., Anderson, T. 1993. Compendium of soil fungi, Vol. 1, 2nd ed. Academic Press, London, UK.

Fan, J., Yang, G., Zhao, H., Shi, G., Geng, Y., Hou, T., Tao, K. 2012. Isolation, identification and characterization of a glyphosate-degrading bacterium, *Bacillus cereus* CB4, from soil. J. Gen. Appl. Microbiol. 58: 263–271.

Henderson, A.M., Gervais, J.A., Luukinen, B., Buhl, K., Stone, D., Strid, A., Cross, A., Jenkins, J. 2010. Glyphosate technical fact sheet. National Pesticide Information Center, Oregon State University Extension Services. http://npic.orst.edu/factsheets/archive/glyphotech.html, 6 December 2023.

Massot, F., Gkorezis, P., Hamme, J.V., et al. 2021. Isolation, biochemical and genomic characterization of glyphosate tolerant bacteria to perform microbe-assisted phytoremediation. Front. microbiol. 11: 598507.

Miles, C.J., Wallace, L.R., Moye, H.A. 1986. Determination of glyphosate herbicide and (aminomethyl) phosphonic acid in natural waters by liquid chromatography using pre-column fluorogenic labeling with 9-fluorenylmethyl chloroformate. J. Assoc. Off. Anal. Chem. 69(3): 458–461.

Radosevich, M., Traina, S.J., Hao, Y.L., Tuovinen, O.H. 1995. Degradation and mineralization of atrazine by a soil bacterial isolate. Appl. Environ. Microbiol. 61(1): 297–302.

Sanogo, S., Yang, X.B., Scherm, H. 2000. Effects of herbicide on *Fusarium solani* f. sp. *Glycines* and development of sudden death syndrome in glyphosate tolerant soybean. Phytopathology 90(1): 57–66.

Spinelli, V., Ceci, A., Bosco, C.D., Gentili, A., Persiani, A.M. 2021.Glyphosate-eating fungi: study on fungal saprotrophic strains' ability to tolerate and utilise glyphosate as a nutritional source and on the ability of *Purpureocillium lilacinum* to degrade it. Microorganisms 9: 2179.

Valerie, N., Oestreicher, N., Velot, C. 2016. Multiple effects of a commercial Roundup® formulation on the soil filamentous fungus *Aspergillus nidulans* at low doses: Evidence of an unexpected impact on energetic metabolism. Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 23(14): 14393–14404.

Zhan, H., Feng, Y., Fan, X., Chen, S. 2018. Recent advances in glyphosate biodegradation. Appl. Microbiol. Biotechnol. 102(12): 5033–5043.

การศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ดินในการย่อยสลายสารกำจัดวัชพืช atrazine

Study on efficiency of soil microorganism for the degradation of atrazine

จิตรา เกาะแก้ว*, **สนธยา ขำติ๊บ**, **มนต์ชัย มนัสสิลา**, **บุณฑริก ฉิมชาติ**, **อำนาจ เอี่ยมวิจารณ์**, **กนกอร บุญพา**, **ปภัสรา คุณเลิศ**

Jitra Kokaew*, Sontaya Khamtib, Monchai Manassila, Boontarik Chimchat, Amnat Eamvijarn, Kanokon Bunpha, Paphatsara Khunlert

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900

Agricultural Production Science Research and Development Division, Department of Agriculture, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: jeabjitra@gmail.com

บทคัดย่อ

ศึกษาประสิทธิภาพของแบคทีเรียและราที่แยกได้จากดินในแปลงปลูกอ้อยและข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ใช้สารกำจัดวัชพืชอาทราซีน พบแบคทีเรียจำนวน 16 สายพันธุ์ มีความทนทานต่อสารอาทราซีนสามารถเจริญบนอาหารที่ปราศจากไนโตรเจนหรือคาร์บอนที่ผสมอาทราซีนความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร แบ่งเป็น 5 ชนิดได้แก่ *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas putida* และ *Acinetobacter lactucae* ใช้อาทราซีนแทนแหล่งไนโตรเจน ในขณะที่ *Agrobacterium radiobacter* และ *Paenarthrobacter ureafaciens* ใช้อาทราซีนแทนแหล่งไนโตรเจนและคาร์บอน และราดินจำนวน 9 สายพันธุ์ สามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผสมอาทราซีน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อนำไปทดสอบการย่อยอาทราซีนในอาหารเหลว พบว่ารา *Aspergillus niger* สายพันธุ์ AT-8 ทำให้ปริมาณอาทราซีนในอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงสูงถึง 97.63 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่รา *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ AT-9 ทำให้อาทราซีนลดลง 90.50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนรา *Trichoderma* spp. พบว่าสายพันธุ์ AT-4 ลดปริมาณอาทราซีนในอาหารได้สูงสุด 56.11 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สายพันธุ์ AT-2 ลดปริมาณอาทราซีนได้น้อยที่สุดเท่ากับ 30.15 เปอร์เซ็นต์

คำสำคัญ: การย่อยสลาย, จุลินทรีย์ดิน, อาทราซีน

Abstract

Studying the effectiveness of bacteria and fungi isolated from soil in sugarcane and maize fields treated with atrazine. Sixteen strains of bacteria were found to be resistant to atrazine and able to grow on nitrogen-free or carbon-free media mixed with 500 mg/L of atrazine. Five bacterial species: *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas putida* and *Acinetobacter lactucae* was able to use atrazine as a sole nitrogen source for growth. Moreover, *Agrobacterium radiobacter* and *Paenarthrobacter ureafaciens* also use atrazine as nitrogen and carbon source. Nine strains of soil fungi were able to grow in the medium mixed with 50 mg/L of atrazine. The atrazine biodegradation potential by fungi in liquid medium, revealed that *Aspergillus niger* strain AT-8 showed the highest reduction amount of atrazine as 97.63 percent, followed by *Aspergillus* sp. strain AT-9 reduced atrazine by 90.50 percent. Similarly, *Trichoderma* strain AT-4 showed the highest reduction amount of atrazine as 56.11 percent, while strain AT-2 decreased amount of atrazine only 30.15 percent.

Keywords: Atrazine, Degradation, Soil microorganism

คำนำ

อาทราซีน (atrazine) เป็นสารกำจัดวัชพืชกลุ่ม triazine ประเภทเลือกทำลาย มีการใช้กันอย่างแพร่หลายทั่วโลกมานานกว่า 50 ปี เนื่องจากใช้ง่ายและราคาถูก นิยมใช้เป็นยาคุมก่อนวัชพืชงอก atrazine มีความคงทนในดินสูง เคลื่อนย้ายในดินได้ปานกลางถึงมาก ทำให้เกิดการตกค้างในแหล่งน้ำใต้ดินสูง การเคลื่อนที่ของ atrazine ในดินจะเกี่ยวข้องกับการดูดซับของคอลลอยด์ในดิน ดินสามารถปล่อยสารที่ดูดซับออกมาได้ ซึ่งจะขึ้นกับปัจจัยภายนอกต่าง ๆ ได้แก่ ปริมาณการใช้ และลักษณะของดิน เช่น ดินชนิด clay loam จะยึดเกาะ atrazine ได้แน่นกว่าชนิด fine sandy loam รวมไปถึง อุณหภูมิ ความชื้น ค่า pH ของดิน ค่าการละลายน้ำ และค่าสัมประสิทธิ์การดูดยึดของสาร เป็นต้น (Ross and Lembi, 2009; Farruggia et al., 2016) ดังนั้นกระบวนการดูดซับและปลดปล่อยของดินมีผลต่อ atrazine ในสิ่งแวดล้อมและแหล่งน้ำใต้ดิน (Jamil et al., 2010) ประเทศไทยได้กำหนดค่ามาตรฐานคุณภาพดินที่มีการปนเปื้อน atrazine ตามประกาศของคณะกรรมการสิ่งแวดล้อม พ.ศ. 2535 กำหนดให้มี atrazine ปนเปื้อนในดินที่ใช้ประโยชน์เพื่อการอยู่อาศัยและเกษตรกรรมไม่เกิน 22 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม (กรมควบคุมมลพิษ, 2548) atrazine สามารถสลายตัวจากกระบวนการทางกายภาพ เช่นการสลายตัวด้วยแสงจากธรรมชาติ ที่ค่าความคงทนในดินปานกลาง ทำให้โครงสร้างของสารเปลี่ยนแปลงไป และสามารถเกิดการระเหยได้ตามธรรมชาติ ซึ่งเกิดในปริมาณน้อยมาก (Farruggia et al., 2016) นอกจากนี้ยังพบว่า atrazine สามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยจุลินทรีย์ที่อยู่ในดิน ซึ่งปัจจุบันการใช้จุลินทรีย์ในการย่อยสลาย atrazine ถือว่ามีประสิทธิภาพและมีความปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อม (Hong et al., 2017) มีรายงานพบจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถย่อยสลาย atrazine ได้ อย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อศึกษาขบวนการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในระดับอณูชีววิทยาพบว่าถูกควบคุมโดยยีน atzA, atzB, atzC และ trzN (Sajjaphan et al., 2004; Krutz et al., 2008) การศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ดินในการย่อยสลายสารกำจัดวัชพืช เป็นเรื่องจำเป็นเพื่อเป็นแนวทางในการนำจุลินทรีย์ดินไปใช้ประโยชน์ทางการเกษตรและการย่อยสลายสารกำจัดศัตรูพืชที่ตกค้างในดิน

อุปกรณ์และวิธีการ

การแยกแบคทีเรียจากดินด้วยเทคนิค enrichment culture (กรรณิการ์, 2552)

การแยกแบคทีเรียจากดินด้วยเทคนิค enrichment culture (กรรณิการ์, 2552) ใช้อาหารเหลว R-medium ปริมาตร 20 มิลลิลิตร 3 สูตร ที่เติมอาทราซีนในรูปแบบผงที่มีเนื้อสาร 80 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยสูตรที่ 1 เติมอาทราซีน แทน NH_4Cl และ Glucose สูตรที่ 2 เติมอาทราซีน แทน Glucose และสูตรที่ 3 เติมอาทราซีน แทน NH_4Cl ทำการชั่งดิน 5 กรัมใส่ในอาหารแต่ละสูตรเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาทีอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส นาน 2 สัปดาห์ จากนั้นดูดสารละลายดินปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่อาหาร R-medium สูตรเดียวกันในขวดใหม่ แล้วนำไปเขย่าที่สภาวะเดิม โดยทำการเปลี่ยนถ่ายสารละลายดินที่บ่มไว้ใส่ในอาหารใหม่ทุก ๆ 2 สัปดาห์จนได้สารละลายดินที่มีลักษณะใส ในแต่ละครั้งที่ถ่ายสารละลายดิน นำสารละลายดิน มาเจือจางด้วย 0.85% NaCl ให้ได้ความเข้มข้น 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} จนถึง 10^{-9} แล้วนำมาเกลี่ยลงบนอาหารแข็ง R-medium สูตรเดียวกัน เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารนำมาทดสอบประสิทธิภาพการย่อยสลายอาทราซีนบนอาหารแข็ง R-medium ที่ใส่อาทราซีนความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร แทน NH_4Cl และ Glucose ทำการตรวจเช็คการเจริญและการสร้างวงใสบนอาหาร และจำแนกชนิดแบคทีเรียด้วยเทคนิค Mass Spectrometry ในการตรวจวัดหาค่ามวลโมเลกุล และโครงสร้างของโปรตีนที่เชื้อสร้างขึ้น (กรมวิชาการเกษตร, 2566)

การแยกราจากดินด้วยวิธี Soil dilution plate method (Barron, 1968)

ชั่งดิน 1 กรัม ใส่ในน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เจือจางจนได้ความเข้มข้น 10^{-5} ใช้ปิเปตดูดสารละลายที่ความเข้มข้น 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5} ใส่จานเลี้ยงเชื้อจานละ 1 มิลลิลิตร เททับด้วยอาหาร glucose ammonium nitrate agar (GAN) ที่มีส่วนประกอบของ rose bengal และ streptomycin นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เมื่อราเจริญขึ้นมาใช้เข็มเขี่ยย้ายเส้นใยรามาเลี้ยงในอาหาร potato dextrose agar (PDA) เลี้ยงราจนได้เชื้อบริสุทธิ์จากนั้นนำมาจำแนกชนิดโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ สี และรูปแบบการเจริญของโคโลนี การสร้างสปอร์ รูปร่าง และสีสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ (Domsch et al., 1993) คัดเลือกราที่มีความทนทานต่อสารอาทราซีน โดยเขี่ยเส้นใยไว้ตรงกลางจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Czapek-dox ที่ผสมอาทราซีนปริมาณ 50 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งเป็นปริมาณที่สูงสำหรับใช้คัดกรองราที่สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารแข็ง บ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิห้อง 14 วัน นำราที่ผ่านการคัดเลือกมาเลี้ยงใน Czapek Dox Broth ปริมาตร 250 มิลลิลิตร โดยมีชุดควบคุมคืออาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเดียวกันที่ไม่ใส่เชื้อใด ๆ นำชุดทดสอบทั้งหมดไปวางบนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาทีตลอดเวลาทดสอบ เมื่อครบกำหนด 3 วัน เติมอาทราซีนให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 35 มิลลิกรัมต่อลิตร เลี้ยงราต่อจนครบ 30 วัน เก็บตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อนำไปตรวจสอบปริมาณสาร atrazine ที่ยังเหลือโดยใช้เครื่อง Gas Chromatography

การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อ

การตรวจวิเคราะห์สารพิษตกค้างในตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อโดยประยุกต์ใช้วิธี QuEChERS (EN 15622, 2008) ทำการปิเปตตัวอย่างอาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร ใส่ในหลอด centrifuge ขนาด 50 มิลลิลิตร เติม ethyl acetate (AR graed) 10 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง vortex mixer 1 นาที เติม $MgSO_4$ 4 กรัม NaCl 1 กรัม Na_3Citrate dehydrate 1 กรัม และ Na_2HCitrate sesquihydrate 0.5 กรัม เขย่าด้วยเครื่อง vortex mixer 1 นาที นำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่า reciprocal shaker เป็นเวลา 20 นาที แล้วนำไปใส่เครื่อง ultrasonic bath เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไป centrifuge ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาที ดูดสารละลายส่วนใส 1.0 มิลลิลิตร ใส่ในขวด vial นำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณสารพิษตกค้างชนิด atrazine ด้วยเครื่อง Gas Chromatograph (GC) บริษัท Agilent technologies รุ่น 7890B ซึ่งมีหัวตรวจวัดชนิด Nitrogen-Phosphorus Detector (GC-NPD) โดยกำหนดสภาวะการทำงานของเครื่องดังนี้ ใช้คอลัมน์ DB-35 ความยาว 30 เมตร กว้าง 0.25 มิลลิเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.25 มิลลิเมตร เคลือบด้วยฟิล์ม thickness ตั้งอุณหภูมิคอลัมน์ injector 230°C อุณหภูมิ detector 300°C ตั้งโปรแกรม Oven เริ่มจาก 65°C คงอุณหภูมิไว้ 1 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิเป็น 195°C โดยเพิ่มทีละ 10°C ทุก ๆ 1 นาที คงอุณหภูมินี้ไว้ 2 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิเป็น 230°C โดยเพิ่มทีละ 10°C ทุก ๆ 1 นาที แล้วคงอุณหภูมิไว้ 1 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิเป็น 250°C โดยเพิ่มทีละ 20°C ทุก ๆ 1 นาที คงอุณหภูมินี้ไว้ 1 นาที และเพิ่มอุณหภูมิเป็น 280°C โดยเพิ่มทีละ 15°C ทุก ๆ 1 นาที คงอุณหภูมิไว้ 1 นาที ใช้โหมดฉีดตัวอย่างแบบ spitless ใช้แก๊สฮีเลียมที่มีอัตราการไหล 1.4 มิลลิลิตรต่อนาที เป็นตัวพา ฉีดตัวอย่าง 1 โมโครลิตร ใช้ระยะเวลาในการฉีดตัวอย่าง 25 นาทีต่อตัวอย่าง

สูตรในการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ปริมาณสาร atrazine ที่ลดลง (Equation 1) ดังนี้

$$\text{ปริมาณสาร atrazine ที่ลดลง (\%)} = \frac{\text{ปริมาณสารเริ่มต้น (0 สัปดาห์)}-\text{ปริมาณสารหลังใส่เชื้อจุลินทรีย์ (n สัปดาห์)}}{\text{ปริมาณสารเริ่มต้น (0 สัปดาห์)}} \times 100 \quad (1)$$

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการคัดแยกแบคทีเรียโดยวิธี enrichment culture ในแต่ละพื้นที่ พบว่ามีแบคทีเรียจำนวน 16 สายพันธุ์ สามารถเจริญในอาหารที่ปราศจาก ไนโตรเจน และคาร์บอน เมื่อนำมาจำแนกชนิดสามารถจำแนกได้เป็น 5 ชนิดได้แก่ *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas putida*, *Agrobacterium radiobacter*, *Paenarthrobacter ureafaciens* และ *Acinetobacter lactucae* แบคทีเรียทั้ง 5 ชนิดมีความทนทานต่อสารอาทราซีน เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารที่ปราศจากแหล่งไนโตรเจนหรือแหล่งคาร์บอนที่ผสมสารอาทราซีนความเข้มข้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร พบว่าแบคทีเรียเหล่านี้สามารถเจริญบนอาหารดังกล่าวได้ โดยพบว่า *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas putida* และ *Acinetobacter lactucae* เป็นแบคทีเรียที่ใช้อทราซีนแทนแหล่งไนโตรเจน ในขณะที่ *Agrobacterium radiobacter* และ *Paenarthrobacter ureafaciens* เป็นแบคทีเรียที่ใช้อาทราซีนแทนแหล่งไนโตรเจนและคาร์บอน (Table 1 และ Fig. 1–5) แบคทีเรียทั้ง 5 ชนิดนี้มีรายงานว่าสามารถย่อยสลายสารอาทราซีได้ เช่น รายงานของ Zhu et al. (2019) พบว่า *Bacillus megaterium* สายพันธุ์ ATLJ-11 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายอาทราซีน (50 มิลลิกรัมต่อลิตร) ได้สูงถึง 98.6% ซึ่งสายพันธุ์ ATLJ-11 นี้มีความทนทานต่ออาทราซีนสูง และสามารถทนต่ออาทราซีนได้ถึง 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร Struthers et al. (1998) รายงานว่า *Agrobacterium radiobacter* สายพันธุ์ J14a สามารถใช้แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนจากสารอาทราซีนเพื่อการเจริญเติบโตโดยพบว่าจำนวนเซลล์ของ *A. radiobacter* ไม่ลดลง โดยสามารถเจริญได้ในอาหารที่มีอาทราซีน 50 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร Zhang et al. (2022) พบว่า *Paenarthrobacter ureafaciens* สายพันธุ์ ZF1 สามารถย่อยสลายอาทราซีน ได้อย่างสมบูรณ์ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายใน 2 ชั่วโมงในอาหารเหลว และสามารถกำจัดอาทราซีนได้ถึง 99.3% ในดิน ภายใน 6 วัน de Souza et al. (1996) ศึกษาการย่อยสลายสาร atrazine ของ *Pseudomonas* sp. strain ADP พบว่าลด ความเป็นพิษของ atrazine ด้วยการผลิตเอนไซม์ออกมากำจัด Cl (hydrolytic dechlorination) ออกจากโครงสร้างของ atrazine ให้เป็นสาร hydroxyatrazine จากรายงานของ Singh et al. (2004) พบว่าแบคทีเรียในสกุล *Acinetobacter* มีความสามารถในการย่อยสลายอาทราซีนได้สูงถึง 250 ppm จากงานวิจัยที่กล่าวข้างต้นชี้ให้เห็นว่าแบคทีเรียทั้ง 5 ชนิดที่คัดแยกได้มีความเหมาะสมในการนำไปศึกษาการย่อยสลายสารอาทราซีนที่ตกค้างในดินต่อไปได้

Table 1 Bacterial strains that use of atrazine as a source of nitrogen and carbon for growth

No.	Bacterial Species	Location
1	*Bacillus megaterium* (KK1)	Sugarcane field at Khon Kaen province
2	*Bacillus megaterium* (LB1)	Maize field at Lopburi province
3	*Bacillus megaterium* (SP1)	Sugarcane field at Suphanburi province
4	*Pseudomonas putida* (KK2)	Sugarcane field at Khon Kaen province
5	*Pseudomonas putida* (SP2)	Sugarcane field at Suphanburi province
6	*Pseudomonas putida* (LB2)	Maize field at Lopburi province
7	*Pseudomonas putida* (KR1)	Maize field at Nakhon Ratchasima province
8	*Agrobacterium radiobacter* (KK3)	Sugarcane field at Khon Kaen province
9	*Agrobacterium radiobacter* (SP3)	Sugarcane field at Suphanburi province
10	*Agrobacterium radiobacter* (LB3)	Maize field at Lopburi province
11	*Agrobacterium radiobacter* (KR2)	Maize plantation at Nakhon Ratchasima province
12	*Paenarthrobacter ureafaciens* (KK4)	Sugarcane field at Khon Kaen province
13	*Paenarthrobacter ureafaciens* (SP4)	Sugarcane field at Suphanburi province
14	*Paenarthrobacter ureafaciens* (LB4)	Maize field at Lopburi province
15	*Paenarthrobacter ureafaciens* (KR3)	Maize field at Nakhon Ratchasima province
16	*Acinetobacter lactucae* (KK5)	Sugarcane field at Khon Kaen province

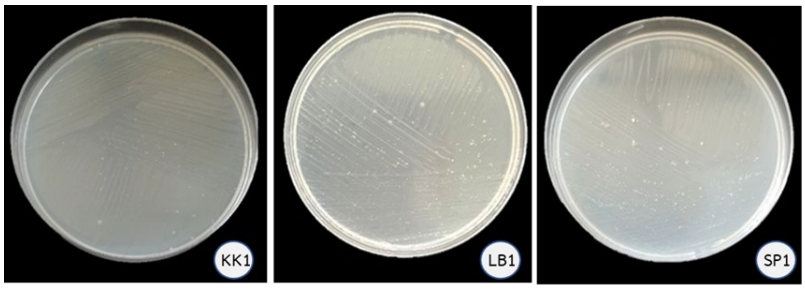


Fig. 1 *Bacillus megaterium* colony on R-medium added 500 mg/L of atrazine as a sole nitrogen source

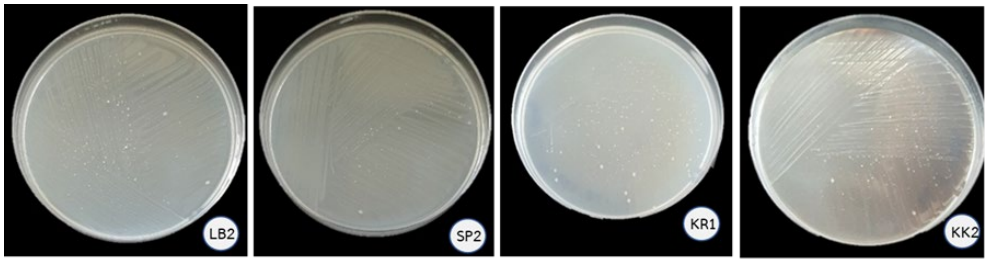


Fig. 2 *Pseudomonas putida* colony on R-medium added 500 mg/L of atrazine as a sole nitrogen source

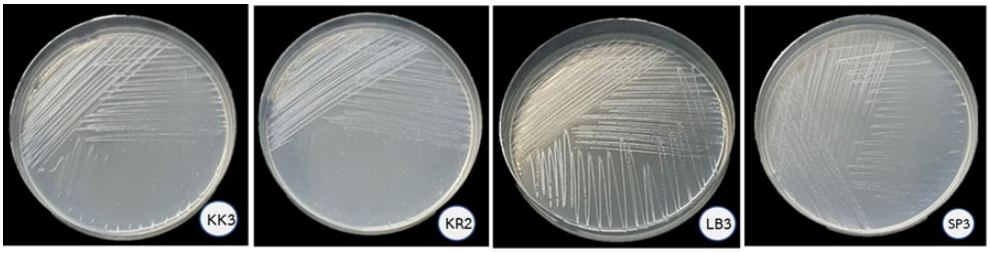


Fig. 3 *Agrobacterium radiobacter* colony on R-medium added 500 mg/L of atrazine as a nitrogen and carbon sources

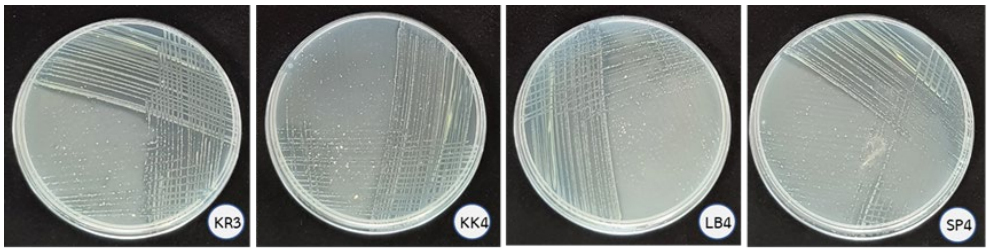


Fig. 4 Colony of *Paenarthrobacter ureafaciens* on R-medium added 500 mg/L of atrazine as a nitrogen and carbon source

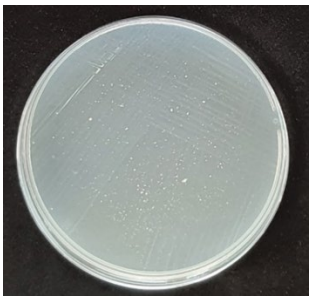


Fig. 5 Colony of *Acinetobacter lactucae* (KK5) on R-medium added 500 mg./L of atrazine as a sole nitrogen source

การย่อยสลายอาทราซีนเกิดจากการดัดแปลงหมู่อะมิโนของ atrazine นอกจากแบคทีเรียยังพบว่าราดินหลายชนิดสามารถย่อยสลายอาทราซีนได้ อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น *Aspergillus niger* และ *Trichoderma* spp. เมื่อศึกษาขบวนการย่อยสลายโดยจุลินทรีย์ในระดับอณูชีววิทยาพบว่าถูกควบคุมโดยยีน atzA, atzB, atzC และ trzN (Sajjaphan et.al., 2004; Krutz et.al., 2008) มีรายงานเกี่ยวกับการใช้รา *Trichoderma* spp. ในการย่อยสลายสารอาทราซีนซึ่งพบว่าเป็นรา *T. viridae* (Muthuselvam and Arunkumar, 2009) การทดลองครั้งนี้พบราดินจำนวน 9 สายพันธุ์ ที่มีความทนทานต่อสารอาทราซีน ซึ่งแยกได้จากดินในแปลงปลูกอ้อยและข้าวโพดที่มีการพ่นสารอาทราซีน โดยราดินทั้ง 9 สายพันธุ์นี้สามารถเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใส่สารอาทราซีน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ราทั้ง 9 สายพันธุ์สามารถจำแนกได้เป็น 2 สกุลได้แก่ *Trichoderma* spp. และ *Aspergillus* spp. 1 ชนิด ได้แก่ *Aspergillus niger* (Fig. 6) ซึ่งพบว่าเป็นราที่ทนทานต่ออาทราซีนเมื่อนำไปศึกษาการย่อยสลายสารอาทราซีนในอาหารเหลว Czapek Dox Broth ที่ผสมสารอาทราซีน 35 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเวลาผ่านไป 30 วัน รา *Aspergillus niger* สายพันธุ์ AT-8 ที่แยกได้จากดินแปลงปลูกอ้อย จ.ขอนแก่น ทำให้ปริมาณอาทราซีนในอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงสูงถึง 97.63 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาได้แก่รา *Aspergillus* sp. สายพันธุ์ AT-9 ทำให้อาทราซีน ลดลง 90.50 เปอร์เซ็นต์ ส่วนรา *Trichoderma* spp. ที่ใช้ทดสอบการย่อยสลายอาทราซีน

ทั้ง 7 สายพันธุ์พบว่าสายพันธุ์ AT-4 ที่แยกได้จากดินในแปลงอ้อย จ.สุพรรณบุรี ทำให้ปริมาณสารอาทราซีนในอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงสูงสุดเท่ากับ 56.11 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่รา *Trichoderma* sp. สายพันธุ์ AT-2 ที่แยกได้จากดินในแปลงปลูกอ้อย จ.ขอนแก่น ทำให้ปริมาณสารอาทราซีนในอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงน้อยที่สุดเท่ากับ 30.15 เปอร์เซ็นต์ (Table 2)

Table 2 Fungal strains used to test the efficiency of atrazine degradation

No.	Fungal strains	Location	Decreased amount of atrazine (%)
1	Control	-	19.04±1.19
2	*Trichoderma* sp. (AT-1)	Sugarcane field at Khon Kaen province	34.78±2.66
3	*Trichoderma* sp. (AT-2)	Sugarcane field at Khon Kaen province	30.15±1.21
4	*Trichoderma* sp. (AT-3)	Sugarcane field at Khon Kaen province	45.93±0.60
5	*Trichoderma* sp. (AT-4)	Sugarcane field at Suphanburi province	56.11±0.53
6	*Trichoderma* sp. (AT-5)	Sugarcane field at Suphanburi province	35.87±1.96
7	*Trichoderma* sp. (AT-6)	Maize field at Lopburi province	49.90±0.19
8	*Trichoderma* sp. (AT-7)	Maize field at Lopburi province	49.20±0.58
9	*Aspergillus niger* (AT-8)	Sugarcane field at Khon Kaen province	97.63±0.02
10	*Aspergillus* sp. (AT-9)	Sugarcane field at Suphanburi province	90.50±0.74

*mean± SD (n = 3)

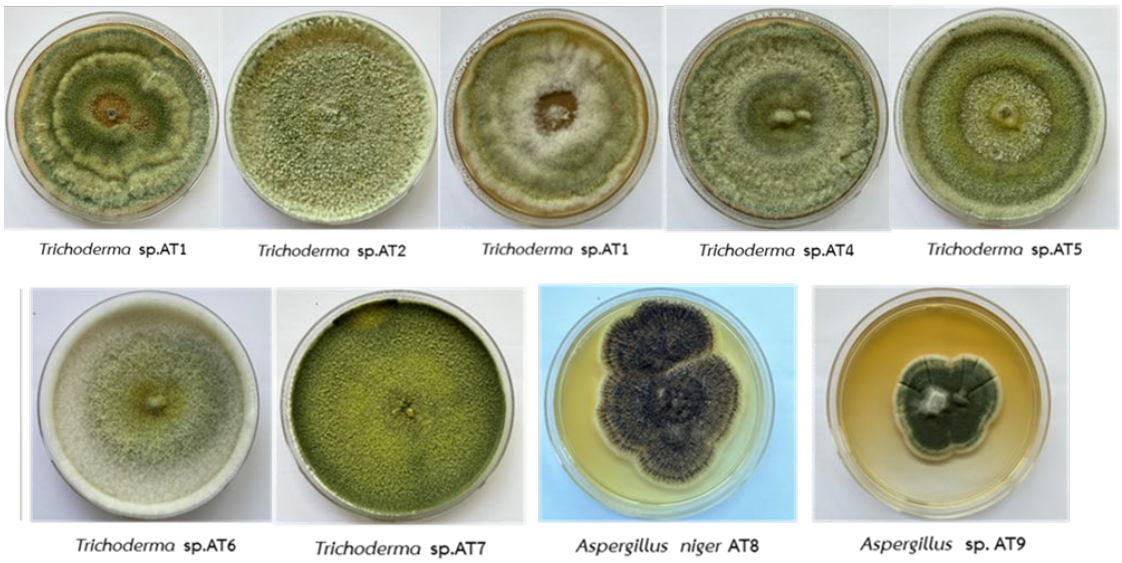


Fig. 6 Colonies of soil fungi used to test the efficiency of atrazine degradation

สรุป

พบแบคทีเรียที่สามารถใช้อาทราซีนเป็นแหล่งไนโตรเจนและคาร์บอนในการเจริญเติบโตทั้งหมด 16 สายพันธุ์ แบ่งเป็น 5 ชนิดได้แก่ *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas putida*, *Agrobacterium radiobacter*, *Paenarthrobacter ureafaciens* และ *Acinetobacter lactucae* เป็นแบคทีเรียที่แยกได้จากดินในแปลงปลูกอ้อยและข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่ใช้

อาทราซีนในการกำจัดวัชพืช และพบราดินจำนวน 9 สายพันธุ์แบ่งเป็น 2 สกุล ได้แก่ *Trichoderma* spp. และ *Aspergillus* spp. 1 ชนิด ได้แก่ *Aspergillus niger* โดยรา *Aspergillus niger* สายพันธุ์ AT-8 สามารถย่อยสลายสารอาทราซีนในอาหารเลี้ยงเชื้อได้สูงถึง 97.63 เปอร์เซ็นต์

เอกสารอ้างอิง

กรมควบคุมมลพิษ. 2548. ประกาศคณะกรรมการสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ ฉบับที่ 25 (พ.ศ. 2547) ออกตามความในพระราชบัญญัติส่งเสริมและรักษาคุณภาพสิ่งแวดล้อมแห่งชาติ พ.ศ. 2535 เรื่อง กำหนดมาตรฐานคุณภาพดิน ตีพิมพ์ในราชกิจจานุเบกษา เล่ม 121 ตอนพิเศษ 119ง ลงวันที่ 20 ตุลาคม 2547. http://www.pcd.go.th/info_serv/reg_std_soil01.html, 7 มิถุนายน 2563

กรมวิชาการเกษตร. 2566. คู่มือตรวจวิเคราะห์ปุ๋ยชีวภาพ. จตุจักร กรุงเทพฯ.

กรรณิการ์ สัจจาพันธ์. 2552. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการ การย่อยสลายและการบำบัดทางชีวภาพของสารกำจัดวัชพืชอาทราซีนในดินประเทศไทย. สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษาและสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย.

Barron, G.L. 1968. The genera of Hyphomycetes from soil. The Williams & Wilkins Comp., Baltimore, Maryland, MD, USA.

de Souza, M.L., Sadowsky, M.L., Wackrtt, L.P. 1996. Atrazine chlorohydrolase from *Pseudomonas* sp. strain ADP gene sequence, enzyme purification and protein characterization. J. Bacteriol. 178: 4894–4900.

Domsch, K.H., Gams, W., Anderson, T. 1993. Compendium of soil fungi. Vol. 1, 2nd ed. Academic Press, London, UK.

EN 15662. 2008. Foods of plant origin - Determination of pesticide residues using GC-MS and/or LCMS/MS following acetonitrile extraction/partitioning and clean-up by dispersive SPE – QuEChERS method.

Farruggia, F., Rossmeisl, C., Hetrick, J., Biscoe, M. 2016. Refined ecological risk assessment for atrazine. United States Environmental Protection Agency. Washinton D.C., USA.

Hong, R., Guo, Z., Gao, J., Gu, C. 2017. Rapid degradation of atrazine by hydroxyl radical induced from montmorillonite templated subnano-sized zero-valent copper. Chemosphere 180: 335–342.

Jamil, T., Allah, T., Ibrahim, H., Saleh, T. 2010. Adsorption and isothermal model of atrazine by zeolite prepared from Egyptian kaolin. Solid State Sci. 13: 198–203.

Krutz, L.J., Shaner, D.L., Accinelli, C., Zablotowicz, R.M., Henry, W.B. 2008. Atrazine dissipation in-triazine adapted and nonadapted soil from Colorado and Mississippi: implications of enhanced degradation on Atrazinefate and transport parameters. J. Environ. Qual. 37(3): 848–857.

Muthuselvam, M., Arunkumar, S. 2009. Biological degradation of herbicide (atrazine) using *Pseudomonas aeruginosa* and *Trichoderma viridae*. J. Pure Appl. Microbiol. 3(2): 661–666.

Ross, A., Lembi, A. 2009. Applied weed science: including the ecology and management of invasive plants, 3rd ed. Pearson Prentice Hall. Upper Saddle River, New Jersey, NJ, USA.

Sajjaphan, K., Shapir, N., Wackett, L.P. 2004. *Arthrobacter aurescens* TC1 atrazine catabolism genes trzN, atzB, and atzC are linked on a 160-kilobase region and are functional in Escherichia coli. Appl. Environ. Microbiol. 70(7): 4402–4407.

Singh, P., Suri, C.R., Cameotra, S.S. 2004. Isolation of a member of Acinetobacter species involved in atrazine degradation. Biochem. Biopphys. Res. Commun. 317(3): 697–702.

Struthers, J.K., Jayachandran, K., Moorman, T.B. 1998. Biodegradation of Atrazine by *Agrobacterium radiobacter* J14a and Use of This Strain in Bioremediation of Contaminated Soil. Appl. Environ. Microbiol. 64(9): 3368–3375.

Zhang, Z., Fu, Q., Xiao, C., Ding, M., Liang, D., Li, H., Liu, R. 2022. Impact of *Paenarthrobacter ureafaciens* ZF1 on the soil enzyme activity and microbial community during the bioremediation of atrazine-contaminated soils. BMC Microbiology. 22: 146.

Zhu, J., Fu, L., Jin, C., Meng, Z., Yang, N. 2019. Study on the Isolation of two atrazine-degrading bacteria and the development of a microbial agent. Microorganisms 7(80): 1–11.

การพัฒนาและขยายเครือข่ายผู้ผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงในอำเภอเสริมงามจังหวัดลำปาง

Development and extension of the peanut seed producer network at Serm Ngam District Lampang Province

ชนันทวัฒน์ ศุภสุทธิรางกูล[a,*], **นิภาภรณ์ พรรณรา**[a], **สุมนา จำปา**[a], **อมรรัตน์ ใจยะเสน**[a]
วราลักษณ์ บุญมาชัย[a], **วิสุทธิดา ศรีดวงโชติ**[b], **ระพีพันธุ์ ชั่งใจ**[c]
Chanantawat Suphasutthirangkun[a,*], Nipapon Pannara[a], Sumana Jumpa[a], Amornrat Chaiyasen[a],
Waraluk Boonmachai[a], Wisuttida Sriduangchot[b], Rapeepun Changjai[c]
[a]ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชเชียงใหม่ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290
[b]กองแผนงานและวิชาการ กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900
[c]ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี 72160
[a]Chiang Mai Seed Research and Development Center, Sansai, Chiang Mai, 50290, Thailand
[b]Planning and Technical Division, Department of Agriculture, Bangkok, 10900, Thailand
[c]Suphan buri Field Crops Research Center, U Thong, Suphan Buri, 72160, Thailand
*Corresponding author. E-mail address: tor.chanan789@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ดำเนินการคัดเลือกเกษตรกรในพื้นที่อำเภอเสริมงาม จังหวัดลำปาง จำนวน 15 ราย เพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงชั้นพันธุ์จำหน่ายของกรมวิชาการเกษตรให้เกษตรกรสามารถผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงที่มีคุณภาพเหมาะกับสภาพพื้นที่และสร้างเป็นอาชีพได้ โดยดำเนินการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง จำนวน 2 รอบการผลิต คือ 1) ฤดูแล้ง ปี 2564/2565 เป็นการปลูกถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 ได้ผลผลิตเมล็ดพันธุ์ฝักแห้งเฉลี่ย 236.2 กิโลกรัมต่อไร่ เกษตรกรมีรายได้สุทธิ 2,988 บาทต่อไร่ อัตราส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุน (Benefit Cost – Ratio: BCR) เท่ากับ 1.5; 2) ฤดูแล้ง ปี 2565/2566 เป็นการปลูกถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 5 ผลผลิตเฉลี่ย 303 กิโลกรัมต่อไร่ รายได้สุทธิ 4,570 บาทต่อไร่ BCR เท่ากับ 1.6 รวมผลผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงฝักแห้งทั้งสิ้น 8.42 ตัน รองรับพื้นที่ปลูกถั่วลิสงได้ 421 ไร่ เมล็ดพันธุ์ที่เกษตรกรผลิตได้มีความงอกไม่ต่ำกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ ตรงตามมาตรฐานเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงชั้นพันธุ์จำหน่ายของกรมวิชาการเกษตร เกษตรกรมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงมากขึ้น และสามารถผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงไว้ใช้เองหรือจำหน่ายให้กับเกษตรกรในชุมชนได้

คำสำคัญ : การกระจายเมล็ดพันธุ์, คุณภาพเมล็ดพันธุ์, เครือข่ายเกษตรกร, ชั้นพันธุ์จำหน่าย, ถ่ายทอดเทคโนโลยี

Abstract

This research was conducted to select 15 farmers in Serm Ngam District, Lampang Province, to transfer the Department of Agriculture's certified peanut seed production technology to farmers. So that farmers can produce quality peanut seeds suitable for the area and create a seed producer career. There were two production cycles: 1) The dry season 2021/2022 involves planting Tainan 9 peanut varieties, with an average dry seed pod yield of 236.2 kilograms per rai. Farmers have a net income of 2,988 baht per rai. The benefit-cost ratio (BCR) is equal to 1.5; 2) The dry season of 2022/2023 is for planting Khon Kaen 5 peanut varieties, with an average yield of 303 kilograms per rai and a net income of 4,570 baht per rai. The BCR is equal to 1.6. Total dry peanut seed production is 8.42 tons, supporting an area of 421 rai of peanut cultivation. The germination rate of peanut seeds produced by farmers was not less than 70 percent, meeting the standards for certified peanut seed set by the Department of Agriculture. Farmers have more knowledge and understanding about the production of peanut seed. They can either produce peanut seeds for their own use or sell them to farmers in the community.

Keywords: Certified seed, Farmer networks, Seed distribution, Seed quality, Technology transfer

คำนำ

ถั่วลิสง เป็นพืชเพื่อความมั่นคงทางอาหารที่สำคัญและมีการใช้ประโยชน์ในทุกขั้นตอนของห่วงโซ่อาหารของประเทศไทย ใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมแปรรูป อุตสาหกรรมอาหาร และผลิตภัณฑ์แปรรูป (เกรียงศักดิ์ และคณะ, 2558) แต่สถานการณ์การผลิตและการใช้ประโยชน์จากถั่วลิสงยังขาดเสถียรภาพ เนื่องจากปัญหาความขาดแคลนด้านพันธุ์และเมล็ดพันธุ์คุณภาพดี ส่งผลให้ปริมาณถั่วลิสงที่ผลิตได้ไม่เพียงพอสำหรับใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร และการใช้บริโภคในครัวเรือน ทำให้ประเทศไทยต้องพึ่งพาการนำเข้าถั่วลิสงจากต่างประเทศ ในปี 2565 ประเทศไทยมีความต้องการใช้ในประเทศ 113,498 ตันต่อปี สามารถผลิตได้ในประเทศ 25,074 ตันและต้องนำเข้าถั่วลิสง 89,387 ตันต่อปี (วิชาญ, 2566) ปัญหาที่สำคัญในการผลิตถั่วลิสง คือ การขาดแคลนพันธุ์ดีและเมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพเหมาะแก่การเพาะปลูกตลอดจนเทคโนโลยีการเก็บเกี่ยวที่ลดการสูญเสีย และประหยัดแรงงาน โดยเฉพาะการใช้เครื่องจักรกลการเกษตรขนาดเล็กในการปลูกและเก็บเกี่ยว (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, 2559) ซึ่งในปัจจุบันเกษตรกรมีความต้องการใช้เมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงที่มีคุณภาพดีมีมากถึง 5,741 ตัน แต่ปริมาณที่กรมวิชาการเกษตร และเครือข่ายผู้ผลิตสามารถผลิตได้เพียง 155 ตัน ซึ่งคิดเป็น ร้อยละ 2.70 ของปริมาณที่ผลิตได้ ประกอบกับเมล็ดพันธุ์ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดนั้นมีคุณภาพต่ำไม่ตรงตามมาตรฐานชั้นพันธุ์ และมีราคาแพงเกษตรกรจึงต้องรับภาระต้นทุนที่สูงขึ้น แต่คุณภาพเมล็ดพันธุ์ที่ได้กลับไม่แปรผันตามราคา เมื่อเกษตรกรนำไปปลูกจึงเกิดความเสียหาย ต้นทุนการผลิตสูงและไม่คุ้มทุน อีกทั้งยังส่งผลต่อระบบการผลิตเมล็ดพันธุ์ให้เกิดความเสียหาย เนื่องจากทำให้เกิดพันธุ์ปนกระจายไปทั่วทุกภูมิภาคของประเทศ การผลิตเมล็ดพันธุ์พืชวงศ์ถั่วมีเพียงหน่วยงานราชการ ได้แก่ กรมวิชาการเกษตร กรมส่งเสริมการเกษตร กรมส่งเสริมสหกรณ์ และกลุ่มเครือข่าย เป็นผู้ผลิตเมล็ดพันธุ์ ซึ่งไม่สามารถผลิตเมล็ดพันธุ์ได้เพียงพอต่อความต้องการของเกษตรกรทั้งประเทศ จึงต้องดำเนินการหาแนวทางแก้ไข (ระพีพันธุ์ และคณะ, 2566)

การพัฒนาและขยายเครือข่ายผู้ผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงชั้นพันธุ์จำหน่าย เพื่อเป็นการถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงชั้นพันธุ์จำหน่ายของกรมวิชาการเกษตรให้เกษตรกรสามารถผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงที่มีคุณภาพเหมาะกับสภาพพื้นที่และสร้างเป็นอาชีพได้ เป็นอีกแนวทางหนึ่งที่จะทำให้เกษตรกรมีเมล็ดพันธุ์คุณภาพดีไว้ใช้เอง และได้ผลผลิตที่มีคุณภาพตรงตามมาตรฐานชั้นพันธุ์ ลดปัญหาการขาดแคลนเมล็ดพันธุ์ อีกทั้งเป็นการสร้างองค์ความรู้ให้กับเกษตรกร ดังนั้นการพัฒนาและขยายเครือข่ายผู้ผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง จึงมิได้เป็นเพียงการถ่ายทอดเทคโนโลยีให้เกษตรกรเพียงอย่างเดียว ยังเป็นการเรียนรู้เพื่อเป็นจุดเริ่มต้นให้เกษตรกรเป็น Smart Farmer ที่มีองค์ความรู้เกี่ยวกับอาชีพเกษตรกรรมของตนเอง สามารถผลิตเมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพดีไว้ใช้เอง รวมทั้งใช้ในชุมชนได้อย่างมีคุณภาพขยายเมล็ดพันธุ์ดีสู่พื้นที่เกษตรกรใกล้เคียง และมีปริมาณเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงใช้ภายในประเทศเพิ่มขึ้นอย่างน้อย 20 เปอร์เซ็นต์ และสามารถผลิตถั่วลิสงได้เพียงพอกับความต้องการใช้ในการบริโภค และภาคอุตสาหกรรม เพิ่มความมั่นคงทางอาหารของประเทศและการเข้าถึงอาหารของประชาชน ลดการนำเข้าจากต่างประเทศ ทำให้เกษตรกรมีเมล็ดพันธุ์คุณภาพดีไว้ใช้อย่างเพียงพอและยั่งยืนต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุ อุปกรณ์

1. เมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงพันธุ์ ไทนาน 9 และขอนแก่น 5 ซึ่งมีความงอกของเมล็ดพันธุ์ไม่ต่ำกว่า 70 เปอร์เซ็นต์
2. ปุ๋ยเคมีสูตร 46-0-0 18-46-0 และ 0-0-60
3. วัสดุปรับปรุงดิน เช่น ปูนขาว ยิปซัม

4. ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียมสำหรับถั่วลิสง
5. สารป้องกันกำจัดศัตรูพืช เช่น แคปแทน 50% WP อะลาคลอร์ 48% W/V EC
6. วัสดุอุปกรณ์ตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ เช่น กระดาษทดสอบความงอก ทราย กระบะทดสอบความงอก
7. เครื่องมืออุปกรณ์การเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ เช่น กระสอบ เป็นต้น

วิธีปฏิบัติการทดลอง

คัดเลือกกลุ่มเกษตรกร อำเภอเสริมงาม จังหวัดลำปาง จำนวน 1 กลุ่ม เพื่อมาเป็นเครือข่ายเกษตรกรผู้ผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงชั้นพันธุ์จำหน่าย จำนวน 2 ปี คือ 1) ฤดูแล้งปี 2564/2565 จำนวน 5 ราย รายละ 2 ไร่ รวมพื้นที่ 10 ไร่ โดยดำเนินการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงชั้นพันธุ์จำหน่ายที่มีการใช้กันอย่างแพร่หลายในพื้นที่คือ พันธุ์ไทนาน 9 และ 2) ฤดูแล้ง ปี 2565/2566 จำนวน 10 ราย รายละ 2 ไร่ รวมพื้นที่ 20 ไร่ ให้ผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงชั้นพันธุ์จำหน่ายที่มีการใช้อย่างแพร่หลายในพื้นที่อีกหนึ่งพันธุ์ คือ พันธุ์ขอนแก่น 5 โดยคัดเลือกเกษตรกรที่มีศักยภาพในการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงชั้นพันธุ์จำหน่าย โดยการสัมภาษณ์เกษตรกรเป้าหมายในเรื่องประสบการณ์ปลูกถั่วลิสงของเกษตรกร ความพร้อมและความตั้งใจของเกษตรกร จากนั้นจะดำเนินการฝึกอบรมถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงชั้นพันธุ์จำหน่าย การปรับปรุงสภาพเมล็ดพันธุ์ และการตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงอย่างง่ายให้เกษตรกรที่เข้าร่วมงานวิจัยเพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงชั้นพันธุ์จำหน่ายให้ได้ตามมาตรฐานของกรมวิชาการเกษตร โดยเจ้าหน้าที่ส่งมอบเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงชั้นพันธุ์ขยายให้กับเกษตรกร เพื่อผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงชั้นพันธุ์จำหน่ายภายใต้คำแนะนำและการดูแลของคณะผู้วิจัยจากศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชเชียงใหม่ กรมวิชาการเกษตร ซึ่งคณะผู้วิจัยจะเข้าตรวจติดตาม ให้คำแนะนำ และแก้ไขปัญหาอุปสรรค พร้อมบันทึกข้อมูลในการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงชั้นพันธุ์จำหน่ายของเกษตรกรทุกขั้นตอน เช่น วันปลูก วันเก็บเกี่ยว และการใช้ปัจจัยการผลิต เป็นต้น เมื่อเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์แล้ว ผลผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงฝักสดและผลผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงฝักแห้งหลังปรับปรุงสภาพ ทำการสุ่มตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงชั้นพันธุ์จำหน่ายของเกษตรกร ได้แก่ ความชื้น ความบริสุทธิ์ และความงอกตามวิธีการของสมาคมทดสอบเมล็ดพันธุ์นานาชาติ (ISTA, 2023) คำนวณต้นทุนการผลิต รายได้ รายได้สุทธิ ผลตอบแทนต่อการลงทุน และข้อมูลการกระจายเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงชั้นพันธุ์จำหน่ายของเกษตรกร เช่น การเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้ใช้เอง การจำหน่ายให้เกษตรกรในพื้นที่ หรือการส่งต่อให้กับโครงการอื่น ๆ เป็นต้น

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ปี 2564/2565 กลุ่มเกษตรกรและพื้นที่ดำเนินงานวิจัยที่คัดเลือก

เกษตรกรเข้าร่วมงานวิจัยและดำเนินการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงชั้นพันธุ์จำหน่ายในฤดูแล้ง ปี 2564/2565 เป็นเกษตรกรเครือข่ายผู้ผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง ตำบลเสริมซ้าย อำเภอเสริมงาม จังหวัดลำปาง จำนวน 5 ราย รายละ 2 ไร่ รวมพื้นที่ 10 ไร่ จากการสัมภาษณ์ข้อมูลเกษตรกรส่วนใหญ่เป็นผู้หญิง และมีอายุตั้งแต่ 45-58 ปี มีประสบการณ์ในการผลิตถั่วลิสงมาแล้วไม่ต่ำกว่า 20 ปี และมีความตั้งใจในการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงเพื่อให้มีรายได้เพิ่มมากขึ้นกว่าเดิม ส่วนการผลิตจะอาศัยน้ำชลประทาน น้ำบาดาล และบ่อน้ำที่ขุดไว้ โดยในการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง พันธุ์ไทนาน 9 เกษตรกรเครือข่ายสามารถผลิตได้ผลผลิตถั่วลิสงฝักสด 4,044 กิโลกรัม หรือเฉลี่ย 404.4 กิโลกรัม/ไร่ เมื่อทำการปรับปรุงสภาพเมล็ดพันธุ์แล้วได้ผลผลิตเมล็ดพันธุ์ฝักแห้ง 2,362 กิโลกรัม หรือเฉลี่ย 236.2 กิโลกรัม/ไร่ ด้านคุณภาพเมล็ดพันธุ์ มีความชื้นเฉลี่ย 5.6 เปอร์เซ็นต์ ความบริสุทธิ์เฉลี่ย 97 เปอร์เซ็นต์ และความงอกเฉลี่ย 81 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงใน Table 1 ซึ่งเป็นไป

ตามมาตรฐานคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงชั้นพันธุ์จำหน่ายที่ต้องมีความชื้นไม่เกิน 9 เปอร์เซ็นต์ ความบริสุทธิ์ไม่ต่ำกว่า 96 เปอร์เซ็นต์ และความงอกไม่ต่ำกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ (กองวิจัยพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืช, 2565) ผลผลิตเมล็ดพันธุ์ที่ได้จะจำหน่ายให้แก่เกษตรกรผู้ปลูกถั่วลิสงในพื้นที่อำเภอเสริมงาม จังหวัดลำปาง เพื่อใช้ปลูกในฤดูถัดไป จำนวน 2,362 กิโลกรัมหรือเฉลี่ยจำหน่ายได้รายละ 472.4 กิโลกรัม อัตราการใช้เมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงที่ปลูกต่อพื้นที่ 1 ไร่ จะใช้เมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงฝักแห้ง จำนวน 20 กิโลกรัม/ไร่ (สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน, 2564) ดังนั้นสามารถนำเมล็ดพันธุ์ที่ผลิตได้ไปปลูกในพื้นที่ประมาณ 118 ไร่ และสามารถผลิตเป็นถั่วลิสงฝักสดได้ประมาณ 47,672 กิโลกรัม (ผลผลิตเฉลี่ย 400 กิโลกรัม/ไร่) ส่งผลให้มีเมล็ดถั่วลิสงใช้ในการบริโภคและใช้ในภาคอุตสาหกรรมเพิ่มขึ้น และเมื่อวิเคราะห์ต้นทุนทางเศรษฐศาสตร์เกษตรกรแต่ละรายจะมีต้นทุนการผลิตเฉลี่ย 6,460 บาท/ไร่ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นค่าเมล็ดพันธุ์ ปุ๋ยเคมีและค่าจ้างเก็บเกี่ยวผลผลิตถั่วลิสง เกษตรกรมีรายได้เฉลี่ย 9,448 บาท/ไร่ รายได้สุทธิเฉลี่ย 2,988 บาท/ไร่ อัตราส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุน (Benefit Cost – Ratio : BCR) เฉลี่ยเท่ากับ 1.5 ซึ่งคุ้มค่าต่อการลงทุน ดังแสดงใน Table 3

ปี 2565/2566 กลุ่มเกษตรกรและพื้นที่ดำเนินงานวิจัยที่คัดเลือก

เกษตรกรที่เข้าร่วมงานวิจัยและดำเนินการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงชั้นพันธุ์จำหน่ายในฤดูแล้ง ปี 2565/2566 เป็นเกษตรกรเครือข่ายผู้ผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง ตำบลเสริมซ้าย อำเภอเสริมงาม จังหวัดลำปาง จำนวน 10 ราย รายละ 2 ไร่ รวมพื้นที่ 20 ไร่ (Fig. 1) จากการสัมภาษณ์ข้อมูลเกษตรกรส่วนใหญ่เป็นผู้หญิง และมีอายุตั้งแต่ 42–60 ปี มีประสบการณ์ในการผลิตถั่วลิสงมาแล้วไม่ต่ำกว่า 20 ปี ส่วนการผลิตจะอาศัยน้ำชลประทาน น้ำบาดาล และบ่อน้ำที่ขุดไว้ โดยในการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง พันธุ์ขอนแก่น 5 เกษตรกรเครือข่ายสามารถผลิตได้ผลผลิตถั่วลิสงฝักสด 11,100 กิโลกรัม หรือเฉลี่ย 555.0 กิโลกรัม/ไร่ เมื่อทำการปรับปรุงสภาพเมล็ดพันธุ์แล้วได้ผลผลิตเมล็ดพันธุ์ฝักแห้ง 6,060 กิโลกรัม หรือเฉลี่ย 303 กิโลกรัม/ไร่ ด้านคุณภาพเมล็ดพันธุ์ มีความชื้นเฉลี่ย 9.0 เปอร์เซ็นต์ ความบริสุทธิ์เฉลี่ย 96 เปอร์เซ็นต์ และความงอกเฉลี่ย 87 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงใน Table 2 ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงชั้นพันธุ์จำหน่าย ผลผลิตเมล็ดพันธุ์ที่ได้จะจำหน่ายให้แก่เกษตรกรผู้ปลูกถั่วลิสงในพื้นที่อำเภอเสริมงาม จังหวัดลำปาง เพื่อใช้ปลูกในฤดูถัดไป จำนวน 5,960 กิโลกรัมหรือเฉลี่ยจำหน่ายได้รายละ 596 กิโลกรัม และเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้ใช้เอง จำนวน 100 กิโลกรัมหรือเฉลี่ย 10 กิโลกรัมต่อราย สามารถนำเมล็ดพันธุ์ที่ผลิตได้ไปปลูกในพื้นที่ประมาณ 298 ไร่ และสามารถผลิตเป็นถั่วลิสงฝักสดได้ประมาณ 165,390 กิโลกรัม (ผลผลิตเฉลี่ย 555 กิโลกรัม/ไร่) เมื่อวิเคราะห์ต้นทุนทางเศรษฐศาสตร์ เกษตรกรแต่ละรายจะมีต้นทุนการผลิตเฉลี่ย 4,550 บาท/ไร่ รายได้เฉลี่ย 12,120 บาท/ไร่ รายได้สุทธิเฉลี่ย 4,570 บาท/ไร่ อัตราส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุน เฉลี่ยเท่ากับ 1.6 ซึ่งคุ้มค่าต่อการลงทุน ดังแสดงใน Table 4

Table 1 Peanut seed production and seed distribution by the farmer network in summer 2021/2022

Farmer's name	Planting date	Harvesting date	Grain weight (kg/rai)	Seed weight (kg/rai)	Seed moisture (%)	Seed purity (%)	Seed germination (%)	Stock seed (kg)	Sold seed (kg)
1. Mr.Kian Pamuangmoon	19 NOV 2021	21 MAR 2022	445	260	5.4	98	80	0	520
2. Mrs.Kattaleeya Pamuangmoon	15 NOV 2021	17 MAR 2022	360	210	5.2	97	81	0	420
3. Mr.Thanakorn Pamuangmoon	18 NOV 2021	20 MAR 2022	267	139	5.8	96	82	0	278
4. Mrs.Kumnoi Pongkavong	20 NOV 2021	21 MAR 2022	450	275	5.7	98	80	0	550
5. Mrs.Yod Pengta	21 NOV 2021	21 MAR 2022	500	297	5.9	96	82	0	594
Average			404.4	236.2	5.6	97	81	0	472.4

Table 2 Peanut seed production and seed distribution by the farmer network in summer 2022/2023

Farmer's name	Planting date	Harvesting date	Grain weight (kg/rai)	Seed weight (kg/rai)	Seed moisture (%)	Seed purity (%)	Seed germination (%)	Stock seed (kg)	Sold seed (kg)
1. Mrs.Yod Pengta	19 NOV 2022	19 APR 2023	600	350	9.1	96	88	0	700
2. Mrs.Kattaleeya Pamuangmoon	18 NOV 2022	21 APR 2023	550	300	8.8	97	86	0	600
3. Mrs.Kumnoi Pongkavong	15 NOV 2022	18 APR 2023	530	270	8.9	96	89	50	490
4. Mrs.Sriwan Pamuangmoon	21 NOV 2022	25 APR 2023	550	310	8.9	96	86	0	620
5. Mr.Kaew Putjina	26 NOV 2022	1 MAY 2023	600	350	8.6	96	85	50	650
6. Mrs.Wanlee Kariya	18 NOV 2022	26 APR 2023	550	300	8.9	96	88	0	600
7. Mr.Eakdanai Jaikunta	20 NOV 2022	27 APR 2023	500	250	9.2	97	86	0	500
8. Mrs.Buatiam Putjina	20 NOV 2022	22 APR 2023	550	280	9.1	96	85	0	560
9. Mrs.Napa Kariya	18 NOV 2022	20 APR 2023	550	300	9.2	96	87	0	600
10. Mr.Woravut Kariya	20 NOV 2022	25 APR 2023	570	320	9.3	96	86	0	640
Average			555	303	9	96	87	10	596

Table 3 Economic analysis of peanut seed production by the farmer network in summer 2021/2022

Farmer's name	Seed yield (kg/rai)	Cost price (baht/kg)	Net cost (baht/rai)	In come (baht/rai)	Net income (baht/rai)	BCR
1. Mr.Kian Pamuangmoon	260	40	7,000	10,400	3,400	1.5
2. Mrs.Kattaleeya Pamuangmoon	210	40	6,500	8,400	1,900	1.3
3. Mr.Thanakorn Pamuangmoon	139	40	5,500	5,560	60	1.0
4. Mrs.Kumnoi Pongkavong	275	40	6,300	11,000	4,700	1.7
5. Mrs.Yod Pengta	297	40	7,000	11,880	4,880	1.7
Average	236.2	40	6,460	9,448	2,988	1.5

Table 4 Economic analysis of peanut seed production by the farmer network in summer 2022/2023

Farmer's name	Seed yield (kg/rai)	Cost price (baht/rai)	Net cost (baht/rai)	In come (baht/rai)	Net income (baht/rai)	BCR
1. Mrs.Yod Pengta	350	40	8,540	14,000	5,460	1.6
2. Mrs.Kattaleeya Pamuangmoon	300	40	8,040	12,000	3,960	1.5
3. Mrs.Kumnoi Pongkavong	270	40	7,040	10,800	3,760	1.5
4. Mrs.Sriwan Pamuangmoon	310	40	8,540	12,400	3,860	1.5
5. Mr.Kaew Putjina	350	40	7,540	14,000	6,460	1.9
6. Mrs.Wanlee Kariya	300	40	7,040	12,000	4,960	1.7
7. Mr.Eakdanai Jaikunta	250	40	7,040	10,000	2,960	1.4
8. Mrs.Buatiam Putjina	280	40	8,040	11,200	3,160	1.4
9. Mrs.Napa Kariya	300	40	5,840	12,000	6,160	2.1
10. Mr.Woravut Kariya	320	40	7,840	12,800	4,960	1.6
Average	303	40	7,550	12,120	4,570	1.6



Fig. 1 Peanut seed producer network at Serm Ngam District, Lampang Province in 2023

การผลิตถั่วลิสงฝักสดและผลผลิตของเมล็ดพันธุ์ฝักแห้งของพันธุ์ขอนแก่น 5 ในฤดูแล้ง 2564/2565 ให้ปริมาณที่มากกว่าพันธุ์ไทนาน 9 ในฤดูแล้ง 2565/2566 เมื่อพิจารณาจากลักษณะประจำพันธุ์ พบว่า ถั่วลิสงพันธุ์ขอนแก่น 5 มีขนาดฝักและเมล็ดขนาดใหญ่กว่า โดยมีน้ำหนัก 100 เมล็ดเท่ากับ 51.1 กรัม ผลผลิตฝักแห้งเฉลี่ย 304 กิโลกรัม/ไร่ ส่วนพันธุ์ไทนาน 9 มีน้ำหนัก 100 เมล็ดเท่ากับ 42.4 กรัม ผลผลิตฝักแห้งเฉลี่ย 260 กิโลกรัม/ไร่ จากข้อแนะนำเพิ่มเติมของพันธุ์ขอนแก่น 5 เป็นพันธุ์ที่เหมาะสมกับการปลูกในฤดูแล้งที่ให้น้ำชลประทานและหากมีสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมจะยิ่งให้ผลผลิตที่สูงมาก (กองวิจัยพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืช, 2565) สอดคล้องกับงานวิจัยของศรีนวล (2561) ที่พบว่าต้นทุนการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงส่วนใหญ่ คือ ค่าเมล็ดพันธุ์ คิดเป็นร้อยละ 31 ของต้นทุนการผลิตทั้งหมด รองลงมาคือค่าปุ๋ยเคมี และค่าแรงงานในการเก็บเกี่ยวผลผลิตถั่วลิสง กรมวิชาการเกษตรจึงพยายามถ่ายทอดเทคโนโลยีต่าง ๆ สู่กลุ่มเกษตรกร

เครือข่าย เช่น การใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดินเพื่อเป็นการลดค่าใช้จ่ายจากการใส่ปุ๋ยเคมี และการคิดค้นเครื่องจักรกลเพื่อใช้ในการปลิดฝักหรือเก็บเกี่ยวผลผลิตถั่วลิสง หากเกษตรกรสามารถผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงที่มีคุณภาพดีไว้ใช้เองในชุมชนได้จะช่วยลดต้นทุนการผลิตด้านเมล็ดพันธุ์ได้ ซึ่งจากการทดลอง เกษตรกรทั้ง 15 รายที่เข้าร่วมโครงการฯ มีศักยภาพในการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง เพราะสามารถผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงที่ตรงตามมาตรฐานชั้นพันธุ์ของกรมวิชาการเกษตรได้เกินกว่า 200 กิโลกรัมขึ้นไป ดังนั้นการพัฒนาและขยายเครือข่ายผู้ผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงในพื้นที่ อ.เสริมงาม จังหวัดลำปาง โดยการถ่ายทอดความรู้เทคโนโลยีการผลิตเมล็ดพันธุ์เพื่อให้เกษตรกรได้ความรู้และความเข้าใจพร้อมทั้งการทำแปลงทดสอบการผลิตเมล็ดพันธุ์ควบคู่ไปกับการพัฒนาให้เกิดกลุ่มเกษตรกรที่สามารถผลิตเมล็ดพันธุ์คุณภาพดีตรงตามมาตรฐานของพันธุ์ จึงทำให้เกษตรกรผู้ปลูกถั่วลิสงสามารถเข้าถึงแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์ดีในพื้นที่ มีเมล็ดพันธุ์ดีไว้ใช้อย่างเพียงพอกับความต้องการของประเทศ ลดปัญหาการขาดแคลนเมล็ดพันธุ์ ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตลดลง เพิ่มรายได้ และสร้างความมั่นคงให้แก่เกษตรกรและประเทศได้

สรุป

เกษตรกรในพื้นที่อำเภอเสริมงาม จังหวัดลำปาง เข้าร่วมงานวิจัยจำนวนทั้งสิ้น 15 ราย และดำเนินการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงชั้นพันธุ์จำหน่าย จำนวน 2 รอบการผลิต คือ1) ฤดูแล้ง ปี 2564/2565 เป็นการปลูกถั่วลิสง พันธุ์ไทนาน 9 ผลิตได้เฉลี่ย 236.2 กิโลกรัมต่อไร่ เกษตรกรมีรายได้สุทธิ 2,988 บาทต่อไร่ อัตราส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุนเฉลี่ย เท่ากับ 1.5 และ 2) ฤดูแล้ง ปี 2565/2566 เป็นการปลูกถั่วลิสง พันธุ์ขอนแก่น 5 ผลิตได้เฉลี่ย 303 กิโลกรัมต่อไร่ เกษตรกรมีรายได้สุทธิ 4,570 บาทต่อไร่ อัตราส่วนผลตอบแทนต่อการลงทุนเฉลี่ย เท่ากับ 1.6 งานวิจัยนี้สามารถผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงฝักแห้งชั้นพันธุ์จำหน่าย รวมทั้งสิ้น 8.42 ตัน รองรับพื้นที่ปลูกถั่วลิสงได้ 421 ไร่ เมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงที่เกษตรกรผลิตได้มีความงอกไม่ต่ำกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ ตรงตามมาตรฐานเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสงชั้นพันธุ์จำหน่ายของกรมวิชาการเกษตร

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณเกษตรกรเครือข่ายผู้ผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง ตำบลเสริมซ้าย อำเภอเสริมงาม จังหวัดลำปางที่ให้ความร่วมมือในการวิจัย และสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ที่สนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กองวิจัยพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืช. 2565. คู่มือการผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง ถั่วเหลืองฝักสด ถั่วเขียว และถั่วลิสง. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

เกรียงศักดิ์ สุวรรณธราดล, นิพนธ์ เอี่ยมสุภาษิต, พิพัฒน์ แก้วปลั่ง, พจนา วีระโสภณ, สงกรานต์ จิตรากร, วิชา ธิติประเสริฐ, ชณิกา เอี่ยมสุภาษิต, อุไรวรรณ ดิลกคุณานันท์, ศิริพร ไวยวุฒิ. 2558. ยุทธศาสตร์ของประเทศไทย ด้านความมั่นคงและความปลอดภัยทางอาหารในข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสงกับการเป็นประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน: ข้อเสนอเชิงนโยบายเกษตร. https://ebook.lib.ku.ac.th/ebook27/ebook/20170042/#p=1, 9 สิงหาคม 2566.

ระพีพันธุ์ ชั่งใจ, เฉลอรัชด์พัชร เขียววิชัย, ชนันทวัฒน์ ศุภสุทธิรางกูล, ภาคภูมิ ถิ่นคำ. 2566. การพัฒนาและขยายเครือข่ายผู้ผลิตเมล็ดพันธุ์ถั่วลิสง. ใน: รายงานการประชุมวิชาการระดับชาติราชมงคลสุรินทร์ ครั้งที่ 14. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์. สุรินทร์, หน้า 27–37.

วิชาญ อิงศรีสว่าง. 2566. การพัฒนาพันธุ์ถั่วลิสงและเทคโนโลยีการผลิตเพื่อเพิ่มผลผลิตสำหรับเขตภาคกลางและภาคเหนือของประเทศไทย. สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร. https:// www.moac.go.th/new-preview-451091791029. 11 พ.ย. 2566.

ศรีนวล สุราษฎร์. 2561. โครงการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตถั่วลิสง. ใน: รายงานผลงานวิจัยประจำปี 2561. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ, หน้า 2–3.

สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน. 2564. การปลูกถั่วลิสงในวิกฤตภัยแล้ง. กรมวิชาการเกษตร. กรุงเทพฯ.

สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร. 2559. ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ถั่วเหลือง ถั่วเขียว และถั่วลิสง ทิศทางพืชเศรษฐกิจไทยในอาเซียน. บริษัท พรทรัพย์การพิมพ์ จำกัด. กรุงเทพฯ.

International Seed Testing Association. 2023. International rules for seed testing. International Seed Testing Association. Bassersdorf, Switzerland.

ผลของปุ๋ยไนโตรเจนต่อการสังเคราะห์ด้วยแสง การกักเก็บคาร์บอน และผลผลิตของอ้อยที่ปลูกในดินร่วนเหนียว จังหวัดสุพรรณบุรี

Effects of nitrogen fertilizer on photosynthesis, carbon storage and yield of sugarcane in clay loam soil at Suphan Buri Province

สายน้ำ อุดพ้วย[a,*], **วลัยพร ศะศิประภา**[b], **นุชนาฏ ตันวรรณ**[a]

Sainam Udpuay[a,*], Walaiporn Sasiprapa[b], Nutchanart Tanwan[a]

[a]กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900

[b]ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900

[a]Agricultural Production Sciences Research and Development Office, Department of Agriculture, Bangkok 10900, Thailand

[b]Information and Communication Technology Center, Department of Agriculture, Bangkok, 10900, Thailand

*Corresponding author. Email address: sainam.udpuay@gmail.com

บทคัดย่อ

ไนโตรเจนเป็นธาตุอาหารหลักที่มีความสำคัญต่อการผลิตอ้อย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนต่อการสังเคราะห์ด้วยแสง การกักเก็บคาร์บอนส่วนเหนือดิน การดูดธาตุอาหารของพืช และผลผลิตของอ้อยในดินร่วนเหนียว จังหวัดสุพรรณบุรี วางแผนการทดลองแบบ split plot จำนวน 4 ซ้ำ ปัจจัยหลัก คือ พันธุ์อ้อย ได้แก่ 1) ขอนแก่น 3 และ 2) อู่ทอง 15 ปัจจัยรอง คือ อัตราปุ๋ยไนโตรเจน ได้แก่ 1) 15 กิโลกรัมต่อไร่ (ควบคุม; 1N ตามค่าวิเคราะห์ดิน) 2) 7.5 กิโลกรัมต่อไร่ (-0.5N) และ 3) 22.5 กิโลกรัมต่อไร่ (+0.5N) โดยใส่ปุ๋ยฟอสเฟตและปุ๋ยโพแทชตามค่าวิเคราะห์ดิน คือ 3 กก. P_2O_5/ไร่ และ 6 กก.K_2O/ไร่ ในทุกกรรมวิธี ผลการศึกษา พบว่า พันธุ์อ้อยมีผลต่อการสังเคราะห์ด้วยแสง การดูดธาตุอาหารและการกักเก็บคาร์บอน สำหรับการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนทำให้จำนวนลำ น้ำหนักต่อลำ และผลผลิตแตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่ประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนเพื่อสร้างผลผลิตอ้อยและผลตอบแทนหลังหักค่าปุ๋ย อ้อยปลูกพันธุ์ขอนแก่น 3 ควรใส่ปุ๋ยไนโตรเจน ในอัตรา 15 กิโลกรัมต่อไร่ ส่วนอ้อยปลูกพันธุ์อู่ทอง 15 ควรใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตรา 22.5 กิโลกรัมต่อไร่

คำสำคัญ: การดูดใช้ธาตุอาหาร, การดูดซับ CO_2, ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน, ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

ABSTRACT

Nitrogen plays a vital role as a macronutrient for sugarcane production. The aim of this research was to investigate the effects of nitrogen fertilizers on photosynthesis, above–ground carbon storage, primary nutrient uptake, and yield of plant cane in clay loam soil at Suphan Buri province. The experimental design was split plot with 4 replications. Main plots comprised of Khon Kaen 3 and U–thong 15 sugarcane varieties. Sub plots were three levels of nitrogen fertilizers based on soil test: (1) 15 kgN/rai (the recommended rate based on soil test as control treatment; 1N) (2) 7.5 kgN/rai (-0.5 N fold) and (3) 22.5 kgN/Rai (+0.5 N fold), and all treatment were applied to phosphate and potash fertilizer based on soil test at 3 kgP_2O_5/rai and 6 kgK_2O/rai, respectively. The results showed that sugarcane varieties had significant effect on photosynthesis, nutrient uptake and CO_2 absorption. Millable cane, stalk weight, and cane yield exhibited statistical differences after nitrogen fertilizer application. According to nitrogen use efficiency and economic return over fertilizer cost, it is advisable to fertilize Khon Kaen 3 variety at the rate of 15 kgN/rai of nitrogen, and U-thong 15 variety at the rate of 22.5 kgN/rai.

Keywords: CO_2 absorption, Economic return, Fertilizer recommended rate, Nutrient uptake

คำนำ

อ้อย (*Saccharum* spp.) เป็นพืชไร่อุตสาหกรรมที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย ใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลทราย มีมูลค่าทางเศรษฐกิจของอุตสาหกรรมทั้งระบบมากกว่าแสนล้านบาท ปีการผลิต 2565/2566 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกอ้อย 11,398,823 ไร่ มีผลผลิตเฉลี่ย เท่ากับ 9.93 ตันต่อไร่ และคิดเป็นผลผลิตรวมทั้งสิ้น 93,944,698 ตัน โดยภาคกลางเป็นภาคที่มีพื้นที่ปลูกอ้อยที่สำคัญแหล่งหนึ่งของประเทศไทย มีพื้นที่ปลูก 3,039,792 ไร่ โดยจังหวัดที่เป็นแหล่งปลูกที่สำคัญในภาคกลาง ได้แก่ กาญจนบุรี ลพบุรี และ สุพรรณบุรี ซึ่งให้ความหวานของอ้อยเฉลี่ย 12.79 CCS (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2566) พันธุ์อ้อยที่นิยมปลูกในพื้นที่ภาคกลาง คือ พันธุ์ขอนแก่น 3 สอน.12 สอน.19 และสอน.25 (สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย, 2556) นอกจากนั้นการปลูกอ้อยยังสามารถเป็นแหล่งดูดซับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) โดยการสะสมในมวลชีวภาพที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าพืชประเภทอื่น โดยมีมวลแห้งรวมทั้งหมด 16.2 ตันต่อไร่ (ประสิทธิ์ และสุนทรี, 2554) ดังนั้นประโยชน์ของการปลูกอ้อยนั้นไม่ได้จำกัดแค่เพียงผลผลิตที่ได้จากน้ำตาลเท่านั้น ยังรวมถึงด้านสิ่งแวดล้อมที่ได้จากกักเก็บปริมาณคาร์บอนที่เพิ่มขึ้น ซึ่งเกิดจากผลผลิตของอ้อยเอง (Parr and Sullivan, 2007) ทั้งนี้พบว่าปัจจุบันเกษตรกรชาวไร่อ้อยต้องการผลิตอ้อยให้มีคุณภาพและให้มีผลผลิตต่อไร่เพิ่มขึ้น ซึ่งศักยภาพในการผลิตอ้อยขึ้นอยู่ปัจจัยเรื่อง สภาพอากาศ ปริมาณน้ำ ท่อนพันธุ์ และการจัดการ (การจัดหาแหล่งน้ำและการจัดการปุ๋ย) (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566) จะเห็นว่าพันธุ์และการจัดการปุ๋ย เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของอ้อย โดยชนิดของพันธุ์อ้อยมีผลต่อคุณภาพความหวาน (ไสว และคณะ, 2565) เมื่ออ้อยมีผลผลิตที่ดีและมีความหวานสูง ทำให้เกษตรกรชาวไร่อ้อยจะมีรายได้เพิ่มขึ้นตามไปด้วย อย่างไรก็ตามพบว่าในสภาวะทางเศรษฐกิจที่ปุ๋ยมีราคาแพงในปัจจุบัน การปลูกอ้อยให้ได้ผลผลิตสูงนั้นจำเป็นต้องมีการจัดการปุ๋ยให้เหมาะสมโดยใช้ปุ๋ยในปริมาณน้อยที่สุดเท่าที่จะทำได้และไม่ให้พืชแสดงอาการขาดธาตุอาหาร แต่ถ้าอ้อยที่ได้รับธาตุอาหารหรือได้รับในปริมาณที่ไม่เหมาะสม ถ้าขาดธาตุนั้นอาจจะไม่สามารถเจริญเติบโตตามปกติ โดยสภาพพื้นที่และสมบัติของดินที่เหมาะสมกับอ้อยนั้น ควรเป็นพื้นที่ไม่มีน้ำท่วมขัง ลักษณะดินควรมีเนื้อดินร่วนปนทรายถึงร่วนเหนียว ความเป็นกรด–ด่างของดิน (pH) 5.5–7.5 อินทรียวัตถุ 1.5–2.5% ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 10–20 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และโพแทสเซียมที่สกัดได้ 80–150 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (กรมวิชาการเกษตร, 2564) ดินร่วนเหนียว (clay loam) เป็นดินในกลุ่มดินร่วน (loam soil) ที่ประกอบด้วยอนุภาคดินเหนียว 27–40% และอนุภาคทราย 20–45% (สำนักงานราชบัณฑิตยสภา, 2562)

อ้อยเป็นพืชที่ต้องการธาตุไนโตรเจน (N) ในปริมาณมาก มีบทบาทสำคัญในกระบวนการเมแทบอลิซึมของพืช เนื่องจากเป็นส่วนประกอบของกรดอะมิโน โปรตีน คลอโรฟิลล์ และเอ็นไซน์บางชนิด เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดการพัฒนาของเซลล์และเนื้อเยื่อที่มีชีวิต ทำให้พืชมีสีเขียวและมีความเข็งแรง (Tenelli et al., 2021) การใส่ปุ๋ย N ช่วยเพิ่มผลผลิตและคุณภาพของอ้อย (Boschiero et al., 2020) แต่ถ้าในดินมีธาตุ N หรือมีการใส่ปุ๋ย N ไม่เพียงพอ อาจทำให้อ้อยมีการแตกกอ การเจริญเติบโต และพัฒนาการของอ้อยลดลง (Leite et al., 2016) ดังนั้นการจัดการธาตุอาหารพืชให้เพียงพอ โดยเฉพาะธาตุไนโตรเจนกับความต้องการของอ้อยจากค่าวิเคราะห์ดินนั้น จึงจำเป็นต้องคำนึงถึงการจัดการธาตุอาหารอย่างสมดุล งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนตามค่าวิเคราะห์ดินต่อการสังเคราะห์ด้วยแสง การดูดธาตุอาหารของพืช การกักเก็บคาร์บอน และผลผลิตของอ้อย 2 พันธุ์ ที่ปลูกในดินร่วนเหนียว ณ ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี จังหวัดสุพรรณบุรี เพื่อที่จะหาคำตอบว่าการให้ปุ๋ยไนโตรเจนในระดับที่ต่ำและสูงกว่าค่าวิเคราะห์ดินในอ้อยพันธุ์ต่าง ๆ จะสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโต การสังเคราะห์ด้วยแสง การสะสมคาร์บอน และการให้ผลผลิตหรือไม่ อีกทั้งความรู้ที่ได้จากการทดลองครั้งนี้สามารถนำไปเป็นข้อมูลปรับปรุงการใช้ปุ๋ยไนโตรเจนและการเลือกใช้พันธุ์ให้เหมาะสมกับสภาพแวดล้อมในการผลิตอ้อยต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

สมบัติของดินก่อนการทดลอง

ดำเนินการทดลองที่แปลงทดลอง ศูนย์วิจัยพืชไร่สุพรรณบุรี อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ปลูกอ้อยระหว่างวันที่ 5 กุมภาพันธ์ 2563 – 8 กุมภาพันธ์ 2564 แปลงทดลองตั้งอยู่ในพิกัดละติจูด 14°18'16.6'' และลองจิจูด 105°51'39.0'' ซึ่งเป็นชุดดินกำแพงแสน (Fine-silty, mixed, semiactive, isohyperthermic, Typic *Haplustalfs*) สุ่มเก็บตัวอย่างดินก่อนปลูกที่ระดับความลึก 0–20 และ 20–50 เซนติเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีของดิน โดยวิเคราะห์เนื้อดินด้วยวิธี Hydrometer ความเป็นกรด-ด่างของดิน (ค่าพีเอช) อินทรียวัตถุ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่สกัดได้ตามวิธีของ กรมวิชาการเกษตร (2544) ดินมีลักษณะเป็นดินร่วนเหนียว-ร่วนเหนียวปนทราย โดยมีค่า pH (ดิน:น้ำ 1:1) เท่ากับ 6.8 ซึ่งอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอ้อย ค่าการนำไฟฟ้า (EC 1:5) เท่ากับ 0.4 เดซิซีเมนต่อเมตร อยู่ในระดับเค็มเล็กน้อย (Table 1) ปริมาณอินทรียวัตถุอยู่ในระดับต่ำ ระหว่าง 1.4–1.5% มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับสูง ระหว่าง 140–148 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณโพแทสเซียมที่สกัดได้อยู่ในระดับสูง ระหว่าง 168–170 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากการประเมินระดับความอุดมสมบูรณ์ของดินในพื้นที่ปลูกอ้อยดัดแปลงจากกองสำรวจดิน, 2523 ดินก่อนปลูกมีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง เมื่อพิจารณาอัตราปุ๋ยแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน สามารถประเมินการใช้ปุ๋ย สำหรับอ้อยปลูก เป็น 15–3–6 กิโลกรัม $N–P_2O_5–K_2O$ ต่อไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2564)

Table 1 Chemical and physical properties of soil before planting

Soil depth (cm)	pH (1:1)	EC (1:5) (dS m^{-1})	OM (%) (Walkley and Black)	Avail. P (mg kg^{-1}) (Bray II)	Extr. K (mg kg^{-1}) (NH_4OAc pH7)	Texture (Hydrometer method)
0–20	6.8	0.4	1.5	148	168	Clay loam
20–50	6.8	0.4	1.4	140	170	Sandy clay loam

Note: EC = Electrical conductivity; OM = Organic matter; Avail. P = Available phosphorus; Extr. K = Extractable potassium

สภาพภูมิอากาศฤดูปลูกอ้อย

ระยะตั้งตัวอ้อยได้รับน้ำฝน 8.5 มิลลิเมตร เฉลี่ย 0.3 มิลลิเมตรต่อวัน โดยอ้อยระยะนี้มีความต้องการน้ำ เฉลี่ย 1.1 มิลลิเมตรต่อวัน เมื่ออ้อยเข้าสู่ระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น ได้รับน้ำฝน 10.4 มิลลิเมตร เฉลี่ย 0.1 มิลลิเมตรต่อวัน ในระยะนี้อ้อยต้องการน้ำบ่อยครั้งขึ้น เฉลี่ย 4.4 มิลลิเมตรต่อวัน เพื่อใช้ในการแตกกอและสร้างปล้อง ขณะที่ระยะสร้างน้ำตาล อ้อยได้รับน้ำฝน 316.4 มิลลิเมตร เฉลี่ย 2.5 มิลลิเมตรต่อวัน แต่ในระยะนี้อ้อยมีความต้องการน้ำในปริมาณมาก เฉลี่ย 10.2 มิลลิเมตรต่อวัน จนกระทั่งเข้าสู่ระยะสุกแก่ แม้ว่าช่วงนี้จะเป็นช่วงที่อ้อยต้องการน้ำลดลง เฉลี่ย 6.4 มิลลิเมตรต่อวัน แต่ยังมีปริมาณน้ำฝนเพียง 21.2 มิลลิเมตร เฉลี่ย 0.6 มิลลิเมตรต่อวัน (กอบเกียรติ, 2556) จะเห็นว่าตลอดอายุการเจริญเติบโตของอ้อย มีปริมาณน้ำฝนไม่เพียงพอต่อความต้องการการน้ำของอ้อย ดังนั้นจึงต้องมีการให้น้ำเสริมแบบปล่อยร่อง แต่เมื่ออ้อยอายุ 8 เดือน มีฝนตกปริมาณมากในช่วงเดือนกันยายนและตุลาคม เป็น 179.7 และ136.6 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในช่วงดังกล่าวต้นอ้อยส่วนมากล้มเสียหาย และน้ำท่วมแปลงปลูก ทำให้มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโต ปริมาณน้ำฝนตั้งแต่ปลูกจนกระทั่งเก็บเกี่ยว เท่ากับ 369.7 มิลลิเมตร ซึ่งปริมาณความต้องการน้ำของอ้อยปลูก 2,150

มิลลิเมตรต่อฤดูปลูก อุณหภูมิสูงสุดเฉลี่ย 34.4°C และอุณหภูมิต่ำสุดเฉลี่ย 23.9°C ทั้งนี้อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของอ้อย อยู่ในช่วง 30–35°C (กรมอุตุนิยมวิทยา, 2563)

วิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ split plot มี 4 ซ้ำ ประกอบด้วย ประกอบด้วย ปัจจัยหลัก (Main plot) คือ พันธุ์อ้อย จำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ 1) ขอนแก่น 3 และ 2) อู่ทอง 15 ปัจจัยรอง (Subplot) คือ ปุ๋ยไนโตรเจน (N) 3 ระดับ ได้แก่ 1) 15 กิโลกรัม N ต่อไร่ (อัตราปุ๋ยไนโตรเจนตามค่าวิเคราะห์ดินเป็นกรรมวิธีควบคุม; 1N), 2) 7.5 กิโลกรัม N ต่อไร่ (อัตราลดปุ๋ยไนโตรเจน 0.5 เท่าตามค่าวิเคราะห์ดิน; –0.5N) และ 3) 22.5 กิโลกรัม N ต่อไร่ (อัตราเพิ่มปุ๋ยไนโตรเจน 0.5 เท่าตามค่าวิเคราะห์ดิน; +0.5N) โดยทุกกรรมวิธีใส่ปุ๋ยฟอสเฟตและปุ๋ยโพแทชตามค่าวิเคราะห์ดิน ในอัตรา 3 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ และ 6 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ ขนาดแปลงย่อย 7.5×5 ตารางเมตร รวมทั้งสิ้น 24 แปลง เว้นระยะระหว่างแปลงย่อย 1.5 เมตร ปลูกอ้อยวันที่ 5 กุมภาพันธ์ 2563 ใส่ปุ๋ยเคมีตามอัตราแนะนำของกรมวิชาการเกษตร (2564) โดยแบ่งใส่ปุ๋ย 2 ครั้ง สำหรับอ้อยปลูก คือ ครั้งที่ 1 รองพื้นก่อนปลูกด้วยปุ๋ยไนโตรเจนครึ่งอัตราที่กำหนด ส่วนปุ๋ยฟอสเฟตและปุ๋ยโพแทชใส่ครั้งเดียวเต็มอัตรา ครั้งที่ 2 เมื่ออ้อยมีอายุประมาณ 4 เดือนเมื่อดินมีความชื้นพอเหมาะ ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่เหลือครึ่งอัตรา โรยข้างแถวปลูก พรวนดินกลบ โดยใช้ปุ๋ยยูเรีย (46% N) ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต (46% P_2O_5) และโพแทสเซียมคลอไรด์ (60% K_2O) จากนั้นเก็บเกี่ยวผลผลิตอ้อยที่อายุ 12 เดือน วันที่ 8 กุมภาพันธ์ 2564 พื้นที่เก็บเกี่ยว 4.5×5 ตารางเมตร

ดำเนินการบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต ผลผลิต องค์ประกอบผลผลิต และคุณภาพความหวาน ได้แก่ ความยาวลำ น้ำหนักแห้งส่วนเหนือดิน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของลำ จำนวนลำเก็บเกี่ยว น้ำหนักต่อลำ ผลผลิต และ Commercial Cane Sugar (CCS) (กรมวิชาการเกษตร, 2562) ข้อมูลสรีรวิทยาของพืช ได้แก่ ความเขียวใบ การสังเคราะห์ด้วยแสง และการดูดธาตุอาหารของพืช ได้แก่ ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) และ โพแทสเซียม (K) โดยนำตัวอย่างพืชที่แยกออกเป็น 5 ส่วน ได้แก่ ลำ ใบแห้ง ใบสด กาบแห้ง และกาบสด มาอบที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ จากนั้นนำไปบดให้ละเอียดและวิเคราะห์หาปริมาณ ไนโตรเจนทั้งหมด ด้วยการย่อยตัวอย่างด้วยกรด H_2SO_4 เข้มข้น และกลั่นโดยวิธี Kjeldahl method ส่วนธาตุฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมทำการย่อยตัวอย่างด้วยกรด HNO_3–$HClO_4$ อัตราส่วน 2:1 โดยปริมาตร แล้ววัดปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดด้วยวิธี vanado–molybdate yellow color และปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง atomic absorption spectrophotometer (กรมวิชาการเกษตร, 2544) สำหรับการกักเก็บคาร์บอน วิเคราะห์อินทรียคาร์บอนในพืช โดยวิธี Walkley and Black (Nelson and Sommers, 1982) วัดการสังเคราะห์ด้วยแสงสุทธิ (net photosynthetic rate, P_n) ค่านำไหลปากใบ (stomatal conductance, g_s) และอัตราการคายน้ำ (transpiration rate; E) ของใบอ้อยตำแหน่งที่ 3 จากยอดที่คลี่ขยายเต็มที่ในระยะการเจริญเติบโตทางลำต้น (อายุ 6 เดือนหลังปลูก) ด้วยเครื่องวัดอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงระบบเปิด (Licor 6400 XT Portable Photosynthesis System, Lincoln, NE) ใช้หัวแสงธรรมชาติ ความชื้นสัมพัทธ์ประมาณ 30−60% ความเข้มข้นของก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ความเข้มของแสง และอุณหภูมิจากสภาพแวดล้อมจริง ระหว่าง 29−45°C อัตราของอากาศที่ไหลผ่านใบ เท่ากับ 350 $\mu mols^{-1}$ บันทึกค่าเมื่อสัมประสิทธิ์ความแปรปรวนรวมน้อยกว่าหรือเท่ากับ 0.1 จำนวน 3 ใบต่อกรรมวิธีต่อซ้ำ (บันทึกข้อมูล 5 ค่าต่อใบ) ทุกชั่วโมง ตั้งแต่เวลา 07:00−17:00 นาฬิกา ตามลำดับ (ภิญญาลักษณ์ และคณะ, 2566)

การวิเคราะห์ข้อมูล

คำนวณค่าเฉลี่ยอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงสุทธิ ค่านำไหลปากใบ และอัตราการคายน้ำ โดยใช้โปรแกรม Microsoft Excel ข้อมูลการสังเคราะห์ด้วยแสงที่เวลา 11:00−12:00 นาฬิกา น้ำหนักแห้งเหนือพื้นดิน การดูดธาตุอาหารของพืช การกักเก็บคาร์บอน ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของอ้อย วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) โดยใช้โปรแกรม SPSS และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's Honestly Significant Difference ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คำนวณ ประสิทธิภาพการดูดใช้ไนโตรเจน (nitrogen use efficiency: NUE) โดยใช้น้ำหนักผลผลิต (ตัน) หารด้วย ปริมาณไนโตรเจนที่พืชดูดใช้ทั้งหมด (กิโลกรัม N) (ศุภกาญจน์ และคณะ, 2555) วิเคราะห์ผลตอบแทนหลังหักค่าปุ๋ย (บาทต่อไร่) คือ มูลค่าของผลผลิต (บาทต่อไร่) หักลบมูลค่าปุ๋ย (บาทต่อไร่) (เบ็ญจพร และวันเฉลิม, 2560)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสังเคราะห์ด้วยแสง

อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของอ้อยมีการเปลี่ยนแปลงในรอบวันตามการเปลี่ยนของความเข้มแสง โดยอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงสุทธิมีค่าเป็นลบในเวลาเช้าตรู่ เวลา 7:00 และ 17:00 นาฬิกา เนื่องจากมีความเข้มของแสงต่ำหรือใบได้รับแสงไม่เพียงพอ (Fig. 1A, B, C) การตอบสนองต่อแสงของอ้อยทั้ง 2 พันธุ์ และปุ๋ยไนโตรเจนอัตราต่าง ๆ จากการวัดอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงสุทธิ (P_n) ในรอบวัน ที่เวลา 11:00–12:00 นาฬิกา พบว่า การให้ปุ๋ยไนโตรเจนเพิ่มขึ้น 0.5 เท่าตามค่าวิเคราะห์ดิน (22.5 กิโลกรัม N ต่อไร่) ในอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ให้ P_n สูงสุด เฉลี่ย 16.51 μmol CO_2/m^2 s ในขณะที่พันธุ์อู่ทอง 15 นั้นการให้ปุ๋ยไนโตรเจนไม่ทำให้ค่า P_n แตกต่างกัน แสดงดัง Table 2 สรุปได้ว่า อัตราปุ๋ยที่มีประสิทธิภาพในการดูดซับคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) สูงสุด อ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ควรใส่ปุ๋ยไนโตรเจนเพิ่มขึ้น 0.5 เท่าตามค่าวิเคราะห์ดิน (22.5 กิโลกรัม N ต่อไร่) ทำให้อ้อยมีค่า P_n ของใบสูงสุด อ้อยถึงดูดซับก๊าซ CO_2 ได้สูง จาก Fig. 1A, B, C อัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของใบอ้อยจะเริ่มตรึงก๊าซ CO_2 ได้เวลา 8.00 นาฬิกา โดยสัมพันธ์กับความเข้มแสงที่เพิ่มขึ้น Fig. 1J, K, L และจะเพิ่มขึ้นจนมีค่าสูงที่สุดในช่วงเวลา 09.00–12.00 น. เป็นช่วงที่อ้อยสามารถตรึงก๊าซ CO_2 ได้สูงที่สุดในรอบวัน หลังจากนั้นอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงจะลดลง จะเห็นว่าพันธุ์อ้อยแต่ละพันธุ์มีอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงไม่เท่ากัน เนื่องจากอัตราการสังเคราะห์ด้วยแสงของพืชนั้น ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ชนิดและปริมาณรงควัตถุในใบพืช สภาพภูมิอากาศ (ความเข้มแสง อุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์ในอากาศ และปริมาณก๊าซ CO_2ในอากาศ) (ธีรโชติ และคณะ, 2556) ค่าการนำไหลของปากใบ (Stomatal conductance, g_s) ที่บ่งบอกถึงระดับการเปิดกว้างของปากใบ ค่าที่สูงแสดงว่าปากใบเปิดกว้างได้มาก ถ้าพืชปากใบเปิดได้กว้าง จะสามารถช่วยให้พืชนั้นสังเคราะห์แสงได้มากขึ้น (นุชนาฏ และคณะ, 2565) พบว่า พันธุ์ขอนแก่น 3 และอู่ทอง มีค่า g_s สูงในช่วงเวลา 8:00–12:00 นาฬิกา มีค่า g_s สูงสุด เท่ากับ 123 mmol H_2O/m^2 s หลังจากนั้นค่า g_s เริ่มลดลงเพราะแดดที่จัดขึ้นแสดงดัง Fig. 1D, E, F โดยการให้ปุ๋ยไนโตรเจน อัตรา 22.5 กิโลกรัม N ต่อไร่ (Table 2) มีการเปิดปากใบได้กว้างกว่าการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน อัตรา 15 และ 7.5 กิโลกรัม N ต่อไร่ เมื่อความเข้มแสงลดต่ำลง ประมาณ 50 μmol/m^2s Fig. 1J, K, L ในช่วงเย็น ปากใบจะปิดแคบลง ด้านการคายน้ำ (transpiration rate; E) พบว่า อ้อยทั้ง 2 พันธุ์มีค่า E สูงในช่วง 11:00–13:00 นาฬิกา มี ซึ่งเป็นเวลาที่มีความเข้มแสงสูงที่สุดในรอบวันประมาณ 1,800 μmol/m^2s Fig. 1G, H, I โดยมีค่า E สูงสุดอยู่ที่ 6 แสดงดัง Table 2 เมื่อมีการให้ปุ๋ยไนโตรเจนเพิ่มขึ้น 0.5 เท่าตามค่าวิเคราะห์ดิน (22.5 กิโลกรัม N ต่อไร่) ในอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3

Table 2 Net photosynthetic rate, stomatal conductance and transpiration rate of sugarcane as affected by nitrogen fertilizer

Treatments	Net photosynthetic rate (μmol CO2/m^2s)	Stomatal conductance (mmol H_2O/m^2s)	Transpiration rate (mmol H_2O/m^2s)
Variety (V)			
Khon Kaen 3 (KK3)	12.72±0.92	93.82±6.86	4.72±0.43
U-thong 15 (UT15)	11.40±0.39	95.38±5.87	4.14±0.22
F-test	ns	ns	ns
CV (%)	8.9	10.6	15.0
Nitrogen fertilizer (F)			
7 kg N/rai (–0.5N)	9.99±0.43^{c}	79.14±3.91^{b}	3.67±0.25^{b}
15 kg N/rai (N)	12.05±0.42^{b}	84.98±4.91^{b}	4.95±0.15^{a}
22.5 kg N/rai (+0.5N)	14.14±0.97^{a}	119.68±3.97^{a}	4.68±0.61^{a}
F-test	**	**	**
CV (%)	11.4	8.3	15.8
V×F			
KK3×–0.5N	9.74±0.79^{b}	79.82±7.87	3.12±0.24^{c}
KK3×N	11.91±0.45^{b}	80.07±5.75	5.01±0.23^{ab}
KK3×+0.5N	16.51±0.66^{a}	121.57±6.19	6.03±0.70^{a}
UT15×–0.5N	10.25±0.46^{b}	78.47±3.05	4.21±0.20^{bc}
UT15×N	12.19±0.79^{b}	89.88±7.97	4.89±0.22^{ab}
UT15×+0.5N	11.76±0.43^{b}	117.79±5.74	3.32±0.13^{c}
F-test	**	ns	**

Means±SE within a column followed by the same letter is not significantly different based on Tukey's honest significant difference test at $p \leq 0.05$; **, * and ns indicate $p \leq 0.01$, $p \leq 0.05$ and not significant, respectively

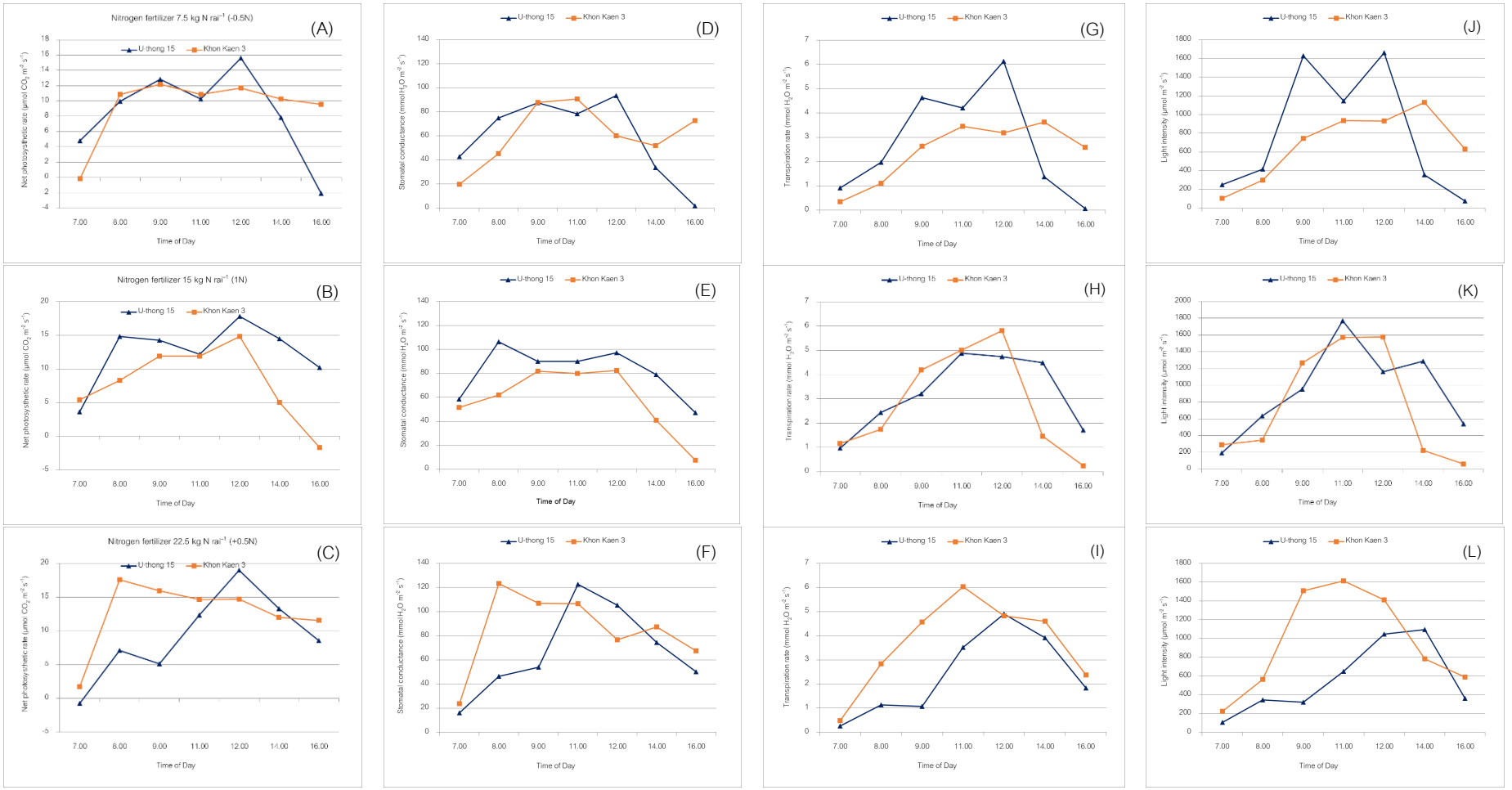


Fig. 1 Change in net photosynthetic rate (A-C), stomatal conductance (D-F), transpiration rate (G-I) and light intensity (J-L) of two sugarcane varieties (Khon Kaen 3 and U-thong 15) under three levels of nitrogen fertilizer rate on clay loam soil at Suphan Buri Province during 2019/2020 cropping season

น้ำหนักแห้งส่วนเหนือดิน การดูดธาตุอาหารของพืช และการกักเก็บคาร์บอนส่วนเหนือดิน

ผลของการให้ปุ๋ยไนโตรเจนต่อน้ำหนักแห้งส่วนเหนือดิน การดูดใช้ธาตุอาหาร และการกักเก็บคาร์บอนเหนือดินของอ้อยที่ปลูกในดินร่วนเหนียว จ.สุพรรณบุรี พบว่า ปุ๋ยไม่มีปฏิสัมพันธ์กับพันธุ์อ้อย และการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนลดลงหรือเพิ่มขึ้น 0.5 เท่าตามค่าวิเคราะห์ดิน (7.5 และ 22.5 กิโลกรัม N ต่อไร่) ไม่ทำให้น้ำหนักแห้งส่วนเหนือดิน การดูดใช้ธาตุอาหาร และการกักเก็บคาร์บอนของอ้อยที่ปลูกในดินร่วนเหนียวแตกต่างกับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนตามค่าวิเคราะห์ดิน (Table 3) อย่างไรก็ตาม พบว่า พันธุ์อ้อยมีผลต่อทุกพารามิเตอร์ การปลูกอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ให้น้ำหนักแห้ง และการกักเก็บคาร์บอนสูงกว่าการปลูกอ้อยพันธุ์อู่ทอง 15 ถึง 36% และ 24% ตามลำดับ ทั้งนี้ปริมาณกักเก็บคาร์บอนสัมพันธ์เป็นสัดส่วนโดยตรงกับมวลชีวภาพ เนื่องจากชีวมวลนั้นประกอบด้วยคาร์บอนอยู่ร้อยละ 50 (Watcharapirak and Pattanakiat, 2009) สำหรับการดูดใช้ธาตุอาหาร อ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ดูดใช้ไนโตรเจนทั้งหมด 34.37 กิโลกรัม N ต่อไร่ ฟอสฟอรัสทั้งหมด 17.65 กิโลกรัม P ต่อไร่ และโพแทสเซียมทั้งหมด 8.17 กิโลกรัม K ต่อไร่ ส่วนอ้อยพันธุ์อู่ทอง 15 มีการดูดใช้ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมทั้งหมด เป็น 29.19-14.65-7.22 กิโลกรัม N-P-K ต่อไร่ โดยอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 มีประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนเพื่อสร้างผลผลิต 0.54 ตันของผลผลิต/กก.N ส่วนพันธุ์อู่ทอง 15 มีประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนเพื่อสร้างผลผลิต 0.68 ตันของผลผลิตต่อกิโลกรัมN สำหรับการศึกษานี้พบว่า ประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนเพื่อสร้างผลผลิตในดินร่วนเหนียวต่ำกว่า การจัดการธาตุอาหารพืชในพื้นที่ดินทราย ชุดดินบ้านไผ่ จังหวัดขอนแก่น โดยศุภกาญจน์ และคณะ (2555) ศึกษาพบว่า อ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ประสิทธิภาพการใช้ไนโตรเจนเพื่อสร้างผลผลิต เป็น 0.915 ตันของผลผลิต/กก.N แสดงให้เห็นว่า พันธุ์ของอ้อยและสภาพแวดล้อมที่ต่างกันนั้น มีความต้องการธาตุอาหารในการเจริญเติบโตแตกต่างกัน

Table 3 Shoot dry matter, nutrient uptake and carbon storage of sugarcane as affected by nitrogen fertilizer

Treatments	Shoot dry matter (t/rai)	Carbon storage (t C/rai)	Nutrient uptake (kg/rai)			Nitrogen use efficiency (kg N/rai)
			N	P	K	
Variety (V)						
Khon Kaen 3 (KK3)	11.37±0.22[a]	5.17±0.17[a]	34.37±0.98[a]	17.65±0.57[a]	8.17±0.27[a]	0.54±0.02[b]
U-thong 15 (UT15)	8.34±0.22[b]	4.18±0.12[b]	29.19±1.37[b]	14.65±0.43[b]	7.22±0.37[b]	0.68±0.03[a]
F-test	**	*	*	*	**	*
CV (%)	5.3	12.8	12.7	14.5	4.6	19.4
Nitrogen fertilizer (F)						
7.5 kg N rai^{-1} (–0.5N)	9.75±0.72	4.76±0.25	32.64±1.28	16.22±0.90	8.02±0.41	0.56±0.04
15 kg N rai^{-1} (1N)	10.20±0.67	4.82±0.34	30.33±2.09	15.69±0.75	7.05±0.36	0.65±0.04
22.5 kg N rai^{-1} (+0.5N)	9.61±0.46	4.45±0.15	32.36±1.75	16.54±0.86	8.02±0.44	0.62±0.05
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	7.0	8.3	11.2	7.9	14.6	14.7

Means±SE within a column followed by the same letter is not significantly different based on Tukey's honest significant difference test at $p \leq 0.05$; **, * and ns indicate $p \leq 0.01$, $p \leq 0.05$ and not significant, respectively

การเจริญเติบโต องค์ประกอบผลผลิต ผลผลิต

การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนมีผลทำให้จำนวนลำเก็บเกี่ยว น้ำหนักต่อลำ และผลผลิตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การลดปุ๋ยไนโตรเจน 0.5 เท่าตามค่าวิเคราะห์ดิน (7.5 กิโลกรัม N ต่อไร่) ให้จำนวนลำเก็บเกี่ยว น้ำหนักต่อลำ และผลผลิต ลดลง 9% 17% และ 6% ตามลำดับ เมื่อเทียบกับการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนตามค่าวิเคราะห์ดิน (15 กิโลกรัม N ต่อไร่) (Table 4) การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนเพิ่ม 0.5 เท่าตามค่าวิเคราะห์ดิน (22.5 กิโลกรัม N ต่อไร่) ในอ้อยพันธุ์อู่ทอง 15 มีผลทำให้จำนวนลำเก็บเกี่ยวสูงกว่ากรรมวิธีอื่น ๆ แต่ไม่ต่างกับการใส่ปุ๋ย อัตรา 15 กก.N/ไร่ อย่างไรก็ตามการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนไม่ทำให้ความยาวลำ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของลำ และค่าความหวานของอ้อย (CCS) แตกต่างกัน โดยอ้อยให้ความยาวลำระหว่าง 236.28–267.09 เซนติเมตร ขนาด เส้นผ่านศูนย์กลางของลำ ระหว่าง 2.54–2.65 เซนติเมตร แต่พันธุ์มีผลต่อปริมาณของน้ำตาลที่มีอยู่ในอ้อย พบว่า อ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 มีค่า CCS (15.91) สูงกว่าพันธุ์อู่ทอง 15 (13.99)

Table 4 Yield and Yield components of sugarcane as affected by nitrogen fertilizer

Treatments	Stalk length (cm)	Stalk diameter (cm)	Millable cane (stalk/rai)	Stalk weight (kg/weight)	Cane yield (t/rai)	CCS
Variety (V)						
Khon Kaen 3 (KK3)	250.80±10.54	2.62±0.03	12,065±263	1.65±0.09	18.36±0.63	15.91±0.10^{a}
U-thong 15 (UT15)	256.59±4.56	2.55±0.03	12,711±325	1.71±0.07	19.42±0.35	13.99±0.14^{b}
F-test	ns	ns	ns	ns	ns	**
CV (%)	9.3	5.2	9.5	15.0	14.9	2.2
Nitrogen fertilizer (F)						
7.5 kg N rai^{-1} (–0.5N)	236.28±14.28	2.54±0.04	11,671±292^{b}	1.47±0.09^{b}	17.89±0.78^{b}	14.85±0.34
15 kg N rai^{-1} (1N)	257.73±4.19	2.58±0.04	12,676±270^{a}	1.78±0.05^{a}	19.12±0.31^{ab}	15.13±0.42
22.5 kg N rai^{-1} (+0.5N)	267.09±4.67	2.65±0.02	12,818±432^{a}	1.80±0.09^{a}	19.68±0.62^{a}	14.87±0.40
F-test	ns	ns	**	*	*	ns
CV (%)	9.2	3.2	4.8	12.0	5.3	1.8
V×F						
KK3×–0.5N	215.88±23.79	2.58±0.06	11,573±577^{b}	1.41±0.11	17.03±1.50	15.71±0.17
KK3×1N	267.93±2.63	2.59±0.07	12,800±278^{ab}	1.74±0.06	19.26±0.65	16.16±0.17
KK3×+0.5N	268.60±6.27	2.69±0.03	11,822±260^{b}	1.81±0.18	18.80±0.84	15.87±0.07
UT15×–0.5N	256.68±10.41	2.49±0.07	11,769±240^{b}	1.53±0.14	18.75±0.32	13.99±0.13
UT15×1N	247.53±2.35	2.56±0.05	12,551±503^{ab}	1.82±0.09	18.97±0.08	14.10±0.32
UT15×+0.5N	265.58±7.80	2.60±0.02	13,813±378^{a}	1.79±0.04	20.56±0.75	13.87±0.28
F-test	ns	ns	**	ns	ns	ns

Means±SE within a column followed by the same letter is not significantly different based on Tukey's honest significant difference test at $p \leq 0.05$; **, * and ns indicate $p \leq 0.01$, $p \leq 0.05$ and not significant, respectively

ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการใช้ปุ๋ยในการผลิตอ้อย

เมื่อพิจารณาถึงผลตอบแทนหลังหักค่าปุ๋ยในการผลิตอ้อย ที่ปลูกในดินร่วนเหนียว จังหวัดสุพรรณบุรี พบว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนตามค่าวิเคราะห์ดิน อัตรา 15 กิโลกรัม N ต่อไร่ และปลูกอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 ให้ผลตอบแทนหลังหักค่าปุ๋ยเป็น 20,584 บาทต่อไร่ แต่ถ้ามีการใส่ปุ๋ยไนโตรเจนอัตราต่ำหรือสูงขึ้นกว่าค่าวิเคราะห์ดิน (7.5 และ 22.5 กิโลกรัม N ต่อไร่) อ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 กลับให้ผลตอบแทนลดลง ถึง 11% และ 3.4% ตามลำดับ (Table 5) ในขณะที่อ้อยพันธุ์อู่ทอง 15

ให้ผลตอบแทนหลังหักค่าปุ๋ยเพิ่มขึ้น เมื่อใส่ปุ๋ยเพิ่มขึ้น 0.5 เท่าตามค่าวิเคราะห์ดิน (22.5 กิโลกรัม N ต่อไร่) ถึง 7.8% เมื่อเปรียบเทียบกับการใส่ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน อาจเป็นเพราะว่าการเพิ่มการใส่ปุ๋ยไนโตรเจน 0.5 เท่าตามค่าวิเคราะห์ดิน มีปริมาณธาตุอาหารที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของอ้อยพันธุ์อู่ทอง 15 จึงส่งผลให้ได้ผลผลิตสูง และให้ผลตอบแทนหลังหักค่าปุ๋ยสูงขึ้นไปด้วย

Table 5 Economic return of sugarcane as affected by nitrogen fertilizer

Nitrogen fertilizer (kg N/rai)	Variety	Fertilizer cost (THB rai^{-1})	Cane yield (t/rai)	Income (THB/rai)	Economic return over fertilizer cost (THB/rai)
7.5 (–0.5N)	Khon Kaen 3	524	17.03	18,842	18,318(-11.0%)
	U-thong 15	524	18.75	20,745	20,221(-0.2%)
15 (1N)	Khon Kaen 3	725	19.26	21,309	20,584(-)
	U-thong 15	725	18.97	20,988	20,264(-)
22.5 (+0.5N)	Khon Kaen 3	913	18.88	20,800	19,887(-3.4%)
	U-thong 15	913	20.56	22,748	21,834(+7.8%)

Fertilizer price on February 2020: 46–0–0 (11.56 Baht/kg), 18–46–0 (17.15 Baht/kg), 0–0–60 (18.30 Baht/kg) and yield price: 1,106.40 Baht/ton

Source: Office of Agricultural Economics (2020)

สรุป

การใช้ปุ๋ยไนโตรเจนในการผลิตอ้อยในดินร่วนเหนียว อำเภออู่ทอง จังหวัดสุพรรณบุรี ที่มีระดับอินทรียวัตถุในดินต่ำ สามารถสรุปได้ว่า การปลูกอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 และใส่ปุ๋ยไนโตรเจนตามค่าวิเคราะห์ดิน (15 กิโลกรัมต่อไร่) เป็นวิธีการที่เหมาะสมต่อการผลิตอ้อยในดินร่วนเหนียว เพื่อให้ได้ผลผลิตและผลตอบแทนคุ้มค่าแก่การลงทุน แต่ในกรณีอ้อยพันธุ์อู่ทอง 15 ควรใส่ปุ๋ยไนโตรเจนเพิ่ม 0.5 เท่าตามค่าวิเคราะห์ดิน (อัตรา 22.5 กิโลกรัมต่อไร่) ซึ่งเป็นไปได้ว่า การใส่ปุ๋ยไนโตรเจนในอัตราที่สูงกว่าค่าวิเคราะห์ดินในกรณีดินร่วนเหนียวกับอ้อยบางพันธุ์ อาจจะช่วยเพิ่มน้ำหนักแห้ง การกักเก็บคาร์บอน เพิ่มผลผลิตน้ำตาล และเพิ่มผลตอบแทนได้ ซึ่งสมมติฐานนี้จะนำไปใช้เพื่อพัฒนาต่อยอดงานวิจัยในพื้นที่อื่น ๆ ต่อไป ให้มีการใส่ปุ๋ยในอัตราที่เหมาะสมกับพันธุ์และสภาพแวดล้อม

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2544. คู่มือวิเคราะห์ดินและพืช. ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ.

กรมวิชาการเกษตร. 2562. คู่มือ การบันทึกข้อมูลงานวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน. สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

กรมวิชาการเกษตร. 2564. คำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน สำหรับพืชไร่เศรษฐกิจ. กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

กรมอุตุนิยมวิทยา. 2563. [ระบบออนไลน์]. http://www.awsobservation.tmd.go.th/web/main/index.asp, 6 เมษายน 2564.

กองสำรวจดิน. 2523. คู่มือการจำแนกความเหมาะสมของที่ดินสำหรับพืชเศรษฐกิจ. เล่มที่ 28. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

กอบเกียรติ ไพศาลเจริญ. 2556. การเพิ่มผลผลิตอ้อยโรงงานเชิงบูรณาการเพื่อรองรับประชาคมเศรษฐกิจอาเซียน. สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

ธีรโชติ ฮีสวัสดิ์, พัชรียา บุญกอแก้ว, ณัฏฐ์ฐ พิชกรรม, ประศาสตร์ เกื้อมณี. 2556. การศึกษาการแลกเปลี่ยนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ในรอบวันของสับปะรดสีพันธุ์การค้าบางพันธุ์. ใน: เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 51. กรุงเทพฯ. หน้า 505–511.

นุชนาฎ ตันวรรณ, สายน้ำ อุดพ้วย, ปรีชา กาเพ็ชร, วลัยพร ศะศิประภา, อานนท์ มลิพันธ์. 2565. ผลของปุ๋ยโพแทชต่อการสังเคราะห์แสง การกักเก็บคาร์บอน และผลผลิตของมันสำปะหลังในดินทรายปนร่วน. ใน: เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการมหกรรมงานวิจัยแห่งชาติ 2565. สำนักงานการวิจัยแห่งชาติ. กรุงเทพฯ. หน้า 1167–1178

เบ็ญจพร กุลนิลย์, วันเฉลิม ศรีบุญโรจน์. 2560. การจัดการปุ๋ยต่อการเจริญเติบโต ผลผลิต และผลตอบแทนทางเศรษฐกิจของการผลิตข้าวขาวดอกมะลิ 105. วารสารเกษตรพระวรุณ. 14: 61–70.

ประสิทธิ์ ขุนสนิท, สุนทรี ยิ่งชัชวาล. 2554. มวลชีวภาพของอ้อยพันธ์ K95-84. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 42(3): 485–493.

ภิญญาลักษณ์ รัตนวิระกุล, นุชนาฎ ตันวรรณ, สมฤทัย ตันเจริญ, วนิดา โนบรรเทา, แววตา พลกุล, ชัชธนพร เกื้อหนุน, วิลัยรัตน์ แป้นแก้ว, สายน้ำ อุดพ้วย. 2566. การแลกเปลี่ยนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และการให้ผลผลิตของถั่วเขียวผิวมัน 5 พันธุ์. ใน:เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการครั้งที่ 61 (สาขาพืช). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. หน้า 289–297.

ศุภกาญจน์ ล้วนมณี, กอบเกียรติ ไพศาลเจริญ, ขยันต์ ภักดีไทย, ศรีสุดา ทิพยรักษ์, วัลลีย์ อมรพล. 2555. การจัดการธาตุอาหารพืชที่เหมาะสมเพื่อการผลิตอ้อยในดินทรายภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. วารสารแก่นเกษตร 40(3): 149–158.

สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย. 2556. รายงานสรุปผลการดำเนินงานเพื่อเผยแพร่ประชาสัมพันธ์โครงการติดตามประเมินผลสัมฤทธิ์การพัฒนาและขยายอ้อยพันธุ์ดี. สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาล, กระทรวงอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ.

สำนักงานคณะกรรมการอ้อยและน้ำตาลทราย. 2566. รายงานสถานการณ์การปลูกอ้อย ปีการผลิต 2565/2566. กลุ่มเทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร กองยุทธศาสตร์และแผนงาน สำงานคณะรรมการอ้อยและน้ำตาล, กระทรวงอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ.

สำนักงานราชบัณฑิตยสภา. 2562. พจนานุกรมศัพท์ปฐพีศาสตร์ ฉบับราชบัณฑิตยสภา. กรุงเทพฯ.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2566. สารสนเทศเศรษฐกิจการเกษตรรายสินค้า ปี 2565. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

ไสว บุดดีวงษ์, ปราโมทย์ พรสุริยา, รัตติกาล เสนน้อย. อิทธิพลของพื้นที่ปลูกที่แตกต่างกันในภาคตะวันออกต่อค่า CCS ของอ้อยพันธุ์ขอนแก่น 3 และพันธุ์ LK92–11. วารสารแก่นเกษตร ฉบับเพิ่มเติม 1: 478–483.

Boschiero, B.N., Mariano, E., Torres-Dorante, L.O., Sattolo, T.M.S. Otto, R., Garcia, P.L., Dias, C.T.S., Trivelin, P.C.O. 2020. Nitrogen fertilizer effects on sugarcane growth, nutritional status, and productivity in tropical acid soils. Nutr. Cycl. Agroecosyst. 117: 367–382. doi.org/10.1007/s10705-020-10074-w

Leite, J.M., Ciampitti, I.A., Mariano, E., Vieira-Megda, M.X., Trivelin, P.C.O. 2016. Nutrient partitioning and stoichiometry in unburnt sugarcane ratoon at varying yield levels. Front Plant Sci. 7: 466. doi.org/10.3389/fpls.2016.00466

Nelson, D.W., Sommers, L.E. 1983. Total carbon, organic carbon, and organic matter. In: Method of soil Analysis: Part 2 Chemical and Microbiology Properties 9, pp. 539–579.

Office of Agricultural Economics. 2020. Monthly retail price of chemical fertilizers. Office of Agricultural Economics, Ministry of Agriculture and Cooperatives. https://www.oae.go.th/, 29 January 2024.

Parr, J.F., Sullivan, L.A. 2007. Sugarcane the champion crop at carbon sequestration. Canegrower. 17: 14–15.

Tenelli, S., Otto, R., Bordonal, R.O., Carvalho, J.L.N. 2021. How do nitrogen fertilization and cover crop influence soil CN stocks and subsequent yields of sugarcane?. Soil Tillage. Res. 211: 104999.

Watcharapirak, W, Pattanakiat, S. 2009. The estimation of carbon storages in various growth stages of sugarcane in Si Sat Chanalai District, Sukhothai Province, Thailand. Environ. Nat. Resour. J. 7(2): 72–81.

ผลของโคลชิซินต่อการรอดชีวิตและการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานของกระชายดำในสภาพปลอดเชื้อ

Effect of colchicine on survival and morphological characteristic changes of *in vitro* black ginger

วรชาติ ชัยสมบูรณ์พันธ์, เฌอมาลย์ วงศ์ชาวจันท์*

Worachat Chaisomboonpan, Shermarl Wongchaochant*

ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: agrsmw@ku.ac.th

บทคัดย่อ

การพัฒนาพันธุ์กระชายดำโดยการชักนำพืชโพลีพลอยด์เป็นวิธีการหนึ่งที่ใช้ในเพิ่มความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรสำหรับการคัดเลือกพันธุ์พืช งานวิจัยนี้มุ่งเน้นศึกษาผลของโคลชิซินต่อการรอดชีวิตและการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานของกระชายดำในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อใช้เป็นพื้นฐานในการพัฒนาพันธุ์ โดยนำเหง้ากระชายดำยาว 1 เซนติเมตรในสภาพปลอดเชื้อมาแช่ในสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 100 ppm เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง และเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อเป็นเวลา 60 วัน พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตและอัตราการเจริญเติบโตของกระชายดำในรุ่น M_1V_2 ถึง M_1V_3 ส่วนใหญ่มีแนวโน้มอัตราการเจริญเติบโตช้าลงตามระยะเวลาที่ได้รับสารละลายโคลชิซิน และพบลักษณะการเปลี่ยนแปลงในรุ่น M_1V_2 และ M_1V_3 ที่ได้รับสารละลายโคลชิซินเป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ได้แก่ ลักษณะบริเวณโคนต้นขยายขนาดมากกว่าปกติ ลักษณะยอดใหม่ด่างขาว และต้นที่มีใบขนาดใหญ่กว่าต้นปกติที่อายุเท่ากัน

คำสำคัญ: กระชายดำ, การเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซม, โคลชิซิน, เพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ

Abstract

Crop development of black ginger using polyploid induction could increase genetic variation in population for plant selection. The effect of colchicine on survival and morphological changes of *in vitro* black ginger were studied to be used as crop improvement basic research. The *in vitro* one centimeter in length clum explants were polyploid induced by soaking in 100 ppm colchicine solution for 0, 12, 24, 48 and 72 hr. After *in vitro* culturing for 60 days, the percentage of survival explant of all M_1V_1 and growth rate of M_1V_2 to M_1V_3 explants trended to decrease in longer colchicine soaking periods. Changing of morphological characteristics was found in 24, 48 and 72 hr colchicine treated M_1V_2 to M_1V_3 plantlets i.e. enlarged pseudo-stem, new albino shoot and enlarged leaf characteristics.

Keywords: Black galingale, Chromosome doubling, Colchicine, Tissue culture

คำนำ

กระชายดำ หรือ *Kaempferia parviflora* Wall ex Baker (เต็ม, 2544) อยู่ในวงศ์ Zingiberaceae เป็นพืชสมุนไพรที่มีแหล่งกระจายพันธุ์อยู่ในแถบอินโดจีน มีสาระสำคัญกลุ่ม monoterpenes และ sesquiterpenes จำนวน 51 ชนิด ซึ่งมีองค์ประกอบหลักคือ endo-fenchol และ borneol มีศักยภาพทางการค้าสามารถนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลากหลายชนิด โดยใช้สีเนื้อในเหง้ากระชายดำเป็นเกณฑ์ในการคัดเกรดและกำหนดราคา (เสริมสกุลและเชวง, 2546; เสริมสกุลและเชวง, 2547; Pojanagaroon and Kaewrak, 2003) กระชายดำที่เกษตรกรปลูกส่วนใหญ่เป็นพันธุ์ที่ได้จากการคัดเลือกโดยกรมวิชาการเกษตร ซึ่งขึ้นทะเบียนกระชายดำไว้เมื่อปี พ.ศ. 2549 ได้แก่ พันธุ์ภูเรือ 10 และพันธุ์ภูเรือ 12 (เสริมสกุล และไชยยง, 2547) และมีปริมาณฟลาโวนอยด์ 11 ชนิด ในปริมาณสูงถึง 40.27 มิลลิกรัมต่อกรัมของเหง้ากระชายดำแห้ง (Sutthanut et al., 2007) กระชายดำเป็นพืชที่มีการขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศได้เร็วกว่าการขยายพันธุ์โดยใช้เมล็ด การพัฒนาพันธุ์โดยการคัดเลือกพันธุ์จากประชากรกระชายดำตามธรรมชาติ จึงมีความหลากหลายของลักษณะที่สามารถนำมาใช้ในการคัดเลือกได้ค่อนข้างน้อย (เสริมสกุล และคณะ, 2547) ปัจจุบันยังประสบปัญหาสารสำคัญในหัวกระชายดำที่เก็บเกี่ยวมีคุณภาพไม่แน่นอน ส่งผลต่อการผลิตในระดับอุตสาหกรรมเป็นอย่างยิ่ง (เสริมสกุล, 2549) คณะผู้วิจัยจึงพัฒนากระบวนการผลิตส่วนขยายพันธุ์ที่ปลอดโรคในสภาพปลอดเชื้อ (วรชาติ และเฉลอมาลย์, 2566) ร่วมกับปรับปรุงพันธุ์พืชกลุ่มกระชายดำโดยการชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์ในสภาพปลอดเชื้อ เพื่อช่วยร่นระยะเวลาในการปรับปรุงพันธุ์พืชในกลุ่มนี้ มีรายงานเกี่ยวกับการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมของพืชสมุนไพรบางชนิดเพื่อเพิ่มปริมาณสารสำคัญได้สำเร็จ เช่น *Agastache foeniculum* (Talebi et al., 2017), *Papaver bracteatum* Lindl. (Madani et al., 2019) และ *Thymus vulgaris* L. (Shmeit et al., 2020) ซึ่งการชักนำให้เกิดการเพิ่มจำนวนชุดโครโมโซมในพืช จำเป็นต้องทราบข้อมูลพื้นฐานการตอบสนองของพืชหลังจากการได้รับสารก่อการกลายที่มีผลต่อการรอดชีวิตและการเปลี่ยนแปลงลักษณะของพืช งานวิจัยนี้จึงได้ศึกษาผลของโคลชิซินต่อการรอดชีวิตและการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานของกระชายดำในสภาพปลอดเชื้อ

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมพืชทดลอง

รวบรวมหัวพันธุ์กระชายดำกลุ่มใบแดงซึ่งเป็นพันธุ์ที่ให้สารสำคัญสูงจากกลุ่มเกษตรกรผู้ปลูกกระชายดำบริเวณ อ.นาแห้ว จ.เลย นำมาเพาะให้งอก จากนั้นเก็บยอดที่งอกใหม่มาฟอกฆ่าเชื้อ โดยใช้ยอดขนาดยาวประมาณ 2 เซนติเมตร ล้างทำความสะอาดด้วยน้ำไหลผ่านนาน 5 นาที แช่ชิ้นส่วนยอดในสารป้องกันเชื้อราแคปทาไซด์ 50 ร่วมกับ tween-20 จำนวน 2 หยด เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นฟอกฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย Dichloroisocyanurate (SDIC) ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30 นาที (วรชาติและเฉลอมาลย์, 2566) นำชิ้นส่วนพืชมาล้างด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจำนวน 3 ครั้ง ตัดส่วนยอดยาว 0.5 เซนติเมตร เพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์กึ่งแข็งสูตร MS (Murashige and Skoog, 1962) ที่เติมน้ำตาลทรายขาว 30 กรัม และ Kelcogel® Gellan Gum 2.5 กรัมต่ออาหารสังเคราะห์ 1 ลิตร เพาะเลี้ยงในห้องปฏิบัติการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ที่อุณหภูมิ 25±2 องศาเซลเซียส ให้แสงจากหลอดฟลูออเรสเซนต์สีขาว ชนิด cool daylight นาน 16 ชั่วโมงต่อวัน ค่า Photosynthetic Photon Flux Density (PPFD) 30 μmol/m^2s หลังจากได้ชิ้นพืชปลอดเชื้อ เพิ่มจำนวนยอดใหม่ในอาหารสังเคราะห์กึ่งแข็งสูตร MS ที่มีสารควบคุมการเจริญเติบโตกลุ่มไซโตไคนิน 6-Benzylaminopurine (BAP) ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อลิตร เติมน้ำตาลทรายขาว 30 กรัม และ Kelcogel® Gellan Gum 2.5 กรัมต่ออาหาร 1 ลิตร เพาะเลี้ยงในสภาพแวดล้อมเดียวกับขั้นตอนการฟอกฆ่าเชื้อชิ้นพืช

การให้สารละลายโคลชิซินในสภาพปลอดเชื้อ

ตัดแยกเหง้ากระชายดำในสภาพปลอดเชื้อให้มีจำนวน 1 ยอดต่อ 1 ชิ้นพืช ยาวประมาณ 1 เซนติเมตร มาแช่ในสารละลายโคลชิซินที่ผ่านการกรองความเข้มข้น 100 ppm เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ทั้งหมด 2 ซ้ำ ซ้ำละ 50 ชิ้นพืช เมื่อแช่สารละลายตามระยะเวลาของแต่ละกรรมวิธีแล้ว ล้างชิ้นพืชด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อก่อนย้ายลงในอาหารสังเคราะห์กึ่งแข็งสูตร MS ที่ไม่มีการเติมสารควบคุมการเจริญเติบโตพืช ในขวดขนาด 4 ออนซ์ ขวดละ 2 ชิ้นพืช

การบันทึกการรอดชีวิตและการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานหลังจากได้รับสารละลายโคลชิซินในสภาพปลอดเชื้อ

หลังจากเพาะเลี้ยงชิ้นพืชเป็นเวลา 30 และ 60 วัน (รุ่น M_1V_1) เก็บข้อมูลการรอดชีวิตของชิ้นพืชที่ได้รับสารละลายโคลชิซิน เพื่อหาระยะเวลาแช่สารละลายโคลชิซินที่ทำให้กระชายดำตายจำนวนครึ่งหนึ่งของจำนวนชิ้นพืชทั้งหมด (50% lethal dose, LD_{50}) และคัดเลือกชิ้นพืชที่รอดชีวิตเพาะเลี้ยงต่อไปในสภาพปลอดเชื้อ (รุ่น M_1V_2 และ รุ่น M_1V_3) เพื่อสังเกตลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับพืช ได้แก่ จำนวนใบ ขนาดใบ ความสูงกอ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคนลำต้น จำนวนราก ความยาวราก จำนวนยอดใหม่ และลักษณะใบ นำข้อมูลการเจริญเติบโตที่บันทึก มาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตเทียบกับชุดควบคุม สร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาที่ชิ้นพืชได้รับสารละลายโคลชิซินและเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของชิ้นพืช เพื่อหาระยะเวลาในการได้รับสารโคลชิซินที่ส่งผลให้พืชมีอัตราการเจริญเติบโตลดลงครึ่งหนึ่ง (growth reduction; GR_{50}) โดยการลากเส้นตัดกราฟและสมการเส้นตรงและบันทึกข้อมูลเปอร์เซ็นต์การเกิดลักษณะเปลี่ยนแปลงของพืชที่เกิดขึ้น

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นกระชายดำหลังจากได้รับสารละลายโคลชิซินในสภาพปลอดเชื้อ

หลังจากชิ้นพืชได้รับสารละลายโคลชิซินความเข้มข้น 100 ppm เป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง และเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์กึ่งแข็งสูตร MS เป็นเวลา 30 วัน (รุ่น M_1V_1) พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นพืชของต้นกระชายดำมีแนวโน้มลดลงเมื่อชิ้นพืชได้รับสารละลายโคลชิซินเป็นระยะเวลานานขึ้น ชิ้นพืชที่ไม่ได้รับสารละลายโคลชิซินมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต 100 เปอร์เซ็นต์ และชิ้นพืชที่ได้รับสารละลายโคลชิซินเป็นเวลา 72 ชั่วโมง มีชิ้นพืชที่มีชีวิตจำนวนลดลงเหลือ 12.5 เปอร์เซ็นต์ หลังจากเพาะเลี้ยงชิ้นพืชเป็นเวลา 60 วัน พบชิ้นพืชที่รอดชีวิตจำนวนลดลงโดยเฉพาะชิ้นพืชที่เคยได้รับสารละลาย โคลชิซินเป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบชิ้นพืชที่รอดชีวิตเพียง 8 เปอร์เซ็นต์ (Table 1)

Table 1 Percentage of survival explants after 100 ppm colchicine soaking for 0, 12, 24, 48 and 72 hr and culturing on semi-solid MS medium for 30 and 60 days (M_1V_1)

Period of colchicine treatments (hr)	Survival percentage of explants (%)	
	30d	60d
0	100.0±0.0[a]	100.0±0.0[a]
12	94.0±1.4[b]	81.0±1.4[b]
24	84.5±0.7[c]	71.0±7.0[b]
48	72.0±1.4[d]	44.0±5.7[c]
72	12.5±0.7[e]	8.0±2.8[d]

* Means±SD in the same column followed by different superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

เมื่อนำข้อมูลเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของต้นกระชายดำ มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาที่พืชได้รับสารละลายโคลชิซินและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นพืช เพื่อหาระยะเวลาในการได้รับสารละลายโคลชิซินที่ทำให้ต้นกระชายดำตายเป็นจำนวนครึ่งหนึ่งของชุดควบคุม [50% lethal dose หรือ $LD_{50(60d)}$] เมื่อแทนค่าในสมการ y = ax+b ของกราฟสมการถดถอยเชิงเส้น (linear regression) ที่จุด 0 ถึง 72 ชั่วโมง พบว่าค่า $LD_{50(60d)}$ เท่ากับ 43 ชั่วโมง (Fig. 1)

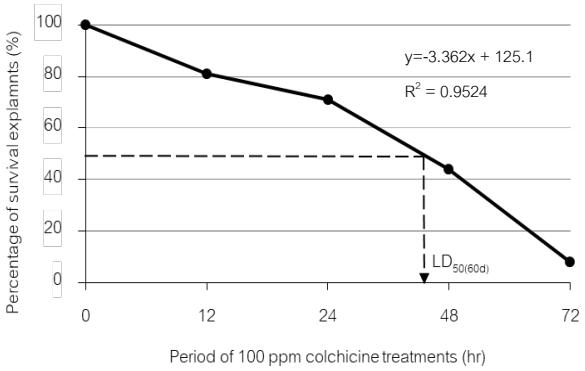


Fig. 1 Relationship between period of 100 ppm colchicine treatments and survival percentage of black ginger after *in vitro* culturing for 60 days

การเจริญเติบโตและการเปลี่ยนแปลงลักษณะของต้นกระชายดำหลังจากได้รับสารละลายโคลชิซินในสภาพปลอดเชื้อ

หลังจากเก็บข้อมูลการรอดชีวิตครบ 60 วัน คัดเลือกต้นที่รอดชีวิตเพาะเลี้ยงต่อไปในสภาพปลอดเชื้อและตัดย้ายเนื้อเยื่อพืชทุก 45 วัน เพื่อสังเกตลักษณะการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นกับลักษณะทางสัณฐานของพืช พบว่าการเจริญเติบโตของกระชายดำในรุ่น M_1V_2 (Table 2) และรุ่น M_1V_3 (Table 3) ส่วนใหญ่มีแนวโน้มอัตราการเจริญเติบโตลดลงตามระยะเวลาที่ได้รับสารละลายโคลชิซินเป็นเวลานานขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกระชายดำที่ไม่ได้รับสารละลายโคลชิซิน การเจริญเติบโตของต้นกระชายดำทั้ง 2 รุ่น มีแนวโน้มอัตราการเจริญเติบโตลดลงที่คล้ายกัน การได้รับสารละลายโคลชิซินไม่ส่งผลกระทบต่อขนาดของความยาวรากของกระชายดำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และทำให้ชิ้นพืชที่ได้รับสารละลายโคลชิซินเป็นเวลานานขึ้นมีการขยายขนาดโคนลำต้นขนาดใหญ่ขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

สารละลายโคลชิซินที่ต้นกระชายดำได้รับเป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ส่งผลให้ต้นกระชายดำในรุ่น M_1V_3 มีอัตราเกิดการเจริญเติบโตที่ลดลงที่ชัดเจนขึ้นกว่ารุ่น M_1V_2 โดยพบว่าเมื่อนำข้อมูลการเจริญเติบโตที่บันทึกได้แก่ จำนวนใบ ขนาดใบ (ความกว้างและความยาว) ความสูงต้น ความกว้างโคนลำต้นเทียม จำนวนราก ความยาวราก และจำนวนยอดใหม่ที่เกิดขึ้น มาคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตเทียบกับชุดควบคุม (0 ชั่วโมง) แต่เนื่องจากการได้รับสารละลายโคลชิซินไม่ส่งผลต่อขนาดความยาวรากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงใช้ข้อมูลเพียง 7 ลักษณะที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 3) มาใช้สร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาที่พืชได้รับสารละลายโคลชิซินและเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของชิ้นพืช เพื่อหาค่า GR_{50} ที่ได้จากข้อมูลการเจริญเติบโตดังกล่าวโดยวิธีลากเส้นตรงตัดกราฟและสมการถดถอยเชิงเส้น พบว่าเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของชิ้นพืชกระชายดำ 6 ลักษณะจากทุกกรรมวิธีของการได้รับสารละลายโคลชิซิน มีค่ามากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ข้อมูลเปอร์เซ็นต์จำนวนยอดใหม่ที่เกิดขึ้นเพียงลักษณะเดียวที่มีค่าลดลงต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อลากเส้นตรงตัดกราฟ ค่า GR_{50} ของต้นกระชายดำรุ่น M_1V_3 เท่ากับ 62 ชั่วโมง หรือเท่ากับ 63.29 ชั่วโมงโดยคำนวณจากสมการถดถอยเชิงเส้น (Fig. 2)

Table 2 Growth of black galingale after 100 ppm colchicine treatments for 0, 12, 24, 48 and 72 hr and 1st subculturing on semi-solid MS medium for 45 days (M_1V_2)

Period of colchicine treatments (hr)	Leaf number (leaf)	Leaf width (cm)	Leaf length (cm)	Plant height (cm)	Stem diameter (cm)	Root number (root)	Root length (cm)	New shoot number (shoot)
0	3.00±0.94^{a}	0.37±0.07^{a}	1.26±0.18^{ab}	2.50±0.18^{a}	0.21±0.06^{b}	4.32±0.70^{a}	1.21±0.15	1.57±0.74^{a}
12	2.90±0.74^{ab}	0.35±0.05^{ab}	1.20±0.13^{ab}	2.25±0.14^{ab}	0.22±0.04^{b}	4.22±0.74^{ab}	1.20±0.11	1.59±0.47^{a}
24	2.80±0.42^{bc}	0.32±0.04^{b}	1.14±0.12^{b}	2.20±0.23^{ab}	0.22±0.09^{b}	4.00±0.82^{b}	1.21±0.19	1.50±0.53^{b}
48	2.70±0.82^{cd}	0.34±0.05^{b}	1.12±0.14^{bc}	2.10±0.19^{bc}	0.26±0.08^{ab}	4.00±0.94^{b}	1.20±0.18	1.10±0.88^{c}
72	2.40±0.84^{d}	0.34±0.07^{b}	1.08±0.08^{c}	2.05±0.17^{c}	0.30±0.08^{a}	3.60±0.07^{bc}	1.16±0.16	0.90±0.74^{c}
F-test	*	*	*	*	*	*	ns	*

* Means±SD in the same column followed by different superscripts are significantly different ($p < 0.05$); ns: not significant

Table 3 Growth of black galingale after 100 ppm colchicine treatments for 0, 12, 24, 48 and 72 hr and 2nd subculturing on semi-solid MS medium for 45 days (M_1V_3)

Period of colchicine treatments (hr)	Leaf number (leaf)	Leaf width (cm)	Leaf length (cm)	Plant height (cm)	Stem diameter (cm)	Root number (root)	Root length (cm)	New shoot number (shoot)
0	3.00±0.94^{a}	0.37±0.05^{ab}	1.31±0.18^{a}	2.47±0.14^{a}	0.23±0.05^{c}	3.94±0.74^{bc}	1.17±0.16	1.45±0.67^{a}
12	3.00±0.82^{a}	0.36±0.07^{ab}	1.25±0.14^{b}	2.31±0.13^{b}	0.24±0.05^{c}	3.91±0.63^{bc}	1.18±0.13	1.48±0.32^{a}
24	2.90±0.57^{ab}	0.36±0.08^{ab}	1.24±0.16^{b}	2.24±0.18^{bc}	0.26±0.10^{ab}	4.20±0.79^{ab}	1.19±0.12	1.40±0.70^{a}
48	2.80±0.63^{b}	0.35±0.07^{b}	1.22±0.19^{b}	2.22±0.15^{bc}	0.30±0.09^{a}	3.50±1.18^{bc}	1.16±0.14	0.90±0.74^{b}
72	2.60±0.70^{c}	0.34±0.04^{b}	1.18±0.18^{c}	2.03±0.17^{c}	0.28±0.08^{ab}	3.10±0.74^{c}	1.14±0.13	0.60±0.52^{b}
F-test	*	*	*	*	*	*	ns	*

* Means±SD in the same column followed by different superscripts are significantly different ($p < 0.05$); ns: not significant

การสังเกตลักษณะของต้นอ่อน พบว่าบางชิ้นพืชหลังจากได้รับสารละลายโคลชิซินเป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมงในระหว่างการเพาะเลี้ยงในสภาพปลอดเชื้อทั้งในรุ่น M_1V_2 และในรุ่น M_1V_3 พบต้นที่เกิดลักษณะบริเวณโคนต้นขยายขนาดมากกว่าปกติ (Fig. 3A) ลักษณะยอดใหม่ด่างขาว (Fig. 3B) และต้นที่มีใบขนาดใหญ่กว่าต้นปกติที่อายุเท่ากัน (Fig. 3C) โดยลักษณะบริเวณโคนต้นขยายขนาดมากกว่าปกติพบในกลุ่มกระชายดำที่ได้รับสารละลายโคลชิซิน 24, 48 และ 72 ชั่วโมงของรุ่น M_1V_2 และในรุ่น M_1V_3 ในช่วง 30 ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ลักษณะยอดใหม่ด่างขาว พบในรุ่น M_1V_2 ของกลุ่มกระชายดำที่ได้รับสารละลายโคลชิซิน 72 ชั่วโมง และพบในรุ่น M_1V_3 ของกลุ่มกระชายดำที่ได้รับสารละลายโคลชิซิน 48 และ 72 ชั่วโมง ส่วนลักษณะใบขนาดใหญ่กว่าต้นปกติที่อายุเท่ากัน พบในรุ่น M_1V_2 ของกลุ่มกระชายดำที่ได้รับสารละลายโคลชิซิน 24, 48 และ 72 และพบในรุ่น M_1V_3 ของกลุ่มกระชายดำที่ได้รับสารละลายโคลชิซิน 48 และ 72 ชั่วโมง (Table 4) และเมื่อวัดความยาวเซลล์ปากใบเปรียบเทียบระหว่างต้นที่มีลักษณะใบใหญ่กว่าต้นปกติที่อายุเท่ากันของใบล่างจำนวน 30 ตัวอย่าง (2 ตัวอย่างต่อต้น) พบว่าเซลล์ปากใบของใบที่มีขนาดใหญ่มีความกว้างและยาวมากกว่าของใบปกติอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 5)

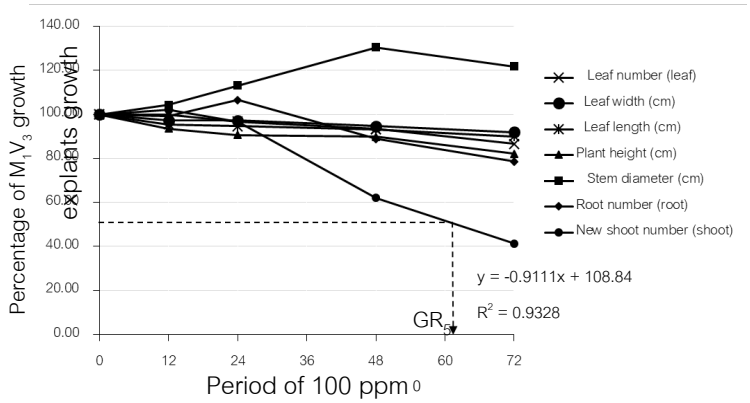


Fig. 2 Relationship between period of 100 ppm colchicine treatments for 0, 12, 24, 48 and 72 hr and percentage of M_1V_3 black galingale explants growth

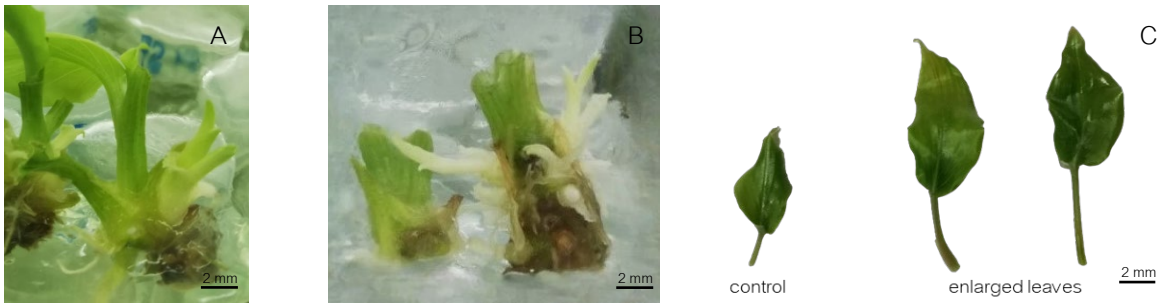


Fig. 3 Morphological characteristic changes after *in vitro* culturing of 100 ppm colchicine treatments of M_1V_2 to M_1V_3 black galingale: enlarged stem (A); albino new shoots (B); enlarged leaves (C)

Table 4 Percentage of three types of morphological characteristic changed M_1V_2 and M_1V_3 plantlets

Period of colchicine treatments (hr)	Percentage of morphological characteristic changed plantlets (%)					
	Enlarged stem		New albino shoot		Enlarged leaf	
	M_1V_2	M_1V_3	M_1V_2	M_1V_3	M_1V_2	M_1V_3
0	0	0	0	0	0	0
12	0	0	0	0	0	0
24	30 (30/100)	35 (28/80)	0	0	1 (1/100)	0
48	42 (35/82)	50 (25/50)	0	18 (15/82)	6 (5/82)	44 (22/50)
72	40 (6/15)	50 (5/10)	40 (6/15)	40 (4/10)	46 (7/15)	40 (4/10)

Number in bracket represents the number of samples per total

Table 5 Comparison of stomata size between control and enlarged leaf samples of *in vitro* M_1V_3 plantlets

Sample	Stomata size (μm)	
	Stomata width (μm)	Stomata length (μm)
Control	2.55±0.22	3.94±0.37
Enlarged leaf	4.06±0.25	5.84±0.48
T-test	*	*

***** Means± SD in the same column are significantly different ($p < 0.05$); n = 30

การเปลี่ยนแปลงของพืชของกระชายดำที่ได้รับสารละลายโคลชิซิน มีขนาดใหญ่กว่าชิ้นพืชที่ไม่ได้รับสารละลายโคลชิซิน สอดคล้องกับรายงานการชักนำโพลีพลอยดีในขิงของ Zhou et al. (2020) ส่วนลักษณะการด่างของยอดใหม่ที่พบ อาจเกิดจากกระบวนการสังเคราะห์คลอโรฟิลล์เกิดความผิดปกติหลังจากได้รับสารโคลชิซิน (Pereira et al., 1997) นอกจากนี้การเกิดความผิดปกติของเซลล์หรือเนื้อเยื่อพืชจากความเป็นพิษสารโคลชิซินซึ่งอาจเกิดอย่างรวดเร็วหรืออาจหลงเหลือความเป็นพิษในเนื้อเยื่อพืชเป็นระยะเวลานานในระหว่างการขยายพันธุ์จึงสามารถพบการตายของชิ้นพืชเพิ่มขึ้นจากการเจริญเติบโตที่ผิดปกติ (Wakachaure and Ganguly, 2016) เช่นเดียวกับบางลักษณะที่พบเปอร์เซ็นต์การเปลี่ยนแปลงของพืชลดลงเนื่องจากการตายของชิ้นพืชที่เพิ่มขึ้นในรุ่น M_1V_3

สรุป

ชิ้นพืชได้รับสารละลายโคลชิซินเป็นระยะเวลา 0, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง แล้วนำไปเพาะเลี้ยงบนอาหารสังเคราะห์กึ่งแข็งสูตร MS เป็นเวลา 60 วัน (รุ่น M_1V_1) พบว่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นพืชมีแนวโน้มลดลงเมื่อได้รับสารละลายโคลชิซินเป็นเวลานานมากขึ้น จากการลากเส้นตรงตัดกราฟความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาที่พืชได้รับสารละลายโคลชิซินและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของชิ้นพืช พบว่า ค่า $LD_{50(60d)}$ เท่ากับ 43 ชั่วโมง จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาที่พืชได้รับสารละลายโคลชิซินและเปอร์เซ็นต์การเจริญเติบโตของชิ้นพืช พบว่า ค่า GR_{50} ของรุ่น M_1V_3 เท่ากับ 63.29 ชั่วโมง พบการเปลี่ยนแปลง 3 ลักษณะในรุ่น M_1V_2 และในรุ่น M_1V_3 ที่ได้รับสารละลายโคลชิซินเป็นระยะเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง

เอกสารอ้างอิง

เต็ม สมิตินันทน์. 2544. ชื่อพรรณไม้แห่งประเทศไทย, พิมพ์ครั้งที่ 2. บริษัทประชาชน จำกัด, กรุงเทพฯ. หน้า 810.

เสริมสกุล พจนการุณ, เชวง แก้วรักษ์. 2546. ทัศนคติ พฤติกรรมการบริโภค และปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์สมุนไพรกระชายดำของผู้บริโภค: กรณีศึกษา อำเภอภูเรือ จังหวัดเลย ใน: การสัมมนาวิชาการเกษตรประจำปี 2546 มหาวิทยาลัยขอนแก่น วันที่ 27–28 มกราคม 2546. ขอนแก่น, หน้า 653–669.

เสริมสกุล พจนการุณ, เชวง แก้วรักษ์. 2547. รวบรวม ศึกษาและคัดเลือกพันธุ์กระชายดำ: องค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระชายดำ. วารสารวิชาการเกษตร 20 (1): 44–45.

เสริมสกุล พจนการุณ,ไชยยง รุจจนเวท. 2547. ความสัมพันธ์ระหว่างสีของเนื้อเหง้ากระชายดำกับฤทธิ์ต้านการเกิดอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 32(4): 270–277.

เสริมสกุล พจนการุณ, เรือนแก้ว ประพฤติ, เชวง แก้วรักษ์, อัมพร ยอดดี. 2547. ศึกษาลักษณะพันธุ์กระชายดำโดยใช้เครื่องหมายโมเลกุล RAPD, ลักษณะทางสัณฐานวิทยา และองค์ประกอบทางเคมีของน้ำมันหอมระเหยจากเหง้ากระชายดำ. การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 42. หน้า 56–64.

เสริมสกุล พจนการุณ. 2549. ความเป็นไปได้ในการผลิตกระชายดำเชิงพาณิชย์. วารสารวิชาการเกษตร 24 (3): 263–287.

วรชาติ ชัยสมบรูณ์พันธุ์, เฌอมาลย์ วงศ์ชาวจันท์. 2566. ผลของการฉายรังสีแกมมาแบบเฉียบพลันต่อการมีชีวิตรอดและการเจริญเติบโตของกระชายดำในสภาพปลอดเชื้อ. การประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 61, 1–3 มีนาคม 2566, กรุงเทพมหานคร, ประเทศไทย.

Madani, H., Hosseini, B., Karimzadeh, G., Rahimi, A. 2019. Enhanced thebaine and noscapine production and modulated gene expression of tyrosine/dopa decarboxylase and salutaridinol 7-O-acetyltransferase genes in induced autotetraploid seedlings of *Papaver bracteatum* Lindl. Acta Physiol. Plant. 41: 1–12.

Murashige, T., Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bio-assays with tobacco tissue cultures. Physiol. Plant. 15: 473–497.

Pereira, T.N., Ilarslan, H., Palmer, R.G. 1997. Genetic and cytological analyses of three lethal ovule mutants in soybean (*Glycine max*; Leguminosae). Genome 40: 273–285.

Pojanagaroon, S., Kaewrak, C. 2003. Varietal selection of collected Krachai-Dam (*Kaempferia parviflora* Wall.) rhizomes by using the preference of Krachai-Dam products' distributors and sellers. p. 401–407. In: Proceedings of the international conference on biodiversity and bioactive compounds, 17–19 July 2003, Pattaya, Thailand, p. 561.

Rathod, A.D., Patil, S.R., Taksande, P.N., Karad, G.W., Kalamkar, V.B., Jayade, V.S. 2018. Effect of colchicine on morphological and biometrical traits in African marigold. J. Soils Crops 28: 72–80.

Shmeit, Y.H., Fernandez, E., Novy, P., Kloucek, P., Orosz, M., Kokoska, L. 2020. Autopolyploidy effect on morphological variation and essential oil content in *Thymus vulgaris* L. Sci. Hortic. 263: 109095. https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.109095.

Sutthanut, K., Sripanidkulchai, B., Yenjai, C., Jay, M. 2007. Simultaneous identification and quantitation of 11 flavonoid constituents in *Kaempferia parviflora* by gas chromatography. J. Chromatogr. A. 1113(1): 227–233.

Talebi, S.F., Saharkhiz, M.J., Kermani, M.J., Sharafi, Y., Fard, R.F. 2017. Effect of different antimitotic agents on polyploid induction of anise hyssop (*Agastache foeniculum* L.). Caryologia 70: 184–193.

Wakachaure, R., Ganguly, S. 2016. Chromosomal polyploidy: A brief review. Pha. Biol. Eval. 3: 510–512.

Zhou, J., Guo, F., Fu, J., Xiao, Y., Wu, J. 2020. *In vitro* polyploid induction using colchicine for *Zingiber Officinale* Roscoe cv. 'Fengtou' ginger. Plant Cell, Tissue and Organ Cult. 142: 87–94.

ผลของความเร็วรอบและระยะเวลาพ่นสารเคลือบต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์เชียงใหม่ 84-2

Effect of coating speed and spraying time on seed quality in vegetable soybean var. Chiangmai 84-2

พรนิภา ถาโน[a,*], **ศิรากานต์ ขยันการ**[a], **วราลักษณ์ บุญมาชัย**[b], **สุมนา จำปา**[b]

Pornnipa Thano[a,*], Sirakan Khayankarn[a], Waraluk Boonmachai[b], Sumana Jumpa[b]

[a]ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50230

[b]ศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50290

[a]Chiang Mai Royal Agricultural Research Center, Chiang Mai 50230, Thailand

[b]Chiang Mai Plant Seed Research and Development Center, Chiang Mai 50290, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: Phornnipa.pt@gmail.com

บทคัดย่อ

การเคลือบเมล็ดพันธุ์เป็นวิธีการที่ใช้อย่างแพร่หลายในการผลิตเมล็ดพันธุ์พืชเพื่อจำหน่ายทางการค้า แต่เทคโนโลยีดังกล่าวเป็นความลับของบริษัทผู้ถือครองสิทธิ์ไม่สามารถเปิดเผยได้ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเร็วรอบและระยะเวลาพ่นสารเคลือบต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์ เชียงใหม่ 84-2 สำหรับนำวิธีการไปประยุกต์ใช้ร่วมกับจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์จำนวน 9 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ดังนี้ ไม่เคลือบเมล็ด เคลือบเมล็ดด้วย 0.1%w/w CMC ที่ความเร็วรอบ 70 และ 90 รอบต่อนาที แต่ละความเร็วรอบใช้ระยะเวลาพ่นสารเคลือบที่ 0 3 5 และ 7 วินาที จากการศึกษาพบว่า ความเร็วรอบและระยะเวลาพ่นสารเคลือบไม่มีผลต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์ แต่มีผลต่อความแตกร้าวและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ โดยความเร็วรอบที่ 70 รอบต่อนาที และระยะเวลาการพ่นสารเคลือบที่ 5 วินาที มีเปอร์เซ็นต์ความแตกร้าวของเมล็ดพันธุ์ที่ 4.25% ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีควบคุม และมีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงที่ 52.00% ดังนั้น จึงเป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับประยุกต์ใช้ในการเคลือบเมล็ดร่วมกับจุลินทรีย์ปฏิปักษ์

คำสำคัญ: การเคลือบเมล็ด ความเร็วรอบ คุณภาพเมล็ดพันธุ์ ระยะเวลาพ่นสาร

Abstract

Seed coating method for maintaining seed quality is extensively methods which apply for seed commercial. But the technology is companies trade secret which cannot be disclosed. The objective of this research was studied coating speed and time to spray polymer affected to seed quality in vegetable soybean var. Chiangmai 84-2, for applying the conditions to combine with microbial antagonists. This experiment was designed in CRD with 9 treatments, 4 replications. The nine treatments were applied in this research that consist of non-coated seed, coated seeds with 0.1%w/w CMC at coating speeds 70 and 90 rpm. Each method of seed coating was applied the spraying times at 0, 3, 5 and 7 seconds. The results showed that coating speeds and time to spray polymer were not affected to seed germination, but it was affected to seed cracking and seed vigor. Coating speed at 70 rpm and spraying time 5 seconds, the cracking percentage was 4.25% that non-significant difference from control and the accelerated aging percentage was 52.00%. Thus, this condition was suitable method to apply for coating and combining with antagonistic microbial.

Keywords: Coating speed, Seed coating, Seed quality, Spraying times

คำนำ

การเคลือบเมล็ดพันธุ์พัฒนามาจากการคลุกเมล็ดร่วมกับสารเคมีเพื่อป้องกันการเข้าทำลายจากโรคทางดินซึ่งเป็นวิธีที่เกษตรกรสัมผัสกับสารเคมีโดยตรง และปัจจุบันเทคโนโลยีการเคลือบเมล็ดพันธุ์ยังเป็นความลับทางการค้าของบริษัทผู้ถือครองสิทธิ์ไม่สามารถเปิดเผยได้ (จักรพงษ์, 2562) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเร็วรอบและระยะเวลาในการพ่นสารเคลือบที่เหมาะสมของเครื่องเคลือบเมล็ดพันธุ์ระบบโรตารีต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์ เชียงใหม่ 84-2 โดยใช้ Sodium carboxymethyl cellulose (CMC) เป็นสารเคลือบ รอบการเคลือบต่อครั้งอยู่ที่ 8–10 นาที ขณะเคลือบมีระบบเป่าลมแห้ง เพื่อลดความชื้น ควบคุมการทำงานด้วยระบบดิจิทัล เพื่อนำความเร็วรอบและระยะเวลาในการพ่นสารเคลือบที่ได้มาประยุกต์ใช้ในการเคลือบเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดร่วมกับจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ในการป้องกันโรคในระยะต้นกล้าของถั่วเหลืองฝักสดต่อไปได้ นอกจากนี้ คุณภาพของเมล็ดพันธุ์ ถือเป็นปัจจัยสำคัญที่สุดในการผลิตพืช เนื่องจากมีผลต่อกระบวนการผลิต ซึ่งคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ขึ้นอยู่กับความแข็งแรงในช่วงการเจริญเติบโตของต้นพืชชนิดนั้น ๆ รวมถึงขั้นตอนของการเก็บเกี่ยวและหลังการเก็บรักษา (จักรพงษ์, 2562) ซึ่งการปลูกถั่วเหลืองฝักสดในฤดูฝนมักพบปัญหาเรื่องโรคทางดินที่มีสาเหตุมาจากเชื้อรา ได้แก่ *Sclerotium rolfsii* และ *Fusarium oxysporum* ซึ่งส่งผลให้ผลผลิตลดลง (Brunda, 2018) ทั้งนี้ถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีการเสื่อมของคุณภาพเมล็ดพันธุ์อย่างรวดเร็ว เมื่อเทียบกับเมล็ดพันธุ์พืชอื่น ๆ เนื่องจากเมล็ดมีน้ำมันและโปรตีนเป็นองค์ประกอบ นอกจากนี้ปัจจัยทางสภาพแวดล้อมระหว่างการพัฒนาจนถึงการสุกแก่ของเมล็ด รวมไปถึง การเก็บเกี่ยว การจัดการหลังการเก็บเกี่ยว การเก็บรักษา ความแตกต่างของสายพันธุ์ โครงสร้างและขนาดที่แตกต่างกันก็มีผลต่อการเสื่อมของคุณภาพได้ (ละอองดาว และคณะ, 2550) คาร์บอกซิเมทิลเซลลูโลสหรือซีเอ็มซี (carboxymethyl cellulose, CMC) หรือโซเดียมคาร์บอกซิเมทิลเซลลูโลส (sodium carboxymethylcellulose) เป็นพอลิเมอร์ธรรมชาติที่ได้มาจากกระบวนการทางเคมีของเซลลูโลสจนได้ผงเม็ดโพลีเมอร์และนิยมนำมาใช้ในการเคลือบเมล็ดพันธุ์ หรือกระบวนการห่อหุ้ม และควบคุมการปลดปล่อยของสารออกฤทธิ์อื่น ๆ ด้วยคุณสมบัติที่เป็นสารเพิ่มความหนืดช่วยในการยึดเกาะและเป็นสารคงสภาพไม่มีกลิ่น ไม่มีรส ไม่เป็นอันตรายและไม่มีผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม อีกทั้งยังสามารถละลายน้ำได้ดี (De Camargo et al., 2017) จากการศึกษาพอลิเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับการเคลือบเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมที่ศึกษาโดย จักรพงษ์ และคณะ (2559) พบว่าการเคลือบเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอมด้วย CMC อัตรา 0.8 กรัม ผสมรวมกับ PVP-K-90 อัตรา 1 กรัม ทำให้เมล็ดพันธุ์มีความงอกดีที่สุด ทั้งหลังการเคลือบและหลังการเก็บรักษานาน 6 เดือน และจากการทดสอบสารเคลือบด้วยว่านหางจระเข้ต่อความงอก ความแข็งแรงและการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวโพดหวาน เปรียบเทียบกับ สารเคลือบทางการค้า สารเคลือบ CMC และ สารสกัดว่านหางจระเข้ พบว่า สารเคลือบทั้ง 4 ชนิด ส่งผลต่อการงอกรากและความเร็วในการงอกรากไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบ (จักรพงษ์ และคณะ, 2563) ทั้งนี้เครื่องเคลือบเมล็ดพันธุ์ที่นิยมใช้มีอยู่ด้วยกัน 2 ประเภท คือ เครื่องเคลือบเมล็ดพันธุ์แบบฉีดพ่น และเครื่องเคลือบเมล็ดพันธุ์แบบจานหมุน ซึ่ง ธิดารัตน์ และคณะ (2565) ได้ศึกษาผลของการเคลือบด้วยเครื่องเคลือบแบบจานหมุนต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดไร่หลังการเก็บรักษา พบว่า ความเร็วรอบในการเคลือบเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดไม่มีผลต่อความงอก แต่ที่ระดับความเร็วรอบ 151 รอบต่อนาที ส่งผลให้เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดมีความแข็งแรงลดลง 10%

อุปกรณ์และวิธีการ

ได้รับความอนุเคราะห์เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์ เชียงใหม่ 84-2 ที่ปลูกในช่วงฤดูแล้ง (ปลูกเดือนธันวาคม 2565 เก็บเกี่ยวเดือน มีนาคม 2566) มีความงอกเฉลี่ยก่อนนำมาทดสอบ 83.75% รวมทั้งอุปกรณ์ และสถานที่ในการดำเนินงานวิจัยครั้งนี้ จากศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชเชียงใหม่ กองวิจัยพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร

1. การทดสอบความเร็วรอบ และระยะเวลาในการฉีดสารที่เหมาะสมต่อการเคลือบ

ทดสอบความเร็วรอบ และระยะเวลาในการพ่นสารของเครื่องเคลือบเมล็ดพันธุ์ระบบโรตารี ระบบพ่นฝอยบนผิวนอกเมล็ดพันธุ์ ด้วยหัวฉีด 2 หัว รอบการเคลือบต่อครั้งการผลิตอยู่ที่ 8–10 นาที ขณะเคลือบมีระบบเป่าลมแห้ง เพื่อลดความชื้น และควบคุมการทำงานด้วยระบบดิจิทัล วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design: CRD จำนวน 9 กรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ดังนี้ เมล็ดไม่เคลือบ (ชุดควบคุม) เมล็ดเคลือบด้วย 0.1%w/w CMC ที่ความเร็วรอบ 70 และ 90 รอบต่อนาที โดยแต่ละความเร็วรอบใช้ระยะเวลาพ่นสารเคลือบที่ 0 3 5 และ 7 วินาที โดยใช้เมล็ดพันธุ์อัตรา 1 กิโลกรัมต่อ 0.1%w/w CMC (จักรพงษ์ และคณะ, 2564) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำเมล็ดพันธุ์มาลดความชื้นในสภาพอุณหภูมิห้องให้มีความชื้นใกล้เคียงกับความชื้นของเมล็ดพันธุ์ก่อนการเคลือบ (10–12%) แล้วจึงนำเมล็ดไปตรวจสอบคุณภาพของเมล็ดพันธุ์หลังการเคลือบ

2. การตรวจสอบคุณภาพเมล็ดพันธุ์

2.1 การตรวจสอบความแตกร้าวของเมล็ดพันธุ์

ตรวจสอบความแตกร้าวโดยวิธีอินดอกซิล อะซิเตท (Indoxyl acetate test) โดยการสุ่มเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดในแต่ละกรรมวิธี จำนวน 4 ซ้ำ ซ้ำละ 100 เมล็ด แช่ในสารละลายอินดอกซิล อะซีเตท ที่ความเข้มข้น 0.1% (ละลายสาร Indoxyl acetate 1 กรัม ใน 95% ethyl alcohol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ให้ครบ 1000 มิลลิลิตร) เป็นเวลา 5–10 วินาที เทสารละลายออก ผึ่งให้แห้งด้วยกระดาษเพาะ 4–5 นาที ที่อุณหภูมิ 43°C จากนั้นนำเมล็ดที่ผึ่งแล้วใส่ขวดแก้ว แล้วนำสำลีชุบแอมโมเนียให้ชุ่ม ใส่ลงในขวดแก้ว โดยไม่ให้สำลีสัมผัสกับเมล็ดพันธุ์โดยตรง ปิดฝาให้สนิท แอมโมเนียจะทำปฏิกิริยากับอินดอกซิล อะซีเตท ที่เข้าไปสู่รอยแตกร้าวของเมล็ดพันธุ์ รอยแตกร้าวจะปรากฏสีน้ำเงินเขียว บันทึกจำนวนเมล็ดที่ติดสี (*ภภัสสร* และคณะ, 2560)

2.2 การตรวจสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์หลังเคลือบในสภาพห้องปฏิบัติการ

สุ่มเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสด กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 100 เมล็ด ที่มาทดสอบความงอกโดยวิธีเพาะทราย โดยนำมาเพาะในทรายที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 200°C เป็นเวลา 6 hr จากนั้นนำบ่มในตู้เพาะความงอกที่อุณหภูมิสลับ 20<=> 30°C ความชื้นสัมพัทธ์ 90% ตรวจนับความงอกหลังการเพาะครั้งแรกที่ 5 วัน (First count) และนับครั้งสุดท้าย 8 วันหลังเพาะ (Final count) นับต้นอ่อนปกติที่มีระบบรากสมบูรณ์ ลำต้นตั้งตรง และมีใบเลี้ยงสีเขียว 2 ใบ โดยนำมาประเมินผลการตรวจสอบความงอกตามวิธีของ ISTA (2023) และคำนวณเปอร์เซ็นต์ความงอกของเมล็ดพันธุ์ (%) (Equation 1)

$$\text{Percentage of germination (\%)} = \frac{\text{No. of normal seedlings}}{\text{No. of total seeds}} \times 100 \quad (1)$$

2.3 การตรวจสอบความงอกภายหลังการเร่งอายุ (ความแข็งแรง)

สุ่มเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดกรรมวิธีละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 100 เมล็ด วางบนตะแกรงแล้วใส่ในกล่องพลาสติกที่ปิดฝาสนิท จากนั้นนำไปบ่มในตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 41°C เป็นเวลา 72 hr ที่ความชื้นสัมพัทธ์ 98±2% จากนั้นนำไปทดสอบความงอกตามวิธีมาตรฐานด้วยวิธีการเพาะทราย

3. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลคุณภาพเมล็ดพันธุ์หลังการเคลือบ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดสอบความแตกร้าวในเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดหลังการเคลือบโดยการย้อมด้วยสารละลายอินดอกซิลอะซีเตทที่ความเข้มข้น 0.1% หากเมล็ดพันธุ์ไม่มีความแตกร้าวจะย้อมไม่ติดสี Fig. 1A แต่หากเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดมีรอยร้าวจะพบการติดสีน้ำเงินเขียวตามบริเวณรอยร้าวที่เกิดขึ้นแสดงตาม Fig. 1B และเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความแตกร้าวของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสด (Table 1) หลังการทดสอบทุกกรรมวิธีมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยการเคลือบเมล็ดพันธุ์ด้วยความเร็วรอบ 70 รอบต่อนาที ที่ระยะเวลาการพ่นสารเคลือบ 0 และ 5 วินาที และความเร็วรอบ 90 รอบต่อนาที ระยะเวลาการพ่นสารเคลือบ 0 3 และ 7 วินาที มีผลทำให้เมล็ดพันธุ์มีความแตกร้าวไม่แตกต่างกันทางสถิติจากชุดควบคุมที่ 3.75% 4.25% 5.25% 5.50% และ 5.00% ตามลำดับ ในขณะที่การเคลือบที่ความเร็วรอบ 70 รอบต่อนาที และระยะเวลาพ่นสารเคลือบ 0 และ 3 วินาที มีผลทำให้ความแตกร้าวในเมล็ดพันธุ์ต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ โดยการเคลือบเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดด้วยความเร็วรอบ 70 รอบต่อนาที ระยะเวลาพ่นสารเคลือบ 3 วินาที และความเร็วรอบ 90 รอบต่อนาที ระยะเวลาพ่นสารเคลือบ 5 วินาที ส่งผลให้ความแตกร้าวของเมล็ดพันธุ์สูงถึง 10.00% และ 8.75% ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ อย่างไรก็ตาม การใช้ระยะเวลาพ่นสารเคลือบน้อย ส่งผลให้จำนวนรอบจนหมดสารเคลือบมีจำนวนเพิ่มขึ้น แต่การใช้ระยะเวลาในการพ่นสารเคลือบนาน ส่งผลให้เปลือกหุ้มเมล็ดเหี่ยวย่นและเกิดรอยร้าวบริเวณเยื่อหุ้มเมล็ดได้ โดยความแตกร้าวที่เกิดขึ้นนั้น ส่งผลต่อความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์หลังการเคลือบ แต่ไม่ส่งผลต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ อารมณ์ (2533) ที่พบว่ารอยแตกร้าวที่เกิดขึ้นของเยื่อหุ้มเมล็ดพันธุ์ หรือรอยแตกร้าวที่ไม่ลึกหรือไม่รุนแรงมาก ไม่มีความสัมพันธ์กับความงอกของเมล็ดพันธุ์ แต่มีผลทำให้ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ อีกทั้ง เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองมีเยื่อหุ้มเมล็ดบาง และมีตำแหน่งของ radicle-hypocotyl นูนออกมา เมื่อนำมาทำการเคลือบ ส่งผลให้เมล็ดพันธุ์มีโอกาสแตกร้าวได้ง่าย ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการสูญเสียความมีชีวิตและความแข็งแรง (อารมย์, 2544) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการทดลองของ ธิดารัตน์ และคณะ (2565) ทำการศึกษาวิธีการเคลือบเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด โดยความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ที่เคลือบด้วยความเร็วรอบ 151 รอบต่อนาที ซึ่งเป็นความเร็วรอบสูงที่สุดในการเคลือบ หลังเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 6 เดือน พบว่ามีเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงลดลง 10% เมื่อเทียบกับกรรมวิธีอื่น ๆ

จากการทดสอบความงอกของเมล็ดพันธุ์หลังการเคลือบ พบว่าทุกกรรมวิธีไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงให้เห็นว่าความเร็วรอบและระยะเวลาในการพ่นสารเคลือบไม่มีผลต่อความงอก นอกจากนี้ การใช้ CMC เป็นพอลิเมอร์ในการเคลือบไม่ส่งผลกระทบต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดพันธุ์ เชียงใหม่ 84-2 อีกด้วย (Table 1) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ De Camargo et al. (2017) ที่ศึกษาคุณภาพทางสรีรวิทยาของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองที่เคลือบด้วย CMC ร่วมกับสารเคมีป้องกันเชื้อรา ดำเนินการทดสอบกับเมล็ดถั่วเหลืองจำนวน 2 พันธุ์ พบว่า ความงอกของเมล็ดพันธุ์ทั้ง 2 พันธุ์ มีค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ความงอกไม่แตกต่างกันทางสถิติกับเมล็ดพันธุ์ที่เป็นชุดควบคุม และจากการศึกษาของ ธมลวรรณ และคณะ (2558) ที่ศึกษาเกี่ยวกับชนิดและความเข้มข้นของวัสดุประสานที่มีผลต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ยาสูบพอก พบว่า เมล็ดพันธุ์ที่พอกด้วย CMC ที่ระดับความเข้มข้น 0.05% (w/v) เมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้พอก และเมล็ดพันธุ์ที่พอกด้วย Polyacrylamide (PAM) ระดับเข้มข้น 0.15% (w/v) มีค่าดัชนีการงอกสูงที่สุด

จากการทดสอบความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดหลังจากการเคลือบด้วย 0.1% w/w CMC ที่ระดับความเร็วรอบ และระยะเวลาในการพ่นสารที่แตกต่างกัน พบว่าความเร็วรอบในการเคลือบเมล็ดพันธุ์ และระยะเวลาในการพ่นสารเคลือบมีผลต่อความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์หลังการเคลือบที่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ โดยความเร็วรอบที่ 70 รอบต่อนาที ระยะเวลาพ่นสารเคลือบ 0 วินาที เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดมีเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงที่ 80.50% ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่มีเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงที่ 82.50% รองลงมาคือการเคลือบด้วยความเร็วรอบ 90 รอบต่อนาที ใช้เวลาพ่นสารเคลือบนาน 0 วินาที มีเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงที่ 74.00% และการเคลือบเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดด้วยความเร็วรอบ 70 รอบต่อนาที ระยะเวลาในการพ่นสารเคลือบ 3 และ 5 วินาที และความเร็วรอบที่ 90 รอบต่อนาที ใช้เวลาพ่นสารเคลือบนาน 5 วินาที มีเปอร์เซ็นต์ความแข็งแรงที่ 48.75% 52.00% และ 47.50% ตามลำดับ (Table 1) จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าเมล็ดพันธุ์ที่ไม่ได้รับความชื้นจากการพ่นสารเคลือบ (การใช้ระยะเวลาในการพ่นสารเคลือบ 0 วินาที) มีความแข็งแรงมากกว่าเมล็ดพันธุ์ที่ได้รับความชื้นจากการพ่นสารเคลือบ CMC ที่ความเร็วรอบในการเคลือบเท่ากัน โดยความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์นั้น นอกจากระยะการสุกแก่ของเมล็ดที่เก็บเกี่ยวแล้ว สภาพแวดล้อมที่เก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ยังส่งผลต่อความแข็งแรงของด้วยเช่นกัน ซึ่งเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสดที่นำมาทดสอบนี้ มีระดับของความชื้นที่ 10.01% เมื่อได้รับความชื้นจากการพ่นสารเคลือบ ที่อุณหภูมิ 45°C ระหว่างการเคลือบ แล้วนำไปผึ่งในร่มให้ความชื้นลดลงอยู่ในระดับ 10–12% จึงส่งผลให้ความแข็งแรงลดลง เนื่องจากเนื้อเยื่อของเมล็ดเกิดการหดตัวและขยายตัวอย่างรวดเร็ว ทำให้เมล็ดย่นและเกิดรอยร้าวขึ้น ซึ่งส่งผลให้ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ลดลง (อารมย์, 2544) และสอดคล้องกับการรายงานของธิดารัตน์ และคณะ (2566) ที่ได้รายงานว่า เมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 ที่เคลือบด้วยความเร็วรอบ 151 รอบต่อนาที ส่งผลให้ความแข็งแรงต่ำกว่าเมล็ดที่ไม่เคลือบ และเมล็ดที่เคลือบด้วยด้วยความเร็วรอบ 76 และ 117 รอบต่อนาที ทั้งนี้ การศึกษาดังกล่าวยังได้สรุปไว้ว่า การเคลือบเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์ เชียงใหม่ 60 ด้วยเครื่องเคลือบแบบจานหมุนรุ่น PHT 1 ควรใช้ความเร็วรอบที่ 76 รอบต่อนาที จึงจะไม่ส่งผลต่อความงอกและความแข็งแรงทั้งหลังการเคลือบและการเก็บรักษา แม้ว่าการพ่นสารเคลือบที่ระยะเวลาต่าง ๆ มีผลกระทบต่อความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสด แต่การเคลือบเมล็ดเป็นวิธีการที่สามารถนำมาประยุกต์ใช้ร่วมกับการเคลือบเมล็ดด้วยจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ หรือสารเคมี ซึ่งมีประสิทธิภาพในการป้องกันและยับยั้งเชื้อสาเหตุโรคทางดินได้ ดังนั้นวิธีการดังกล่าวจึงสามารถประยุกต์ใช้กับถั่วเหลืองหรือพืชชนิดอื่น ๆ ได้ เช่นเดียวเดียวกับการทดลองของสุนทรีพร และคณะ (2556) รายงานว่าเมล็ดถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9 ที่เคลือบและคลุกด้วยสารเคมีป้องกันและกำจัดโรคทั้ง 5 กรรมวิธี มีความงอกในไร่แตกต่างกัน เมล็ดที่ไม่เคลือบไม่คลุกสารมีความงอกในไร่สูงกว่าเมล็ดที่เคลือบด้วยพอลิเมอร์ผสมสารเคมีป้องกันโรคเน่าขาว แต่เมล็ดที่เคลือบด้วยพอลิเมอร์ผสมสารเคมีป้องกันโรคมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคโคนเน่าขาวต่ำกว่าเมล็ดที่ไม่เคลือบไม่คลุกสารซึ่งมีเปอร์เซ็นต์การเกิดโรคโคนเน่าขาวมากที่สุด

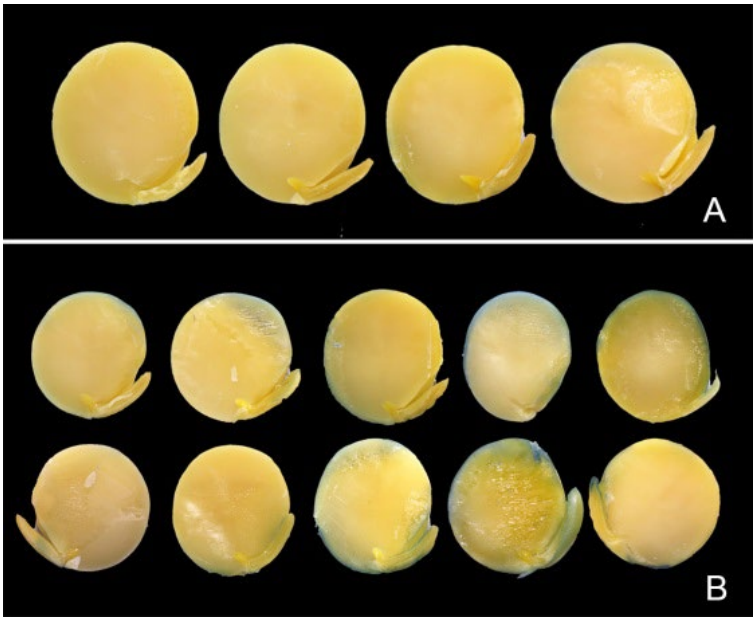


Fig. 1 Vegetable soybean seed cv. Chiangmai 84-2 dyed with 0.1% indoxyl acetate: none cracking seed (A); cracking seed (B)

Table 1 Effect of coating speeds and spraying times on seed cracking, seed germination and germination after accelerated aging in vegetable soybean var. Chiangmai 84-2

Treatment	Analysis of seed quality at laboratory conditions		
	Seed cracking (%)	Seed germination (%)	Germination after accelerated aging (%)
Control	1.75±0.75^{d}	83.75±1.49	82.50±3.50^{a}
70 rpm+0 sec	3.75±1.03^{cd}	81.75±2.56	80.50±1.50^{ab}
70 rpm+3 sec	10.00±1.41^{a}	84.25±1.75	48.75±1.37^{cd}
70 rpm+5 sec	4.25±1.31^{cd}	83.50±1.25	52.00±2.16^{c}
70 rpm+7 sec	6.75±1.18^{abc}	83.25±1.79	36.00±1.15^{e}
90 rpm+0 sec	5.25±1.60^{bcd}	84.50±1.44	74.00±4.54^{b}
90 rpm+3 sec	5.50±1.19^{bcd}	84.25±1.31	42.00±2.94^{de}
90 rpm+5 sec	8.75±2.01^{ab}	83.75±1.31	47.50±2.21^{cd}
90 rpm+7 sec	5.00±1.22^{bcd}	83.00±2.48	39.50±2.21^{e}
F-test	*	ns	*
CV (%)	47.49	4.25	9.36

ns = not significantly different, *significantly different at $p \leq 0.05$

Means within a column followed by the same letter are not significantly at $p \leq 0.05$ by DMRT

สรุป

จากการทดสอบระดับของความเร็วรอบ และระยะเวลาการพ่นสารเคลือบ โดยใช้เครื่องเคลือบเมล็ดพันธุ์ระบบโรตารีต่อความแตกร้าว ความงอก และความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสด พันธุ์เชียงใหม่ 84-2 พบว่าความเร็วรอบ และระยะเวลาในการพ่นสารเคลือบ CMC ไม่มีผลต่อความงอกของเมล็ดพันธุ์ แต่มีผลต่อความแตกร้าว และความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ โดยการพ่นสารเคลือบ CMC ความเข้มข้น 0.1%w/w ที่ระดับของความเร็วรอบ 70 รอบต่อนาที และระยะเวลาพ่นสารเคลือบ 5 วินาที หยุดพักพ่นสารเคลือบระหว่างรอบ 10 วินาที เป่าลมแห้ง 45°C เป็นวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้เคลือบเมล็ดพันธุ์ร่วมกับจุลินทรีย์ปฏิปักษ์ เพื่อป้องกันโรคทางดินในระยะต้นกล้าของถั่วเหลืองฝักสดได้ ทั้งนี้ เพื่อป้องกันการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองฝักสด เมื่อเคลือบเมล็ดร่วมกับจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เสร็จแล้ว ควรนำไปปลูกทันที

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) สำหรับแหล่งทุนสนับสนุนงานวิจัยในโครงการวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตเมล็ดพันธุ์พืชไร่บางชนิดในระบบเกษตรอินทรีย์ ศูนย์วิจัยเกษตรหลวงเชียงใหม่ สถาบันวิจัยพืชสวน และศูนย์วิจัยและพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืชเชียงใหม่ กองวิจัยพัฒนาเมล็ดพันธุ์พืช กรมวิชาการเกษตร สถานที่สำหรับการดำเนินงานวิจัยของโครงการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

จักรพงษ์ กางโสภา, พสธร สมโภชน์, สมใจ ยศศรี, เพชรรัตน์ จี้เพชร. 2564. การเปลี่ยนแปลงความงอกและการเจริญเติบโตของต้นกล้าถั่วเหลืองหลังการเคลือบเมล็ดด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์ *Bacillus thuringiensis* และ *Beauveria bassiana*. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 6(1): 62–70.

จักรพงษ์ กางโสภา, เพชรรัตน์ จี้เพชร, สุรีมาศ จันต๊ะอินทร. 2563. ผลของสารเคลือบว่านหางจระเข้ต่อความงอก ความแข็งแรง และการเจริญเติบโตของต้นกล้าข้าวโพดหวาน. วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร. 39(1): 13–27.

จักรพงษ์ กางโสภา, มนวิภา ศิริเวช, บุญมี ศิริ. 2559. พอลิเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับการเคลือบเมล็ดพันธุ์ผักกาดหอม. แก่นเกษตร 44 ฉบับพิเศษ. 1: 362–367.

จักรพงษ์ กางโสภา. 2562. การเคลือบเมล็ดพันธุ์. วารสารผลิตกรรมการเกษตร 1(2):63–76.

ธมลวรรณ พรมอ้น, ประณิธิพร เอมโอฐ, ชมนาด สวาสดิ์มิตร, สงวนศักดิ์ ธนาพรพูนพงษ์. 2558. ชนิดและความเข้มข้นของวัสดุประสานที่มีผลต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ยาสูบพอก. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 46(3/1(พิเศษ)): 97–100.

ธิดารัตน์ แก้วคำ, จุฑามาศ เชื้อลิ้นฟ้า, สุทธิดา กำเนิดทอง. 2566. ผลของความเร็วรอบในการเคลือบและระยะเวลาการเก็บรักษาต่อคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง. วารสารผลิตกรรมการเกษตร. 5(2):97–105.

ธิดารัตน์ แก้วคำ, ทองลา ภูคำวงศ์, ยงยุทธ ข้ามสี่, จักรพงษ์ พิมพ์พิมล, ดวงใจ น้อยวัน. 2565. ผลของการเคลือบด้วยเครื่องเคลือบแบบจานหมุนต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดไร่หลังการเก็บรักษา. วารสารแก่นเกษตร (พิเศษ 1): 501–507.

ภภัสสร วัฒนกุลภาคิน, กัณทิมา ทองศรี, ศุภลักษณ์ สัตยสมิตสถิต, จิระ สุวรรณประเสริฐ. 2560. ผลของความแตกร้าวต่อความงอกและความแข็งแรงเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลือง. ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการเมล็ดพันธุ์พืชแห่งชาติ ครั้งที่ 14. สมาคมเมล็ดพันธุ์แห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ หน้า 226–232.

ละอองดาว แสงหล้า, สิทธิ์ ประดับแดง, จิดาภา ประดับแดง, คงศักดิ์ กำแหงสงคราม, เสวต เจริญกาศ. 2550. ผลของลักษณะทางกายภาพที่มีต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองพันธุ์/สายพันธุ์ต่าง ๆ. วารสารวิชาการเกษตร. 25(2): 166–176.

สุนทรีพร ศรีสมบุญ, จวงจันทร์ ดวงพัตรา, อมรา ชินภูติ, สราวุธ รุ่งเมฆารัตน์. 2556. ผลของการใช้สารป้องกันกำจัดเชื้อราเคลือบและคลุกเมล็ดพันธุ์ที่มีผลต่อความงอกในไร่ การเจริญเติบโต และการให้ผลผลิตของถั่วลิสงพันธุ์ไทนาน 9. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 51: สาขาพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. หน้า 521–528.

อารมย์ ศรีพิจิตต์. 2533. ผลของการลดความชื้นเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองด้วยซิลิกาเจลที่มีต่อการติดสีของ TTC ความงอก ความแข็งแรง และการแตกร้าวของเยื่อหุ้มเมล็ด. วารสารวิทยาสารเกษตรศาสตร์ 24(2):167–175.

อารมย์ ศรีพิจิตต์. 2544. อิทธิพลของระยะสุกแก่และการลดความชื้นต่อความงอก ความแข็งแรง และการรั่วไหลของเมล็ดพันธุ์ถั่วเหลืองในระหว่างการเก็บรักษา. วารสารวิชาการเกษตร 19(1): 58–70.

Brunda, K.S., Shamarao, J., K. DN. 2018. Antagonistic activity of bacterial endophytes against major soilborne pathogens of soybean. J. Entomol. Zool. Stud. 6(6): 43–46.

De Camargo, F.R.T., Silva, I.L., Barros, P.J.R., et al. 2017. Physiological quality of soybean seeds treated with carboxymethyl cellulose and fungicide. Am. J. Plant Sci. 8: 2748–2757. doi: 10.4236/ajps.2017.811185

ISTA. 2023. International rules for seed testing. International Seed Testing Association, Wallisellen, Switzerland.

ผลของระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่มีต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม SG1×NSG2

Effect of harvesting time on seed quality of field corn hybrid SG1×NSG2

ชัญญภัทร น้อยผา[a], **ประเสริฐ ถาหล้า**[b], **ชัยสิทธิ์ ทองจู**[c], **กนกวรรณ เที่ยงธรรม**[a] **จุฑามาศ ร่มแก้ว**[a,*]

Chanyapat Noipha[a], Prasert Thala[b], Chaisit Thongjoo[c], Kanokwan Teingtham[a] Jutamas Romkaew[a,*]

[a]ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

[b]ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปากช่อง นครราชสีมา 30320

[c]ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

[a]Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

[b]National Corn and Sorghum Research Center, Faculty of Agriculture, Kasetsart University Nakhon Ratchasima 30320, Thailand

[c]Department of Soil Science, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: agrjur@ku.ac.th

บทคัดย่อ

ระยะเวลาเก็บเกี่ยวมีผลต่อความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ จึงได้มีการศึกษาผลของระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่มีต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม SG1×NSG2 วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ จำนวน 4 ซ้ำ เก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 9 ระยะ ตั้งแต่ 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 และ 60 วันหลังออกไหม ผลการทดลองพบว่า เมื่อระยะเวลาเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น มีผลทำให้น้ำหนัก 100 เมล็ด ความงอกในกระดาษเพาะและทราย ดัชนีการงอก ความแข็งแรงโดยวิธีการเร่งอายุ ความยาวยอดและความยาวราก น้ำหนักแห้งของต้นกล้า ดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้า และอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญสถิติ ในขณะที่ ความชื้นเมล็ดพันธุ์ขณะเก็บเกี่ยว เวลาเฉลี่ยในการงอก และค่าการนำไฟฟ้าลดลง เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม SG1×NSG2 มีระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมที่ 55 วันหลังออกไหม โดยมีความชื้นของเมล็ดขณะเก็บเกี่ยว 29.3 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนัก 100 เมล็ด 29.6 กรัม ความงอก 98 เปอร์เซ็นต์ และความแข็งแรงโดยวิธีการเร่งอายุ 94 เปอร์เซ็นต์

คำสำคัญ : การสุกแก่ทางสรีรวิทยา, การผลิตเมล็ดพันธุ์, คุณภาพเมล็ดพันธุ์, ระยะเวลาเก็บเกี่ยว

Abstract

Harvesting time affects to germination and vigor of field corn seeds. Therefore, the effect of harvesting time on seed quality of hybrid field corn seed of SG1×NSG2 was studied. The experiment was arranged in a completely randomized design with four replications. Hybrid field corn seeds were harvested at 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 and 60 days after silking. The results revealed that as harvesting time increased, 100 seed weight, germination between paper and sand, germination index, vigor by accelerated aging (AA), shoot and root lengths, seedling dry weight, seedling vigor index and seedling growth rate significantly increased. While, seed moisture content at harvesting, mean germination time and electrical conductivity decreased. Hybrid field corn SG× NSG2 had optimum harvesting time at 55 days after silking with moisture content at harvesting of 29.3%, 100 seed weight of 29.6 g, germination of 98% and vigor by AA of 94%.

Keywords: Harvest time, Physiological maturity, Seed production, Seed quality

คำนำ

ขณะที่เมล็ดกำลังพัฒนา เมล็ดมีการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสรีรวิทยาที่สำคัญทั้งความชื้นเมล็ดพันธุ์ น้ำหนักแห้งของเมล็ด ความงอกและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ รวมถึงการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมีและชีวเคมีของเมล็ด (จวงจันทร์, 2529) เมื่อเข้าสู่ระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา (physiological maturity) เมล็ดพันธุ์มีน้ำหนักแห้งสูงสุด ถ้าเก็บเกี่ยวพืชในระยะนี้จะได้เมล็ดพันธุ์ที่มีความงอกและความแข็งแรงสูง หากเก็บเกี่ยวล่าช้า เมล็ดพันธุ์มีโอกาสเสื่อมคุณภาพ (seed deterioration) เนื่องจากสภาพแวดล้อมมีผลต่อการเสื่อมคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ ระยะเวลาเก็บเกี่ยวเป็นระยะเวลาวิกฤตในการผลิตเมล็ดพันธุ์พืช เป็นปัจจัยสำคัญต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ทั้งความงอกและความแข็งแรง การเก็บเกี่ยวในระยะเวลาที่เหมาะสมช่วยลดการสูญเสียผลผลิตและเมล็ดพันธุ์ยังคงมีคุณภาพที่ดี การเก็บเกี่ยวเร็วได้เมล็ดพันธุ์อ่อนทำให้ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ต่ำ หากเก็บเกี่ยวช้าเกินไป ทำให้เกิดการสูญเสียผลผลิตและเมล็ดพันธุ์มีการเสื่อมคุณภาพ เนื่องจากเมล็ดพันธุ์ได้รับความเสียหายจากแมลงหรือเชื้อรา หรือฝนตกหนักระหว่างการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว (Orihara and Akiyama, 2018) ดังนั้นระยะเวลาการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมเป็นสิ่งที่ควรได้รับการพิจารณา เพื่อกำหนดระยะเวลาเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์ (Macrobert et al., 2014) การเกิด black layer หรือการพัฒนาของ milk line จะมีความสัมพันธ์กับการสุกแก่ทางสรีรวิทยา การสะสมน้ำหนักแห้งของเมล็ด และสามารถใช้เป็นดัชนีบ่งบอกถึงระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา โดยการสะสมน้ำหนักแห้งสูงสุด และข้าวโพดจะมีความชื้นของเมล็ดขณะสุกแก่ ตั้งแต่ 35.0 เปอร์เซ็นต์ (Carter and Poneleit, 1973) อย่างไรก็ตาม ระยะเวลาเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดนั้นแตกต่างกันขึ้นกับชนิด สายพันธุ์/พันธุ์ และสภาพแวดล้อม จากการศึกษาของ Gu et al. (2017) พบว่า ระยะเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์ XY335 และ ZD958 คือ 57.97 และ 56.8 วันหลังผสมเกสร โดยมีระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมเร็วกว่าระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา 5 วัน และจากการศึกษาของ Ajayi and Fakorede (2000) พบว่า การเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์ Oba Supa 1 และ Oba Supa 2 ที่อายุ 45 และ 48 วันหลังการไหมมีความงอกและความแข็งแรงสูงกว่าเมล็ดพันธุ์ที่ได้จากการเก็บเกี่ยวเร็วหรือช้า

ดังนั้นข้อมูลการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพ และสรีรวิทยา จากแต่ละระยะการพัฒนาของเมล็ด จึงเป็นสิ่งที่จำเป็นสำหรับการพิจารณาช่วงเวลาการเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์ที่จะคงคุณภาพไว้สูงสุด แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาผลของระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่มีต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมที่ผลิตจากคู่ผสมระหว่างสายพันธุ์แท้ SG1×NSG2 ซึ่งกำลังจะขึ้นทะเบียนพันธุ์ ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่มีต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม SG1×NSG2

อุปกรณ์และวิธีการ

ผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม SG1×NSG2 ที่แปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา เริ่มดำเนินการตั้งแต่เดือนพฤษภาคม ถึงเดือนกันยายน ปี 2566 วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (completely randomized design; CRD) จำนวน 9 ทรีตเมนต์ 4 ซ้ำ คือ ระยะเวลาเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมที่อายุ 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 และ 60 วันหลังออกไหม ในการผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม SG1×NSG2 นั้น เตรียมพื้นที่ปลูกโดยไถ 2 ครั้ง ได้แก่ ไถดะด้วยผาล 3 จำนวน 1 ครั้ง และไถแปรด้วยผาล 7 จำนวน 1 ครั้ง ก่อนปลูกใส่ปุ๋ยรองพื้น สูตร 15-15-15 อัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่ ปลูกเมล็ดพันธุ์สายพันธุ์แท้ที่ใช้เป็นแม่ SG1 และสายพันธุ์แท้ที่ใช้เป็นพ่อ NSG2 กำหนดสัดส่วนระหว่างแถวของสายพันธุ์แท้แม่ต่อพ่อ คือ 4:1

แถว ๆ ยาว 3 เมตร ระยะปลูก 0.60×0.20 เมตร จำนวน 2 เมล็ดต่อหลุม ให้น้ำแบบสปริงเกอร์ทันทีหลังปลูก ฉีดพ่นสารควบคุมวัชพืชก่อนข้าวโพดงอกหลังจากให้น้ำครั้งแรกด้วย เพนดิเมทาลิน (pendimethalin) อัตรา 700 มิลลิลิตร ผสมน้ำ 80 ลิตรต่อไร่ ร่วมกับอาทราซีน (atrazine) อัตรา 640 กรัมต่อไร่ ผสมน้ำ 80 ลิตรต่อไร่ เมื่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์งอกได้ประมาณ 14 วันหลังปลูก ถอนแยกให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุม ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 40 กิโลกรัมต่อไร่ ที่ 25–30 วันหลังปลูก ฉีดพ่นสารเคมีกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ด้วยคลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) อัตรา 10–40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เมื่อพบว่ามีการเข้าทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ในระดับตามความรุนแรงของการเข้าทำลาย เมื่อสายพันธุ์แท้พันธุ์แม่เริ่มทยอยแทงช่อดอกตัวผู้ (tassel) ถอดช่อดอกตัวผู้ (detassel) ของสายพันธุ์แท้พันธุ์แม่ SG1 ก่อนที่ดอกตัวผู้จะบาน ปล่อยให้มีการผสมข้ามพันธุ์ตามธรรมชาติโดยต้นสายพันธุ์แม่ได้รับละอองเกสรจากแถวสายพันธุ์พ่อ เก็บเกี่ยวเมื่อไหมของสายพันธุ์แม่ยาวประมาณ 2 เซนติเมตร

บันทึกข้อมูลคุณภาพเมล็ดพันธุ์ ได้แก่ น้ำหนัก 100 เมล็ด ความชื้นเมล็ดพันธุ์ขณะเก็บเกี่ยว ตรวจสอบโดยวิธี hot-air oven ความงอกของรากแรกเกิด ความงอกมาตรฐาน ตามวิธีของ ISTA (2020) ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ประเมินจากค่าความแข็งแรงโดยวิธีการเร่งอายุเมล็ดพันธุ์ดัดแปลงจากวิธีของ AOSA (1983) ดัชนีการงอกตามวิธีของ Copeland and McDonald (1995) เวลาเฉลี่ยในการงอกตามวิธีของ Ellis and Roberts (1981) ความยาวยอดและรากตามวิธีของ AOSA (1983) น้ำหนักแห้งของต้นกล้า ดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้า อัตราการเจริญของต้นกล้า และค่าการนำไฟฟ้า ดัดแปลงจากวิธีของ AOSA (1983)

วิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) เพื่อหาค่า F-test และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของคุณภาพเมล็ดพันธุ์ด้วยวิธี Least significant difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ วิเคราะห์การถดถอยแบบเส้นตรง (linear regression analysis) และสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (correlation coefficient) ระหว่างระยะเวลาเก็บเกี่ยวและคุณภาพเมล็ดพันธุ์ โดยใช้ R version 4.0.2 (R Core Team, 2021)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ระยะเวลาเก็บเกี่ยวมีผลทำให้ความชื้นเมล็ดพันธุ์ขณะเก็บเกี่ยว น้ำหนัก 100 เมล็ด ความงอก และความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์โดยวิธีการเร่งอายุแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อระยะเวลาเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น ความชื้นเมล็ดพันธุ์ขณะเก็บเกี่ยว และค่าการนำไฟฟ้าลดลง ในขณะที่ น้ำหนัก 100 เมล็ด ความงอก และความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์โดยวิธีการเร่งอายุเพิ่มขึ้น โดยเมล็ดพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวที่ 20 วันหลังออกไหม มีความชื้นเมล็ดพันธุ์ขณะเก็บเกี่ยว 66.4 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บเกี่ยวที่ 60 วันหลังออกไหม ความชื้นเมล็ดพันธุ์ขณะเก็บเกี่ยวลดลงเหลือ 24.8 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ น้ำหนัก 100 เมล็ด เพิ่มขึ้นจาก 7.2 กรัม จนกระทั่งสูงสุด (29.6 กรัม) ที่ 55 วันหลังออกไหม และลดลงเหลือ 29.4 กรัม ที่ 60 วันหลังออกไหม (Table 1) แสดงให้เห็นว่าการพัฒนาของเมล็ดหลังที่ได้รับการผสมเกสรจำเป็นต้องรักษาความชื้นภายในเมล็ด เพื่อให้เกิดกิจกรรมทางสรีรวิทยาต่าง ๆ ที่มีผลต่อการพัฒนาของต้นอ่อน กิจกรรมอาหารสะสม และการพัฒนาของเปลือกหุ้มเมล็ด กิจกรรมทางสรีรวิทยาที่สำคัญต่อการเปลี่ยนแปลง ความชื้นและน้ำหนักแห้งของเมล็ด ได้แก่ กิจกรรมการสะสมอาหารไว้ในเมล็ด ในช่วงแรกของระยะพัฒนาการที่ 6 ถึง 12 DAS ภายในเมล็ดมีปริมาณน้ำตาลสูง จากนั้นน้ำตาลจะเปลี่ยนไปเป็นแป้งสะสมในเนื้อเยื่อสะสมอาหาร ทำให้น้ำหนักแห้งเมล็ดเพิ่มขึ้น และจะเพิ่มสูงสุดในระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยาของเมล็ด จากนั้นน้ำหนักแห้งของเมล็ดจะคงที่ (Leroux et al., 2014) การสะสมอาหารในเมล็ดนั้น มาจากการที่ข้าวโพดมีการสังเคราะห์แสงและเคลื่อนย้ายอาหารจากใบไปยังเมล็ด จึงมีผลทำให้การสะสมอาหารในเมล็ดเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการ

พัฒนาของเมล็ด การเคลื่อนย้ายอาหารสะสมจากต้นแม่ไปยังเมล็ดสิ้นสุดลงที่ระยะสุกแก่ทางสรีรวิทยา ทำให้เมล็ดพันธุ์มีการสะสมอาหารและมีน้ำหนักแห้งสูงสุด (จวงจันทร์, 2529) แต่ในขณะที่น้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้นความชื้นภายในเมล็ดกลับลดลง ทั้งนี้การลดลงของความชื้นภายในเมล็ดจะเปลี่ยนแปลงไปตามปัจจัยทางสภาพแวดล้อมในแปลงผลิตเมล็ดพันธุ์ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Guan et al. (2013) ในข้าวโพดหวานลูกผสม 3 พันธุ์ ได้แก่ Chaotian 2018, Chaotian No.3 และ Shuyu No.1 มีการสะสมน้ำหนักแห้งสูงสุด แตกต่างกันที่ระยะ 34, 38 และ 38 DAS ตามลำดับ

เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม SG1×NSG2 มีความงอกทั้งในกระดาษเพาะและทราย และความแข็งแรงโดยวิธีการเร่งอายุเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้นจาก 20 เป็น 60 วันหลังออกไหม อย่างไรก็ตาม เมล็ดพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวตั้งแต่ 35 ถึง 60 วันหลังออกไหม มีความงอกไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีความงอกสูงกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์โดยวิธีการเร่งอายุสูงตั้งแต่ระยะเก็บเกี่ยว 55 วันหลังออกไหม โดยมีความแข็งแรงสูงกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ (Table 1) ยกเว้นที่ระยะเก็บเกี่ยว 30 วันหลังออกไหม ที่มีความงอกและความแข็งแรงต่ำที่สุด เนื่องจากขณะเก็บเกี่ยวมีฝนตก ความชื้นในบรรยากาศสูงทำให้เมล็ดพันธุ์มีเชื้อราเข้าทำลาย การที่เมล็ดพันธุ์มีความงอกและความแข็งแรงเพิ่มขึ้น มีผลมาจากเมล็ดพันธุ์มีการสะสมน้ำหนักแห้งเพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Gu et al. (2017) ที่พบว่า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์ XY335 และ ZD958 มีความงอกและแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น ในขณะที่ ระยะเวลาเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น ส่งผลให้เมล็ดพันธุ์มีความงอกและความแข็งแรงเพิ่มขึ้น แต่ค่าการนำไฟฟ้าของเมล็ดลดลงจาก 825.8 เหลือ 48.5 μS/cm/g (Table 1) จะเห็นได้ว่า การเก็บเกี่ยวเมล็ดพันธุ์เร็ว ทำให้ได้เมล็ดพันธุ์อ่อนที่ยังสะสมอาหารไม่เต็มที่และเซลล์เมมเบรนยังไม่แข็งแรง เมื่อนำมาตรวจสอบค่าการนำไฟฟ้าจึงพบว่า เมล็ดพันธุ์มีการรั่วไหลของสารมากกว่าเมล็ดพันธุ์ที่สุกแก่ จึงมีผลทำให้ค่าการนำไฟฟ้าสูง เช่นเดียวกับเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม Dekalb 6589, Bolson และ Cadiz ที่เก็บเกี่ยวเร็ว มีค่าการนำไฟฟ้าสูงกว่าเมล็ดพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวช้า (Konuskan et al., 2020)

นอกจากนี้ ระยะเวลาเก็บเกี่ยวมีผลทำให้ความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ที่ประเมินด้วยความเร็วในการงอก ทั้งดัชนีการงอก และเวลาเฉลี่ยในการงอก รวมถึงการเจริญเติบโตของต้นกล้าที่ประเมินด้วยน้ำหนักแห้งของต้นกล้า ดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้า และอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าแตกต่างกันทางสถิติ กล่าวคือ ระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่เพิ่มขึ้น มีผลทำให้ดัชนีการงอกเพิ่มขึ้น แต่เวลาเฉลี่ยในการงอกลดลง จะเห็นได้ว่า เมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงโดยวิธีการเร่งอายุสูงมีค่าดัชนีการงอกสูงด้วย เมล็ดพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวเร็วที่ 20–25 วันหลังออกไหม มีดัชนีการงอก 1.6–7.6 ใช้เวลาเฉลี่ยในการงอก 4.0–4.6 วัน แต่เมล็ดพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวตั้งแต่ 35–60 วันหลังออกไหม มีดัชนีในการงอก 15.0–16.3 ใช้เวลาเฉลี่ยในการงอก 3.0–3.3 วัน (Table 2) ดังนั้น เมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงสูง จะมีดัชนีการงอกสูง สามารถงอกได้เร็วและใช้เวลาในการงอกน้อยกว่าเมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงต่ำ สอดคล้องกับ สิริพร และคณะ (2566) ที่พบว่า เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานสายพันธุ์แท้ Bt01 และ Bt02 ที่มีความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์เพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาเก็บเกี่ยวเพิ่ม มีผลทำให้ดัชนีการงอกเพิ่มขึ้น และเวลาเฉลี่ยในการงอกลดลง

Table 1 Seed moisture content, 100 seed weight, germination between paper, germination by sand, vigor by accelerated aging (AA), electrical conductivity of field corn hybrid SG1×NSG2 seeds as affected by harvesting time in rainy season 2023

Harvesting time (days after silking)	Seed moisture content (%)	100 seed weight (g)	Germination between paper (%)	Germination by sand (%)	Vigor by AA (%)	Electrical conductivity (μS/cm/g)
20	66.4	7.2	28.5	13.5	3.0	825.8
25	59.1	11.0	79.0	58.5	48.0	512.0
30	49.6	15.4	4.5	14.5	0.5	200.1
35	46.0	20.5	97.5	97.0	88.0	104.2
40	42.3	24.5	97.0	96.5	78.5	58.7
45	36.5	27.0	98.5	98.5	83.5	51.2
50	34.4	28.6	97.0	98.0	84.0	57.7
55	29.3	29.6	98.0	99.0	94.0	43.6
60	24.8	29.4	98.0	99.0	98.5	48.5
F-Test	**	**	**	**	**	**
$LSD_{0.05}$	2.4	0.5	3.8	5.4	5.4	59.38
CV (%)	4.7	1.74	3.4	5.0	5.8	19.4

** = significantly different at $p \leq 0.01$

Means in the same column with different are significantly different at $p \leq 0.05$ by LSD

สำหรับการประเมินความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ นอกจากการประเมินความเร็วในการงอกแล้ว ยังสามารถประเมินจากการเจริญเติบโตของต้นกล้าได้อีกด้วย จะเห็นได้ว่า ระยะเวลาเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น เมล็ดพันธุ์ที่มีความแข็งแรงสูงก็จะมีความยาวยอดและราก น้ำหนักแห้งของต้นกล้า ดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้า และอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าเพิ่มขึ้นเช่นกัน โดยเมล็ดพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวเร็วที่ 20–30 วันหลังออกไหม มีความยาวยอดและราก น้ำหนักแห้งของต้นกล้า ดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้า และอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าต่ำกว่าเมล็ดพันธุ์ที่เก็บเกี่ยวตั้งแต่ 35–60 วันหลังออกไหม (Table 2)

Table 2 Germination index, mean germination time, shoot and root length, seedling dry weight, seedling vigor index and seedling growth rate of field corn hybrid SG1×NSG2 seeds as affected by harvesting time in rainy season 2023

Harvesting time (days after silking)	Germination index	Mean germination time (day)	Shoot length (cm)	Root length (cm)	Seedling dry weight (mg/plant)	Seedling vigor index	Seedling growth rate (mg/plant)
20	1.6	4.6	0.2	2.5	2.3	2.5	24.8
25	7.6	4.0	3.7	10.2	12.8	84.5	47.7
30	2.0	4.0	0.7	3.3	6.0	7.1	66.3
35	15.0	3.3	16.8	25.0	63.0	708.7	149.9
40	16.0	3.1	14.8	23.4	72.5	755.0	163.5
45	16.2	3.1	13.5	20.7	64.0	945.3	195.1
50	16.1	3.1	15.7	24.7	82.8	1062.4	221.8
55	16.2	3.1	16.1	25.5	86.5	1285.9	262.8
60	16.3	3.0	15.4	26.3	82.5	1590.2	324.0
F-Test	**	**	**	**	**	**	**
$LSD_{0.05}$	0.9	0.3	1.2	1.8	6.16	0.01	50.3
CV (%)	5.0	6.7	7.7	6.8	8.1	26.8	21.4

** = significantly different at $p \leq 0.01$

Means in the same column with different are significantly different at $p \leq 0.05$ by LSD

จากการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาเก็บเกี่ยวกับคุณภาพเมล็ดพันธุ์ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม SG1×NSG2 พบว่า ระยะเวลาเก็บเกี่ยวมีสหสัมพันธ์ตามกันกับน้ำหนัก 100 เมล็ด ความงอกในกระดาษเพาะและทราย ดัชนีการงอก ความแข็งแรงโดยวิธีการเร่งอายุ ความยาวยอดและความยาวราก น้ำหนักแห้งของต้นกล้า ดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้า และอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้า โดยมีค่า r = 0.9593, 0.6668, 0.7817, 0.8189, 0.8158, 0.8076, 0.8341, 0.9049, 0.9713 และ 0.9814 ตามลำดับ (Table 3) แสดงให้เห็นว่า เมื่อระยะเวลาเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น มีผลทำให้น้ำหนัก 100 เมล็ด ความงอกในกระดาษเพาะและทราย ดัชนีการงอก ความแข็งแรงโดยวิธีการเร่งอายุ ความยาวยอดและความยาวราก น้ำหนักแห้งของต้นกล้า ดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้า และอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าเพิ่มขึ้น ในขณะที่ ระยะเวลาเก็บเกี่ยวมีสหสัมพันธ์ตรงกันข้ามกับความชื้นเมล็ดพันธุ์ขณะเก็บเกี่ยว เวลาเฉลี่ยในการงอก และค่าการนำไฟฟ้า โดยมีค่า r = -0.9874, -0.8827 และ -0.8042 ตามลำดับ (Table 3) แสดงว่า เมื่อระยะเวลาเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น ความชื้นของเมล็ดพันธุ์ขณะเก็บเกี่ยว เวลาเฉลี่ยในการงอก และค่าการนำไฟฟ้าลดลง สอดคล้องกับ สิริพร และคณะ (2566) ที่ศึกษาผลของระยะเวลา เก็บเกี่ยวที่มีต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานสายพันธุ์แท้ Bt01 และ Bt02 พบว่า เมื่อระยะเวลาเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น ความงอกและความแข็งแรงโดยวิธีการเร่งอายุเพิ่มขึ้น ในขณะที่ ความชื้นเมล็ดพันธุ์ขณะเก็บเกี่ยวและค่าการนำไฟฟ้าลดลง

Table 3 Regression analysis and correlation coefficient between harvesting times and seed quality during development of SG1×NSG2 seeds in rainy season 2023

Parameters	Regression equations	Correlation coefficient (r)
Seed moisture content	Y_1 = 82.58222–0.98567X	-0.9874**
100 seed weight	Y_2 = -2.20000+0.59167X	0.9593**
Germination between paper	Y_3 = 8.0889+1.7367X	0.6668*
Germination by sand	Y_4 = -9.3222+2.1067X	0.7817*
Germination index	Y_5 = -3.3111+0.3800X	0.8189**
Mean germination time	Y_6 = 4.957778–0.037000X	-0.8827**
Vigor by accelerated aging	Y_7 = -26.7778+2.2750X	0.8158**
Shoot length	Y_8 = -5.8600+0.4157X	0.8076**
Root length	Y_9 = -5.9911+0.5987X	0.8341**
Seedling dry weight	Y_{10} = -40.3778+2.3217X	0.9049**
Seedling vigor index	Y_{11} = -924.560+41.007X	0.9713**
Seedling growth rate	Y_{12} = -131.3400+7.3277X	0.9894**
Electrical conductivity	Y_{13} = 858.295–16.175X	-0.8042**

สรุป

เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมที่ได้จากการผลิตเมล็ดพันธุ์ระหว่างสายพันธุ์แท้ SG1 เป็นสายพันธุ์แม่ และสายพันธุ์แท้ NSG2 เป็นสายพันธุ์พ่อ โดยใช้สัดส่วนสายพันธุ์แม่ต่อพ่อ 4:1 แถว ในฤดูฝน ปี 2566 เมื่อมีระยะเวลาเก็บเกี่ยวแตกต่างกันนั้น สรุปได้ว่า ระยะเวลาเก็บเกี่ยวเพิ่มขึ้น มีผลทำให้น้ำหนัก 100 เมล็ด ความงอกในกระดาษเพาะและทราย ดัชนีการงอก ความแข็งแรงโดยวิธีการเร่งอายุ ความยาวยอดและความยาวราก น้ำหนักแห้งของต้นกล้า ดัชนีความแข็งแรงของต้นกล้า และอัตราการเจริญเติบโตของต้นกล้าเพิ่มขึ้น แต่มีความชื้นของเมล็ดพันธุ์ขณะเก็บเกี่ยว เวลาเฉลี่ยในการงอก และค่าการนำไฟฟ้าลดลง ระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่เหมาะสม คือ 55 วันหลังออกไหม มีความชื้นเมล็ดพันธุ์ขณะเก็บเกี่ยว 29.3 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนัก 100 เมล็ด 29.6 กรัม ความงอก 98.0 เปอร์เซ็นต์ และความแข็งแรงโดยวิธีการเร่งอายุ 94.0 เปอร์เซ็นต์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน จังหวัดนครปฐม และศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์สำหรับการวิจัย

เอกสารอ้างอิง

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2529. เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์. กลุ่มหนังสือเกษตร, กรุงเทพฯ.

สิริพร พูลเต็ม, กนกวรรณ เที่ยงธรรม, บุบผา คงสมัย, จุฑามาศ ร่มแก้ว. 2566. ผลของระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่มีต่อคุณภาพเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดหวานสายพันธุ์แท้ขณะเก็บรักษา. ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 20. วันที่ 7-8 ธันวาคม 2566. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. นครปฐม, หน้า 106–114.

Ajayi, S.A., Fakorede, M.A.B. 2000. Physiological maturity effects on seed quality, seedling vigor and mature plant characteristics of maize in a tropical environment. Seed Sci. Technol. 28: 301–319.

AOSA. 1983. Seed vigor testing handbook. Contribution no. 32. Association of Official Seed Analysts. Lincon, Nebraska, NE, USA.

Carter, M.W., Poneleit, C.G. 1973. Black layer maturity and filling period variation among inbred lines of corn (*Zea mays L.*). Crop Sci. 13: 436–439.

Copeland, L.O., McDonald, M.B. 1995. Seed Science and Technology. Champan & Hall. New York, NY, USA.

Ellis, R.H., Roberts, E.H. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Sci. Technol. 9: 373–409.

Gu, R., Li, L., Liang, X., Wang, Y., Fan, T., Wang, Y., Wang, J., Gu, R., Li, L., Liang, X., Wang, Y., Fan, T., Wang, Y. 2017. The ideal harvesting time for seeds of hybrid maize (*Zea mays* L.) XY335 and ZD958 produced in multiple environments. Sci. Rep. 7: 17537. doi: 10.1038/s41598-017-16071-4

Guan, Y.J., Hu, J., Wang, Z., Zhu, S., Wang, J., Knapp, A. 2013. Time series regression analysis between changes in kernel size and seed vigor during developmental stage of sh2 sweet corn (*Zea mays* L.) seeds. Sci. Hortic. 154: 25–30.

ISTA. 2020. International rules for seed testing 2020. International Seed Testing Association. Bassesdorf, Switzerland.

Konuskan, Ö., Gozubenli, H., Barutcular, C., Hossain, A., Islam, M.S., El Sabagh, A. 2020. The effects of early harvesting on the seed vigour of three corn (*Zea mays* L.) hybrids based on germination characteristics. Appl. Ecol. Environ. Res. 19(2): 1123–1134.

Leroux, B.M., Goodyke, A.J., Schumacher, K.I., Abbott, C.P., Clore, A.M., Yadegari, R., Dannenhoffer, J.M. 2014. Maize early endosperm growth and development: From fertilization through cell type differentiation. Am. J. Bot. 101: 1259–1274.

Macrobert, J.F., Setimela, P., Gethi, J., Regasa, M. 2014. Maize hybrid seed production manual. CIMMYT, Mexico.

Orihara, K., Akiyama, K. 2018. The proper harvest time for ensiling the immature silage corn (*Zea mays* L.) seeded in summer. J. Grassl. Sci. 64: 108–111.

R Core Team. 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, Austria.

ผลของอัตราปุ๋ยฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 3 ที่ปลูกในดินเหนียว จังหวัดชัยนาท

Effects of phosphate fertilizer rate on growth and yield of Chai Nat 3 mung bean variety grown in clay soil at Chai Nat Province

นุชนาฏ ตันวรรณ[a], **สายน้ำ อุดพ้วย**[a,*], **สมฤทัย ตันเจริญ**[a], **ชัชธนพร เกื้อหนุน**[a], **วิลัยรัตน์ แป้นแก้ว**[b]

Nutchanart Tanwan[a], Sainam Udpuay[a*], Somrutai Tancharoen[a] Chattanaporn Kernoon[a], Wilairat Pankaew[b]

[a]กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900

[b]ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท กรมวิชาการเกษตร ชัยนาท 17150

[a]Agricultural Production Sciences Research and Development Office, Department of Agriculture, Bangkok 10900, Thailand

[b]Chai Nat Field Crops Research Center, Department of Agriculture, Chai Nat 17150, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: sainam.udpuay@gmail.com

บทคัดย่อ

ฟอสฟอรัสเป็นธาตุอาหารหลักที่มีความสำคัญต่อการผลิตถั่วเขียว การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโต การดูดธาตุอาหารของพืช และผลผลิตของถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 3 ในดินเหนียว จังหวัดชัยนาท วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก (Randomized complete block design; RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ ประกอบด้วย 5 กรรมวิธี (ปุ๋ยฟอสเฟต 5 ระดับ) ได้แก่ 0, 1.5, 3, 4.5 และ 6 กก.P_2O_5/ไร่ โดยใส่ปุ๋ยไนโตรเจนและปุ๋ยโพแทชตามค่าวิเคราะห์ดิน คือ 9 กก.N/ไร่ และ 3 กก.K_2O/ไร่ ในทุกกรรมวิธี ผลการศึกษา พบว่า การใช้ปุ๋ยฟอสเฟตอัตราแตกต่างกันทำให้ถั่วเขียวมีจำนวนเมล็ดต่อฝักแตกต่างกันทางสถิติ แต่ไม่มีผลให้ความสูงต้น ผลผลิต การดูดธาตุอาหารของพืช และสมบัติของดินหลังปลูกแตกต่างกัน นอกจากนั้นการประเมินประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตของถั่วเขียวแสดงให้เห็นว่าการใส่ปุ๋ยฟอสเฟตในอัตรา 1.5 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ เนื่องจากให้ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจมากที่สุด

คำสำคัญ: ธาตุฟอสฟอรัส, ประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยฟอสเฟต, ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน, ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

Abstract

Phosphorus plays a crucial role as a macronutrient for the production of mung beans. The research aimed to investigate the effects of phosphate fertilizers on the growth, primary nutrient uptake and yield of mung bean (Chainat–3 variety) in clay soil at Chai Nat province. The experiment was designed in Randomized complete block design (RCBD) with three replications. There are five levels of phosphate fertilizers (0, 1.5, 3, 4.5, and 6 kg P_2O_5/rai), and all treatments were applied to nitrogen and potash fertilizers based on soil tests at 9 kg N/rai and 3 kg K_2O/rai, respectively. The results showed that using different rates of phosphate fertilizer significantly affected the number of seeds per pod. However, there were no significant differences in plant height, grain yield, primary nutrient uptake, and soil properties after planting. In addition, an evaluation of the efficiency of phosphate fertilizer use on mung beans showed that the application of 1.5 kgP_2O_5/rai provided the highest economic return.

Keywords: Economic return, Fertilizer recommended rate, Phosphorus, Phosphorus use efficiency

คำนำ

ถั่วเขียว (*Vigna radiata* (L.) Wilczek) เป็นพืชตระกูลถั่วที่มีความสำคัญในระบบปลูกพืช ปีการผลิต 2565/2566 ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกถั่วเขียว 701,931 ไร่ มีผลผลิตเฉลี่ย เท่ากับ 151 กิโลกรัมต่อไร่ และคิดเป็นผลผลิตรวมทั้งสิ้น 105,689 ตัน จากความต้องการใช้ที่มีมากถึง 111,124 ตัน โดยจังหวัดที่เป็นแหล่งปลูกที่สำคัญ ได้แก่ เพชรบูรณ์ สุโขทัย นครสวรรค์ ชัยนาท และสระบุรี (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566) โดยจังหวัดชัยนาทมีพื้นที่ปลูกถั่วเขียวถึง 30,748 ไร่ และมีผลผลิตเฉลี่ย 109 กิโลกรัมต่อไร่ (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2562) ถั่วเขียวเป็นพืชเพาะปลูกง่าย นำมาใช้ประโยชน์ได้แทบทุกส่วน เช่น เมล็ดสามารถนำมาใช้เป็นอาหาร และต้นถั่วที่ถูกไถกลบยังช่วยเพิ่มอินทรียวัตถุให้แก่ดิน (สันติภาพ, 2527) นอกจากนี้พืชวงศ์ถั่วมักมีจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการตรึงไนโตรเจนจากอากาศมาใช้ประโยชน์ได้ (Sadeghipour et al., 2010) โดย เนตรนภา และคณะ (2564) รายงานว่าถั่วเขียวที่มีการขาดธาตุไนโตรเจน กลับส่งเสริมการสร้างปมรากเพิ่มมากขึ้น อาจเนื่องจากมีเชื้อไรโซเบียมในธรรมชาติเจริญร่วมได้ดีกับรากถั่วเขียวที่ได้รับปุ๋ยไนโตรเจนต่ำ โดยถั่วเขียวถือเป็นพืชอายุเก็บเกี่ยวประมาณ 65–70 วัน มีความต้องการน้ำและทนแล้งได้ดี สามารถปลูกได้ในทุกสภาพพื้นที่ ทั้งในสภาพไร่ และเหมาะสมที่จะปลูกทดแทนการปลูกข้าวนาปรัง เพราะสามารถใช้ความชื้นที่เหลืออยู่ในดินภายหลังเก็บเกี่ยวข้าวนาปีโดยไม่กระทบต่อผลผลิต ทั้งนี้เกษตรกรใน จังหวัดชัยนาท จะปลูกถั่วเขียวในสภาพนา ช่วงเดือนธันวาคมถึงมกราคม ภายหลังจากเก็บเกี่ยวข้าว และใส่ปุ๋ยเกรด 12–24–12 อัตรา 20–30 กิโลกรัม N–P_2O_5–K_2O ต่อไร่ (เทคโนโลยีชาวบ้าน, 2559)

ปัจจุบันผลผลิตถั่วเขียวที่ผลิตได้ในประเทศยังไม่เพียงพอต่อความต้องการ เกษตรกรยังผลิตถั่วเขียวที่มีคุณภาพและปริมาณต่ำ เนื่องจากมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น ขาดเมล็ดพันธุ์ที่มีคุณภาพ ลักษณะสุกแก่ของเมล็ดไม่พร้อมกัน การใช้เครื่องจักรกล การจัดการไม่เหมาะสม สภาพภูมิอากาศแห้งแล้ง และความอุดมสมบูรณ์ของดินต่ำ (ฐานเศรษฐกิจ, 2566) โดยการให้ธาตุอาหารพืชแก่ถั่วเขียวเพิ่มเติมในรูปปุ๋ยจัดเป็นข้อจำกัดที่สำคัญประการหนึ่งต่อการเจริญเติบโตและการให้ผลผลิตของถั่วเขียว เพราะการให้ปุ๋ยยังไม่เหมาะสมกับความต้องการพืชและดิน ทั้งนี้ Bell (1991) รายงานว่า รายงานว่า ผลผลิตถั่วเขียว 500 กิโลกรัมต่อเฮกตาร์ ในสภาพแวดล้อมทั่วไป ประเทศออสเตรเลีย ปริมาณธาตุอาหารไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียมที่ต้องสูญเสียไปกับผลผลิต เท่ากับ 20–21 , 1.3–2.4 และ 6–7 กิโลกรัม ตามลำดับ ขณะที่ Yin et al. (2018) รายงานว่า เรโชปุ๋ยที่เหมาะสมสำหรับถั่วเขียวที่ให้ผลผลิตสูงที่สุด คือ 1:0.5:1.59 ทั้งนี้หากปริมาณธาตุอาหารที่เป็นประโยชน์ในดินต่ำ ก็จะส่งผลให้ถั่วเขียวมีผลผลิตเมล็ดลดลง

ฟอสฟอรัส (P) เป็นธาตุอาหารที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของถั่วเขียว โดยมีปริมาณความต้องการรองมาจากธาตุไนโตรเจนและโพแทสเซียม เป็นองค์ประกอบของ ATP กรดนิวคลีอิก โคเอนไซน์หลายชนิด พืชดูดใช้ฟอสฟอรัสในรูปฟอสเฟตไอออน ($H_2PO_4^-$, HPO_4^{2-}) มีความเข้มข้นในพืช ระหว่าง 0.1%–0.4% ของน้ำหนักแห้ง ส่วนระดับวิกฤติในดินของฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ ระหว่าง 20–30 มิลลิกรัม P ต่อกิโลกรัม (สมาคมดินและปุ๋ยแห่งประเทศไทย, 2564) ธาตุฟอสฟอรัสมีบทบาทต่อการเจริญเติบโตและการพัฒนาของเมล็ด ผล และรากของพืช (Hossain and Hamid, 2007) มีผลต่อการสร้างปมราก (สันติภาพ, 2527) ซึ่งสำคัญต่อการผลิตถั่วเขียว และยังช่วยปรับปรุงคุณภาพผลผลิตถั่วเขียวอีกด้วย (Hussen et al., 2020) โดยปกติถั่วเขียวมีความต้องธาตุฟอสฟอรัส 2.4–6.4 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ (อภิพรรณ, 2523) ซึ่งใกล้เคียงกับถั่วชนิดอื่น ๆ โดยปริมาณปุ๋ยที่ใส่ควรพิจารณาผลการวิเคราะห์ดิน และปริมาณผลผลิตเป้าหมาย (Oplinger et al., 1990) อย่างไรก็ตามฟอสฟอรัสในดินส่วนใหญ่ประมาณ 95–99% อยู่ในรูปที่พืชไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ (สุภัค, 2563) เช่น ในดินที่มีค่าความเป็นกรด–เป็นด่าง ต่ำกว่า 6.5 ฟอสฟอรัสจะทำปฏิกิริยากับอะลูมิเนียมและเหล็กอยู่ในรูป $AlPO_4$, $FePO_4$ และหากดินมีค่าความเป็นกรด–เป็นด่าง สูงกว่า 7 ฟอสฟอรัสจะทำปฏิกิริยากับแคลเซียมอยู่ในรูป $Ca_3(PO_4)_2$ นอกจากนี้ชนิดของแร่ดินเหนียวยังมีอิทธิพลต่อการดูดซับฟอสฟอรัส โดยดินที่มีแร่ดินเหนียว 1:1 เช่น kaolinite สามารถดูดซับฟอสฟอรัสได้มากกว่าดินที่มีแร่ดินเหนียวชนิด 2:1 เช่น montmorillonite เนื่องจากแร่ kaolinite มีหมู่ OH ในชั้น Al interlayer มากจึงสามารถแลกเปลี่ยน

กับฟอสฟอรัสได้ (Havlin et al., 2005) สอดคล้องกับ วิศิษฐ์ และคณะ (2518) รายงานว่า ดินที่มีแร่ดินเหนียวมากกว่าร้อยละ 25 มักดูดซับฟอสฟอรัสจากการละลายได้เกือบหมดภายใน 2 สัปดาห์ ส่วนดินที่มีแร่ดินเหนียวต่ำกว่าร้อยละ 25 ไม่สามารถดูดซับฟอสฟอรัสได้ทั้งหมด แม้ดินมีการขังน้ำนานเกือบ 30 วัน กรณีถั่วเขียวขาดธาตุฟอสฟอรัสจะทำให้ต้นถั่วมีขนาดเล็ก ใบมีสีเขียวเข้ม และถ้าขาดรุนแรงใบจะมีสีเขียวอมฟ้าหม่นและเส้นใบมีสีม่วง (Kumar and Sharma, 201 Thakuria and Saharia (1990) รายงานว่า ผลผลิตถั่วเขียวเพิ่มขึ้นจาก 83 กิโลกรัมต่อไร่ (ไม่ใส่ปุ๋ย) เป็น 115 กิโลกรัมต่อไร่ เมื่อใส่ปุ๋ยฟอสเฟต อัตรา 3.2 กก. กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ Oad et al. (2003) แนะนำให้ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต อัตรา 16 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ กับการผลิตถั่วเขียว ในประเทศปากีสถาน จึงจะเหมาะสมและคุ้มค่าแก่การลงทุน ขณะที่ประเทศอินเดียแนะนำให้ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต อัตรา 4.8–6.2 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ (Government of India, 2017)

นอกจากนี้ความต่างของพันธุ์ถั่วเขียวก็มีผลต่อความต้องการธาตุอาหารของพืชเช่นกัน (เนตรนภา และคณะ, 2564) อันเนื่องมาจาก ความสามารถที่แตกต่างในการดูดใช้ธาตุอาหารจากดินและการนำธาตุอาหารที่ได้ไปใช้ประโยชน์ระหว่างพันธุ์ (Bell, 1991) เช่น ถั่วเขียวพันธุ์ AEM-60/20 และพันธุ์ AEM-25/20 ตอบสนองต่อฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมสูงกว่าพันธุ์อื่น ๆ ที่ใช้ในการทดลอง (Oad et al., 2003) แม้ว่าจะมีการศึกษาทดลองการใช้ปุ๋ยกับถั่วเขียวมาบ้างแล้ว เช่น พันธุ์ชัยนาท 36 (กรมวิชาการเกษตร, 2539) แต่ยังขาดการทดลองปุ๋ยกับถั่วเขียวพันธุ์ใหม่ เช่น พันธุ์ชัยนาท 3 (รับรองพันธุ์ พ.ศ. 2562) และมีผลผลิตเฉลี่ย 232 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งสูงกว่าพันธุ์ชัยนาท 36 ที่มีผลผลิตเฉลี่ย 216 กิโลกรัมต่อไร่ เนื่องจากมีขนาดเมล็ดใหญ่ และเหมาะสำหรับการเพาะถั่วงอก (สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน, 2563) ทั้งนี้ถั่วเขียวแต่ละพันธุ์อาจตอบสนองต่อการใช้ปุ๋ยที่แตกต่างกัน งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตต่อการเจริญเติบโต การดูดธาตุอาหารของพืช และผลผลิตของถั่วเขียวผิวมันพันธุ์ชัยนาท 3 เพื่อนำไปใช้สำหรับปรับปรุงการจัดการปุ๋ยฟอสเฟตที่เหมาะสมในการผลิตในสภาพนา พื้นที่ดินเหนียว จังหวัดชัยนาทต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

สมบัติของดินก่อนการทดลอง

ดำเนินการทดลองที่แปลงทดลอง ภายในศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท จังหวัดชัยนาท โดยปลูกถั่วเขียวในฤดูแล้งในสภาพการทำนา ระหว่างเดือน ธันวาคม 2564–มีนาคม 2565 แปลงทดลองตั้งอยู่ในพิกัดละติจูด 15°9'7.92''N และลองจิจูด 100°10'57''E ซึ่งเป็นชุดดินชัยนาท (Fine, mixed, active, nonacid, isohyperthermic Aeric (Vertic)) สุ่มเก็บตัวอย่างดินก่อนปลูกที่ระดับความลึก 0–30 เซนติเมตร เพื่อนำไปวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีดิน โดยวิเคราะห์เนื้อดินด้วยวิธี Hydrometer ความเป็นกรด–ด่างของดิน (ค่าพีเอช) อินทรียวัตถุ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ และโพแทสเซียมที่สกัดได้ตามวิธีของกรมวิชาการเกษตร (2544) ดินมีลักษณะเป็นดินเหนียว เป็นกลาง โดยมีค่าpH (ดิน:น้ำ 1:1) เท่ากับ 6.6) ซึ่งอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของถั่วเขียว ค่าการนำไฟฟ้า (EC 1:5) เท่ากับ 0.09 เดซิซีเมนต่อเมตร อยู่ในระดับไม่เค็ม (Table 1) มีปริมาณอินทรียวัตถุอยู่ในระดับปานกลาง เท่ากับ 1.49% มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับสูง เท่ากับ 24 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ปริมาณโพแทสเซียมที่สกัดได้อยู่ในระดับสูง เท่ากับ 84 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม จากการประเมินระดับความอุดมสมบูรณ์ของดินในพื้นที่ปลูกถั่วเขียวที่ดัดแปลงจากกองสำรวจดิน, 2523 ดินก่อนปลูกมีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง เมื่อพิจารณาอัตราปุ๋ยที่เหมาะสมตามค่าวิเคราะห์ดิน ในกรณีไม่ใช้ปุ๋ยชีวภาพไรโซเบียม คือ 9–3–3 กิโลกรัม N–P_2O_5–K_2O ต่อไร่ (กรมวิชาการเกษตร, 2548)

Table 1 Chemical and physical properties of soil before planting

pH (1:1)	EC (1:5) ($dS\ m^{-1}$)	OM (%) (Walkley and Black)	Avail. P ($mg\ kg^{-1}$) (Bray II)	Extr. K ($mg\ kg^{-1}$) (NH_4OAc pH7)	Sand	Silt	Clay	Texture (Hydrometer method)
					(%)			
6.6	0.09	1.49	24	84	16	38.4	45.6	Clay

EC = Electrical conductivity; OM = Organic matter; Avail. P = Available phosphorus; Extr. K = Extractable potassium

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Blocks; RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ และ 5 กรรมวิธี ประกอบด้วย ปุ๋ยฟอสเฟต 5 ระดับ ได้แก่ 0, 1.5, 3, 4.5 และ 6 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ หรือเท่ากับ 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0 เท่าของอัตราปุ๋ยฟอสฟอรัสตามค่าวิเคราะห์ดิน โดยทุกกรรมวิธีใส่ปุ๋ยไนโตรเจนและปุ๋ยโพแทชตามค่าวิเคราะห์ดิน ในอัตรา 9 9 กิโลกรัม N ต่อไร่ และ 3 กิโลกรัม K_2O ต่อไร่ ขนาดแปลงย่อยเท่ากับ 4×6 ตารางเมตร รวมทั้งสิ้น 15 แปลง ระยะระหว่างแปลงย่อย เท่ากับ 1.5 เมตร ปลูกถั่วเขียวแบบเป็นแถวคู่บนสันร่อง จำนวน 8 แถว ยาว 6 เมตร ระยะปลูก 50×20 ตารางเซนติเมตร จำนวน 4 ต้นต่อหลุม ดำเนินการปลูกถั่วเขียวในวันที่ 27 ธันวาคม 2564 และใส่ปุ๋ยเคมีตามค่าวิเคราะห์ดิน (กรมวิชาการเกษตร,2548) โดยแบ่งใส่ปุ๋ย 2 ครั้ง คือ ครั้งที่ 1 รองก้นหลุมพร้อมปลูก (หยอดเมล็ด) ลึกจากผิวดินประมาณ 2 เซนติเมตร และห่างจากเมล็ดประมาณ 2–3 เซนติเมตร ด้วยปุ๋ยไนโตรเจนครึ่งอัตราของอัตราที่กำหนดไว้ในแต่ละกรรมวิธีพร้อมกับปุ๋ยฟอสเฟตและปุ๋ยโพแทชเต็มอัตราที่กำหนดไว้ในแต่กรรมวิธี และครั้งที่ 2 เมื่อถั่วเขียวอายุประมาณ 20 วัน ใส่ปุ๋ยไนโตรเจนที่เหลือครึ่งอัตราที่กำหนดไว้ในแต่กรรมวิธี ด้วยการโรยปุ๋ยเป็นแถบ (แบบ Banding application) สองข้างแถวปลูก และพรวนดินกลบ โดยใช้ปุ๋ยยูเรีย (46%) ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต (46% P_2O_5) และโพแทสเซียมคลอไรด์ (60% K_2O) จากนั้นเก็บเกี่ยวผลผลิตวันที่ 14 มีนาคม 2565 พื้นที่เก็บเกี่ยว 1.5×6 ตารางเมตร

ดำเนินการบันทึกข้อมูลการเจริญเติบโต ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของถั่วเขียว ได้แก่ ความยาวฝัก จำนวนฝักต่อต้น น้ำหนักเมล็ดต่อฝัก น้ำหนัก 1,000 เมล็ด และผลผลิตเมล็ด รวมทั้งข้อมูลมวลชีวภาพเหนือพื้นดิน และการดูดธาตุอาหารของพืช ได้แก่ ไนโตรเจน (N) ฟอสฟอรัส (P) และ โพแทสเซียม (K) โดยนำตัวอย่างพืช ที่แยกออกเป็น 4 ส่วน ได้แก่ ลำต้น ใบ เปลือก และเมล็ด มาอบที่อุณหภูมิ 65°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งน้ำหนักคงที่ จากนั้นนำไปบดให้ละเอียดและวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด ด้วยการย่อยตัวอย่างด้วยกรด H_2SO_4 เข้มข้น และกลั่นด้วยวิธี Kjeldahl method ส่วนธาตุฟอสฟอรัสและโพแทสเซียมทำการย่อยตัวอย่างด้วยกรด HNO_3–$HClO_4$ อัตราส่วน 2:1 โดยปริมาตร แล้ววัดปริมาณฟอสฟอรัสทั้งหมดด้วยวิธี vanado-molybdate yellow color และปริมาณโพแทสเซียมทั้งหมด วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง atomic absorption spectrophotometer (กรมวิชาการเกษตร, 2544) สำหรับตัวอย่างดินหลังปลูก ทำการเก็บที่ระดับความลึก 0–30 เซนติเมตร นำไปตากให้แห้งในที่ร่ม จากนั้นบดและร่อนผ่านตระแกรง 0.5 มิลลิเมตร และ 2 มิลลิเมตร แล้วนำไปวิเคราะห์ เนื้อดิน โดยวิธี Hydrometer (Bouyoucos, 1962) พีเอชดินในอัตราส่วนดินต่อน้ำ เท่ากับ 1:1 (Davis, 1943) ค่าการนำไฟฟ้าของดิน (EC) ในอัตราส่วนดินต่อน้ำ เท่ากับ 1:5 แล้ววัดด้วยเครื่อง electrical conductivity meter (Rayment and Higginson, 1992) อินทรียวัตถุ โดยวิธีของ Walkley and Black titration (Nelson and Sommer, 1982) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ โดยการสกัดดินด้วยน้ำยาสกัด Bray II แล้ววัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer (Bray and Kurtz, 1945) โพแทสเซียมที่สกัดได้ โดยการสกัดดินด้วย 1N Ammonium acetate (pH 7.0) แล้ววัดด้วยเครื่อง atomic absorption spectrophotometer (Pratt, 1965)

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลมวลชีวภาพเหนือพื้นดิน การดูดธาตุอาหารของพืช ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิต และสมบัติของดินหลังปลูกมาร่วมกับการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's Honestly Significant Difference ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม Statistical Package for the Social Sciences (SPSS version 11.5) และคำนวณประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยฟอสเฟต (agronomic phosphate use efficiency; APUE) ตามวิธีของ Huygens et al. (2018)

นอกจากนั้นทำการวิเคราะห์ความคุ้มค่าต่อการลงทุน โดยวิธี value to cost ratio (VCR) คือ อัตราส่วนระหว่างรายได้สุทธิ (gross return) ต่อต้นทุนจากการใช้ปุ๋ยที่เพิ่มขึ้นจากกรรมวิธีควบคุม (expenditure on fertilizer) ค่าวิกฤติของ VCR อยู่ที่ 2.0 หมายความว่า ถ้าค่า VCR มีค่ามากกว่า 2.0 แสดงว่าการใช้ปุ๋ยให้ผลตอบแทนคุ้มค่าและจะให้ผลตอบแทนคุ้มค่ามากยิ่งขึ้นตามค่า VCR ที่สูงขึ้น

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การเจริญเติบโต ผลผลิต และองค์ประกอบผลผลิตของถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 3

การใส่ปุ๋ยฟอสเฟตอัตราต่าง ๆ ไม่ทำให้ความสูงต้น ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตถั่วเขียวแตกต่างกันทางสถิติ โดยถั่วเขียวให้ความสูงต้น ระหว่าง 49.7–55.1 เซนติเมตร ความยาวฝักระหว่าง 7.7–9.0 เซนติเมตร จำนวนฝักต่อต้นระหว่าง 6.3–8.4 ฝัก และผลผลิตต่อไร่ (เมล็ด) ระหว่าง 169.4–210.9 กิโลกรัมต่อไร่ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากดินก่อนปลูกมีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับสูง คือ 24 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ดังนั้นการใส่หรือไม่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟตอาจจะไม่ส่งผลให้ความสูงต้น ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตของถั่วเขียวแตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม พบว่า ผลของการให้ปุ๋ยฟอสเฟตทำให้จำนวนเมล็ดต่อฝักเพิ่มขึ้น 13–18% เมื่อเทียบกับการไม่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต (กรรมวิธีควบคุม) เนื่องจากการขาดฟอสฟอรัสทำให้ถั่วเขียวติดเมล็ดน้อย (เนตรนภา และคณะ, 2564) นอกจากนั้นเมื่อพิจารณาการไม่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟต พบว่า ถั่วเขียวมีแนวโน้มให้ผลผลิตลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับการใส่ปุ๋ยฟอสเฟตอัตราต่าง ๆ แต่การใส่ปุ๋ยฟอสเฟตในอัตราที่ต่างกันมีผลผลิตที่ใกล้เคียงกัน (Table 2) แสดงให้เห็นว่าการใส่ปุ๋ยที่มีประสิทธิภาพจะต้องใส่ในอัตราที่เหมาะสมตามสมบัติดินและความต้องการของพืช เพื่อให้เกิดประสิทธิภาพสูง เพราะหากใส่น้อยเกินไปจะส่งผลให้พืชขาดแคลนธาตุอาหารได้ ขณะที่การใส่ปุ๋ยมากเกินไปก็อาจเกิดผลเสียต่อพืชและสิ่งแวดล้อมได้ รวมทั้งสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายอีกด้วย

Table 2 Plant height, yield components and yield of mung bean affected by different rates of phosphate fertilizer application

Phosphate fertilizer (kg P_2O_5 rai^{-1})	Plant height (cm)	Pod length (cm)	Pods/plant	Seeds/pod	1,000 seed (g)	Yield (kg/rai)
0	55.1±4.8	7.7±0.4	6.3±0.0	9.4±0.3b	67.8±1.8	169.4±6.6
1.5	52.6±2.4	9.0±0.3	8.1±0.6	11.1±0.3a	64.3±0.3	203.7±23.8
3	52.1±2.8	8.8±0.1	6.3±0.6	10.7±0.2ab	65.3±1.5	191.5±11.6
4.5	49.7±7.6	8.8±0.3	7.8±1.0	11.1±0.4a	64.0±1.3	210.9±19.4
6	50.2±1.5	8.7±0.3	8.4±0.6	10.6±0.5ab	66.3±2.8	203.5±12.3
F-test	ns	ns	ns	*	ns	ns
CV (%)	14.6	5.7	16.6	5.6	4.6	14.1

Means±SE within a column followed by the same letter are not significantly different based on Tukey's honest significant difference test at $p \leq 0.05$, * and ns indicate $p \leq 0.05$, and not significant, respectively

การดูดธาตุอาหารของพืช ประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ย และการตอบสนองต่อปุ๋ยฟอสเฟต

การใช้ปุ๋ยฟอสเฟตในอัตราต่าง ๆ ไม่ส่งผลให้น้ำหนักแห้งและการดูดธาตุอาหารหลัก (N P และ K) ของถั่วเขียวที่ปลูกในดินเหนียว จังหวัดชัยนาท มีความแตกต่างทางสถิติ โดยถั่วเขียวมีดูดใช้ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม เฉลี่ยเท่ากับ 11.2–1.4–11.3 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (Table 3) แสดงให้เห็นว่าในดินที่มีระดับฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์สูง การใส่ปุ๋ยฟอสเฟตในอัตราที่สูงขึ้นขึ้นไม่ทำให้พืชดูดใช้ธาตุอาหารหลักเพิ่มขึ้น ทั้งนี้การใช้ปุ๋ยฟอสเฟตในอัตรา 1.5 กิโลกรัมP_2O_5 ต่อไร่ ทำให้ถั่วเขียวมีประสิทธิภาพการใช้ฟอสฟอรัสจากปุ๋ยในการสร้างผลผลิตสูงสุด เท่ากับ 22.8 กิโลกรัมต่อกิโลกรัม P_2O_5 ซึ่งค่าประสิทธิภาพการใช้ปุ๋ยนี้เป็นลักษณะที่บ่งชี้ถึงปริมาณปุ๋ยฟอสฟอรัสที่ถูกนำไปใช้สร้างผลผลิตของพืช โดยประสิทธิภาพการดูดใช้ธาตุอาหารที่มีค่ามากจะสะท้อนความสามารถในการดูดใช้ธาตุอาหารจากปุ๋ยไปสร้างเป็นผลผลิตได้มาก (ยุพดี และวรรณวิภา, 2564)

การใส่ปุ๋ยที่มีประสิทธิภาพต้องใส่ตรงตามระดับความอุดมสมบูรณ์ของดินและความต้องการของพืช หากใส่ในอัตราที่น้อยหรือมากเกินไปอาจส่งผลให้ผลผลิตพืชลดลง ดังนั้นแม้จะมีการใช้ปุ๋ยฟอสเฟตในอัตราสูงกว่า 1.5 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ หรืออัตราตามค่าวิเคราะห์ดินก็ไม่ทำให้ถั่วเขียวมีการดูดใช้ฟอสฟอรัสจากปุ๋ยเพิ่มขึ้น (Table 3) ประกอบกับการทดลองในสภาพจริงนั้น มีความแปรปรวน (CV) สูง เนื่องจากปัจจัยอื่น ๆ ที่ไม่สามารถควบคุมได้ เช่น ความไม่สม่ำเสมอของความอุดมสมบูรณ์ของดินในแต่ละหน่วยทดลอง (แปลงย่อย) ถึงแม้จะได้รับอิทธิพลของอัตราปุ๋ยเดียวกัน และจำนวนซ้ำที่น้อย อาจทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนของการทดลองได้ ถึงแม้หลายพารามิเตอร์จะมีค่าต่างกันโดยเฉพาะตำรับที่ใส่กับไม่ใส่ปุ๋ย ดังนั้นจึงทำให้ไม่พบความแตกต่างทางสถิติ นอกจากนั้นเมื่อพิจารณากราฟการตอบสนองต่อปุ๋ยฟอสเฟต พบว่า การปลูกถั่วเขียวในดินเหนียว จังหวัดชัยนาท ถั่วเขียวมีการตอบสนองต่อปุ๋ยฟอสเฟตในอัตรา 1.5 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ โดยให้ผลผลิตเฉลี่ย 204 กิโลกรัมต่อไร่ ซึ่งมีความสัมพันธ์แบบ quadratic ตามสมการ $y = -2.0825x^2+17.519x+172.76$ มี $R^2 = 0.8406$ (Fig. 1) ในขณะที่ในดินบางชนิดมีการตอบสนองต่อ P ในอัตรา 16 กก. P_2O_5/ไร่ (สันติภาพ, 2527)

Table 3 Shoot dry weight, primary nutrients uptake and agronomic P use efficiency (APUE) of mung bean affected by different rates of phosphate fertilizer application

Phosphate fertilizer	Shoot Dry matter	Nutrient uptake (kg/rai)			APUE
(kg P_2O_5/rai)	(kg/rai)	Nitrogen	Phosphorus	Potassium	(kg grain kg $P_2O_5^{-1}$)
0	425±30	9.3±0.7	1.2±0.1	9.5±0.6	-
1.5	532±64	12.2±1.3	1.5±0.1	12.0±1.1	22.8
3	451±37	10.2±0.8	1.3±0.1	10.3±0.7	7.4
4.5	511±77	11.4±1.6	1.5±0.3	12.1±2.4	9.2
6	557±54	12.6±1.1	1.5±0.2	12.4±0.8	5.7
F-test	ns	ns	ns	ns	
C.V. (%)	19.4	21.2	20.9	19.7	

Means±SE within a column followed by the same letter are not significantly different based on Tukey's honest significant difference test at $p \leq 0.05$, ns indicate $p \leq 0.01$, and not significant, respectively

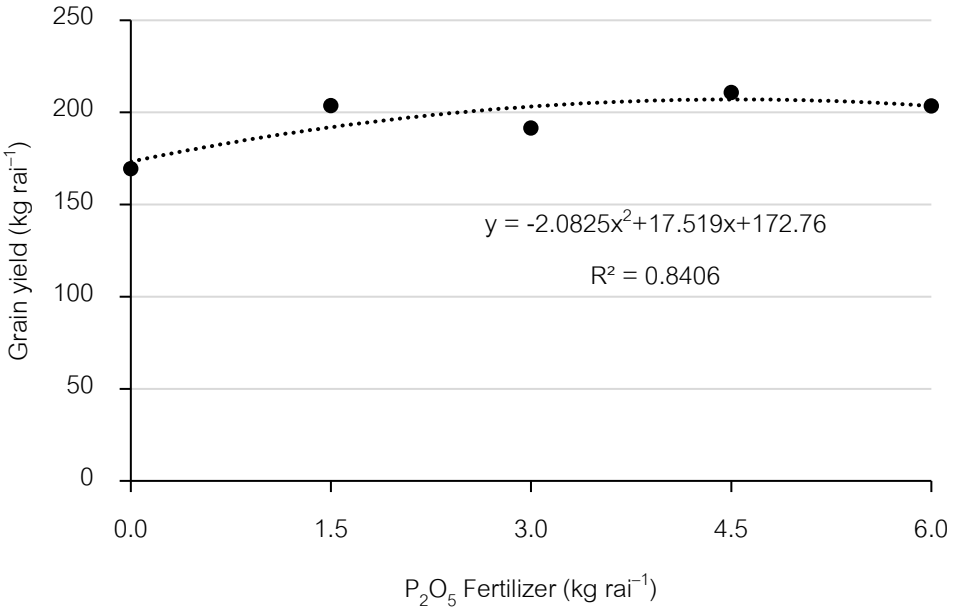


Fig. 1 Response of grain yield of mung bean affected by different rates of phosphate fertilizer application

สมบัติของดินหลังปลูก

การให้ปุ๋ยฟอสเฟตอัตราที่แตกต่างกันไม่ได้ทำให้สมบัติทางเคมีของดินหลังปลูกเปลี่ยนแปลงหรือแตกต่างกันหรือแตกต่างกับดินก่อนปลูก เนื่องจากถั่วเขียวมีการดูดธาตุอาหารพืชในปริมาณน้อยมาก จึงทำให้ปริมาณธาตุอาหารยังเหลืออยู่ในดิน โดยเฉพาะธาตุฟอสฟอรัส ที่ถูกดูดตรึงอยู่โดยอนุภาคดินและไม่ค่อยสูญหายไปโดยการชะล้าง (ประพิศ และคณะ, 2527) การใส่ปุ๋ยฟอสเฟตในอัตราที่มากเกินพอดี ฟอสฟอรัสที่เหลือทั้งหมดจะทำปฏิกิริยากับดิน กลายเป็นสารประกอบที่ละลายน้ำยาก โดยดินหลังปลูกถั่วเขียวมีค่าความเป็นกรด-เป็นด่างของดินเป็นกรดเล็กน้อย (pH ระหวาง 6.10–6.32) ค่าการนำไฟฟ้าในดิน (EC 1:5 ระหว่าง 0.08–0.11 เดซิซีเมนต่อเมตร) จัดอยู่ในระดับไม่เค็ม อินทรียวัตถุในดินอยู่ในระดับปานกลาง (1.44–1.58%) ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์อยู่ในระดับสูง (24.03–24.90 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) และโพแทสเซียมที่สกัดได้อยู่ในระดับปานกลางถึงสูง (75.85–89.89 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) (Table 4)

Table 4 Soil analysis after planting of mung bean affected by different rates of phosphate fertilizer application

Phosphate fertilizer (kg P_2O_5 rai^{-1})	Soil pH (1:1)	EC (dS m^{-1}) (1:5)	OM (%) (Walkley and Black)	Avail.P (mg kg^{-1}) (Bray II)	Extr. K (mg kg^{-1}) (NH4OAc pH7)
0	6.32±0.08	0.11±0.02	1.45±0.08	24.04±1.95	75.85±5.08
1.5	6.26±0.05	0.08±0.01	1.44±0.02	24.48±3.26	77.95±3.81
3	6.12±0.01	0.10±0.01	1.51±0.10	24.03±1.49	79.71±5.99
4.5	6.18±0.03	0.09±0.03	1.58±0.11	24.28±1.60	76.03±2.07
6	6.10±0.11	0.11±0.00	1.56±0.04	26.90±0.61	89.89±7.78
F-test	ns	ns	ns	ns	ns
CV (%)	1.9	31.3	8.9	13.8	11.5

Means ± SE within a column followed by the same letter are not significantly different based on Tukey's honest significant difference test at $p \leq 0.05$, * and ns indicate $p \leq 0.05$, and not significant, respectively.

Note: EC = Electrical conductivity; OM = Organic matter; Avail. P = Available phosphorus; Extr. K = Extractable potassium

ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจจากการใช้ปุ๋ย

เมื่อพิจารณาถึงผลตอบแทนจากการลงทุนใช้ปุ๋ยฟอสเฟตในอัตราต่าง ๆ สำหรับการผลิตถั่วเขียวพันธ์ชัยนาท 3 ที่ปลูกในดินเหนียว จังหวัดชัยนาท พบว่า การใส่ปุ๋ยฟอสเฟตในอัตรา 1.5 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ ซึ่งเป็นการใส่ปุ๋ยต่ำกว่าค่าวิเคราะห์ดินอยู่ 0.5 เท่าของค่า P ตามค่าวิเคราะห์ดิน ให้ผลตอบแทนคุ้มค่าแก่การลงทุนมากที่สุด ให้ VCR 10.9 เมื่อลงทุนใช้ปุ๋ยฟอสเฟต 1 บาท จะได้รับผลตอบแทน 10.9 บาท (Table 5) แต่เมื่อมีการใส่ปุ๋ยฟอสเฟต ในอัตราตามค่าวิเคราะห์ดินและอัตราที่สูงกว่า (3.0–6.0 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่) กลับให้ผลตอบแทนลดลง เมื่อเทียบกับการให้ปุ๋ยฟอสเฟต ที่อัตรา 0.5 เท่าตามค่าวิเคราะห์ดิน (1.5 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่)

Table 5 Value to cost ratio (VCR) of mung bean affected by different rates of phosphate fertilizer application

Phosphate fertilizer (kg P_2O_5/rai)	Yield (kg/rai)	Increase yield (%)	Gross benefit	Gross return	Cost on fertilizer	Expenditure on fertilizer	Net benefit	Net return	VCR
			(Baht/rai)						
0	169	-	3,566	-	540	-	3,026	-	-
1.5	204	21	4,304	739	607	68	3,697	671	10.9
3	192	14	4,051	485	675	135	3,376	350	3.6
4.5	211	25	4,452	886	742	203	3,710	684	4.4
6	204	21	4,304	739	810	270	3,495	468	2.7

Note: VCR = Value to Cost Ratio; Fertilizer price on December 2021: 46–0–0 (21.2 Baht/kg), 18–46–0 (29.0 Baht/kg), 0–0–60 (25.0 Baht/kg) and yield price: 21.1 Baht/kg

Source: Office of Agricultural Economics (2021)

สรุป

การใส่ปุ๋ยฟอสเฟตในอัตราต่าง ๆ ในการปลูกถั่วเขียวผิวมันพันธุ์ชัยนาท 3 ภายใต้สภาพหลังการทำนา ดินเหนียว (ชุดดินชัยนาท) จังหวัดชัยนาท ซึ่งเป็นดินมีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง และระดับฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ในดินสูง ส่งผลให้ถั่วเขียวผิวมันพันธุ์ชัยนาท 3 มีการตอบสนองต่อปุ๋ยฟอสเฟตและให้ผลผลิตตอบแทนคุ้มค่าต่อการลงทุนมากที่สุด เมื่อใช้ปุ๋ยฟอสเฟตในอัตรา 1.5 กิโลกรัม P_2O_5 ต่อไร่ โดยให้ผลผลิตเฉลี่ย 204 กิโลกรัมต่อไร่ โดยมีความสัมพันธ์แบบ quadratic ตามสมการ $y = -2.0825x^2+17.519x+172.76$ มี $R^2 = 0.8406$ สูงกว่าการไม่ใส่ปุ๋ยฟอสเฟตที่ให้จำนวนเมล็ดต่อฝักต่ำสุด และผลผลิตเฉลี่ยเพียง 169 กิโลกรัมต่อไร่

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.)

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2539. บทคัดย่อผลงานวิจัยความอุดมสมบูรณ์ของดินและปุ๋ยพืชไร่ ปี 2539. กลุ่มงานวิจัยความอุดมสมบูรณ์ของดินและปุ๋ยพืชไร่ กองปฐพีวิทยา กรมวิชาการเกษตร.

กรมวิชาการเกษตร. 2544. คู่มือวิเคราะห์ดินและพืช. ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ.

กรมวิชาการเกษตร. 2548. คำแนะนำการใช้ปุ๋ยกับพืชเศรษฐกิจ. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

กรมส่งเสริมการเกษตร. 2562. การปลูกพืชจังหวัดชัยนาท: ปี 2561/2562. http://production.doae.go.th/, 23 ธันวาคม 2566.

กองสำรวจดิน. คู่มือการจำแนกความเหมาะสมของที่ดินสำหรับพืชเศรษฐกิจ, เล่มที่ 28. กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ.

ฐานเศรษฐกิจ. 2566. ขยายเครือข่ายผลิตเมล็ดพันธุ์ ถั่วเขียวชัยนาท 3 หนุนความมั่นคงอาหาร. https://www.thansettakij.com/sustainable/food-security/569082, 23 ธันวาคม 2566.

เทคโนโลยีชาวบ้าน. 2559. ถั่วเขียวหลังนา ยังทำเงิน ที่ชัยนาท. https://www.technologychaoban.com/agricultural-technology/article_1105, 13 พฤษภาคม 2566.

เนตรนภา อินสลุด, วิชญ์ภาส สังพาลี, จุฑามาศ อาจนาเสียว, สุธีระ เหิมฮึก, พีรพันธ์ ทองเปลว, ชลธิชา แพทย์กลาง. 2564. การตอบสนองต่อการขาดไนโตรเจน ฟอสฟอรัส โพแทสเซียมของถั่วเขียวพันธุ์ชัยนาท 72 และชัยนาท 84. แก่นเกษตร. 49 (1): 929–935.

ประพิศ แสงทอง, นิลประไพ จันทนภาพ, วิศิษฐ์ โชลิตกุล. 2524. รูปของฟอสเฟตที่สะสมในดินเนื่องจากการใส่ปุ๋ยอัตราสูง. วารสารวิชาการเกษตร 2: 128–134.

ยุพดี ระดาไสย, วรรณวิภา แก้วประดิษฐ์. 2564. การดูดใช้และประสิทธิภาพการดูดใช้ธาตุอาหารของอ้อยพันธุ์ต่าง ๆ ภายใต้สภาพดินทรายที่ได้รับน้ำชลประทาน. แก่นเกษตร 49(6): 1402–1409.

วิศิษฐ์ โชลิตกุล, มะลิวัลย์ กาญจนนิรัติศัย, มนูเวทย์ ศรีเสน. 2518. เคมีและความอุดมสมบูรณ์ของดิน. กองเกษตรเคมี กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ.

สุภัค กาญจนเกสร. 2563. การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตพืชด้วยการใช้ปุ๋ยชีวภาพละลายฟอสเฟตร่วมกับปุ๋ยชีวภาพไมคอร์ไรซา. เกษตรอภิรมย์ 6: 49–51.

สันติภาพ ปัญจพรรค์. 2527. อิทธิพลของการให้ปุ๋ยทางดินและทางใบต่อผลผลิตถั่วเขียว. วารสารวิชาการเกษตร 2: 16–19.

สมาคมดินและปุ๋ยแห่งประเทศไทย. 2564. พจนานุกรมศัพท์ปุ๋ยและธาตุอาหารพืช. สำนักงานสมาคมดินและปุ๋ยแห่งประเทศไทย, กรุงเทพฯ.

สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน. 2563. เทคโนโลยีการผลิตถั่วเขียว. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2566. สารสนเทศเศรษฐกิจการเกษตรรายสินค้า ปี 2565. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

อภิพรรณ พุกภักดี. 2523. สรีรวิทยาของการผลิตพืชตระกูลถั่ว. เอกสารคำสอนวิชาพืชไร่นา ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Bell, R.W. 1991. Mineral nutrition of mung beans. pp. 53–65. In B.C. Imrie (Ed.), Mungbean: The Australian Experience, CSIRO Division of Tropical Crops & Pastures.

Bouyoucos, G.J. 1962. Hydrometer method improved for making particle size analysis of soils. Agron J. 54: 464–465.

Bray, R.H., Kurtz, L. 1945. Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. Soil Sci. 59(1): 39–46.

Davis, L.E. 1943. Measurements of pH with the glass electrode as affected by soil moisture. Soil Sci. 56: 405–422.

Government of India. 2017. Mung bean production technology. Ministry of agriculture and farmers welfare. India.

Havlin, J.L., Beaton, J.D., Tisdale, S.M., Nelson, W.L. 2005. Soil fertility and fertilizers: An Introduction to Nutrient Management, 7th ed. Pearson Prentice Hall Inc. New Jersey, NJ, USA.

Hossain, M.A., Hamid, A. 2007. Influence of N and P fertilizer application on root growth, leaf photosynthesis and yield performance of groundnut. Bangladesh J. Agri. Res. 32: 369–374.

Huygens, D., Saveyn, H.G. 2018. Agronomic efficiency of selected phosphorus fertilisers derived from secondary raw materials for European agriculture. A meta-analysis. Agron. Sustain. Dev. 38(5): 52.

Hussen, G., Asrat, M., Menzer, A. 2020. Response of mung bean (*Vigna radiata* L. Wilczek) varieties to the application rates of phosphorus in ambasel district, north-eastern Ethiopian lowlands. Am. J. Plant Biol. 5: 88–98.

Kumar, P., Sharma, M.K. 2013. Nutrient deficiencies of field crops. Guide to diagnosis and management. Department of Agriculture, India.

Nelson, D.W., Sommers, L.E. 1982. Total Carbon, Organic Carbon and Organic matter. In: Page, A.L. (Eds.). Methods of Soil Analysis Part 2. Chemical and Microbiology Properties. Madison, Wisconsin, USA, pp. 539–579.

Oad, F.C., A.N. Shah, G.H. Jamro, Ghaloo, S.H. 2003. Phosphorus and Potassium Requirements of Mungbean (*Vigna radiata*). J. App. Sci. 3(6): 428–431.

Office of Agricultural Economics. 2021. Monthly retail price of chemical fertilizers. Office of Agricultural Economics, Ministry of Agriculture and Cooperatives. https://www.oae.go.th/, 19 January 2024.

Oplinger, E.S., Hardman, L.L., Kaminski, A.R., Combs, S.M., Doll, J.D. 1990. Mungbean. http://corn.agronomy.wisc.edu/Crops/Mungbean.aspx, 23 December 2023.

Pratt, P.F. 1965. Potassium. Methods of Soil Analysis: Part II chemical and microbiological properties. ASA. (9): 1022–1030.

Rayment, G.E., Higginson, F.R. 1992. Australian laboratory handbook of soil and water chemical methods. Inkata press. Melbourne.

Sadeghipour, O., Monem, R., Tajali, A.A. 2010. Production of mungbean (Vigna radiata L.) as affected by nitrogen and phosphorus fertilizer application. J. App. Sci. 10 (10): 843–847.

Thakuria, K., Saharia, P. 1990. Response of green gram genotypes of plant density and phosphorus level in summer. Indian J. Agron. (35) :431–432.

Yin, Z., Guo, W., Xiao, H., Liang, J., Hao, X., Dong, N., Leng, T., Wang, Y., Wang, Q., Yin, F. 2018. Nitrogen, phosphorus, and potassium fertilization to achieve expected yield and improve yield components of mung bean. PloS ONE. 13(10).

การประเมินลักษณะทางการเกษตรและผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ที่พัฒนาโดยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Evaluation of agronomic characteristics and yield of field corn inbred lines developed from Kasetsart University

ณัฏฐนันท์ ศิระสรวงศุกล[a], **ประเสริฐ ถาหล้า**[b], **ชูศักดิ์ จอมพุก**[a], **ชัยสิทธิ์ ทองจู**[c], **จุฑามาศ ร่มแก้ว**[a,*]

Nattanan Sirasuangsukol[a], Prasert Thala[b], Choosak Jompuk[a], Chaisit Thongjoo[c], Jutamas Romkaew[a,*]

[a] ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

[b] ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปากช่อง นครราชสีมา 30320

[c] ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140

[a] Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

[b] National Corn and Sorghum Research Center, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Pak Chong, Nakhon Ratchasima 30320, Thailand

[c] Department of Soil Science, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: agrjur@ku.ac.th

บทคัดย่อ

การผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมนั้น ได้จากการผสมระหว่างสายพันธุ์แท้พ่อและแม่ 2 สายพันธุ์ จึงจำเป็นต้องทราบข้อมูลลักษณะทางการเกษตรและผลผลิตของแต่ละสายพันธุ์ ดังนั้น การศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินลักษณะทางการเกษตรและผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ 9 สายพันธุ์ ที่พัฒนาโดยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้แก่ SG1, SG3, SG5, SG7, NSG2, NSG3, NSG5, Ki 48 และ Ki 60 ในฤดูต้นฝน ปี 2566 (พฤษภาคม-กันยายน 2566) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อค จำนวน 3 ซ้ำ ผลการทดลองพบว่าข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ 9 สายพันธุ์มีลักษณะทางการเกษตรและผลผลิตแตกต่างกันทางสถิติ ยกเว้น ความสูงฝักและต้นหักล้ม ทั้ง 9 สายพันธุ์ให้ผลผลิตเฉลี่ย 701 กิโลกรัมต่อไร่ โดยข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ SG1, SG3 และ SG5 มีศักยภาพในการเป็นสายพันธุ์แม่ที่ดี ในขณะที่ SG5, SG7, NSG2, Ki48 และ Ki60 มีศักยภาพในการเป็นสายพันธุ์พ่อที่ดีในการผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมในฤดูฝน

คำสำคัญ : การผลิตเมล็ดพันธุ์, ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์, สายพันธุ์แท้, ผลผลิตเมล็ด

Abstract

Hybrid field corn seed production has produced from two male and female inbred lines that necessary to know agronomic characteristics and yield of each inbred line. Therefore, the aim of this study was to evaluate agronomic characteristics and yield of nine field corn inbred lines developed from Kasetsart University; SG1, SG3, SG5, SG7, NSG2, NSG3, NSG5, Ki 48 and Ki 60 in early rainy season 2023 (May- September 2023) The experiment was arranged in randomized complete block design with three replications. The result showed that all agronomic characteristics and yield were significantly different, excepting ear height and stalk lodging. All inbred lines had average grain yield of 701 kg per rai. Field corn inbred lines; SG1, SG3 and SG5 had a good potential for female inbred line. While SG5, SG7, NSG2, Ki 48 and Ki 60 showed a good potential for male inbred line in field corn hybrid seed production in rainy season.

Keywords: Field corn, Grain yield, Inbred line, Seed production

คำนำ

อุตสาหกรรมเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ของประเทศไทยเป็นอุตสาหกรรมต้นน้ำที่สำคัญในการยกระดับการผลิตและมูลค่าเพิ่มให้กับเศรษฐกิจทางภาคการเกษตรของประเทศ ในปี พ.ศ. 2565 ประเทศไทยมีปริมาณการส่งออกเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ 35,953,347.86 กิโลกรัม คิดเป็นมูลค่า 3,736,611,378.19 บาท (สำนักควบคุมพันธุ์พืชและวัสดุการเกษตร, 2566) ผู้ที่มีบทบาทสำคัญในการผลิตเมล็ดพันธุ์ที่ส่งออกส่วนใหญ่เป็นบริษัทเมล็ดพันธุ์เอกชนรายใหญ่และเป็นบริษัทต่างชาติ หากรวมส่วนแบ่งการตลาดบริษัทเมล็ดพันธุ์เอกชนรายใหญ่มีมากถึงร้อยละ 95 โดยบริษัทขนาดกลางและขนาดย่อม SMEs และหน่วยงานภาครัฐที่ดำเนินงานวิจัยและพัฒนาพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์และผลิตเมล็ดพันธุ์ ได้แก่ ศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ กรมวิชาการเกษตร และ ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครองสัดส่วนร้อยละ 5 (กัมปนาท และคณะ, 2561) อย่างไรก็ตาม หน่วยงานภาครัฐได้ดำเนินงานวิจัยทั้งการพัฒนาพันธุ์และเทคโนโลยีการผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ภายใต้โครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ และโครงการการพัฒนาพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมเพื่อปลูกในดินนาฤดูแล้งเขตชลประทานภาคกลาง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในการพัฒนาข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์ใหม่ที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตสูง ได้แก่ สุวรรณ 5720 (Ki 61×Ki 60) และสุวรรณ 5821 (Ki 62×Ki 60) เพื่อปลูกทดแทนการปลูกข้าวนาปรังพื้นที่ภาคกลางเขตชลประทาน (ชูศักดิ์ และคณะ, 2561) ปัจจุบัน โครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำลังทดสอบผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์ใหม่ที่ให้ผลผลิตสูงและปรับตัวได้ดีกับสภาพพื้นที่ปลูก และมีการประเมินศักยภาพการให้ผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ (inbred yield trial) เพื่อพิจารณาความสามารถในการผลิตเมล็ดพันธุ์ของสายพันธุ์แท้แม่และพ่อของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์ใหม่ สอดคล้องกับ MacRobert et al. (2014) ที่รายงานว่า โครงการสร้างพันธุ์ลูกผสมจะสิ้นสุดลงที่กระบวนการผลิตเมล็ดพันธุ์ ดังนั้นพันธุ์ที่ดีควรที่จะผลิตเมล็ดพันธุ์ได้ด้วยเช่นกัน เนื่องจากต้องใช้ต้นทุนการผลิตที่ค่อนข้างสูง

การผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพด เลี้ยงสัตว์ลูกผสมเดี่ยว (single cross hybrid) เกิดจากการผสมข้ามระหว่างสายพันธุ์แท้ (inbred line) จำนวน 2 สายพันธุ์ สายพันธุ์แท้ที่นำมาใช้เป็นสายพันธุ์แม่และสายพันธุ์พ่อนั้น จำเป็นต้องมีข้อมูลลักษณะทางการเกษตรและศักยภาพการให้ผลผลิตทั้งในฤดูฝนและฤดูแล้งของสายพันธุ์แท้แต่ละสายพันธุ์ เช่น วันสลัดละอองเกสรตัวผู้ของสายพันธุ์พ่อ และวันออกไหมของสายพันธุ์แม่ ใช้เป็นข้อมูลกำหนดวันปลูกของสายพันธุ์พ่อหรือสายพันธุ์แม่พร้อมกัน หรือปลูกก่อนหลัง เพื่อให้วันสลัดละอองเกสรของสายพันธุ์พ่อ และวันออกไหมของสายพันธุ์แม่ตรงกัน ซึ่งจะมีผลต่อการติดเมล็ดของสายพันธุ์แท้ที่เป็นพันธุ์แม่ และจะมีผลต่อผลผลิตเมล็ดพันธุ์เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ปริมาณและประสิทธิภาพการสลัดละอองเกสรตัวผู้ยังมีผลต่อการกำหนดสัดส่วนแถวสายพันธุ์แท้แม่ต่อพ่อที่เหมาะสม ซึ่งมีความสำคัญต่อการผสมเกสรและการให้ผลผลิต (Yuyun and Rahmat, 2017) ซึ่งลักษณะประจำพันธุ์ของสายพันธุ์แท้แม่และพ่อ ร่วมกับการจัดการทางด้านเขตกรรมที่สำคัญ ได้แก่ ฤดูปลูก ระยะปลูก จำนวนต้นต่อพื้นที่ และความอุดมสมบูรณ์ของดิน (Tollenaar and Lee, 2002; Shapiro and Wortmann, 2006; Raymond et al., 2009) สัดส่วนจำนวนแถวสายพันธุ์แท้แม่และพ่อ ระยะเวลาในการสลัดละอองเกสรตัวผู้ของสายพันธุ์พ่อและการออกไหมของสายพันธุ์แม่ (Jithendra et al., 2013) เป็นต้น การศึกษาในครั้งนี้มีความสนใจในการทดสอบผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ (inbred yield trial) ที่พัฒนาโดยโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เพื่อศึกษาศักยภาพในการเป็นสายพันธุ์แม่และสายพันธุ์พ่อของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ที่จะใช้เป็นคู่ผสมในการผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมพันธุ์ใหม่

อุปกรณ์และวิธีการ

ปลูกทดสอบข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้จำนวน 9 สายพันธุ์ ประกอบด้วย สายพันธุ์จากกลุ่มสุวรรณ (Suwan group, SG) ได้แก่ SG1, SG3, SG5, SG7 และสายพันธุ์จากกลุ่มที่ไม่ใช่สุวรรณ (non-Suwan group, NSG) ได้แก่ NSG2, NSG3, NSG5 ที่พัฒนามาจากโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เปรียบเทียบกับ Ki 48 และ Ki 60 ซึ่งเป็นสายพันธุ์พ่อที่ใช้ในการผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมในปัจจุบัน ณ ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา ในฤดูต้นฝน ปี 2566 (26 พฤษภาคม 2566–23 กันยายน 2566) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อค (randomized complete block design, RCBD) จำนวน 3 ซ้ำ เตรียมพื้นที่ปลูกโดยไถ 2 ครั้ง ได้แก่ ไถดะด้วยผาล 3 จำนวน 1 ครั้ง และไถแปรด้วยผาล 7 จำนวน 1 ครั้ง ก่อนปลูกใส่ปุ๋ยรองพื้นสูตร 15-15-15 อัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่ ปลูกสายพันธุ์ละ 2 แถว แถวยาว 5 เมตร ระยะปลูก 0.70×0.20 เมตร จำนวน 2 เมล็ดต่อหลุม ให้น้ำแบบสปริงเกอร์ทันทีหลังปลูก ฉีดพ่นสารควบคุมวัชพืชก่อนข้าวโพดงอกหลังจากให้น้ำครั้งแรกด้วยเพนดิเมทาลิน (pendimethalin) อัตรา 700 มิลลิลิตร ผสมน้ำ 80 ลิตรต่อไร่ ร่วมกับอาทราซีน (atrazine) อัตรา 640 กรัมต่อไร่ ผสมน้ำ 80 ลิตรต่อไร่ เมื่อข้าวโพดเลี้ยงสัตว์อายุ 14 วันหลังปลูก ถอนแยกให้เหลือ 1 ต้นต่อหลุม ใส่ปุ๋ยสูตร 46-0-0 อัตรา 40 กิโลกรัมต่อไร่ ที่ 25–30 วันหลังปลูก ฉีดพ่นสารเคมีกำจัดหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุด ด้วยคลอแรนทรานิลิโพรล (chlorantraniliprole) อัตรา 10–40 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร เมื่อพบว่ามีการเข้าทำลายของหนอนกระทู้ข้าวโพดลายจุดในระดับตามความรุนแรงของการเข้าทำลาย เก็บเกี่ยวข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ทั้ง 9 สายพันธุ์ วันที่ 23 กันยายน 2566 โดยใช้แรงงานคน รวมพื้นที่เก็บเกี่ยว 7.28 ตารางเมตรต่อแปลงย่อย

ลักษณะที่บันทึกข้อมูล ได้แก่ วันสลัดละอองเกสรและวันออกไหม 50 เปอร์เซ็นต์ (day to 50% anthesis and silking) ความสูงต้น (plant height, เซนติเมตร) ความสูงฝัก (ear height, เซนติเมตร) ปริมาณละอองเกสร (amount of pollen, คะแนน 1–5) การชูช่อของดอกตัวผู้ (tassel extrusion, คะแนน 1–5) ขนาดของดอกตัวผู้ (tassel size, คะแนน 1–5) ลักษณะต้นหักล้ม (stalk lodging, คะแนน 1–5) โรคทางใบ (foliar diseases, คะแนน 1–5) ลักษณะทรงต้น (plant aspect, คะแนน 1-5) ลักษณะฝัก (ear aspect, คะแนน 1–5) ผลผลิตเมล็ดที่ความชื้น 12 เปอร์เซ็นต์ (grain yield, กิโลกรัม/ไร่) เปอร์เซ็นต์ความชื้นเมล็ดขณะเก็บเกี่ยว (% moisture content at harvesting) เปอร์เซ็นต์กะเทาะ (% grain shelling) น้ำหนัก 100 เมล็ด (100 seed weight, กรัม) เปอร์เซ็นต์ฝักดี (% good ears) เปอร์เซ็นต์ฝักเสีย (% rotten ears) สำหรับลักษณะทางการเกษตรที่ประเมินด้วยการให้คะแนน 1–5 นั้น 1 หมายถึง ดีที่สุด และ 5 หมายถึง แย่ที่สุด

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) เพื่อหาค่า F-test และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของลักษณะต่าง ๆ ด้วยวิธี Least significant difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ R version 4.0.2 (R Core Team, 2021)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ จำนวน 9 สายพันธุ์ มีลักษณะทางการเกษตรที่สำคัญ ได้แก่ วันสลัดละอองเกสรและวันออกไหม 50 เปอร์เซ็นต์ ความสูงต้น ปริมาณละอองเกสร การชูช่อของดอกตัวผู้ ขนาดของดอกตัวผู้ และโรคทางใบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p < 0.01$) ในขณะที่ สายพันธุ์แท้ทุกสายพันธุ์มีความสูงฝัก และต้นหักล้มไม่แตกต่างกันทางสถิติ (Table 1) วันสลัดละอองเกสรและวันออกไหม 50 เปอร์เซ็นต์ของสายพันธุ์แท้ทั้งหมดมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 56 และ 56 วัน ตามลำดับ โดย SG3 มีวันสลัดละอองเกสรและวันออกไหม 50 เปอร์เซ็นต์เร็ว ในขณะที่ SG7, Ki 48 และ Ki 60 มีวันสลัดละอองเกสรและวันออกไหม 50 เปอร์เซ็นต์ช้า ซึ่งระยะเวลาในการสลัดละอองเกสรและการออกไหมของสายพันธุ์แท้พ่อแม่มีความสำคัญต่อการปฏิสนธิ และการพัฒนาเป็นเมล็ด (Chassaigne-Ricciulli et al.,

2021) อย่างไรก็ตามสายพันธุ์ที่เหมาะสมกับการเป็นสายพันธุ์แท้พ่อ ควรมีปริมาณละอองเกสร การชูช่อดอกตัวผู้ และขนาดของดอกตัวผู้ที่ดี ซึ่งพบว่า SG5 และ SG7 มีปริมาณละอองเกสรดีไม่แตกต่างทางสถิติกับ Ki 60 และ Ki48 สายพันธุ์ SG7, NSG2, NSG3 และ NSG5 มีการชูช่อดอกตัวผู้ที่ดีไม่แตกต่างกับ Ki60 ในขณะที่ขนาดของดอกตัวผู้ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ จะต้องมีความสัมพันธ์กับความยาวและความกว้างช่อดอกตัวผู้ จะส่งเสริมให้ขนาดช่อดอกตัวผู้มีขนาดใหญ่ ซึ่งพบในสายพันธุ์แท้ SG5 และ NSG2 รองลงมาเป็นสายพันธุ์ SG7 และ NSG5 ส่วนโรคทางใบ สายพันธุ์ SG1 พบการเข้าทำลายของโรคทางใบน้อยที่สุด ในขณะที่ สายพันธุ์ NSG5, NSG3, Ki 60, NSG2, SG3 และ SG7 มีการเข้าทำลายของโรคทางใบรุนแรง (>4 คะแนน) (Table 1)

Table 1 Agronomic characteristics of 9 field corn inbred lines in early rainy season 2023

Entry	Inbred line	Days to 50 %		Height		Amount of Pollen	Tassel Extrusion	Tassel Size	Stalk lodging	Foliar diseases
		tassel	silk	Plant	Ear					
		--------- days -------		----------cm----------		---------- (1–5) ----------			--------- (1–5) ---------	
1	SG1	54	56	157.3	91.0	2.0	2.7	2.0	1.0	2.5
2	SG3	54	54	147.6	88.5	2.3	3.0	2.0	1.0	4.0
3	SG5	55	53	158.7	92.3	1.0	1.3	1.0	1.0	3.0
4	SG7	60	58	158.4	96.2	1.7	1.0	1.3	1.0	3.7
5	NSG2	57	57	168.3	88.7	2.3	1.0	1.0	1.0	4.2
6	NSG3	55	54	155.3	88.5	2.3	1.0	3.0	1.2	4.8
7	NSG5	55	55	181.2	88.7	3.0	1.0	1.3	1.2	5.0
8	Ki 48	58	59	150.7	88.7	1.7	2.0	2.0	1.0	3.0
9	Ki 60	60	61	171.8	91.8	1.0	1.0	2.0	1.0	4.7
	Mean	56	56	161.0	90.5	1.9	1.6	1.7	1.0	3.9
	F-test	**	**	**	ns	**	**	**	ns	**
	$LSD_{0.05}$	1.3	1.5	16.1	-	0.9	0.5	0.5	0.2	0.6
	C.V.(%)	0.9	1.4	4.2	6.4	29.1	16.9	14.6	13.5	9.5

ns = Not significant; ** = Significant at the 0.01 probability level

ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์ทั้ง 9 สายพันธุ์ ให้ผลผลิตเมล็ดแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) มีผลผลิตเมล็ดเฉลี่ย 701 กิโลกรัมต่อไร่ สายพันธุ์แท้ SG1 มีผลผลิตเมล็ดสูงที่สุด 969 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมา ได้แก่ SG3 และ SG5 ที่มีผลผลิต 805 และ 724 กิโลกรัมต่อไร่ โดยทั้ง 3 สายพันธุ์ให้ผลผลิตสูง และมีเปอร์เซ็นต์ฝักเสียน้อยกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ ในขณะที่ NSG2 และ Ki 60 มีผลผลิตสูง แต่ก็พบว่ามีฝักเสียมากกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ (Table 2) นอกจากนี้ ยังพบความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.01$) ในลักษณะความชื้นเมล็ดขณะเก็บเกี่ยว เปอร์เซ็นต์กะเทาะ น้ำหนัก 100 เมล็ด ลักษณะทรงต้น ลักษณะฝัก เปอร์เซ็นต์ฝักดีและเปอร์เซ็นต์ฝักเสีย เช่นเดียวกัน โดยมีความชื้นเมล็ดขณะเก็บเกี่ยวเฉลี่ย อยู่ที่ 25.6 เปอร์เซ็นต์ โดยสายพันธุ์ที่มีความชื้นสูงที่สุด คือสายพันธุ์ SG7 ในทางกลับกันสายพันธุ์ที่มีความชื้นต่ำที่สุด ได้แก่ NSG3 ซึ่งมีเปอร์เซ็นต์กะเทาะและน้ำหนัก 100 เมล็ด สูงที่สุดด้วยเช่นเดียวกัน เมื่อพิจารณาจากลักษณะทรงต้น ลักษณะฝัก เปอร์เซ็นต์ฝักดีและเปอร์เซ็นต์ฝักเสีย พบว่า NSG5, NSG3, NSG2 และ Ki 60 มีลักษณะทรงต้นที่ไม่ดี มีการเข้าทำลายของเชื้อราในฝัก เปอร์เซ็นต์ฝักดีต่ำและเปอร์เซ็นต์ฝักเสียสูง อย่างไรก็ตาม NSG5, NSG3, NSG2 และ Ki 60 ถึงแม้ลักษณะทรงต้นไม่ดี และมีฝักเน่าสูง แต่เมื่อใช้เป็นสายพันธุ์พ่อก็จะไม่มีผลกระทบต่อการให้

ผลผลิต เนื่องจากหลังจากสลัดละอองเกสรเสร็จก็จะตัดต้นสายพันธุ์พ่อ สำหรับ SG1, SG3 และ SG5 มีลักษณะทรงต้นและฝักดี มีความสม่ำเสมอของต้นและฝัก พบการเข้าทำลายของโรคและแมลงน้อย เปอร์เซ็นต์ฝักดีและผลผลิตสูง เหมาะสมที่จะใช้เป็นสายพันธุ์แม่ (Table 2)

Table 2 Yield and yield components of 9 field corn inbred lines in early rainy season 2023

Entry	Inbred line	Grain yield at 12%MC	Moisture content (MC) at harvest	Shelling	100 seed weight	Aspect		Ear	
						Plant	Ear	Good	Rotten
		kg/rai	---------- % ----------		g	---------- (1-5) ----------		---------- % ----------	
1	SG1	969	28.1	80.8	27.7	2.0	1.2	100.0	0.0
2	SG3	805	22.8	79.2	31.4	2.0	1.5	99.1	0.9
3	SG5	724	27.5	75.5	27.4	2.7	1.8	99.4	0.6
4	SG7	632	30.0	66.4	25.6	3.3	3.3	94.7	5.3
5	NSG2	767	23.2	79.0	30.5	4.0	4.0	68.3	31.7
6	NSG3	610	20.1	83.5	33.1	5.0	3.8	84.0	16.1
7	NSG5	592	24.3	82.8	31.7	4.8	2.7	90.1	9.9
8	Ki 48	698	28.6	64.2	28.1	2.7	3.3	90.6	9.4
9	Ki 60	512	26.1	77.4	30.7	5.0	4.0	68.2	31.8
	Mean	701	25.6	76.5	29.6	3.5	2.9	88.3	11.7
	F-test	*	**	**	**	**	**	**	**
	$LSD_{0.05}$	247.7	2.3	4.7	1.7	1.0	1.0	17.8	17.8
	C.V.(%)	21.0	5.2	3.7	3.1	16.7	19.2	11.0	82.8

* and ** = Significant at 0.05 and 0.01 probability level

จากการปลูกทดสอบข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ที่พัฒนาโดยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จำนวน 9 สายพันธุ์ ซึ่งให้ผลผลิต องค์ประกอบของผลผลิต และลักษณะทางการเกษตรที่ดีแล้ว ยังมีข้อมูลศักยภาพของสายพันธุ์แท้ เพื่อนำไปพิจารณาในการคัดเลือกสายพันธุ์พ่อและแม่ สำหรับการผลิตเมล็ดพันธุ์ลูกผสมเชิงการค้า โดยสายพันธุ์ที่ศักยภาพในการเป็นสายพันธุ์แม่ ได้แก่ SG1, SG3 และ SG5 ที่ให้ผลผลิตสูง SG1 มีลักษณะทรงต้นและฝักดี มีความสม่ำเสมอของต้นและฝัก พบการเข้าทำลายของโรคและแมลงน้อย และเปอร์เซ็นต์ฝักดีสุดที่สุด ไม่พบเปอร์เซ็นต์ฝักเสียหรือพบฝักเสียน้อยมาก ในขณะที่สายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการเป็นสายพันธุ์พ่อ ได้แก่ SG5, SG7, NSG2, Ki 48 และ Ki 60 มีศักยภาพในการเป็นสายพันธุ์พ่อที่ดีในการผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมในฤดูฝน (Table 3)

Table 3 Inbred line potential as parents for commercial hybrid seed production in early rainy season 2023

No.	Inbred name	Potential for commercial hybrid seed production		
		Male parent	Female parent	Remark
----------KU inbred line (9 line)----------				
1.	SG1	Good	Good	Significant amount of pollen, many branch of tassel, medium tassel size, fair silk emergence, good plant and ear aspect, big ear, high yield
2.	SG3	Fair	Good	Medium amount of pollen, medium tassel size, fair silk emergence, good plant and ear aspect, medium-long ear, high yield
3.	SG5	Good	Good	Significant amount of pollen, large tassel size, good silk emergence, medium ear, high yield
4.	SG7	Fair	Fair	Significant amount of pollen, large tassel size, susceptible to foliar disease, good silk emergence, medium plant and ear aspect, small-long ear, high yield
5.	NSG2	Good	Poor	Significant amount of pollen, large tassel size, susceptible to foliar disease, good silk emergence, poor plant and ear aspect, big ear, high yield, high rotten ear in rainy season
6.	NSG3	Fair	Fair	Medium amount of pollen, medum tassel size, susceptible to foliar disease, good silk emergence, poor plant and ear aspect, small ear, moderate yield, high rotten ear in rainy season
7.	NSG5	Fair	Poor	Medium amount of pollen, large tassel size, susceptible to foliar disease, fair silk emergence, poor plant and ear aspect, moderate yield and rotten ear in rainy season
8.	Ki 48	Good	Poor	Significant amount of pollen, large tassel size, moderate to foliar disease, good silk emergence, medium plant and ear aspect, moderate yield and rotten ear in rainy season
9.	Ki 60	Good	Poor	Significant amount of pollen, large tassel size, susceptible to foliar disease, good silk emergence, poor plant and ear aspect, moderate yield and rotten ear in rainy season

สรุป

จากการประเมินลักษณะทางการเกษตรและผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ จำนวน 9 สายพันธุ์ จากโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพด มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ปลูกในฤดูต้นฝน ปี 2566 ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ SG1, SG3 และ SG5 มีศักยภาพในการเป็นสายพันธุ์แม่ที่ดี เนื่องจากให้ผลผลิตเมล็ดสูง มีลักษณะทรงต้นและลักษณะฝักดี ในขณะที่ SG5, SG7, NSG2, Ki 48 และ Ki 60 มีศักยภาพในการเป็นสายพันธุ์พ่อที่ดีในการผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมในฤดูต้นฝนเนื่องจากมีปริมาณละอองเกสรตัวผู้ดี ช่อดอกตัวผู้ขนาดใหญ่ ลำต้นสูง และมีการชูช่อของช่อดอกตัวผู้ดี

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ที่สนับสนุนทุนวิจัยภายใต้โครงการการประเมินผลผลิตและเสถียรภาพผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมเดี่ยวดีเด่นเพื่อปลูกในฤดูฝนและฤดูแล้งเขตภาคกลาง ขอขอบคุณศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ คณะเกษตร และภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ วัสดุอุปกรณ์ ตลอดจนบุคลากรจึงทำให้งานวิจัยสำเร็จตามเป้าหมาย

เอกสารอ้างอิง

กัมปนาท วิจิตรศรีกมล, เกรียงศักดิ์ สุวรรณธราดล, สมพร อิศวิลานนท์, ชูศักดิ์ จอมพุก, บุญฤทธิ์ พานิชเจริญ, พิมพ์ชนก หลิมศิริวงษ์. 2561. การเสริมสร้างความเข้มแข็งของอุตสาหกรรมเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในประเทศไทย. ใน: รายงานฉบับสมบูรณ์ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.).

ชูศักดิ์ จอมพุก, สรรเสริญ จำปาทอง, กิตติ บุญเลิศนิรันดร์, พีรนุช จอมพุก, จุฑามาศ ร่มแก้ว, ชเนษฎ์ ม้าลำพอง. 2561. การพัฒนาพันธุ์ข้าวโพดไร่ลูกผสมเพื่อปลูกในดินนาฤดูแล้งเขตชลประทานภาคกลาง. รายงานการวิจัยการพัฒนาการวิจัยการเกษตร ฉบับสมบูรณ์ เสนอ สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน). กรุงเทพฯ.

สำนักควบคุมพันธุ์พืชและวัสดุการเกษตร. 2566. การส่งออกเมล็ดพันธุ์ควบคุม ปี 2565. www.doa.go.th/ard/wp-content/uploads/2023/02/Export-all-year-65.pdf, 14 ตุลาคม 2566.

Chassaigne-Ricciulli, A.A., Mendoza-Onofre, L.E., Córdova-Téllez, L., Carballo-Carballo, A., Vicente-García, F.M.S., Dhliwayo, T. 2021. Effective seed yield and flowering synchrony of parents of CIMMYT three-way-cross tropical maize hybrids. Agriculture 11(2): 161. https://doi.org/10.3390/agriculture11020161

Jithendra, D.B.G.V., Basvaraju, G.S., Amrutha, N. 2013. Effect of fertilizer levels and planting geometry on growth and seed yield of single cross maize hybrid NAH-2049 (Nithyashree). Global Journal of Biology, Agriculture and Health Science 2(3): 216–220.

MacRobert, J.F., Setimela, P., Gethi, J., Worku, M. 2014. Maize Hybrid Seed Production Manual; CIMMYT, Mexico.

Raymond, F.D., Alley, M.M., Parrish, D.J., Thomason, W.E. 2009. Plant density and hybrid impacts on corn grain and forage yield and nutrient uptake. J. Plant Nutr. 32(3): 395–409.

R Core Team. 2021. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Shapiro, C.A., Wortmann, C.S. 2006. Corn response to nitrogen rate, row spacing, and plant density in eastern Nebraska. J. Agron. 98(3): 529–535.

Tollenaar, M., Lee, F.A. 2002. Yield potential, yield stability and stress tolerance in maize. Field Crops Res. 75(2–3): 161–169.

Yuyun, I., Syahban, R.A. 2017. The ratio of male and female parental and addition boron fertilizer in male plant to the production and quality seed of sweet corn (*Zea mays* “Saccharate” STURT). Int. J. Agric. Sci. 1(1): 1–12.

การคัดแยกและจำแนกชนิดแบคทีเรียที่สามารถละลายโพแทสเซียมและสร้างเอนไซม์ ACC deaminase จากดินในพื้นที่แล้งภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

Screening and identification potassium solubilizing and ACC deaminase producing bacteria from soil in drought area of the Northeastern region

กนกอร บุญพา*, **สนธยา ขำติ๊บ**, **อำนาจ เอี่ยมวิจารณ์**, **มนต์ชัย มนัสสิลา**

Kanokon Bunpha*, Sontaya Khamtib, Amnat Eamvijarn, Monchai Manassila

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900

Agricultural Production Science Research and Development Division, Department of Agriculture, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: k.bunpha@gmail.com

บทคัดย่อ

การคัดแยกแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมที่สามารถสร้างเอนไซม์ ACC deaminase จากดินในพื้นที่แล้ง 5 จังหวัดของภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย เพื่อหาแบคทีเรียท้องถิ่นที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเพื่อนำไปพัฒนาเป็นปุ๋ยชีวภาพละลายโพแทสเซียมที่เหมาะสมกับการผลิตพืชไร่ในพื้นที่แห้งแล้ง จากการศึกษาพบแบคทีเรียที่สามารถละลายโพแทสเซียมและสร้างเอนไซม์ ACCd ได้ทั้งหมด 26 ไอโซเลท มีค่าดัชนีการละลายโพแทสเซียมตั้งแต่ 1.3–2.8 และมีค่ากิจกรรมจำเพาะเอนไซม์ ACCd ตั้งแต่ 0.18–5.36 ไมโครโมลของ α-ketobutylate ต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง จำแนกชนิด KSB ที่มีประสิทธิภาพในการละลายโพแทสเซียมและสร้าง ACCd สูงสุดของแต่ละกิจกรรมจำนวน 16 ไอโซเลท พบ KSM 5 สกุล ได้แก่ สกุล *Burkholderia* 10 ไอโซเลท *Paraburkholderia* 2 ไอโซเลท *Dyella* 2 ไอโซเลท *Enterobacter* 1 ไอโซเลท และ *Frateuria* 1 ไอโซเลท ในจำนวนนี้มี KSB 4 ไอโซเลท ที่มีค่ากิจกรรมจำเพาะเอนไซม์ ACCd และค่าดัชนีการละลายโพแทสเซียม อยู่ใน 10 อันดับแรกของทั้ง 2 กิจกรรม ได้แก่ *Burkholderia* KSM22032, *Dyella* KSM22092, *Burkholderia* KSM22090 และ *Paraburkholderia* KSM22070 มีค่ากิจกรรมจำเพาะเอนไซม์ ACCd เท่ากับ 5.36, 2.51, 2.25 และ 2.13 ไมโครโมลของ α-ketobutylate ต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง ตามลำดับ และมีค่าดัชนีการละลายโพแทสเซียม เท่ากับ 2.7, 2.3, 2.0 และ 2.4 ตามลำดับ ซึ่งเหมาะแก่การนำไปศึกษาต่อเพื่อพัฒนาเป็นปุ๋ยชีวภาพแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมที่มีประสิทธิภาพต่อไป

คำสำคัญ: ความเครียด, แบคทีเรีย, ประสิทธิภาพ, ปุ๋ยชีวภาพละลายโพแทสเซียม

Abstract

Screening K-solubilizing bacteria that producing enzyme ACC deaminase from soil in drought areas in 5 provinces of the Northeastern Thailand to enhance the utilization of effective plant growth-promoting bacteria from indigenous species to develop a K-solubilizing bio-fertilizer model suitable for crop production in a dry area. A total of 26 isolates of bacteria that were able to dissolve potassium and produce enzyme ACCd were found, with potassium solubilization index values in the range of 1.3–2.8 and the specific activity of ACCd ranged from 0.18–5.36 μmol of α-ketobutylate·mg^{-1} protein·h^{-1}. Sixteen isolates of the 10 most efficient of dissolving potassium and producing enzyme ACCd were identified to 5 genera including *Burkholderia* 10 isolates, *Paraburkholderia* 2 isolates, *Dyella* 2 isolate, *Enterobacter* 1 isolate and *Frateuria* 1 isolate. Among these, four KSBs had specific ACCd activity and potassium solubilization index values in the top 10 for both activities i.e. *Burkholderia* KSM22032, *Dyella* KSM22092, *Burkholderia* KSM22090 and *Paraburkholderia* KSM22070, with the specific activity of ACCd values were 5.36, 2.51, 2.25 and 2.13 μmol of α-ketobutylate·mg^{-1} protein·h^{-1} respectively, and the solubilization index values were 2.7, 2.3, 2.0 and 2.4 respectively, which all of them suitable for further study to develop an effective K-solubilizing bacterial bio-fertilizer.

Keywords: Bacteria, Efficiency, Potassium solubilizing bio-fertilizer, Stress

คำนำ

โพแทสเซียม (K) เป็นธาตุอาหารหลักที่มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของ ธาตุโพแทสเซียมในดินเกิดจากการสลายตัวของหินและแร่ในดิน พืชสามารถนำโพแทสเซียมที่อยู่ในรูปอนุมูลบวกหรือโพแทสเซียมไอออน (K^+) ไปใช้เป็นประโยชน์ได้ แต่ถ้าอยู่ในรูปของแร่พืชจะไม่สามารถนำโพแทสเซียมไปใช้เป็นประโยชน์ได้ งานวิจัยพบว่ามีแบคทีเรียหลายสกุล เช่น *Acidothiobacillus*, *Bacillus*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Paenibacillus*, *Pseudomonas* ที่มีความสามารถในการละลายแร่โพแทช เช่น เฟลด์สปา มัสโคไวต์ ไบโอไทต์ ให้อยู่ในรูปที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ (Etesami, Emami and Alikhani, 2017; Sarikhani et al., 2018, Sun et al., 2020; Boubekri et al., 2021; Pérez-Pérez et al., 2021) แบคทีเรียละลายโพแทสเซียมจึงมีบทบาทสำคัญในการช่วยให้พืชสามารถดูดใช้ธาตุโพแทสเซียมในดินได้ นอกจากนี้ยังพบว่ามีแบคทีเรียบางชนิดสามารถทำให้พืชเจริญเติบโตอย่างเป็นปกติหรือทนทานต่อสภาวะความเครียดต่าง ๆ เช่น ความแห้งแล้ง ความเค็ม กลไกการทนแล้งของพืชเกิดจากระบบการเหนี่ยวนำให้พืชเกิดความต้านทานโดยสารประกอบของแบคทีเรีย (induced systemic resistance: ISR) พืชแต่ละชนิดจะตอบสนองต่อสภาวะแล้งแตกต่างกันขึ้นอยู่กับระดับความรุนแรงของการขาดน้ำและช่วงเวลาของการขาดน้ำ บางชนิดลดการสูญเสียน้ำโดยการปิดปากใบ การม้วนใบ การสะท้อนของใบ การลดพื้นที่ใบ หรืออาจมีการเจริญครบวงจรอย่างรวดเร็วหรือขยายเวลาช่วงออกดอกติดผล (plasticity) ในพืชบางชนิดที่เจริญแบบ indeterminate เช่นพืชวงศ์ถั่วซึ่งสามารถยืดเวลาในการออกดอกไปได้จนกว่าพืชจะได้รับน้ำหรือมีฝนตกภายหลังจากผ่านช่วงแล้ง นอกจากนี้พืชยังมีการสร้างอนุมูลอิสระ (reactive oxygen species: ROS) ซึ่งเป็นพิษต่อเซลล์เพิ่มมากขึ้นและมีการสร้าง ACC เพิ่มมากขึ้น แต่พืชไม่สามารถควบคุมปริมาณ ACC ได้ ซึ่ง ACC เป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์เอทิลีนโดยเอทิลีนจะกระตุ้นให้พืชเกิดการแก่และการร่วงของใบเร็วขึ้น (Kaushal and Wani, 2016) แบคทีเรียหลายสกุล เช่น *Azospirillum*, *Burkholderia, Bacillus, Bradyrhizobium, Pseudomonas* และ *Paenibacillus* สามารถผลิตเอนไซม์ ACC deaminase (ACCd) เพื่อเปลี่ยน ACC ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์เอทิลีนให้เป็นสารประกอบไนโตรเจน โดยการย่อยให้เป็นแอมโมเนีย และ α-ketobutyrate ทำให้ปริมาณ ACC ในรากลดลง ส่งผลให้พืชมีระดับเอทิลีนลดน้อยลง ช่วยลดความเครียดและอันตรายที่มีต่อการเจริญเติบโตของพืช (Cheng et al., 2007; Vurukonda et al., 2016) แบคทีเรียที่สามารถเจริญในสภาวะขาดน้ำโดยดูดซับน้ำและรักษาศักย์ของน้ำรอบราก (water potential) (Bashan et al., 2004; Vurukonda et al., 2016)) สามารถสร้างสารควบคุมการเจริญเติบโตซึ่งคล้ายฮอร์โมนพืชได้หลายชนิด เช่น abscisic acid (ABA) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการปิดปากใบเพื่อลดการสูญเสียน้ำของพืช gibberellic acid (GA) ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชทั้งต้นโดยทำให้เกิดการยืดตัวของเซลล์ cytokinins ช่วยชะลอการแก่และร่วงของใบ และ indole-3-acetic acid (IAA) ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืช (Vurukonda et al., 2016) และยังกระตุ้นให้พืชสร้าง proline, choline และ trehalose เพื่อปรับสมดุลแรงดันออสโมติกภายในเซลล์และลดความเสียหายของดีเอ็นเอ โปรตีน และไขมันจากการทำลายของอนุมูลอิสระ (Farooq et al., 2009; Daffonchio et al., 2015) งานวิจัยนี้มุ่งเน้นการคัดแยกแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมจากพื้นที่แล้งซ้ำซากภาคตะวันออกเฉียงเหนือที่มีความสามารถในการสร้าง ACCd เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพไปศึกษาร่วมกับพืชทดสอบในสภาวะเครียด เพื่อให้ได้เชื้อที่มีศักยภาพไปใช้ประโยชน์ทางการเกษตรต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บตัวอย่างดิน คัดแยกแบคทีเรียละลายโพแทสเซียม (KSB) และทดสอบการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงของ KSB

สำรวจและเก็บตัวอย่างดินบริเวณแปลงปลูกข้าวโพดและพื้นที่ที่ไม่ถูกรบกวนในพื้นที่แล้งซ้ำซาก 5 จังหวัด จำนวน 15–20 จุดต่อพื้นที่ แบบ composite sample ที่ระดับความลึก 0–20 ซม.และ 20–50 ซม. จังหวัดละ 2–4 อำเภอ ได้แก่ จ.หนองบัวลำภู (อ.ศรีบุญเรือง และ อ.เมืองหนองบัวลำภู) จ.ขอนแก่น (อ.หนองเรือ และ อ.ชุมแพ) จ.ชัยภูมิ (อ.แก้งคร้อ อ.บ้านแท่น อ.เนินสง่า และ อ.จัตุรัส) จ.มหาสารคาม (อ.บรบือ และ อ.นาดูน) และ จ.ร้อยเอ็ด (อ.หนองพอก และ อ.เมยวดี) ตามพืชเป้าหมายและพื้นที่ที่ไม่ถูกรบกวน ซึ่งกรมพัฒนาที่ดินให้คำนิยาม พื้นที่ที่มีความแห้งแล้งทำให้การเกษตรเสียหายเป็นวงกว้างโดยเกิดเป็นประจำหรือบ่อยครั้ง เรียกว่า พื้นที่แล้งซ้ำซาก แบ่งความรุนแรงออกเป็น 3 ระดับ คือ 1) ระดับรุนแรงเล็กน้อย จะประสบความแห้งแล้ง ไม่เกิน 3 ครั้ง ในรอบ 10 ปี 2) ระดับรุนแรงปานกลาง จะประสบความแห้งแล้ง 4–5 ครั้ง ในรอบ 10 ปี และ 3) ระดับรุนแรงมาก จะประสบความแห้งแล้ง 6 ครั้งขึ้นไปในรอบ 10 ปี (อัจฉรี, 2564) โดยทั่วไปเกิดขึ้นเมื่อพื้นที่ที่ได้รับน้ำอย่างสม่ำเสมอเกิดฝนตกต่ำกว่าค่าเฉลี่ย เกิดผลกระทบอย่างมากต่อการดำรงชีวิต การเกษตร และระบบนิเวศในพื้นที่เกิดภัย (ศูนย์เตือนภัยพิบัติแห่งชาติ, 2561) โดยนำตัวอย่างดินมาคัดแยกแบคทีเรียละลายโพแทสเซียม (K-Solubilizing Bacteria, KSB) ใช้เทคนิคการเพาะเลี้ยงที่ปรับสภาพให้เหมาะสมต่อการเจริญ (enrichment technique) ของ KSB โดยดัดแปลงตามวิธีของสนธยาและคณะ (2561) และ Hu et al. (2006) ชั่งตัวอย่างดิน 10 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ที่มีอาหาร Aleksandrow broth (Aleksandrov et al.,1967) ปริมาตร 90 มิลลิลิตร บ่มบนเครื่องเขย่า ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นนำตัวอย่างมาเจือจางด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 โดยมวลต่อปริมาตร ให้ได้ค่าการเจือจาง 10^{-1} ถึง 10^{-5} แล้วนำตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางมาคัดแยกแบคทีเรียละลายโพแทสเซียม ระดับละ 3 ซ้ำ ด้วยเทคนิค Spread plate บนอาหาร Aleksandrow agar (Aleksandrov et al.,1967) บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เลือกโคโลนีที่สร้างวงใสรอบ ๆ และมีลักษณะของโคโลนีที่แตกต่างกันในแต่ละตัวอย่างมาทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค Cross streak บนอาหาร Nutrient agar บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำ KSB ที่คัดแยกได้ มาทดสอบการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง (Hemolytic activity) เพื่อความปลอดภัยในการนำ KSB ไปใช้งาน โดยเทคนิค Streak plate บนอาหาร Blood agar บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 5 วัน ถ้าเกิดวงใสขึ้นรอบโคโลนีของแบคทีเรียแสดงว่าแบคทีเรียสามารถย่อยสลายเม็ดแดงได้ (hemolysis) จะไม่นำไปศึกษาต่อ คัดเลือกเฉพาะ KSB ที่ไม่เกิดวงใสไปทดสอบประสิทธิภาพการละลายโพแทสเซียมบนอาหาร Aleksandrow agar

การคัดเลือก KSB ที่สามารถเจริญเติบโตในสภาวะที่มีค่าศักย์ของน้ำต่ำ

เพาะเลี้ยง KSB ที่คัดแยกได้ในอาหาร Tryptic soy broth (TSB) (ประกอบด้วย casein (pancreatic digest) 17 กรัมต่อลิตร soya peptone (papaic digest) 3 กรัมต่อลิตร sodium chloride 5 กรัมต่อลิตร dipotassium phosphate 2.5 กรัมต่อลิตร และ dextrose 2.5 กรัมต่อลิตร) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปรับความขุ่นของเชื้อ KSB ด้วยอาหาร TSB ให้มีค่าใกล้เคียงกับสารละลายมาตรฐาน McFarland 4 (Approximate cell density = 12×10^8 cells/ml) จากนั้นดูด KSB แขวนลอย 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหาร TSB (positive control) 4 มิลลิลิตร และ หลอดที่มีอาหาร TSB ที่เติม polyethylene glycol-6000 (PEG 6000) ความเข้มข้น 250 กรัมต่อลิตร (อาหารมีค่าศักย์ของน้ำ (water potential) เท่ากับ -0.73 MPa) 4 มิลลิลิตร (Michel and Kaufmann, 1973) ไอโซเลทละ 3 ซ้ำ นำไปบ่มบนเครื่องบ่มเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เทียบความขุ่นของแบคทีเรียที่เจริญในอาหาร TSB ที่เติม PEG 6000 กับ positive control

(อาหาร TSB) และ negative control (อาหาร TSB ที่ไม่ใส่เชื้อ) นำ KSB ที่สามารถเจริญใน TSB ที่เติม PEG 6000 (มีความขุ่นมากกว่าสารละลายมาตรฐาน McFarland 4) ไปทดสอบการผลิตเอนไซม์ ACC deaminase (ACCd)

การคัดเลือก KSB ที่สามารถผลิตเอนไซม์ 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase (ACCd)

นำ KSB ที่สามารถเจริญในอาหาร TSB ที่เติม PEG 6000 ทั้งหมดมาคัดเลือก KSB ที่สามารถผลิตเอนไซม์ ACCd โดยเพาะเลี้ยง KSB ในอาหาร TSB บ่มอุณหภูมิห้อง บนเครื่องเขย่าความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำ KSB ที่ได้ ปั่นแยกเซลล์ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ล้างเซลล์ด้วย 0.1 M Tris-HCl (pH 7.5) จำนวน 2 ครั้ง จากนั้นทำให้เซลล์แขวนลอยด้วย 0.1 M Tris-HCl (pH 7.5) นำตัวอย่างแขวนลอยของ KSB มาทดสอบการผลิตเอนไซม์ ACCd ด้วยเทคนิค Drop plate ลงบนอาหาร Dworkin-Foster (DF) salts minimal (Dworkin and Foster, 1958) โดย positive control เติม $(NH_4)_2SO_4$ 2 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจน negative control ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน ส่วนอาหารทดสอบเติม ACC 303.3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจน คัดเลือก KSB สามารถเจริญบนอาหาร DF salts minimal ที่เติม ACC เพื่อวัดกิจกรรมเอนไซม์ ACCd ต่อไป

การทดสอบประสิทธิภาพการละลายโพแทสเซียมของ KSB ที่คัดแยกได้

ทดสอบประสิทธิภาพการละลายโพแทสเซียมของ KSB โดยใช้เทคนิค Drop plate เริ่มต้นเพาะเลี้ยง KSB ใน Nutrient broth ที่อุณหภูมิ 37°C บนเครื่องบ่มเขย่า 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นดูด KSB ปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบน Aleksandrow agar ไอโซเลทละ 4 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิ 30°C ในที่มืด เป็นเวลา 11 วัน วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนีและวงใส เพื่อคำนวณค่าดัชนีการละลาย (Solubilization Index, SI) ตาม Equation 1 ของ (Pérez-Pérez et al., 2021)

$$\text{Solubilization Index, SI} = \frac{\text{the diameter of the solubilization halo (cm), DH}}{\text{the diameter of the bacterial colony (cm), DC}} \quad (1)$$

การวัดกิจกรรมเอนไซม์ 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase (ACCd)

วัดกิจกรรมเอนไซม์ ACCd ด้วยการวัดปริมาณ alpha-ketobutyrate ที่ปลดปล่อยออกมาจากการย่อย ACC ของเอนไซม์ ACCd โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Honma and Shimomura (1978) และ Penrose and Glick (2003) และเริ่มต้นจากเพาะเลี้ยง KSB ที่สามารถผลิตเอนไซม์ ACCd ในอาหาร DF salts minimal (Dworkin and Foster, 1958) ที่มี ACC 303.3 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็นแหล่งไนโตรเจน ไอโซเลทละ 3 ซ้ำ จากนั้นนำ KSB ที่ได้มาปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งส่วนใสและล้างตะกอนเซลล์ด้วย 0.1 M Tris HCl (pH 7.5) จำนวน 2 ครั้ง แขวนลอยตะกอนเซลล์ด้วย 0.1 M Tris HCl (pH 8.5) 400 ไมโครลิตร เติมโทลูอีน 20 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นดูดตัวอย่าง KSB ที่ถูกตรึงด้วยโทลูอีน (toluenized cells) 100 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดไมโครทิวป์ ที่มี 0.3 M ACC 10 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงเติม 0.56 M HCl 1,000 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปปั่นแยกเซลล์ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 12,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ดูดส่วนใส 1,000 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นเติม 0.56 M HCl 800 ไมโครลิตร และ DNF solution (ละลาย 2,4-dinitrophenylhydrazine 0.1 กรัม ใน 2 M HCl 100 มิลลิลิตร) 300 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงเติม 2 N NaOH 2 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นำค่าที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงและความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน

alpha-ketobutyrate (0–1 mM) เพื่อหาความเข้มข้นของ alpha-ketobutyrate และคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์ ACCd วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนทั้งหมดของตัวอย่าง KSB ที่ถูกตรึงด้วยโทลูอีน ด้วยวิธี Bradford method (Bradford, 1976) เพื่อนำมาคำนวณกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ ACCd ตาม Equation 2

$$\text{Specific activity } (\mu\text{mol of } \alpha\text{-ketobutylate} \cdot \text{mg}^{-1} \text{ protein} \cdot \text{h}^{-1}) = \frac{\text{Enzyme activity } (\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{1} \cdot \text{h}^{-1})}{\text{Protein content } (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})} \quad (2)$$

จำแนกชนิดของ KSB เบื้องต้น

จำแนกชนิดของ KSB เบื้องต้นโดยอาศัยอนุกรมวิธานระดับโมเลกุลด้วยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rRNA gene ด้วย universal primer คือ forward primer 27 F (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') และ reverse primer 1492R (5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3') (Lane, 1991) เปรียบเทียบความคล้ายคลึงของลำดับนิวคลีโอไทด์กับฐานข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rRNA gene ของแบคทีเรียบนเว็บไซต์ของ EZBioCloud (https://www.ezbiocloud.net/)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการสำรวจและเก็บตัวอย่างดินในพื้นที่แล้งภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จังหวัดหนองบัวลำภู ขอนแก่น ชัยภูมิ มหาสารคาม และร้อยเอ็ด ได้ตัวอย่างดินทั้งหมด 60 ตัวอย่าง จากแปลงปลูกข้าวโพด 13 แห่ง และพื้นที่ป่าสาธารณประโยชน์และวัดป่า 17 แห่ง นำดินมาคัดแยกเชื้อแบคทีเรียละลายโพแทสเซียม (K-Solubilizing bacteria, KSB) พบแบคทีเรียที่สร้างวงใสบนอาหาร Aleksandrow agar ทั้งหมด 86 ไอโซเลท จากดินที่ระดับความลึก 0–20 ซม. จำนวน 52 ไอโซเลท และที่ระดับความลึก 20–50 ซม. จำนวน 34 ไอโซเลท จากนั้นนำ KSB ที่คัดเลือกได้มาทดสอบการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงและความสามารถในการเจริญเติบโตในสภาวะที่มีค่าศักย์ของน้ำต่ำ (-0.73 MPa) พบว่า KSB ที่ไม่ย่อยสลายเม็ดเลือดแดง (non-hemolytic) และสามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีค่าศักย์ของน้ำต่ำ มีจำนวน 54 ไอโซเลท โดยทุกไอโซเลทที่สามารถเจริญใน TSB ที่เติม PEG 6000 มีความขุ่นอยู่ในช่วงสารละลายมาตรฐาน McFarland 2 ถึง McFarland 5 แสดงว่า KSB สามารถทนทานได้ในสภาวะแห้งแล้งโดยเชื้อสามารถเจริญได้มีความหนาแน่นเซลล์อยู่ในช่วงระหว่าง 6×10^{8} ถึง 1.5×10^{9} เซลล์ต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำทุกไอโซเลทที่คัดเลือกได้มาทดสอบการผลิตเอนไซม์ ACC deaminase เบื้องต้นบนอาหารแข็ง DF salts minimal พบว่า มี KSB ที่สามารถเจริญบนอาหาร DF salts minimal ที่มี ACC เป็นแหล่งไนโตรเจน (Fig. 1B) จำนวน 26 ไอโซเลท จากทั้งหมด 86 ไอโซเลท คิดเป็นร้อยละ 30 ของ KSB ทั้งหมดที่นำมาทดสอบ จากนั้นนำทั้ง 26 ไอโซเลท มาวัดประสิทธิภาพการละลายโพแทสเซียมและวัดกิจกรรมเอนไซม์ ACCd พบว่าทั้ง 26 ไอโซเลท มีค่าดัชนีการละลายโพแทสเซียม ตั้งแต่ 1.3–2.8 และมีค่ากิจกรรมจำเพาะเอนไซม์ ACCd ตั้งแต่ 0.18–5.36 ไมโครโมลของ α-ketobutylate ต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง (Table 1) ค่าดัชนีการละลายโพแทสเซียมเมื่อเทียบกับเกณฑ์ของ Saha et al. (2016) อ้างตาม Pérez-Pérez et al. (2021) โดยเกณฑ์ประสิทธิภาพของการละลายโพแทสเซียม มี 2 ส่วน คือ 1) อัตราการละลาย; อัตราการละลาย "เร็ว" เมื่อเกิด Halo zone รอบโคโลนีก่อนวันที่ 3, อัตราการละลาย "ช้า" เมื่อเกิด Halo zone หลังวันที่ 3 และ 2) ระดับความสามารถในการละลาย; แบ่งเป็น 3 ระดับ ระดับที่ 1: SI<2.00 ให้เท่ากับความสามารถในการละลาย "ต่ำ", ระดับที่ 2: $2.00 \leq SI \leq 4.00$ ให้เท่ากับความสามารถในการละลาย "ปานกลาง" และระดับที่ 3: SI>4.00 เท่ากับความสามารถในการละลาย "สูง" (SI, Solubilization Index) จากเกณฑ์นี้พบว่า KSB ที่คัดเลือกได้มากกว่า 60% มีอัตราการละลายเร็วแต่ระดับความสามารถในการละลายอยู่ในระดับต่ำถึง

ปานกลาง นอกจากนี้ค่ากิจกรรมจำเพาะเอนไซม์ ACCd จาก KSB ที่คัดเลือกได้ยังอยู่ในระดับที่ไม่สูงมากเมื่อเทียบกับ Duan et al. (2021) ที่พบแบคทีเรียที่มีค่ากิจกรรมจำเพาะเอนไซม์ ACCd อยู่ในช่วง 15.69–60.11 ไมโครโมลของ α-ketobutylate ต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมงจากดินรอบรากองุ่น อย่างไรก็ตามมีไอโซเลทที่คัดเลือกได้มีค่ากิจกรรมจำเพาะเอนไซม์ใกล้เคียงกับ Sarapat et al. (2020) ที่มีการนำแบคทีเรียที่มีค่ากิจกรรมจำเพาะเอนไซม์ ACCd ที่อยู่ในช่วง 3.88–34.72 ไมโครโมลของ α-ketobutylate ต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง ไปทดสอบร่วมกับถั่วเขียวในสภาวะแล้งพบว่าทุกกรรมวิธีที่ใส่เชื้อมีการเจริญเติบโตของพืชสูงกว่าการไม่ใส่เชื้อ ซึ่งข้อมูลเกี่ยวกับการนำ KSB ไปทดสอบกับพืชยังมีอยู่ไม่มากนักจึงควรทำการศึกษาเพิ่มเติมต่อไป จากนั้นนำ KSB ที่มีค่ากิจกรรมสูงสุด 10 อันดับแรกของแต่ละกิจกรรมไปจำแนกชนิดด้วยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rRNA (Table 2) พบว่า KSB ที่มีประสิทธิภาพในการละลายโพแทสเซียมและสร้าง ACCd จำนวน 16 ไอโซเลท แบ่งได้เป็น 5 สกุล ได้แก่ สกุล *Burkholderia* 10 ไอโซเลท *Paraburkholderia* 2 ไอโซเลท *Dyella* 2 ไอโซเลท *Enterobacter* 1 ไอโซเลท และ *Frateuria* 1 ไอโซเลท ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยหลายชิ้นที่พบว่า แบคทีเรียสกุล *Burkholderia*, *Enterobacter* และ *Frateuria* มีประสิทธิภาพในการละลายโพแทสเซียม (Zhang and Kong, 2014; Sun et al., 2020; Olaniyan et al., 2022; Bangun et al., 2023) ส่วน *Dyella jiangningensis* ที่พบในครั้งนี้เป็นชนิดที่มีรายงานการพบครั้งแรกว่าแยกเชื้อได้จากหินอัคนีที่มีโพแทสเซียมซิลิเกตเป็นองค์ประกอบ (potassic trachytes) และจากการศึกษาพบว่าแบคทีเรียชนิดนี้มีประสิทธิภาพทั้งละลายโพแทสเซียมและสร้างเอนไซม์ ACCd เช่นเดียวกันกับ KSM สกุล *Burkholderia* ที่มีการศึกษาพบว่าในสกุลนี้มีหลายชนิดที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ ACCd เช่นเดียวกัน โดยมีค่ากิจกรรมจำเพาะเอนไซม์ ACCd ตั้งแต่ 2–15 ไมโครโมลของ α-ketobutylate ต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง (Onofre-Lemus et al., 2009) จากการเปรียบเทียบค่ากิจกรรมทั้ง 2 กิจกรรมของ KSM (Table 1) พบว่าจาก KSB จำนวน 26 ไอโซเลท มี KSB 4 ไอโซเลท ที่มีค่ากิจกรรมจำเพาะเอนไซม์ ACCd และค่าดัชนีการละลายโพแทสเซียม อยู่ใน 10 อันดับแรกของทั้ง 2 กิจกรรม ได้แก่ *Burkholderia orbicola* KSM22032, *Dyella jiangningensis* KSM22092, *Burkholderia cepacia* KSM22090 และ *Paraburkholderia silvatlantica* KSM22070 มีค่ากิจกรรมจำเพาะเอนไซม์ ACCd เท่ากับ 5.36, 2.51, 2.25 และ 2.13 ไมโครโมลของ α-ketobutylate ต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง ตามลำดับ และมีค่าดัชนีการละลายโพแทสเซียม เท่ากับ 2.7, 2.3, 2.0 และ 2.4 ตามลำดับ ซึ่งเหมาะแก่การนำไปศึกษาต่อเพื่อพัฒนาเป็นปุ๋ยชีวภาพแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมให้พืชทนทานต่อสภาวะเครียดในรูปแบบต่าง ๆ ต่อไป โดยทุกไอโซเลทที่คัดแยกได้เก็บรักษาไว้ใน 10% Skim milk ที่อุณหภูมิ -20°C และ -80°C เพื่อการอนุรักษ์และนำไปใช้ทดสอบประสิทธิภาพด้านอื่น ๆ ที่เป็นประโยชน์ทางการเกษตรต่อไป

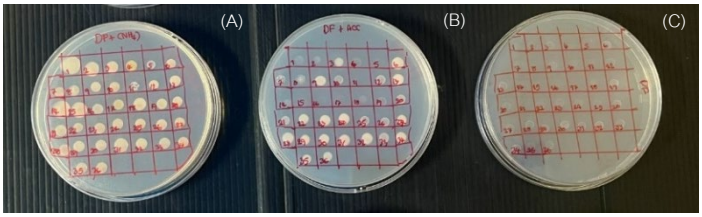


Fig. 1 Screening of bacterial isolates for 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid (ACC) deaminase (ACCd) activity: DF minimal medium with nitrogen source (positive control) (A); DF minimal medium with ACC as nitrogen source (B); DF minimal medium without any nitrogen source (negative control) (C)

Table 1 Potassium solubilization, drought stress and specific ACCd activity of isolated K-solubilizing bacteria

Isolate Codes	Diameter of Halo Zone (mm)	Diameter of colony (mm)	(1)Solubilization Index	Drought Stress (-0.73 MPa)	ACCd activity (μmolL/h)	Protein Concentration (mg/L)	(2)Specific ACCd activity (μmol of α-ketobutylate·mg^{-1}protein·h^{-1})
KSM22003	4.6±0.75^{m}	2.6±0.75^{m}	1.8±0.22^{hi}	+	22.77±3.09^{f}	69.52±1.49^{defg}	0.33±0.05^{k}
KSM22006	20.7±1.69^{b}	7.4±0.73^{b}	2.8±0.05^{a}	+	193.62±9.87^{cd}	153.33±46.18^{ab}	1.32±0.29^{ghi}
KSM22018	9.6±0.75^{hijk}	7.4±0.75^{b}	1.3±0.08^{j}	+	56.31±14.14^{f}	47.65±7.16^{fg}	1.20±0.35^{hij}
KSM22032	22.8±0.87^{a}	8.5±0.41^{a}	2.7±0.05^{abc}	+	335.88±20.17^{a}	63.53±8.34^{defg}	5.36±0.84^{a}
KSM22051	18.6±0.75^{c}	6.9±0.25^{bcd}	2.7±0.01^{abc}	+	23.27±2.27^{f}	89.76±0.21^{cdef}	0.26±0.02^{k}
KSM22056	11.3±0.96^{fgh}	6.8±0.50^{bcde}	1.7±0.07^{hi}	+	12.87±1.71^{f}	53.10±18.66^{fg}	0.26±0.10^{k}
KSM22057	14.0±1.15^{de}	7.5±0.58^{b}	1.9±0.01^{gh}	+	17.82±2.57^{f}	65.71±1.24^{defg}	0.27±0.04^{k}
KSM22063	11.4±0.75^{fg}	5.1±0.25^{ijk}	2.2±0.04^{defg}	+	15.84±1.71^{f}	88.93±0.71^{cdef}	0.18±0.02^{k}
KSM22070	14.6±0.75^{d}	6.1±0.25^{defg}	2.4±0.08^{cde}	+	204.00±4.53^{c}	97.06±13.78^{cdef}	2.13±0.32^{cdef}
KSM22071	11.4±1.03^{fg}	6.4±0.25^{cdef}	1.8±0.11^{hi}	+	376.87±13.28^{a}	86.67±11.92^{cdef}	4.39±0.47^{b}
KSM22076	8.1±1.89^{kl}	4.6±0.25^{kl}	1.8±0.36^{hi}	+	368.97±65.55^{a}	183.14±40.04^{a}	2.04±0.34^{cdefg}
KSM22077	7.5±0.58^{l}	5.0±0.00^{jkl}	1.5±0.12^{ij}	+	222.27±23.85^{bc}	82.35±15.56^{cdef}	2.73±0.21^{c}
KSM22079	9.0±0.71^{kl}	5.3±0.29^{hijk}	1.7±0.08^{hi}	+	12.84±0.86^{f}	27.25±7.26^{f}	0.50±0.15^{jk}
KSM22080	12.9±1.03^{ef}	5.9±0.25^{fghi}	2.2±0.23^{defg}	+	32.60±13.17^{f}	25.69±15.92^{f}	1.39±0.41^{fghi}
KSM22081	9.1±1.60^{jkl}	4.6±0.25^{kl}	2.0±0.41^{fgh}	+	204.49±74.49^{c}	126.67±48.47^{bc}	1.65±0.30^{efgh}
KSM22084	11.0±1.15^{ghi}	6.5±0.58^{cdef}	1.7±0.03^{hi}	+	49.89±6.17^{f}	85.88±44.51^{cdef}	0.71±0.38^{ijk}
KSM22085	9.0±0.00^{kl}	5.0±0.00^{jkl}	1.8±0.00^{hi}	+	175.84±14.84^{cde}	107.06±49.19^{bcde}	1.82±0.61^{defgh}
KSM22086	14.8±0.96^{d}	6.0±0.00^{efgh}	2.5±0.16^{bcd}	+	15.84±1.71^{f}	58.33±1.69^{efg}	0.27±0.04^{k}
KSM22087	10.8±1.89^{ghij}	4.3±1.50^{l}	2.8±0.84^{ab}	+	24.75±3.74^{f}	93.45±0.74^{cdef}	0.27±0.04^{k}
KSM22088	12.9±1.31^{ef}	7.1±0.25^{bc}	1.8±0.18^{hi}	+	218.32±72.08^{bc}	90.98±25.88^{cdef}	2.47±0.80^{cd}
KSM22089	9.5±0.58^{ijk}	5.0±0.00^{jkl}	1.9±0.12^{gh}	+	267.71±31.24^{b}	127.84±41.37^{bc}	2.28±0.85^{cde}
KSM22090	12.9±0.48^{ef}	6.4±0.25^{cdef}	2.0±0.12^{efgh}	+	150.16±16.32^{de}	67.06±3.86^{defg}	2.25±0.33^{cde}
KSM22091	9.8±0.50^{ghijk}	5.0±0.00^{jkl}	2.0±0.10^{gh}	+	27.66±3.08^{f}	76.27±13.50^{cdefg}	0.37±0.02^{k}
KSM22092	12.8±0.96^{ef}	5.5±0.58^{ghij}	2.3±0.11^{defg}	+	268.21±47.53^{b}	115.49±39.90^{bcd}	2.51±0.86^{cd}
KSM22093	9.8±0.96^{ghijk}	5.5±0.58^{ghij}	1.8±0.07^{hi}	+	139.78±47.10^{e}	105.88±47.10^{bcde}	1.39±0.23^{fghi}
KSM22094	11.3±0.96^{fgh}	5.5±0.58^{ghij}	2.1±0.10^{efgh}	+	16.83±2.27^{f}	62.38±1.49^{efg}	0.27±0.03^{k}

(+) Growth under drought stress condition (-0.73 MPa); Means±SD within a column with different superscript letters are significantly different according to Duncan's multiple range test at $p < 0.05$; (1): see Equation 1; (2): see Equation 2

Table 2 Bacterial species of K-solubilizing bacteria identified by 16s rRNA gene sequencing and their collection sites and soil physicochemical properties

Codes	Related species	Similarity (%)	Collection Sites	pH	Soil Texture
KSM22006	*Burkholderia latens* R-5630	99.71	Chaiyaphum	5.6	Loamy sand
KSM22032	*Burkholderia orbicola* TAtl-371	99.85	Chaiyaphum	5.4	Sand
KSM22051	*Enterobacter sichuanensis* WCHECl1597	99.56	Chaiyaphum	8.3	Sandy loam
KSM22063	*Paraburkholderia tropica* Ppe8	99.5	Roi Et	5.6	Sand
KSM22070	*Paraburkholderia silvatlantica* SRMrh-20	99.92	Roi Et	4.5	Loamy sand
KSM22071	*Burkholderia nigropunctata*19750521	98.35	Roi Et	5.8	Sand
KSM22076	*Burkholderia territorii* LMG 28158	99.78	Maha Sarakham	4.8	Sand
KSM22077	*Burkholderia territorii* LMG 28158	99.78	Maha Sarakham	4.9	Sand
KSM22080	*Burkholderia orbicola* TAtl-371	99.55	Maha Sarakham	7.7	Sandy loam
KSM22085	*Burkholderia territorii* LMG 28158	99.79	Maha Sarakham	4.9	Sand
KSM22086	*Frateuria defendens* HyOG(*Hyalesthes obsoletus*)	99.28	Khon Kaen	7.9	Sandy loam
KSM22087	*Dyella jiangningensis* SBZ3-12	98.86	Khon Kaen	7.9	Sandy loam
KSM22088	*Burkholderia anthina* R-4183	100	Maha Sarakham	4.9	Sand
KSM22089	*Burkholderia orbicola* TAtl-371	99.7	Maha Sarakham	4.9	Sand
KSM22090	*Burkholderia cepacia* ATCC 25416	99.79	Maha Sarakham	4.9	Sand
KSM22092	*Dyella jiangningensis* SBZ3-12	99.65	Maha Sarakham	4.8	Sand

สรุป

จากการทดลองพบแบคทีเรียที่สามารถละลายโพแทสเซียมและสร้าง ACCd ทั้งหมด 26 ไอโซเลท ในจำนวนนี้มี KSBs 4 ไอโซเลท ที่มีค่ากิจกรรมจำเพาะเอนไซม์ ACCd และค่าดัชนีการละลายโพแทสเซียม อยู่ใน 10 อันดับแรกของทั้ง 2 กิจกรรม ได้แก่ *Burkholderia* KSM22032, *Dyella* KSM22092, *Burkholderia* KSM22090 และ *Paraburkholderia* KSM22070 มีค่ากิจกรรมจำเพาะเอนไซม์ ACCd เท่ากับ 5.36, 2.51, 2.25 และ 2.13 ไมโครโมลของ α-ketobutylate ต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง ตามลำดับ และมีค่าดัชนีการละลายโพแทสเซียม เท่ากับ 2.7, 2.3, 2.0 และ 2.4 ตามลำดับ ซึ่งเหมาะแก่การนำไปศึกษาต่อเพื่อพัฒนาเป็นปุ๋ยชีวภาพแบคทีเรียละลายโพแทสเซียมที่มีประสิทธิภาพในการส่งเสริมให้พืชทนทานต่อสภาวะเครียดในรูปแบบต่าง ๆ ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ตามกรอบการสนับสนุนงานวิจัยมูลฐาน (Fundamental Fund) จากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) ของกรมวิชาการเกษตร ตามรหัสการทดลอง FF65-02-06-65-00-02-65

เอกสารอ้างอิง

ศูนย์เตือนภัยพิบัติแห่งชาติ. 2561. รู้จักภัยจาก ภัยแล้ง (Droughts). https://ndwc.disaster.go.th/ndwc/cms/7525?id=, 22 มกราคม 2567.

สนธยา ขำติ๊บ, สุปรานี มั่นหมาย, กนกอร บุญพา, บุณฑริก ฉิมชาติ. 2019. การคัดเลือกแบคทีเรียละลายฟอสเฟตและโพแทชจากดินรอบรากและรากสับปะรด. ใน: การประชุมวิชาการ กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร ประจำปี 2561 “บูรณาการงานวิจัยสู่เกษตรไทยยุคดิจิทัล”. โรงแรมศุภาลัย ป่าสัก รีสอร์ท แอนด์ สปา. สระบุรี, หน้า 174–178.

อัจฉรี สิงห์โต. 2556. การประยุกต์ใช้ระบบสารสนเทศภูมิศาสตร์และข้อมูลสำรวจระยะไกลเพื่อปรับปรุงแผนที่พื้นที่แล้งซ้ำซากภาคตะวันออกเฉียงเหนือ 10 จังหวัด (เล่ม 1). กรมพัฒนาที่ดิน, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

Aleksandrov, V.G., Blagodyr, R.N., Iiiev, I.P. 1967. Liberation of phosphoric acid from apatite by silicate bacteria. Mikrobiol. Zh. (Kiev) 29: 111–114.

Bashan, Y., Holguin, G., de-Bashan, L.E. 2004. *Azospirillum*-plant relationships: Physiological, molecular, agricultural, and environmental advances. Can. J. Microbiol. 50: 521–577.

Bangun I.H., Hanum, H., Sabrina, T. 2023. Isolation and molecular characterization of potassium-solubilizing bacteria from limestone mountain of Bahorok, Langkat District, Indonesia. Biodiversitas 24: 4175–4184.

Boubekri, K., Soumare, A., Mardad, I., Iyamlouli, K., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., Kouisni, L. 2021. The screening of potassium- and phosphate-solubilizing actinobacteria and the assessment of their ability to promote wheat growth parameters. Microorganisms 9(3): 470.

Bradford, M.M. 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantification of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Anal. Biochem. 72: 248–254.

Cheng, Z., Park, E., Glick, B.R. 2007. 1-Aminocyclopropane1-carboxylate deaminase from *Pseudomonas putida* UW4 facilitates the growth of canola in the presence of salt. Can. J. Microbiol. 53: 912–918.

Daffonchio, D., Hirt, H., Berg, G. 2015. Plant-microbe interactions and water management in arid and saline soils. In: Lugtenberg, B. (Ed.). Principles of Plant-Microbe Interactions. Springer, Cham, Switzerland, pp. 265–276.

Duan, B., Li, L., Chen, G., Su-Zhou, C., Li, Y., Merkeryan, H., Liu, W., Liu, X. 2021. 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate deaminase-producing plant growth-promoting rhizobacteria improve drought stress tolerance in grapevine (*Vitis vinifera* L.). Front. Plant Sci.12: 706990. doi: 10.3389/fpls.2021.706990

Dworkin, M., Foster, J. 1958. Experiments with some microorganisms which utilize ethane and hydrogen. J. Bacteriol. 75: 592–603.

Etesami, H., Emami, S., Alikhani, H.A. 2017. Potassium solubilizing bacteria (KSB): Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects - a review. J. Soil Sci. Plant Nutr. 17(4): 897–911.

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S.M.A. 2009. Plant drought stress: Effects, mechanisms and management. Agron. Sustain. Dev. 29: 185–212.

Honma, M., Shimomura, T. 1978. Metabolism of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. Agric. Biol. Chem. 42: 1825–1831.

Hu, X., Chen, J., Guo, J. 2006. Two phosphate- and potassium-solubilizing bacteria isolated from Tianmu Mountain, Zhejiang, China. World J. Microbiol. Biotechnol. 22: 983–990.

Kaushal, M., Wani, S.P. 2016. Rhizobacterial plant interactions: Strategies ensuring plant growth promotion under drought and salinity stress. Agric. Ecosyst. Environ. 231: 68–78.

Lane, D.J. 1991. 16S/23S rRNA sequencing. In: Stackebrandt, E., Goodfellow, M. (Eds.). Nucleic acid techniques in bacterial systematics. John Wiley, New York, NY, USA, pp. 115–176.

Michel, B.E., Kaufmann, M.R. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant Physiol. 51: 914–916.

Olaniyan, F.T, Alori, E., Adekiya, A.O., Ayorinde, B.B., Daramola, F.Y., Osemwegie, O.O., Babalola, O.O. 2022. The use of soil microbial potassium solubilizers in potassium nutrient availability in soil and its dynamics. Ann. Microbiol. 72: 45. doi.org/10.1186/s13213-022-01701-8

Onofre-Lemus, J., Hernández-Lucas, I., Girard, L., Caballero-Mellado, J. 2009. ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylate) deaminase activity, a widespread trait in *Burkholderia* species, and its growth-promoting effect on tomato plants. Appl. Environ. Microbiol. 75(20): 6581–6590.

Penrose, D., Glick, B. 2003. Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. Physiol. Plant. 118: 10–15.

Pérez-Pérez, R., Forte, I.H., Álvarez, Y.O.S., Benítez, J.C.S., Castillo, D.S., Pérez-Martínez, S. 2021. Characterization of potassium solubilizing bacteria isolated from corn rhizoplane. Agron. Colomb. 39 (3): 415–425.

Sarapat, S., Songwattana, P., Longtonglang, A., Umnajkitikorn, K., Girdthai, T., Tittabutr, P., Boonkerd, N., Teaumroong, N. 2020. Effects of Increased 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate (ACC) Deaminase Activity in *Bradyrhizobium* sp. SUTN9-2 on Mung Bean Symbiosis under Water Deficit Conditions. Microbes. Environ. 35(3): ME20024. doi: 10.1264/jsme2.ME20024

Sarikhani, M.R., Oustan, S., Ebrahimi, M., Aliasgharzad, N. 2018. Isolation and identification of potassium-releasing bacteria in soil and assessment of their ability to release potassium for plants. Eur. J. Soil Sci. 69: 1078–1086.

Sun, F., Ou, Q., Wang, N., Guo, Z.X., Ou, Y., Li, N., Peng, C. 2020. Isolation and identification of potassium-solubilizing bacteria from *Mikania micrantha* rhizospheric soil and their effect on *M. micrantha* plants. Glob. Ecol. Conserv. 23: e01141. doi.org/10.1016/j.gecco.2020.e01141

Vurukonda, S.S.K.P., Vardharajula, S., Shrivastava, M., SkZ, A. 2016. Enhancement of drought stress tolerance in crops by plant growth promoting rhizobacteria. Microbiol. Res. 184: 13–24.

Zhang, C., Kong, F. 2014. Isolation and identification of potassium-solubilizing bacteria from tobacco rhizospheric soil and their effect on tobacco plants. Appl. Soil Ecol. 82: 18–25.

การประเมินลักษณะทางการเกษตรและผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ที่พัฒนาโดยภาครัฐในฤดูแล้ง

Evaluation of agronomic characteristics and yield of field corn inbred developed by public institutes in dry season

อาทิตยา มีสัตย์[a], สุจินต์ เจนวีรวัฒน[b], กนกวรรณ เที่ยงธรรม[a], ชัยสิทธิ์ ทองจู[c], จุฑามาศ ร่มแก้ว[a,*]
Atitaya Meesat[a], Sujin Jenweerawat[b], Kanokwan Teingtham[a], Chaisit Thongjoo[c], Jutamas Romkaew[a,*]
[a]ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140
[b]ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900
[c]ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน นครปฐม 73140
[a]Department of Agronomy, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus, Nakhorn Pathom 73140, Thailand
[b]Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand
[c]Department of Soil Science, Faculty of Agriculture at Kamphaeng Saen, Kasetsart University Kamphaeng Saen Campus, Nakhon Pathom 73140, Thailand
*Corresponding author. E-mail address: agrjur@ku.ac.th

บทคัดย่อ

การประเมินศักยภาพสายพันธุ์แท้ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ สามารถนำมาใช้เป็นข้อมูลในการผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินลักษณะทางการเกษตรและผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ที่พัฒนาโดยกรมวิชาการเกษตร (DOA inbred) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (KU inbred) และมหาวิทยาลัยพะเยา (UP inbred) ในฤดูแล้งปี 2565/2566 (ธันวาคม 2565 - พฤษภาคม 2566) ณ ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อก จำนวน 2 ซ้ำ บันทึกข้อมูลลักษณะทางการเกษตร ผลผลิตและองค์ประกอบผลผลิตตามวิธีของ CIMMYT(1985) พบว่า สายพันธุ์พ่อแม่ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ มีศักยภาพการเป็นสายพันธุ์พ่อดี 13 สายพันธุ์ ได้แก่ Nei 452009, Nei 532005, Kei 1421, Kei 1508, Kei 1608, Kei 1723, Ki 48, Ki 60, UPFC022, UPFC066, UPFC067, UPFC01 และ UPFC02 และมีศักยภาพการเป็นสายพันธุ์แม่ดี 7 สายพันธุ์ ได้แก่ Nei 452009, Kei 1421, Kei 1508, Kei 1519, Kei 1601, Kei 1608 และ Kei 1713 สำหรับสายพันธุ์ที่สามารถใช้เป็นสายพันธุ์พ่อและสายพันธุ์แม่ดี ได้แก่ Nei 452009, Kei 1421, Kei 1508 และ Kei 1608

คำสำคัญ: ผลผลิต, สายพันธุ์พ่อ, สายพันธุ์แม่

Abstract

Evaluation the potential of field corn inbred lines can be used as information for producing hybrid field corn seeds. This research aimed to evaluate agronomic characteristics and yield of field corn inbred developed by the Department of Agriculture (DOA inbred), Kasetsart University (KU inbred) and University of Phayao (UP inbred) at the National Corn and Sorghum Research Center, Faculty of Agriculture, Kasetsart University in dry season 2022/2023 (December 2022 – May 2023). The experiment was in a randomized complete block design with two replicates. Agronomic characteristics, yield and yield components were collected according to CIMMYT in 1985. The results reveal that 13 inbred lines, Nei 452009, Nei 532005, Kei 1421, Kei 1508, Kei 1608, Kei 1723, Ki 48, Ki 60, UPFC022, UPFC066, UPFC067, UPFC01 and UPFC02, had a good potential to be a male parent and 9 inbred lines; Nei 452009, Kei 1421, Kei 1508, Kei 1519, Kei 1601, Kei 1608 and Kei 1713 to be a female parent. While, Nei 452009, Kei 1421, Kei 1508 และ Kei 1608 Kei 1508 and Kei 1608 had a good potential to be both male and female parents.

Keywords: Female parent, Male parent, Yield

คำนำ

อุตสาหกรรมเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ของประเทศไทยถือว่ามีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งในการขับเคลื่อนเศรษฐกิจภาคการเกษตรและภาพรวมของประเทศให้ขับเคลื่อนไปข้างหน้า ประเทศไทยมีสภาพภูมิประเทศและสภาพอากาศที่เหมาะสมต่อการปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ ในปีเพาะปลูก พ.ศ. 2565/2566 มีพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ทั้งประเทศ 6.695 ล้านไร่ ผลผลิต 4.896 ล้านตัน ผลผลิตเฉลี่ย 731 กิโลกรัมต่อไร่ ทำให้ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีผลผลิตข้าวโพดเลี้ยงสัตว์อยู่ในลำดับที่ 21 ของโลก (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566) จากพื้นที่ปลูกในปี พ.ศ. 2565/2566 มีความต้องการใช้เมล็ดพันธุ์อยู่ที่ประมาณ 20,085 ตัน และสามารถผลิตเมล็ดพันธุ์ส่งออก 35,953.3 ตัน คิดเป็นมูลค่า 3,736.6 ล้านบาท ในปี 2565 เพิ่มขึ้นจากปี 2564 ที่มีการส่งออกเพียง 28,022.4 ตัน คิดเป็นมูลค่า 2,719.2 ล้านบาท (สำนักควบคุมพืชและวัสดุการเกษตร, 2565) จะเห็นได้ว่า ปริมาณความต้องการเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์มีเพิ่มขึ้น สำหรับประเทศไทยการผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม ร้อยละ 90 นั้นเป็นของภาคเอกชน และร้อยละ 10 เป็นหน่วยงานภาครัฐ (กัมปนาท และคณะ, 2561) แนวทางในการกระตุ้นและเพิ่มการลงทุนด้านการวิจัยและพัฒนาพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในส่วนของภาครัฐจึงมีความจำเป็น เพื่อให้สามารถพัฒนาพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมและสายพันธุ์แท้สำหรับการผลิตเมล็ดพันธุ์โดยเฉพาะธุรกิจขนาดเล็กและขนาดย่อม ซึ่งจะเป็นทางเลือกใหม่ในการเลือกใช้พันธุ์ของเกษตรกร

ดังนั้นโครงการวิจัยการพัฒนาพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมเชิงการค้าโดยการบูรณาการงานวิจัยข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ของภาครัฐ จึงได้ดำเนินการประเมินสายพันธุ์แท้ที่พัฒนาโดยกรมวิชาการเกษตร (DOA inbred) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (KU inbred) และ มหาวิทยาลัยพะเยา (UP inbred) สำหรับการพัฒนาพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม ประเมินศักยภาพการให้ผลผลิตและลักษณะทางการเกษตรของลูกผสมดังกล่าวและสายพันธุ์แท้ในหลายสภาพแวดล้อมทั้งในฤดูฝนและฤดูแล้ง คัดเลือกลูกผสมที่มีลักษณะที่ดี พร้อมทั้งประเมินศักยภาพการให้ผลผลิตและลักษณะทางการเกษตรของสายพันธุ์แท้จาก 64 สายพันธุ์ จนเหลือสายพันธุ์แท้จำนวน 28 สายพันธุ์ที่เป็นคู่ผสมของลูกผสมที่คัดเลือกที่นำมาทดสอบในฤดูแล้ง ปี 2565/2566 การปลูกทดสอบเพื่อประเมินสายพันธุ์แท้เป็นงานพื้นฐานที่ทำควบคู่กันกับงานปรับปรุงพันธุ์ ซึ่งลักษณะทางการเกษตรของสายพันธุ์พ่อแม่ ความพร้อมของละอองเกสรของต้นสายพันธุ์พ่อ ช่วงห่างวันสลัดละอองเกสรและวันออกไหม ผลผลิตเมล็ด น้ำหนักเมล็ด ความยาวฝักและลักษณะสัณฐานวิทยาของสายพันธุ์แท้ที่ใช้เป็นพันธุ์พ่อแม่ ปริมาณเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดที่ได้จะขึ้นอยู่กับศักยภาพการให้ผลผลิตเมล็ดของสายพันธุ์แม่ (Wright, 1980; Arisnabarreta and Solari, 2017) และข้อมูลที่ได้จากทดสอบจะเป็นข้อมูลในการตัดสินใจเลือกใช้สายพันธุ์แท้ที่จะใช้เป็นสายพันธุ์พ่อและสายพันธุ์แม่ในการผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดลูกผสม (พลัง, 2558) ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้ จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินลักษณะทางการเกษตรและผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ที่พัฒนาโดยภาครัฐ 3 หน่วยงานในฤดูแล้งปี 2565/2566

อุปกรณ์และวิธีการ

ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ 28 สายพันธุ์ ที่ได้จากการคัดเลือกคู่ผสมที่มีศักยภาพในการให้ผลผลิตและลักษณะทางการเกษตรของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมที่ดีของโครงการวิจัย โดยสายพันธุ์แท้ที่นำมาศึกษาในครั้งนี้ประกอบด้วยสายพันธุ์แท้ที่พัฒนาโดยศูนย์วิจัยพืชไร่นครสวรรค์ กรมวิชาการเกษตร (DOA inbred) จำนวน 4 สายพันธุ์ สายพันธุ์แท้ที่พัฒนาโดยศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (KU inbred) จำนวน 14 สายพันธุ์ และสายพันธุ์แท้โดยโครงการปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพด มหาวิทยาลัยพะเยา (UP inbred) จำนวน 10 สายพันธุ์ ณ ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในฤดูแล้ง ปี 2565/2566 (ธันวาคม 2565 - พฤษภาคม 2566) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ภายในบล็อค จำนวน 2 ซ้ำ ประกอบด้วยข้าวโพด

สายพันธุ์แท้ จำนวน 28 สายพันธุ์ ปลูกสายพันธุ์ละ 2 แถวต่อแปลงย่อย ความยาวแถว 5 เมตร ระยะปลูก 0.70×0.20 เมตร ก่อนปลูกคลุกด้วยเมทาแลกซิล อัตรา 7 กรัมต่อ 1 กิโลกรัมเมล็ด และไซแอนทรานิลิโพรล อัตรา 20 มิลลิลิตรต่อ 1 กิโลกรัมเมล็ด ใส่ปุ๋ยรองพื้นสูตร 15-15-15 อัตรา 30 กิโลกรัมต่อไร่ หลังให้น้ำครั้งแรก 1 วัน พ่นสารป้องกันกำจัดวัชพืชก่อนงอกด้วยเพนดิเมทาลิน (pendimethalin) ใส่ปุ๋ยครั้งที่ 2 ที่อายุ 21 วันหลังปลูก โดยใช้ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) อัตรา 20 กิโลกรัมต่อไร่ และใส่ปุ๋ยครั้งที่ 3 เมื่อข้าวโพดอายุ 45 วันหลังปลูก โดยใช้ปุ๋ยยูเรียอัตรา 20 กิโลกรัมต่อไร่

ลักษณะที่บันทึกข้อมูล ได้แก่ วันสลัดละอองเกสรและวันออกไหม 50 เปอร์เซ็นต์ (day to 50% anthesis and silking) ความสูงต้น (plant height, เซนติเมตร) ความสูงฝัก (ear height, เซนติเมตร) ปริมาณละอองเกสร (amount of pollen, คะแนน 1-5) การชูช่อของดอกตัวผู้ (tassel extrusion, คะแนน 1–5) ขนาดของดอกตัวผู้ (tassel size, คะแนน 1–5) ลักษณะต้นหักล้ม (stalk lodging, คะแนน 1–5) โรคทางใบ (foliar diseases, คะแนน 1–5) ลักษณะทรงต้น (plant aspect, คะแนน 1–5) ลักษณะฝัก (ear aspect, คะแนน 1–5) ผลผลิตเมล็ดที่ความชื้น 12 เปอร์เซ็นต์ (grain yield, กิโลกรัม/ไร่) เปอร์เซ็นต์ความชื้นเมล็ดขณะเก็บเกี่ยว (moisture content at harvesting, เปอร์เซ็นต์) เปอร์เซ็นต์กะเทาะ (shelling, เปอร์เซ็นต์) น้ำหนัก 100 เมล็ด (100 seed weight, กรัม) เปอร์เซ็นต์ฝักดี (good ears, เปอร์เซ็นต์) เปอร์เซ็นต์ฝักเสีย (rotten ears, เปอร์เซ็นต์) สำหรับลักษณะของข้อมูลที่บันทึกโดยการให้คะแนน 1–5 นั้น 1 หมายถึง ดีที่สุด และ 5 หมายถึง แย่ที่สุด ตามวิธีการของ CIMMYT (1985) ข้อมูลที่ได้จากการทดลองนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) เพื่อหาค่า F-test และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของลักษณะต่าง ๆ ด้วยวิธี Least significant difference (LSD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ R version 4.0.3 (R Core Team, 2023)

ผลการทดลอง

ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ทั้ง 28 สายพันธุ์ มีอายุวันสลัดละอองเกสร 50 เปอร์เซ็นต์ อยู่ระหว่าง 77–85 วันหลังปลูก สายพันธุ์ที่อายุวันสลัดละอองเกสร 50 เปอร์เซ็นต์ เร็วที่สุด 77 วันหลังปลูก ได้แก่ สายพันธุ์ Nei 502007 ส่วนสายพันธุ์ที่มีอายุวันสลัดละอองเกสร 50 เปอร์เซ็นต์ช้า ได้แก่ สายพันธุ์ Ki 60, UPFC005, UPFC022, UPFC061 และ UPFC066 มีอายุวันสลัดละอองเกสรคือ 85 วันหลังปลูก อายุวันออกไหม 50 เปอร์เซ็นต์ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้มีอายุอยู่ในช่วงระหว่าง 77–89 วันหลังปลูก สายพันธุ์ที่มีวันออกไหม 50 เปอร์เซ็นต์เร็ว คือ 77 วันหลังปลูก ได้แก่ สายพันธุ์ Nei 502007 และ Kei 1508 และสายพันธุ์ที่มีวันออกไหม 50 เปอร์เซ็นต์ ช้าที่สุด คือ 89 วันหลังปลูก ได้แก่ สายพันธุ์ UPFC022 ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ทั้ง 28 สายพันธุ์ มีความสูงต้นของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ มีความสูงเฉลี่ย 137.7 เซนติเมตร สายพันธุ์ที่มีความสูงต้นสูงที่สุด ได้แก่ สายพันธุ์ Nei 452009 คือ158 เซนติเมตร รองลงมา ได้แก่ สายพันธุ์ Kei 1713 คือ 152.3 เซนติเมตร ในขณะที่สายพันธุ์ UPFC01 มีความสูงต้นที่ต่ำที่สุด คือ 114 เซนติเมตร อีกทั้งความสูงฝักของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ทั้ง 28 สายพันธุ์ มีความสูงฝักเฉลี่ย 66.5 เซนติเมตร สายพันธุ์ที่มีความสูงฝักสูงที่สุด ได้แก่ สายพันธุ์ Nei 452009 คือ 81 เซนติเมตร รองลงมา ได้แก่ สายพันธุ์ Ki 60 คือ 79.3 เซนติเมตร และสายพันธุ์ที่มีความสูงฝักต่ำที่สุด ได้แก่ สายพันธุ์ UPFC01 คือ 48.8 เซนติเมตร (Table 1)

ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ทั้ง 28 สายพันธุ์ มีปริมาณละอองเกสรตัวผู้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ สายพันธุ์ที่มีปริมาณละอองตัวผู้ดีมาก ได้แก่ Nei 452009, Kei 1723, UPFC061 และ UPFC066 ส่วน Nei 502007, Ki 45, Kei 1713, UPFC005 และ UPFC024 มีปริมาณเกสรอยู่ในระดับปานกลาง เมื่อพิจารณาช่อดอกตัวผู้ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ทั้ง 28 สายพันธุ์ โดยพิจารณาจากการชูช่อดอกตัวผู้ และขนาดช่อดอกตัวผู้ พบว่า สายพันธุ์ที่มีการชูช่อดอกตัวผู้ดีมากและมีขนาดช่อดอกตัวผู้ใหญ่ ได้แก่ Kei 1519, Kei 1713 และ Ki 60 ส่วน UPFC02 มีการชูช่อดอกตัวผู้สั้น และมีขนาดช่อดอกตัวผู้เล็ก นอกจากนี้ยังมีการประเมินการหักล้มของต้น ซึ่งพบว่าสายพันธุ์อื่น ๆ ไม่การหักล้ม ยกเว้น Ki 45 ที่มี

การหักล้มของต้นอยู่ในระดับปานกลาง สำหรับสายพันธุ์ที่มีโรคทางใบน้อย ได้แก่ Ki57, Kei 1421, Kei 1508, Kei 1519 และ UPFC061 และสายพันธุ์ที่มีโรคทางใบค่อนข้างรุนแรง ได้แก่ UPFC02 (Table 1)

ผลผลิตเมล็ดของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ จำนวน 28 สายพันธุ์ มีความแตกต่างกันทางสถิติ ผลผลิตเมล็ดมีน้ำหนักเฉลี่ยรวม 581.1 กิโลกรัมต่อไร่ มีสายพันธุ์ 17 สายพันธุ์ ที่ให้ผลผลิตเมล็ดสูงกว่าผลผลิตเมล็ดเฉลี่ย สายพันธุ์แท้ที่ให้ผลผลิตเมล็ดสูงในการทดลองนี้ ได้แก่ สายพันธุ์แท้ที่พัฒนาโดยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ Kei 1608 (895.3 กิโลกรัมต่อไร่) ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติกับ Kei 1601, Kei 1713, Kei 1630, Kei 1508 และ Kei 1519 สายพันธุ์ที่พัฒนาโดยกรมวิชาการเกษตร Nei 532005 และ Nei 502007 และสายพันธุ์แท้ที่พัฒนาโดยมหาวิทยาลัยพะเยา ได้แก่ UPFC067, UPFC061, UPFC029 และ UPFC024 อย่างไรก็ตามสายพันธุ์แท้ที่ให้ผลผลิตสูง มีลักษณะฝักดี มีเปอร์เซ็นต์ฝักดีสูงและเปอร์เซ็นต์ฝักเสียต่ำ ยกเว้น Kei 1601 และ Kei 1614 (Table 2) สำหรับความชื้นขณะเก็บเกี่ยวและน้ำหนัก 100 เมล็ด มีความแตกต่างทางสถิติ มีความชื้นของเมล็ดขณะเก็บเกี่ยวเฉลี่ย 24.7 เปอร์เซ็นต์ สายพันธุ์ Ki 60 มีความชื้นขณะเก็บเกี่ยวที่สูงที่สุด คือ 29.8 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ความชื้นของเมล็ดของ Ki 45 มีความชื้นของเมล็ดต่ำที่สุด คือ 19.5 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์กะเทาะเฉลี่ย 74.4 เปอร์เซ็นต์ สายพันธุ์แท้ที่มีเปอร์เซ็นต์กะเทาะสูงกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ได้แก่ Ki 45, Kei 1630 และ UPFC029 และสายพันธุ์ที่มีเปอร์เซ็นต์กะเทาะต่ำกว่าเปอร์เซ็นต์เฉลี่ย ได้แก่ Nei 452009, Nei 532005, Kei 1519, Kei 1723, Ki 48 และ Ki 60 น้ำหนัก 100 เมล็ดของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ทั้ง 28 สายพันธุ์นั้น สายพันธุ์ Kei 1421 มีน้ำหนัก 100 เมล็ดมากที่สุด คือ 38.8 กรัม รองลงมาคือ Kei 1519 และ UPFC061มีน้ำหนัก 100 เมล็ด 34.5 และ 33.7 กรัม ตามลำดับ (Table 2)

จากข้อมูลลักษณะทางการเกษตรและผลผลิตของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ทั้ง 28 สายพันธุ์ ได้นำมาพิจารณาศักยภาพการเป็นสายพันธุ์พ่อและสายพันธุ์แม่ในการนำไปผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสม สำหรับสายพันธุ์แม่พิจารณาลักษณะทางการเกษตรและผลผลิต ได้แก่ ผลผลิต ลักษณะฝัก เปอร์เซ็นต์ฝักดี ความชื้นของเมล็ด เปอร์เซ็นต์กะเทาะ ความสูงฝัก ลักษณะทรงต้น การหักล้มของต้น และการเข้าทำลายของโรคทางใบ ส่วนสายพันธุ์พ่อพิจารณาจากความสูงต้น ปริมาณละอองเกสรตัวผู้ การชูช่อดอกตัวผู้ และขนาดช่อดอก เป็นต้น สำหรับวันสลัดละอองเกสรและวันออกไหม 50 เปอร์เซ็นต์ ใช้เป็นข้อมูลกำหนดวันปลูกของสายพันธุ์พ่อและสายพันธุ์แม่เพื่อให้วันสลัดละอองเกสรและวันออกไหมตรงกัน จะเห็นได้ว่า ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ที่ปลูกในฤดูแล้งที่มีศักยภาพการเป็นสายพันธุ์พ่อดี 13 สายพันธุ์ โดยสายพันธุ์ที่มีศักยภาพเป็นสายพันธุ์พ่อมีปริมาณละอองเกสรมาก ลำต้นสูง การชูช่อดอกตัวผู้ดี และมีขนาดช่อดอกตัวผู้ปานกลางถึงใหญ่ และสายพันธุ์แม่ที่มีศักยภาพดี 7 สายพันธุ์ โดยสายพันธุ์แม่ที่มีศักยภาพดีให้ผลผลิตเมล็ดสูง มีเปอร์เซ็นต์กะเทาะสูง ลักษณะทรงต้นดี ไม่มีโรคทางใบหรือมีน้อย ไม่มีต้นหักล้ม มีลักษณะฝักดี ไม่มีฝักเน่า สำหรับ Nei 452009, Kei 1421, Kei 1508 และ Kei 1608 มีศักยภาพทั้งเป็นสายพันธุ์พ่อและสายพันธุ์แม่ สำหรับสายพันธุ์ที่ไม่มีศักยภาพการเป็นสายพันธุ์พ่อนั้น มีปริมาณละอองเกสรตัวผู้น้อย ช่อดอกขนาดเล็ก ลำต้นเตี้ย ลักษณะทรงต้นไม่ดี เป็นต้น ส่วนสายพันธุ์ที่ไม่มีศักยภาพการเป็นสายพันธุ์แม่นั้น มีลักษณะทรงต้นไม่ดี ต้นล้ม มีโรคทางใบค่อนข้างรุนแรง ลักษณะฝักไม่ดี ฝักเน่า และผลผลิตต่ำ (Table 3)

Table 1 Agronomic characteristics of 28 field corn inbreds grown in dry season 2022/2023

Inbred line	DAYS TO 50%		HEIGHT		Amount	Tassel	Tassel	STALK	FOLIAR DISEASES
	ANTHESIS	SILKING	PLANT	EAR	of Pollen	Extrusion	Size	Lodging	
	---------- Days ---------		---- (cm) -----		---------- (1-5) ----------				
Nei 452006	84	85	150.0	75.3	2.5	1.5	2.5	1.0	2.0
Nei 452009	84	85	158.0	81.0	1.0	3.0	2.0	1.0	2.5
Nei 502007	77	77	141.8	75.8	3.0	3.0	2.0	1.0	2.0
Nei 532005	79	80	149.5	71.3	1.5	1.5	2.5	1.0	2.0
Ki 45	78	78	120.3	62.3	3.0	3.0	2.5	3.0	3.0
Ki 57	82	81	127.0	55.8	2.8	1.5	3.5	1.5	1.5
Kei 1421	83	83	149.8	64.8	1.2	1.0	2.0	1.0	1.5
Kei 1508	81	77	144.5	69.3	2.2	2.5	2.3	1.0	1.5
Kei 1519	82	84	143.5	64.5	2.7	2.0	1.0	1.0	1.5
Kei 1601	81	81	130.0	57.4	2.5	2.5	2.5	1.0	2.0
Kei 1608	83	83	115.3	58.0	1.5	3.5	3.8	1.0	2.5
Kei 1611	82	84	129.8	54.8	2.5	2.0	2.3	1.0	2.0
Kei 1614	83	84	135.8	75.3	2.5	1.0	2.3	1.0	2.0
Kei 1630	80	79	145.0	78.0	2.8	2.5	3.5	1.0	3.0
Kei 1713	83	82	152.3	71.3	3.0	1.0	1.0	1.0	2.5
Kei 1723	85	86	145.5	65.3	1.0	1.0	2.0	1.0	3.0
Ki 48	84	86	124.3	62.3	2.4	4.0	2.5	1.0	2.0
Ki 60	85	88	148.8	79.3	1.9	1.0	1.0	1.0	2.5
UPFC005	85	86	145.5	73.5	3.2	3.0	2.0	1.0	3.0
UPFC019	84	85	135.0	69.3	2.4	1.0	2.5	1.0	2.5
UPFC022	85	89	125.8	58.0	1.5	1.0	3.0	1.0	2.5
UPFC024	82	81	149.5	67.0	3.2	3.0	3.3	1.0	2.0
UPFC029	79	81	128.8	63.8	1.4	1.0	2.5	1.0	2.0
UPFC061	85	85	146.5	73.5	1.0	4.0	3.0	1.0	1.5
UPFC066	85	87	128.5	56.3	1.0	1.5	2.5	1.0	2.0
UPFC067	82	81	141.3	69.5	2.4	2.0	2.5	1.0	2.5
UPFC01	81	82	114.0	48.8	1.4	2.5	2.8	1.0	2.5
UPFC02	81	82	129.0	61.8	2.9	5.0	4.0	1.0	3.5
Mean DOA	81	82	149.8	75.8	2.0	2.3	2.3	1.0	2.1
Mean KU	82	82	136.5	65.6	2.3	2.0	2.3	1.2	2.2
Mean UP	83	84	134.4	64.1	2.0	2.4	2.8	1.0	2.5
Mean	82	83	137.7	66.5	2.1	2.2	2.5	1.1	2.3
F-test	**	**	ns	ns	ns	ns	**	ns	ns
LSD 0.05	2.9	4.0	-	-	-	-	1.3	-	-
C.V. (%)	1.7	1.7	9.5	16.3	44.1	55.7	26.1	50.1	34.3

Means within the same column followed by the same letters are not significantly different at $p< 0.05$ by LSD

ns Not significant ** Significant at $p < 0.01$

Table 2 Yield and yield components of 28 field corn inbreds grown in dry season 2022/2023

Inbred line	GRAIN YIELD at 12 moist	MOISTURE	SHELLING	100 SEED weight	Aspect		EAR	
					PLANT	EAR	Good	Rotten
	------ (kg/rai) -----	--------- (%) ---------		-- (g) --	------- (1-5) -------		---------- (%)----------	
Nei 452006	599	23.3	76.2	23.8	2.0	2.0	97.2	2.9
Nei 452009	511	24.8	70.9	24.6	1.8	2.5	93.6	6.4
Nei 502007	687	21.9	72.5	29.3	2.5	2.0	89.5	10.5
Nei 532005	742	25.9	69.0	32.9	1.5	1.3	91.6	8.5
Ki 45	345	19.5	82.1	21.7	3.5	4.5	88.3	11.7
Ki 57	345	27.5	74.7	31.6	1.0	4.0	87.2	12.9
Kei 1421	593	23.8	71.5	38.8	1.0	2.3	95.7	4.3
Kei 1508	698	21.6	72.2	31.1	2.5	3.0	84.6	15.5
Kei 1519	640	26.9	67.2	34.5	1.0	2.3	100.0	0.0
Kei 1601	807	25.1	77.6	28.6	2.0	2.0	88.9	11.1
Kei 1608	895	28.4	77.2	30.4	1.0	1.0	94.9	5.1
Kei 1611	589	26.4	73.5	26.3	3.0	1.5	98.8	1.2
Kei 1614	619	25.8	74.2	29.0	1.5	2.3	82.6	17.5
Kei 1630	712	23.5	81.9	25.8	4.0	1.5	97.9	2.2
Kei 1713	774	24.3	75.5	26.3	2.0	1.5	90.6	9.4
Kei 1723	460	24.2	71.1	24.0	3.0	2.8	91.9	8.1
Ki 48	447	28.2	66.4	24.2	1.8	3.5	88.6	11.4
Ki 60	400	29.8	63.8	31.2	1.5	5.0	78.2	21.8
UPFC005	430	27.3	71.8	32.3	3.0	4.0	82.0	18.0
UPFC019	446	21.9	72.7	25.0	3.5	3.0	100.0	0.0
UPFC022	268	22.9	76.4	20.5	2.0	3.5	94.6	5.5
UPFC024	674	24.6	71.2	32.2	2.0	1.5	92.3	7.8
UPFC029	678	20.3	81.7	22.8	1.5	1.0	100.0	0.0
UPFC061	686	27.8	78.2	33.7	2.0	1.0	97.7	2.4
UPFC066	489	26.8	78.7	24.3	2.0	2.5	94.2	5.8
UPFC067	698	20.7	78.5	25.1	3.0	2.0	95.1	4.9
UPFC01	445	24.7	76.3	21.4	3.0	3.0	88.4	11.7
UPFC02	596	24.8	76.7	22.5	3.0	1.8	97.5	2.5
Mean DOA	634.7	24.0	72.1	27.6	1.9	1.9	93.0	7.1
Mean KU	594.5	25.3	73.5	28.8	2.1	2.6	90.6	9.4
Mean UP	540.9	24.2	76.2	25.9	2.5	2.3	94.2	5.8
Mean	581.1	24.7	74.2	27.6	2.2	2.4	92.2	7.8
F-test	**	**	ns	*	ns	**	ns	ns
LSD 0.05	269.2	4.5	-	9.2	-	1.5	-	-
C.V. (%)	22.6	8.9	7.3	16.2	41.3	29.4	7.3	86.2

Means within the same column followed by the same letters are not significantly different at $p < 0.05$ by LSD

ns Not significant ** Significant at $p < 0.01$

Table 3 Field corn Inbred line potential as parents for commercial hybrid seed production in dry season 2022/2023

Inbred name	Potential for commercial hybrid seed production		
	Male parent	Female parent	Remark
DOA Inbreds			
Nei 452006	Fair	Fair	Medium amount of pollen, non severe foliar diseases. good plant and ear aspect, high grain yield.
Nei 452009	Good	Good	Significant amount of pollen, medium foliar diseases. good plant and ear aspect, high grain yield.
Nei 502007	Fair	Fair	Medium amount of pollen, non severe foliar diseases. good plant and ear aspect, high grain yield and rotten ear.
Nei 532005	Good	Fair	Significant amount of pollen, long tassel peduncle. Non severe foliar diseases. Good plant and ear aspect, high grain yield.
KU Inbreds			
Ki 45	Fair	Poor	Medium amount of pollen, severe foliar diseases, high stalk lodging, severe plant and ear aspect, low grain yield and high rotten ear.
Ki 57	Fair	Poor	Medium amount of pollen, long tassel peduncle, non severe foliar diseases. good plant, severe ear aspect, low grain yield and high rotten ear.
Kei 1421	Good	Good	Significant amount of pollen, extra-long tassel peduncle, non severe foliar diseases. Excellent plant aspect, Good ear aspect, high yield and good ear.
Kei 1508	Good	Good	Significant amount of pollen, non severe foliar diseases, medium plant and ear aspect, high grain yield and rotten ear.
Kei 1519	Fair	Good	Medium amount of pollen, non severe foliar diseases, excellent plant aspect. Good ear aspect, very high grain yield and good ear.
Kei 1601	Fair	Good	Medium amount of pollen, short tassel peduncle, non severe foliar diseases. good plant and ear aspect, high grain yield and rotten ear.
Kei 1608	Good	Good	Significant amount of pollen, short tassel peduncle, non severe foliar diseases. Excellent plant and ear aspect, high grain yield and good ear.
Kei 1611	Fair	Fair	Medium amount of pollen, long tassel peduncle, non severe foliar diseases. medium plant aspect, good ear aspect, high grain yield.
Kei 1614	Fair	Fair	Medium amount of pollen, extra-long tassel peduncle, non severe foliar diseases. Good plant and ear aspect, high grain yield and rotten ear.
Kei 1630	Fair	Fair	Medium amount of pollen, short tassel peduncle, medium foliar diseases. severe plant aspect, good ear aspect, high grain yield and good ear.
Kei 1713	Fair	Good	Medium amount of pollen, extra-long tassel peduncle, medium foliar diseases. good plant and ear aspect, high grain yield and good ear.
Kei 1723	Good	Fair	Significant amount of pollen, extra-long tassel peduncle, medium foliar diseases. Medium plant and ear aspect, high grain yield and good ear.
Ki 48	Good	Fair	Medium amount of pollen, short tassel peduncle, non severe foliar diseases, good plant aspect. severe ear aspect, medium grain yield and high rotten ear.

Table 3 (Continued) Field corn Inbred line potential as parents for commercial hybrid seed production in dry season 2022/2023

Inbred name	Potential for commercial hybrid seed production		
	Male parent	Female parent	Remark
Ki 60	Good	Poor	Significant amount of pollen, extra-long tassel peduncle, medium foliar diseases, good plant aspect, severe ear aspect, medium grain yield and high rotten ear.
			UP Inbreds
UPFC005	Fair	Poor	Medium amount of pollen, medium foliar diseases, medium plant aspect, severe ear aspect, medium grain yield, high rotten ear.
UPFC019	Fair	Fair	Medium amount of pollen, medium foliar diseases. medium plant and ear aspect, medium grain yield, high good ear.
UPFC022	Good	Fair	Significant amount of pollen, long tassel peduncle, medium foliar diseases, good plant aspect, medium ear aspect, low grain yield, high good ear.
UPFC024	Fair	Fair	Medium amount of pollen, short tassel peduncle, non severe foliar diseases, good plant and ear aspect, high grain yield and good ear.
UPFC029	Fair	Fair	Significant amount of pollen, long tassel peduncle, non severe foliar diseases, good plant aspect, excellent ear aspect, high grain yield and good ear.
UPFC061	Fair	Fair	Significant amount of pollen, short tassel peduncle, no severe foliar diseases, good plant aspect, excellent ear aspect, high grain yield and good ear.
UPFC066	Good	Fair	Significant amount of pollen, long tassel peduncle, no severe foliar diseases, good plant aspect, medium ear aspect, high grain yield and good ear.
UPFC067	Good	Fair	Medium amount of pollen, long tassel peduncle, medium foliar diseases, medium plant aspect, good ear aspect, high grain yield and good ear.
UPFC01	Good	Fair	Significant amount of pollen, long tassel peduncle, medium foliar diseases, medium plant and ear aspect, medium grain yield and high rotten ear.
UPFC02	Good	Fair	Medium amount of pollen, short tassel peduncle, severe foliar disease, medium plant aspect, good ear aspect, high grain yield and good ear.

สรุป

การประเมินลักษณะทางการเกษตร และผลผลิตของของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ มีลักษณะทางการเกษตรที่มีศักยภาพการเป็นสายพันธุ์พ่อและสายพันธุ์แม่ที่ดี ดังนี้ สายพันธุ์พ่อแม่ของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์สายพันธุ์แท้ มีศักยภาพการเป็นสายพันธุ์พ่อดีจำนวน 13 สายพันธุ์ ได้แก่ Nei 452009, Nei 532005, Kei 1421, Kei 1508, Kei 1608, Kei 1723, Ki 48, Ki 60, UPFC022, UPFC066, UPFC067, UPFC01 และ UPFC02 และมีศักยภาพการเป็นสายพันธุ์แม่ดีจำนวน 7 สายพันธุ์ ได้แก่ Nei 452009, Kei 1421, Kei 1508, Kei 1519, Kei 1601, Kei 1608 และ Kei 1713 สำหรับสายพันธุ์ที่สามารถใช้เป็นสายพันธุ์พ่อและสายพันธุ์แม่ดี ได้แก่ Nei 452009, Kei 1421, Kei 1508 และ Kei 1608

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) ภายใต้โครงการวิจัยเรื่อง “การพัฒนาพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ลูกผสมเชิงการค้าโดยการบูรณาการงานวิจัยข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ของภาครัฐ” ขอขอบคุณ ศูนย์วิจัยข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ คณะเกษตร และภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ พื้นที่การทดลอง และสนับสนุนอุปกรณ์การทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

กัมปนาท วิจิตรศรีกมล, เกรียงศักดิ์ สุวรรณธราดล, สมพร อิศวิลานนท์, ชูศักดิ์ จอมพุก, บุญฤทธิ์ พานิชเจริญ, พิมพ์ชนก หลิมศิริวงษ์. 2561. การเสริมสร้างความเข้มแข็งของอุตสาหกรรม เมล็ดพันธุ์ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ในประเทศไทย. รายงานฉบับสมบูรณ์ . สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) และสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.). 293 หน้า.

พลัง สุริหาร. 2558. ข้าวโพดและการปรับปรุงพันธุ์. โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยขอนแก่น, ขอนแก่น.

สำนักควบคุมพันธุ์พืชและวัสดุการเกษตร. 2566. การส่งออกเมล็ดพันธุ์ควบคุม ปี 2565. www.doa.go.th/ard/wp-content/uploads/2023/02/Export-all-year-65.pdf, 14 ตุลาคม 2566.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2566. สถิติการเกษตรของประเทศไทย ปี 2565. สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.

Ali, F., Shah, I.A., Rahman, H.U., Noor, M., Durrishahwar, Khan, M.Y., Ullah, I., Yan, J. 2012. Heterosis for yield and agronomic attributes in diverse maize germplasm. Australian Journal of Crop Science 6(3): 455–462.

Arisnabarreta, S., Fernando, S. 2017. Hybrid maize seed production yield associations with inbred line performance in multi environment trials. Crop Science 57: 3203–3216.

CIMMYT. 1985. Managing trials and reporting data for CIMMYT’s international maize testing program. Mexico.

Napasintuwong. 2014. Maize seed industry in Thailand development, current situation, and prospects. ReSAKSS Asia. Working paper.

R Core Team. 2023. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Wright, H. 1980. Commercial hybrid seed production. Hybridization of Crop Plants 161–176.

การใช้ประโยชน์ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วันในการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวในพื้นที่จังหวัดชัยนาท

Utilization of PGPR-I biofertilizer in waxy corn production in Chai Nat Province

กัลยกร โปร่งจันทึก[a,*], **สรัตนา เสนาะ**[a], **วีระพงษ์ เย็นอ่วม**[b]

Kunlayakorn Prongjunthuek[a,*], Sarattana Sanoh[a], Werapong Yenoum[b]

[a]กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900

[b]สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตร เขตที่ 5 กรมวิชาการเกษตร ชัยนาท 17150

[a]Agricultural Production Science Research and Development Division, Department of Agriculture, Bangkok 10900, Thailand

[b]Office of Agricultural Research and Development Region 5, Department of Agriculture, Chai Nat 17150, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: kunlayakorn@hotmail.com

บทคัดย่อ

ปัจจุบันกรมวิชาการเกษตรยังไม่มีงานวิจัยการใช้ประโยชน์ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วันในการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียว งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและลดต้นทุนการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 และชัยนาท 2 ในสภาพพื้นที่เกษตรกรจังหวัดชัยนาท โดยใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วันสองแบบ ร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมี 75–100 เปอร์เซ็นต์ ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ผลการทดลอง พบว่า การใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับการคลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วันทั้งสองแบบ ในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง ทั้งสองปี ให้ผลการทดลองไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติและการใส่ปุ๋ยในปีที่ 1 ส่งผลดีต่อผลผลิตของข้าวโพดทั้งสองพันธุ์ดีกว่าปีที่ 2 เมื่อคำนวณผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ (VCR) ได้ค่าต่ำกว่า 2.00 แสดงให้เห็นว่า การใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วันทั้งสองแบบเพิ่ม ในการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียว แม้จะช่วยลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมีลง 25 เปอร์เซ็นต์ แต่เกษตรกรไม่ได้รับผลตอบแทนเพิ่มขึ้น

คำสำคัญ: ข้าวโพดข้าวเหนียว, ชัยนาท 2, ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน, สวีทไวท์ 25

Abstract

Currently, the Department of Agriculture has no research on the use of PGPR-I biofertilizer in waxy corn production. The objective of this research was to enhance the production efficiency and reduce the production costs of waxy corn cultivars, Sweet White 25 and Chai Nat 2, in the fields of farmers in Chai Nat province. This was achieved by utilizing two types of PGPR-I biofertilizer along with chemical fertilizers recommended at a rate of 75–100%, based on soil analysis. The results found that the use of chemical fertilizer in combination with seed coating with both types of PGPR-I biofertilizer on moderate level of fertility farmland. The results were not significantly different in both years and the application of fertilizer in the first year had a better effect on yield of both waxy corn varieties than in the second year. Value to Cost Ration (VCR) calculation showed less than 2.00 indicated that step up PGPR-I biofertilizer in waxy corn production, even though it reduces the amount of chemical fertilizer used by 25 percent, farmers do not receive increased returns.

Keywords: Chai Nat 2, PGPR-I biofertilizer, Waxy corn, Sweet White 25

คำนำ

ข้าวโพดเป็นธัญพืชที่มีความสำคัญรองมากจากข้าวสาลี และข้าว สามารถปลูกได้ทั่วไปในเขตภูมิอากาศอบอุ่น เขตกึ่งร้อนชื้น และพื้นที่ราบเขตร้อน สำหรับประเทศไทยข้าวโพดถือเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ เนื่องจากมีพื้นที่เพาะปลูกครอบคลุมทั่วทุกภาค ทำให้สามารถสร้างรายได้เป็นจำนวนมากให้กับประเทศ ทั้งนี้พื้นที่เพาะปลูกข้าวโพดข้าวเหนียวมีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นทุกปี ทำรายได้ให้แก่เกษตรกร 10,000–20,000 บาทต่อไร่ต่อฤดู คิดเป็นมูลค่าประมาณ 1,000 ล้านบาทต่อปี (พีระวรรณ, 2551) ประเทศไทยมีการส่งออกข้าวโพดข้าวเหนียวไปยังประเทศแถบเอเชีย ได้แก่ ญี่ปุ่น บังคลาเทศ กัมพูชา และเวียดนาม โดยข้าวโพดข้าวเหนียวที่ส่งออกส่วนใหญ่อยู่เป็นเมล็ดพันธุ์และข้าวโพดฝักสดแช่แข็ง โดยมีปริมาณการส่งออกปี พ.ศ. 2561–2564 เพียง 41 15 14 และ 10 ตัน ตามลำดับ คิดเป็นมูลค่าการส่งออก 10 8 8 และ 8 ล้านบาท ตามลำดับ (สำนักควบคุมพืชและวัสดุทางการเกษตร, 2565) ปัจจุบันความนิยมบริโภคข้าวโพดฝักสดมีเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากเป็นแหล่งโภชนาการที่สำคัญโดยเฉพาะสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) อาทิ แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) จากข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงที่ผ่านการปรับปรุงพันธุ์ ซึ่งแอนโทไซยานินช่วยเสริมสร้างการทำงานของเม็ดเลือดแดง ช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในผู้ป่วยเบาหวาน ชะลอการเกิดไขมันอุดตันในหลอดเลือด ช่วยลดการเกิดมะเร็ง ลดภาวะเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจ เพิ่มความสามารถในการมองเห็นและชะลอความเสื่อมของดวงตา (ณัฐนี และคณะ, 2559) ทำให้ในปัจจุบันเกิดการพัฒนาผลิตภัณฑ์ภายใต้ห่วงโซ่คุณค่าของข้าวโพดอย่างต่อเนื่อง และจากการวิเคราะห์ประเด็นปัญหาการผลิตข้าวโพด พบว่า เทคโนโลยีการผลิตไม่เหมาะสมกับสภาพพื้นที่ประกอบปัญหาการเปลี่ยนแปลงของสภาพภูมิอากาศ การระบาดของศัตรูพืชที่สำคัญ ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตสูง ผลผลิตต่ำ คุณภาพผลผลิตไม่ได้มาตรฐาน (อุดมและคณะ, 2565) จึงจำเป็นต้องวิจัยเทคโนโลยีในการเพิ่มผลผลิตต่อไร่ให้สูงขึ้น โดยการใช้ปัจจัยการผลิตอย่างมีประสิทธิภาพ เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เพื่อให้ผลผลิตเพียงพอต่อความต้องการและคุณภาพผลผลิตสูง

ทั้งนี้กรมวิชาการเกษตรเป็นหน่วยงานที่ทำการวิจัยและพัฒนาปุ๋ยชีวภาพแบคทีเรียส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช หรือ ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ ซึ่งเป็นปุ๋ยชีวภาพที่ประกอบด้วยแบคทีเรียที่อาศัยอยู่บริเวณรากพืช ทั้งบริเวณดินรอบ ๆ ราก ผิวราก ภายในราก ต้นและใบพืช ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้มีหลายสกุลด้วยกันและให้ผลที่แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของแต่ละสกุล โดยสกุลแบคทีเรียที่นิยมใช้กับข้าวโพด ได้แก่ *Azospirillum* ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืช ดังรายงานการวิจัยของ Hungria et al. (2010) พบว่า การใส่เชื้อจุลินทรีย์ *Azospirillum brasilense* ก่อนการปลูกสามารถช่วยเพิ่มผลผลิตข้าวโพดได้ 24–30 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่ใส่เชื้อจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตามประสิทธิภาพของปุ๋ยชีวภาพนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยต่าง ๆ เช่น สกุลและสายพันธุ์แบคทีเรีย ชนิดของพืช สมบัติของดิน ประชากรจุลินทรีย์ที่ออกฤทธิ์ และเงื่อนไขทางสภาพแวดล้อม โดยทั่วไปหลังการใส่ปุ๋ยชีวภาพปริมาณแบคทีเรียจะลดอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องจากความไม่สม่ำเสมอของสภาพแวดล้อม ซึ่งไม่สามารถควบคุมได้ จึงมักพบว่าผลการทดลองในสภาพปลอดเชื้อกับในธรรมชาติมีความแตกต่างกันมาก (Bashan and Levanony, 1988) ทั้งนี้การวิจัยที่ผ่านมาของกรมวิชาการเกษตรได้มีการศึกษาการใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วันในการปลูกข้าวโพดหวานและข้าวโพดเลี้ยงสัตว์พันธุ์การค้าและพันธุ์ที่กรมวิชาการเกษตรพัฒนาขึ้นมา แต่ยังไม่มีการศึกษาการใช้ประโยชน์ในการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียว เพื่อรองรับความต้องการของเกษตรกรในเรื่องการลดต้นทุนการผลิต ซึ่งปัจจุบันหันมานิยมปลูกข้าวโพดข้าวเหนียวเพิ่มมากขึ้น จึงมีความสนใจศึกษากับข้าวโพดข้าวเหนียว

โดยการศึกษาการใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วันกับข้าวโพดข้าวเหนียวในปัจจุบันควรทำการศึกษาควบคู่กันไปกับการจัดการดิน น้ำ ปุ๋ย และปัจจัยอื่น ๆ เพื่อช่วยเพิ่มศักยภาพในการผลิตและปริมาณผลผลิต งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและลดต้นทุนการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 และชัยนาท 2 ในสภาพพื้นที่เกษตรกร ในพื้นที่จังหวัดชัยนาท โดยใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน สองแบบ ที่มีชนิดแบคทีเรียและวัสดุพาที่ใช้วิธีปลอดเชื้อ

แตกต่างกันร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมี 75–100 เปอร์เซ็นต์ ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน เพื่อนำผลที่ได้ไปใช้ในการพัฒนาคำแนะนำการใช้ประโยชน์และพัฒนาผลิตภัณฑ์ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วันต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block จำนวน 4 ซ้ำ 5 กรรมวิธี ดังนี้

1. ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน
2. ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน
3. ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน
4. ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 ร่วมกับ 75 เปอร์เซ็นต์ของปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน
5. ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 ร่วมกับ 75 เปอร์เซ็นต์ของปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน

หมายเหตุ - การใส่ปุ๋ยเคมี ทำการแบ่งใส่ 2 ครั้ง คือ ครั้งที่ 1 ใส่รองพื้นพร้อมปลูกอัตรา 50%N-100%P-100%K ของกรรมวิธีต่าง ๆ และครั้งที่ 2 ใส่ปุ๋ยยูเรียเป็นปุ๋ยแต่งหน้าเมื่อข้าวโพดอายุ 21 วันหลังปลูก อัตรา 50%N ของกรรมวิธีต่าง ๆ โดยโรยข้างแถวแล้วพูนโคนและกำจัดวัชพืช ส่วนปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วันทั้ง 2 แบบ ใช้คลุกเมล็ดพร้อมปลูก อัตราส่วนปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน 500 กรัม ต่อเมล็ดข้าวโพด 3 กิโลกรัมต่อไร่

- ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 1 หมายถึง ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ที่ใช้วัสดุพาแบบนึ่งฆ่าเชื้อประกอบด้วยจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม ได้แก่ *Azospirillum* sp. *Azotobacter* sp. และ *Beijerinckia* sp. โดย *Azospirillum* sp. ที่ใช้เป็นไอโซเลทที่แยกได้จากดินบริเวณรอบ ๆ รากหญ้าแฝก (Vetiver grass) (Meunchang et al., 2004)

- ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์แบบที่ 2 หมายถึง ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์ที่ใช้วัสดุพาแบบฉายรังสีประกอบด้วยจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม ได้แก่ *Azospirillum* sp. *Azotobacter* sp. และ *Beijerinckia* sp. โดย *Azospirillum* sp. ที่ใช้เป็นไอโซเลทที่แยกได้จากรากข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 (*Zea mays saccharata*) (Prongjunthuek et al., 2019)

1. เก็บตัวอย่างดินก่อนการทดลองที่ระดับความลึก 0–20 เซนติเมตร เพื่อวิเคราะห์สมบัติทางเคมีบางประการ ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง (Peech,1965) ปริมาณอินทรียวัตถุ (Walkley and Black,1934) ปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Bray and Kurtz, 1945) และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ (Thomas, 1982) เพื่อคำนวณปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน (กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร, 2564) โดยใช้ปุ๋ยเคมีสูตร 46-0-0 18-46-0 0-46-0 และ 0-0-60 และนับปริมาณ *Azospirillum* sp. *Azotobacter* sp. และ *Beijerinckia* sp. ในดินก่อนปลูก

2. ดำเนินการทดลองในพื้นที่เกษตรกร จังหวัดชัยนาท ซึ่งเป็นดินร่วนปนเหนียว ขนาดแปลงทดลองย่อยขนาด 6.0x5.0 เมตร ระยะปลูก 0.80×0.25 เมตร แปลงละ 7 แถว แถวละ 20 ต้น ปลูกข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 และชัยนาท 2 ใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วันและปุ๋ยเคมีตามกรรมวิธีที่กำหนด ดูแลรักษาและกำจัดวัชพืชตามคำแนะนำของกรมวิชาการเกษตร

3. บันทึกข้อมูลการเจริญเติบโตและผลผลิต โดยทำการเก็บเกี่ยวผลผลิตเมื่ออายุ 62–64 วัน

4. วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางสถิติ (analysis of variance) และค่าทางสถิติอื่น ๆ สำหรับการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's New Multiple's Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ และคำนวณผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ (Value-Cost Ratio, VCR) ตาม Equation 1 (Afzal et al., 2014)

VCR = increase income of yield increase obtained / total cost of fertilizer (1)

Where; the VCR value is lower than 2.0, fertilizer application will not be able to generate profitable returns for farmers.

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ความอุดมสมบูรณ์ของดิน

จากการเก็บตัวอย่างดินที่ระดับความลึก 0–20 เซนติเมตร และนับปริมาณ *Azospirillum* sp. *Azotobacter* sp. และ *Beijerinckia* sp. ในดินก่อนปลูก ในปีที่ 1 และ 2 ผลการประเมินความอุดมสมบูรณ์ของดิน พบว่า มีปริมาณอินทรียวัตถุ 1.74 และ 1.65 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ 14 และ 12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปริมาณโพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้ 55 และ 54 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ตามลำดับ สามารถประเมินได้ว่าดินในพื้นที่ทดลองเป็นดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง (กองสำรวจดิน, 2523; เอิบ, 2548) เมื่อนำค่าวิเคราะห์ดินมาคำนวณปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน (กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร, 2564) ได้ 20-8-20 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (Table 1) ส่วนปริมาณ *Azospirillum* sp. *Azotobacter* sp. และ *Beijerinckia* sp. ในดินก่อนปลูกในปีที่ 1 และ 2 มีปริมาณแตกต่างกัน ดังแสดงใน Table 1

Table 1 Soil analysis, chemical fertilizer recommendation rate and number of PGPR in soil of farmer plot in Chai Nat province

Year	OM[1] (%)	Available P[2] (mg/kg)	Extractable K[3] (mg/kg)	pH[4] (1:1)	Chemical fertilizer recommendation rate (kg N-P_2O_5-K_2O/rai)	Number of PGPR in soil (Log_{10} CFU/g)		
						Azospirillum sp.	*Azotobacter* sp.	*Beijerinckia* sp.
2022	1.74	14	55	6.13	20-8-20	4.69	4.69	5.59
2023	1.65	12	54	6.23	20-8-20	5.04	5.04	5.49

[1]Walkley and Black (1934)

[2]Bray and Kurtz (1945)

[3]Thomas (1982)

[4]Peech (1965)

ผลผลิต

การใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน คลุกเมล็ดข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 และชัยนาท 2 ร่วมกับการใส่ปุ๋ยเคมี 75–100 เปอร์เซ็นต์ ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ในแปลงเกษตรกรที่มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลาง ปีที่ 1 และ 2 (2022–2023) ผลการทดลองพบว่า น้ำหนักฝักสดรวมเปลือก (un-husked ear yield) และน้ำฝักสดปอกเปลือก (husked ear yield) ของข้าวโพดทั้งสองพันธุ์ในปีที่ 1 สูงกว่าปีที่ 2 ดังแสดงใน Table 2

แปลงทดลองข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 พบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองมีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกและน้ำฝักสดปอกเปลือก ของการทดลองทั้ง 2 ปี ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ อย่างไรก็ตามในปีที่ 1 พบว่า กรรมวิธีที่ 1 ใส่ปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน) และกรรมวิธีที่ 3 คลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ให้น้ำหนักฝักสดรวมเปลือกและ

น้ำหนักฝักสดปอกเปลือกสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 1,738 1,747 1,268 และ 1,238 กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (Table 2) ส่วนในปีที่ 2 พบว่า กรรมวิธีที่ 4 คลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-6-15 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (75 เปอร์เซ็นต์ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน) ให้น้ำหนักฝักสดรวมเปลือกและน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกสูงที่สุด คือ 1,333 และ 980 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 2 คลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ให้น้ำหนักฝักสดรวมเปลือกและน้ำหนักฝักสดปอกเปลือก เท่ากับ 1,307 และ 903 กิโลกรัมต่อไร่ จากผลการทดลองข้างต้น พบว่า ในปีที่ 1 กรรมวิธีที่ 1 และ 3 ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราเดียวกัน (20-8-20 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่) แต่กรรมวิธีที่ 3 คลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน แบบที่ 2 และในปีที่ 2 กรรมวิธีที่ 2 และกรรมวิธีที่ 4 ใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน แบบเดียวกัน คือ แบบที่ 1 แต่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราต่างกัน ให้น้ำหนักฝักสดรวมเปลือกและน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกไม่แตกต่างทางสถิติ (Table 2) แสดงให้เห็นว่า ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน ทั้งสองแบบมีแนวโน้มช่วยเพิ่มผลผลิตได้

แปลงทดลองข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 พบว่า ในปีที่ 1 และ 2 ทุกกรรมวิธีทดลองให้น้ำหนักฝักสดรวมเปลือกไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดย กรรมวิธีที่ 1 ใส่ปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ และกรรมวิธีที่ 2 คลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกสูงที่สุด มีค่าเท่ากับ 1,875 1,881 1,420 และ 1,373กิโลกรัมต่อไร่ ตามลำดับ (Table 2) นอกจากนี้ยังพบว่า ในปีที่ 1 และ 2 ทุกกรรมวิธีทดลองมีน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยในปีที่ 1 กรรมวิธีที่ 1 ใส่ปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ มีน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกสูงที่สุด คือ 1,285 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 4 คลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-6-15 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ มีน้ำหนักฝักสดปอกเปลือก 1,225 กิโลกรัมต่อไร่ และไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 ส่วนปีที่ 2 กรรมวิธีที่ 1 ใส่ปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ให้น้ำหนักฝักสดปอกเปลือกสูงที่สุด คือ 920 กิโลกรัมต่อไร่ รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 2 คลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ ให้น้ำหนักฝักสดปอกเปลือก 903 กิโลกรัมต่อไร่ และไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 จากผลการทดลองข้างต้น พบว่า กรรมวิธีที่ 1 และ 2 ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราเดียวกัน (20-8-20 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่) กรรมวิธีที่ 2 และ 4 คลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน แบบที่ 1 เหมือนกัน และกรรมวิธีที่ 4 และ 5 ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราเดียวกัน (15-6-15 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่) แต่ใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วันคนละแบบ ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 มีน้ำหนักฝักสดรวมเปลือกและน้ำหนักฝักสดปอกเปลือกไม่แตกต่างทางสถิติ (Table 2) แสดงให้เห็นว่า ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน ทั้งสองแบบ มีแนวโน้มช่วยเพิ่มผลผลิตได้

ผลการทดลองของข้าวโพดข้าวเหนียวทั้งสองพันธุ์ข้างต้น สอดคล้องกับรายงานของ กัลยกรและคณะ (2560) ที่รายงานว่า ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วันสามารถช่วยลดการใช้ปุ๋ยเคมีลงได้ 25 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ผลผลิตของข้าวโพดหวานไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดินเพียงอย่างเดียวหรือใช้ร่วมกับปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน นอกจากนี้ยังพบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 มีผลผลิตต่ำกว่าที่ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท กรมวิชาการเกษตรระบุไว้ ว่า สามารถให้ผลผลิตฝักทั้งเปลือก 2,132 กิโลกรัมต่อไร่ ผลผลิตฝักปอกเปลือก 1,306 กิโลกรัมต่อไร่ (ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท, 2564) ดังแสดงใน Table 2 โดยในการดำเนินการทดลองทั้ง 2 ปี พบว่า ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 มีอัตราการงอกต่ำ

ความหวาน

ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 เป็นพันธุ์การค้าที่มีการปรับปรุงพันธุ์โดยห้างหุ้นส่วนจำกัดศรแดงการเกษตร ซึ่งระบุไว้ว่า เป็นพันธุ์ที่ได้รับการพัฒนาให้มีเมล็ดหวานมากขึ้นถึง 25 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองใน Table 2 พบว่า

ในปีที่ 1 (2022)ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 มีความหวานไม่แตกต่างทางสถิติ โดยมีค่าความหวานอยู่ระหว่าง 10.83–11.95 องศาบริกซ์ (°brix) ส่วนในปีที่ 2 (2023) ทุกกรรมวิธีทดลองมีค่าความหวานแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีค่าความหวานอยู่ระหว่าง 12.58–13.40 องศาบริกซ์และเมื่อเปรียบเทียบกับมาตรฐาน มกษ.1512-2554 ที่ได้กำหนดนิยามของ ข้าวโพดหวาน ว่า หมายถึง ข้าวโพดที่มีความหวาน โดยมีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ไม่น้อยกว่า 9 องศาบริกซ์ (°brix) ในลักษณะทั้งฝักที่มีหรือไม่มีเปลือกหุ้ม เมล็ดติดกับซัง (สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2554) จากผลการทดลองข้างต้น ชี้ชัดได้ว่า ทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 มีความหวานอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน มกษ.1512-2554 (สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2554) ดังแสดงใน Table 2

สำหรับข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 พบว่า ในปีที่ 1 และ 2 ทุกกรรมวิธีทดลองมีความหวานแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (Table 2) และทุกกรรมวิธีทดลองข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 มีค่าความหวานอยู่ระหว่าง 11.50–13.03 องศาบริกซ์ ซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน มกษ.1512-2554 โดยในปีที่ 1 กรรมวิธีที่ 1 ใส่ปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม N-P_2O-K_2O ต่อไร่ ให้ค่าความหวานสูงที่สุด 12.65 องศาบริกซ์ รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 2 คลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน ร่วมกับใส่ปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม N-P_2O-K_2O ต่อไร่ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 1 ส่วนในปีที่ 2 กรรมวิธีที่ 4 คลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 15-6-15 กิโลกรัม N-P_2O-K_2O ต่อไร่ มีค่าความหวาน 13.03 องศาบริกซ์ รองลงมา คือ กรรมวิธีที่ 3 คลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน แบบที่ 2 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 20-8-20 กิโลกรัม N-P_2O-K_2O ต่อไร่ มีค่าความหวาน 12.80 องศาบริกซ์ แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับกรรมวิธีที่ 4 (Table 2) จากผลการทดลองดังกล่าว พบว่า กรรมวิธีที่ 1 และ 2 ใช้ปุ๋ยเคมีอัตราเดียวกัน คือ 20-8-20 กิโลกรัม N-P_2O-K_2O ต่อไร่ แต่กรรมวิธีที่ 2 คลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน แบบที่ 1 และกรรมวิธีที่ 2 และ 4 คลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน แบบเดียวกัน คือ แบบที่ 1 แต่ใส่ปุ๋ยเคมีอัตราต่างกัน ชี้ให้เห็นว่า เมื่อคลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน แบบที่ 1 ร่วมกับปุ๋ยเคมี 75 เปอร์เซ็นต์ของอัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน ทำให้ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 มีค่าความหวานใกล้เคียงกับการใส่ปุ๋ยเคมีอัตราแนะนำเพียงอย่างเดียว

ผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ

การคำนวณผลตอบแทนทางเศรษฐกิจ จากอัตราส่วนของรายได้จากผลผลิตที่เพิ่มขึ้นจากการใส่ปุ๋ย (Value-Cost Ratio, VCR) ต่อรายจ่ายค่าปุ๋ย โดยเทียบจากกรรมวิธีที่ 1 คือ ใส่ปุ๋ย 20-8-20 กิโลกรัม N-P_2O_5-K_2O ต่อไร่ (อัตราแนะนำตามค่าวิเคราะห์ดิน) ผลการทดลองพบว่า ทุกกรรมวิธีทดลองของข้าวโพดข้าวเหนียวทั้ง 2 พันธุ์ มีค่า VCR ต่ำกว่า 2.00 (ระดับค่าวิกฤต) ชี้ให้เห็นว่า การใส่ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วันทั้งสองแบบสำหรับการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวทั้ง 2 พันธุ์ เกษตรกรไม่ได้รับผลตอบแทนเพิ่มขึ้น ถึงแม้จะมีการลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมีลง 25 เปอร์เซ็นต์ (Table 2) ทั้งนี้ความแปรปรวนของราคาในตลาดข้าวโพดและปุ๋ยเคมีในตลาด อาจมีผลต่อข้อมูลที่สรุปได้ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาต่อในระยะยาวเพื่อให้ได้ข้อสรุปที่ชัดเจนมากขึ้น

สรุป

การใช้ปุ๋ยเคมีร่วมกับปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วันทั้งสองแบบ ในการปลูกข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์สวีทไวท์ 25 และพันธุ์ชัยนาท 2 ในดินที่มีความอุดมสมบูรณ์ปานกลางในพื้นที่จังหวัดชัยนาท ให้ผลการทดลองที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติทั้งการวิจัยในปีที่ 1 และปีที่ 2 แต่จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าการใส่ปุ๋ยในปีที่ 1 ส่งผลดีต่อผลผลิตของข้าวโพดทั้งสองพันธุ์ดีกว่าปีที่ 2 ส่วนการคำนวณผลตอบแทนทางเศรษฐกิจพบว่า มีค่า VCR ต่ำกว่าค่าวิกฤต (2.00)

แสดงให้เห็นว่า ในการผลิตข้าวโพดข้าวเหนียวทั้ง 2 พันธุ์ ที่คลุกเมล็ดด้วยปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วัน ทั้งสองแบบก่อนการปลูก ถึงแม้จะช่วยลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมีลง 25 เปอร์เซ็นต์ ไม่ทำให้เกษตรกรได้รับผลตอบแทนเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมและต่อเนื่องในระยะยาวเพื่อให้ได้ข้อมูลที่ชัดเจนมากขึ้น พร้อมทำการศึกษาการยอมรับของเกษตรกรควบคู่กันไปด้วย

Table 2 Unhusked ear yield, husked ear yield, sweetness and VCR of waxy corn variety Sweet white 25 and Chai Nat 2 of farmer plot in Chai Nat province

Treatments	Un-husked ear yield (kg/rai)		Husked ear yield (kg/rai)		Sweetness (°brix)		VCR	
	2022	2023	2022	2023	2022	2023	2022	2023
				Sweet white 25				
1	1,738	1,227	1,268	870	11.48	12.98^{ab}	-	-
2	1,625	1,307	1,195	903	11.95	12.58^{b}	-0.90	0.64
3	1,747	1,260	1,238	893	10.95	13.23^{ab}	0.07	0.26
4	1,685	1,333	1,213	980	11.08	12.65^{ab}	-0.41	0.81
5	1,600	1,200	1,180	863	10.83	13.40^{a}	-1.06	-0.21
C.V. (%)	8.62	8.59	10.07	9.17	9.30	7.91	-	-
Significant	*ns*	*ns*	*ns*	*ns*	*ns*	*	-	-
				Chai Nat 2				
1	1,875	1,420	1,285^{a}	920^{a}	12.65^{a}	12.73^{ab}	-	-
2	1,881	1,373	1,222^{ab}	903^{ab}	12.18^{ab}	11.90^{ab}	0.05	-0.38
3	1,744	1,023	1,119^{b}	687^{b}	11.50^{b}	12.80^{ab}	-1.05	-3.18
4	1,819	1,227	1,225^{ab}	747^{ab}	12.08^{ab}	13.03^{a}	-0.49	-1.70
5	1,738	1,017	1,160^{ab}	667^{ab}	11.58^{b}	11.45^{b}	-1.20	-3.54
C.V. (%)	8.19	9.18	8.27	7.82	5.87	7.58	-	-
Significant	*ns*	*ns*	*	*	*	*	-	-

ns = nonsignificant

* = Numbers within columns not having letters in common were significantly different by DMRT ($p < 0.05$)

เอกสารอ้างอิง

กัลยกร โปร่งจันทึก, ภัสชญภณ หมื่นแจ้ง, นงลักษ์ ปั้นลาย, วีระพงษ์ เย็นอ่วม. 2560. ผลการใช้ปุ๋ยชีวภาพพีจีพีอาร์-วันต่อการลดต้นทุนการผลิตข้าวโพดหวาน. หน้า 346–354. ใน: รายงานการประชุมวิชาการดินและปุ๋ยแห่งชาติ ครั้งที่ 5. ณ โรงแรมเซ็นทรา บาย เซ็นทารา แจ้งวัฒนะ กรุงเทพฯ.

กองวิจัยพัฒนาปัจจัยการผลิตทางการเกษตร. 2564. คำแนะนำการใช้ปุ๋ยตามค่าวิเคราะห์ดิน สำหรับพืชไร่เศรษฐกิจ. กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กองสำรวจดิน. 2523. คู่มือการจำแนกความเหมาะสมของที่ดินสำหรับพืชเศรษฐกิจ. เอกสารวิชาการ เล่มที่ 28. กองสำรวจดิน กรมพัฒนาที่ดิน กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

ณัฐนี จุติโรจน์ปกรณ์, พีรนุช จอมพุก, วิทิตร ใจอารีย์, ชูศักดิ์ จอมพุก. 2559. การปรับปรุงพันธุ์ข้าวโพดข้าวเหนียวลูกผสมเดี่ยวสีม่วง. หน้า 22–31. ใน: รายงานการประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 13 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน. วันที่ 8–9 ธันวาคม 2559.

พีระวรรณ พัฒนวิภาส. 2551. เอกสารวิชาการ โรคข้าวโพดฝักสด. สำนักวิจัยการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร.

สำนักมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. 2554. มาตรฐานสินค้าเกษตร มกษ.1512-2554: ข้าวโพดหวาน. 18 หน้า. ICS 67.080.20. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

สำนักควบคุมพืชและวัสดุทางการเกษตร. 2565. ข้อมูลการนำเข้า-ส่งออกข้าวโพดฝักสดของประเทศไทย ปี 2560–2564. กรมวิชาการเกษตร, กรุงเทพมหานคร.

ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท. 2564. ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2. ข้าวโพดข้าวเหนียวพันธุ์ชัยนาท 2 – ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาท. www.doa.go.th, 8 ตุลาคม 2564.

อุดม วงศ์ชัยชนะ, เพ็ญลักษณ์ ชูดี, สุภาพร สุขโต. 2565. ความสำคัญของข้าวโพดฝักสดในภาคกลางและภาคตะวันตก. ใน: เอกสารวิชาการการจัดการความรู้เรื่อง เทคโนโลยีการผลิตข้าวโพดฝักสดที่เหมาะสมในเขตพื้นที่ภาคกลางและภาคตะวันตก. สำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5 กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

เอิบ เขียวรื่นรมย์. 2548. การสำรวจดิน. ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Afzal, S., Islam, M., Ur-Rehman, O. 2014. Application of Mitscherlich–Bray equation for fertilizer use on groundnut. Commun. Soil Sci. Plant Anal. 45(12): 1636–1645. doi: 10.1080/00103624.2014.907911

Bashan, Y., Levanony, H. 1988. Adsorption of the rhizosphere bacterium *Azospirillum brasilense* Cd to soil, sand and peat particles. J. Gen. Microbiol. 134: 1811–1820.

Bray, R.H., Kurtz, L.T. 1945. Determination of total, organic, and available forms of phosphorus in soils. Soil Science 59: 39–45.

Hungria, M., Campo, R.J., Souza, E.M., Pedrosa, F.O. 2010. Inoculation with selected strains of *Azospirillum brasilense* and *A. lipoferum* improves yields of maize and wheat in Brazil. Plant Soil 331: 413–425.

Meunchang, S., Panichsakpatana, S., Ando, S., Yokoyama, T. 2004. Phylogenetic and physiological characterization of indigenous *Azospirillum* isolates in Thailand. Soil Sci. Plant Nutr. 50(3): 413–421.

Peech, M. 1965. Hydrogen Ion activity. In: Black C.A. (Ed.). Methods of Soil Analysis Part 2, pp. 914–926.

Prongjunthuek, K., Meunchang, P., Panichsakpatana, S. 2019. Effects of *Azospirillum* on germination and seedling growth of commercial sweet corn varieties Insee 2 and Hi-Brix 3. Songklanakarin Journal of Science and Technology. 41(4): 838–845.

Thomas, G.W. 1982. Exchangeable cations. In: Page A.L. (Ed.). Methods of Soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological Properties, 2nd ed. Soil Science Society of America, Madison, WI, USA, pp. 159–165.

Walkley, A., Black, I.A. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. Soil Science 37: 29–38.

ประสิทธิภาพของสารเคมีในการควบคุมโรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพด

Efficacy of chemicals for controlling of northern corn leaf blight

อุดมศักดิ์ เลิศสุชาตวนิช

Udomsak Lertsuchatavanich

ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

Department of Plant Pathology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok, 10900, Thailand

Corresponding author. E-mail address: agrusl@ku.ac.th

บทคัดย่อ

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมี metominostrobin, metominostrobin+difenoconazole, tebuconazole +trifloxystrobin และ pyraclostrobin ในการควบคุมเชื้อ *Exserohilum turcicum* สาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพด การทดลองได้ทดสอบทั้งในสภาพห้องปฏิบัติการและแปลงทดลอง ผลการทดลองในห้องปฏิบัติการพบว่า metominostrobin+difenoconazole และ tebuconazole+trifloxystrobin สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ 100% รองลงมาได้แก่ pyraclostrobin และ metominostrobin สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ 93.33% และ 89.84% ตามลำดับ ส่วนในแปลงทดลองการประเมินเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงโรคใบไหม้แผลใหญ่บนใบในแต่ละกรรมวิธีพบว่า tebuconazole+trifloxystrobin มีเฉลี่ยต่ำที่สุดมีค่าเท่ากับ 18.28% รองลงมาได้แก่ pyraclostrobin มีค่าเท่ากับ 22.75% ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีควบคุม ส่วน metominostrobin และ metominostrobin+difenoconazole มีความรุนแรงโรคเฉลี่ยเท่ากับ 40.88% และ 36.62% ตามลำดับ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกรรมวิธีควบคุม

คำสำคัญ: โรคใบไหม้แผลใหญ่ข้าวโพด, *Exserohilum turcicum*, สารเคมีป้องกันกำจัดเชื้อรา

Abstract

The efficacy of fungicides, metominostrobin, metominostrobin+difenoconazole, tebuconazole +trifloxystrobin and pyraclostrobin, against *Exserohilum turcicum*, the causal agent of the northern corn leaf blight (NCLB) of maize (*Zea mays* L.). The experiment was conducted in both *in vitro* and field conditions. *In vitro* evaluations of systemic fungicides were done to check the mycelial growth of pathogens. The results indicated that metominostrobin + difenoconazole and tebuconazole+trifloxystrobin completely inhibited the mycelial growth of the pathogen, followed by pyraclostrobin and metominostrobin, which showed 93.33% and 89.84%, respectively. Under field experiment, percentage leaf area affected by NCLB disease was evaluated. The data showed that the combination of tebuconazole and trifloxystrobin was the most effective in reducing the leaf area affected by NCLB, with a disease severity of 18.28%, followed by pyraclostrobin at 22.75%, which was significantly difference from the control. Whereas metominostrobin and the combination of metominostrobin and difenoconazole showed 40.88% and 36.62%, respectively, not significantly difference with control.

Keywords: *Exserohilum turcicum*, Fungicides, Northern corn leaf blight

คำนำ

ข้าวโพด (*Zea mays*) เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย ประกอบด้วยข้าวโพดสำหรับเลี้ยงสัตว์ ข้าวโพดสำหรับบริโภค เช่น ข้าวโพดหวาน ข้าวโพดข้าวเหนียว และข้าวโพดฝักอ่อน เป็นต้น โดยข้าวโพดที่นิยมบริโภค ได้แก่ ข้าวโพดหวาน ในปี พ.ศ. 2564 มีพื้นที่ปลูก 231,132 ไร่ ผลผลิต 494,108 ตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2565) โรคใบไหม้แผลใหญ่ (northern corn leaf blight, NCLB) สาเหตุจากเชื้อ *Exserohilum turcicum* เป็นโรคที่สำคัญโรคหนึ่งของข้าวโพด พบระบาดในแหล่งปลูกข้าวโพดหลายพื้นที่ อาการโรคส่วนใหญ่พบที่ใบจะเกิดแผลเซลล์ตาย แผลขยายขนาดยาวและลุกลามติดต่อกันเป็นแผลไหม้ขนาดใหญ่ได้ ในพันธุ์อ่อนแอที่เป็นโรคจะทำให้ใบไหม้แห้งตายได้ทั้งใบ อาการสามารถพบได้ทุกระยะการเจริญเติบโต ตั้งแต่ระยะกล้าจนถึงเก็บเกี่ยว มีรายงานในปีการผลิต 2549 ว่ามีการระบาดรุนแรงของโรคใบไหม้แผลใหญ่ทำความเสียหายต่อผลผลิตและคุณภาพข้าวโพดหวานพื้นที่เพาะปลูกอย่างรุนแรง (สมาคมปรับปรุงพันธุ์พืชและขยายพันธุ์พืชแห่งประเทศไทย และคณะ, 2549) โรคใบไหม้แผลใหญ่มักเริ่มพบเมื่อข้าวโพดอายุประมาณ 45 วัน หรือก่อนข้าวโพดออกดอก อาการเริ่มแรกพบแผลขนาดเล็กสีคล้ายฟางข้าวบนใบข้าวโพดต่อมาแผลจะขยายมีขนาดใหญ่ยาวตามใบข้าวโพดเมื่อสภาพแวดล้อมเหมาะสมจะพบอาการแผลบนใบข้าวโพดหลายแผลต่อใบ และแผลขยายรวมกันมากๆ ทำให้ใบข้าวโพดแห้งตาย สามารถพบอาการของแผลได้บนกาบหุ้มฝักข้าวโพด ถ้าเป็นโครุนแรงจะทำให้ฝักไม่สมบูรณ์ (ชุติมันต์ และเตือนใจ, 2545; พีระวรรณและคณะ, 2549) การควบคุมโรคใบไหม้แผลใหญ่ด้วยสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชเป็นอีกวิธีการที่มีความนิยมและประสิทธิภาพในข้าวโพดที่ปลูกเชิงการค้า ซึ่งในการเลือกใช้สารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชที่มีประสิทธิภาพจะช่วยลดต้นทุน เพื่อลดปัญหาการใช้สารเคมีเกินความจำเป็นและลดปัญหาการดื้อยาของเชื้อสาเหตุโรค (พีระวรรณ และคณะ, 2554) งานทดลองนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษาประสิทธิภาพของสารเคมีป้องกันกำจัดโรคพืชบางชนิดในการควบคุมโรคใบไหม้แผลใหญ่ในระดับห้องปฏิบัติการและแปลงปลูกทดลองเพื่อเป็นข้อมูลในการควบคุมโรคใบไหม้แผลใหญ่ข้าวโพดต่อไปในอนาคต

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บตัวอย่างและการแยกเชื้อรา

ทำการเก็บตัวอย่างข้าวโพดที่มีอาการโรคใบไหม้แผลใหญ่จากแปลงปลูกข้าวโพดของศูนย์วิจัยข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ ตำบลกลางดง อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา นำมาแยกเชื้อโดยใช้วิธี tissue transplanting method โดยตัดส่วนอาการแผลขนาดประมาณ 0.5 ตารางเซนติเมตร แช่ในสารละลาย 10% clorox® นาน 3 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อนาน 5 นาที จำนวน 2 ครั้ง ซับเนื้อเยื่อให้แห้งด้วยกระดาษทิชชูนึ่งฆ่าเชื้อ นำมาวางบนอาหาร potato dextrose agar (PDA) ตั้งบ่มไว้ในสภาพอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3–5 วัน แยกเชื้อราที่เจริญออกมาจากชิ้นส่วนพืชให้บริสุทธิ์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ตรวจสอบลักษณะเส้นใย โคโลนี และโคนิเดียเพื่อตรวจสอบชนิดของเชื้อในเบื้องต้นภายใต้กล้องจุลทรรศน์ชนิด compound microscope

การทดสอบการก่อโรค

นำเชื้อราบริสุทธิ์ที่แยกได้ข้างต้นมาทดสอบการก่อโรคตามหลักของ Koch's Postulates กับข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 ทำการปลูกเชื้อแบบ attached leaf assay บนใบ (Liu et al., 2007) โดยทำแผลที่ใบด้วยเข็มฉีดยา 3 จุด นำชิ้นวุ้นของเชื้อรา *E. turcicum* ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ที่เลี้ยงบนอาหาร PDA อายุ 7 วันวางบนใบที่ทำ

แผลไว้ ทำการคลุมถุงเพื่อรักษาความชื้นไว้ 1 คืน ทำการบันทึกลักษณะอาการโรคที่เกิดขึ้นเปรียบเทียบกับอาการโรคใบไหม้แผลใหญ่

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ในห้องปฏิบัติการ

ทำการทดสอบการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *E. turcicum* ด้วยวิธี poisoned food technique (Grover and Moore, 1962) โดยเตรียมอาหาร PDA ในหลอดทดลองปริมาณ 10 มิลลิลิตร ที่ผสมสารต่างๆ ที่อัตราต่อน้ำ 20 ลิตร ดังนี้ 1. metominostrobin 20%SC 15 มิลลิลิตร, 2. metominostrobin 20%SC+difenoconazole 25%EC 10+10 มิลลิลิตร, 3. tebuconazole+trifloxystrobin 50+25%WG 15 กรัม, 4. pyraclostrobin 25% EC 15 มิลลิลิตร และ 5. ชุดควบคุม (น้ำกลั่น) ทำกรรมวิธีละ 4 ซ้ำ แล้วนำ mycelial disc ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ของเชื้อ *E. turcicum* ที่อายุ 7 วัน วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ข้างต้นบ่มที่อุณหภูมิห้อง บันทึกการเจริญเติบโตของเชื้อราที่ 7 วันหลังการทดลองด้วยการวัดรัศมีของโคโลนี คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง (percent inhibition of radial growth; PIRG) ตาม Equation 1

$$\frac{[\text{รัศมีโคโลนีเชื้อของชุดควบคุม-รัศมีโคโลนีเชื้อของแต่ละกรรมวิธี}]\times 100}{\text{รัศมีโคโลนีเชื้อของชุดควบคุม}} \quad (1)$$

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการควบคุมโรคใบไหม้แผลใหญ่ในแปลงทดลอง

การทดลองทำระหว่างเดือนมิถุนายน-กันยายน พ.ศ.2565 ณ ศูนย์วิจัยข้าวโพดข้าวฟ่างแห่งชาติ ตำบลกลางดง อำเภอปากช่อง จังหวัดนครราชสีมา โดยปลูกข้าวโพดหวานพันธุ์ไฮบริกซ์ 3 ที่ระยะปลูก 25×75 ซม. ความยาวแถว 6 เมตร จำนวน 8 แถวต่อกรรมวิธี กรรมวิธีละ 4 ซ้ำ วางแผนการทดลองแบบ Randomized Completely Block Design (RCBD) ตอนปลูกรองพื้นด้วยปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 30 กก./ไร่ เมื่อข้าวโพดอายุได้ประมาณ 3 สัปดาห์ ถอนแยกให้เหลือหลุมละ 1 ต้น พร้อมทั้งให้ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 ร่วมกับ 46-0-0 อัตรา 30 กก./ไร่ ทำการพ่นสารเคมีตามกรรมวิธีต่างๆ ที่อัตราต่อน้ำ 20 ลิตร ดังนี้ 1. metominostrobin 20%SC 15 มิลลิลิตร, 2. metominostrobin 20%SC+difenoconazole 25%EC 10+10 มิลลิลิตร, 3. tebuconazole+trifloxystrobin 50+25% WG 15 กรัม, 4. pyraclostrobin 25%EC 15 มิลลิลิตร และ 5. ชุดควบคุม(น้ำเปล่า) เมื่อข้าวโพดอายุ 3 และ 6 สัปดาห์ ก่อนการเก็บเกี่ยวผลผลิตทำการสุ่มประเมินความรุนแรงของโรคใบไหม้แผลใหญ่จากข้าวโพดจำนวน 10 ต้น/แปลงย่อย โดยประเมินความรุนแรงโรคในภาพรวมทั้งต้นและความรุนแรงโรคบนใบตามหลักเกณฑ์ของ Fullerton (1982) นำข้อมูลที่ได้จากการทดลองมาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) จากนั้นทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

ผลและวิจารณ์การทดลอง

การแยกเชื้อราสาเหตุโรคและการทดสอบการก่อโรค

นำตัวอย่างข้าวโพดที่เป็นโรคใบไหม้แผลใหญ่ (Fig. 1A) มาแยกเชื้อให้ได้เชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธี tissues transplanting method นำเชื้อบริสุทธิ์มาตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ compound microscope พบเชื้อบริสุทธิ์ที่ได้มีเส้นใยสีขาวเทาต่อมาเป็นสีเขียวแกมเทาลักษณะโคโลนีค่อนข้างกลม (Fig. 1C) สปอร์ (conidia) มีสีเขียวอมเทายาว เรียวหัวท้ายแหลม ส่วนกลางกว้างโค้งเล็กน้อยเรียวเข้าหาหัวท้าย conidia เกิดเดี่ยว ๆ บนปลายของก้านชูสปอร์ (conidiophore) มีผนังกั้น 3—8 เซลล์ ที่ปลายก้านชูสปอร์มี hilum ที่เห็นได้ชัดเจน (Fig. 1B) ซึ่งมีลักษณะตรงกับเชื้อ

E. turcicum (เกษรินทร์, 2553) เมื่อนำไปทดสอบการก่อโรคกับต้นกล้าข้าวโพดหวานตามหลักของ Koch's postulate ด้วยเทคนิค attached leaf assay พบว่าใบข้าวโพดที่ปลูกเชื้อเริ่มแสดงอาการโรคที่ 3 วันหลังการปลูกเชื้อ ลักษณะแผลอาการเริ่มแรกพบแผลไหม้ขนาดเล็กต่อมาแผลมีสีเขียวเทาหรือสีน้ำตาลขยายตามทางยาวของใบข้าวโพดยาวหัวท้ายเรียวคล้ายรูปกระสวยเหมือนกับอาการโรคใบไหม้แผลใหญ่ (Fig. 2)

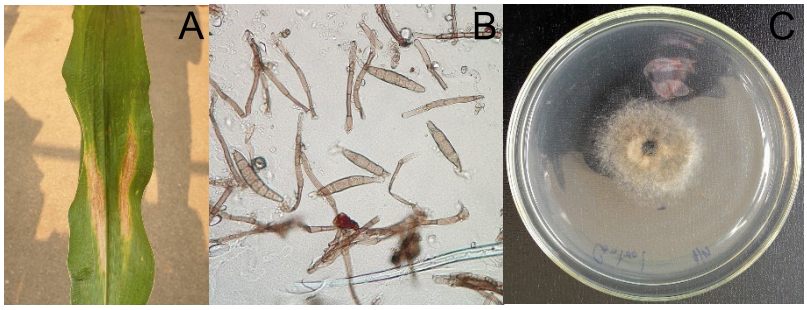


Fig. 1 Symptoms of northern corn leaf blight disease (A); conidia of *Exserohilum turcicum* (B); colony of *Exserohilum turcicum* on potato dextrose agar (PDA) at 5 days (C)



Fig. 2 Pathogenicity test of *Exserohilum turcicum* on corn at 7 days after inoculation

การทดสอบประสิทธิภาพของสารเคมีในการยับยั้งการเจริญของเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้แผลใหญ่ในห้องปฏิบัติการ

สารเคมีที่นำมาทดสอบในการทดลองนี้จัดอยู่ในกลุ่ม Frac 3 (demethylation inhibitor, DMI) ได้แก่ difenoconazole, tebuconazole ซึ่ง DMI เป็นกลุ่มสารเคมีที่แนะนำสำหรับควบคุมโรคใบไหม้แผลใหญ่ในแปลงปลูก (Kumar et al., 2009) และสารในกลุ่ม Frac 11 (quinine outside inhibitor, QoI) ได้แก่ metominostrobin trifloxystrobin และ pyraclostrobin ซึ่ง QoI เป็นกลุ่มสารเคมีที่นิยมใช้ร่วมกับสารในกลุ่ม DMI เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบไหม้แผลใหญ่และส่งเสริมประโยชน์ทางสรีรวิทยา (Blandino et al., 2012) จากการทดลองสารเคมีทุกกรรมวิธีสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. turcicum* ได้แตกต่างจากกรรมวิธีควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ โดยสาร metominostrobin อัตรา 15 cc/20L สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. turcicum* ได้ 89.84% ส่วนสาร metominostrobin+difenoconazole อัตรา 10+10 cc/20L และ tebuconazole+trifloxystrobin อัตรา 15 g/20L สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ 100% ในขณะที่สาร pyraclostrobin อัตรา 15 cc/20L สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อได้ 93.33% (Table1) สอดคล้องกับรายงานก่อนหน้า (เกษรินทร์, 2553; Carpane et al., 2020; Blandino et al., 2012) ที่พบว่าสารในกลุ่ม DMI หรือกลุ่ม QoI สามารถควบคุมเชื้อ *E. turcicum* ได้ดี และเมื่อนำสารทั้ง 2 กลุ่มใช้ร่วมกันจะควบคุมได้ดีขึ้น

Table 1 *In vitro* efficacy of fungicides against the mycelial growth of *Exserohilum turcicum*

Treatment	Mean of mycelial redial (cm)	%Inhibition
1.Metominostrobin 15 cc/20L	0.27	89.84[c]
2.Metominostrobin+Difenoconazole 10+10cc/20L	0.00	100.00[a]
3.Tebuconazole+Trifloxystrobin 15 g/20L	0.00	100.00[a]
4.Pyraclostrobin 15 cc/20L	0.18	93.33[b]
5.Control	2.63	0.00[d]
CV (%)		1.79

Means with the same letter are not significantly different ($p < 0.05$)

การทดสอบประสิทธิภาพของสารป้องกันกำจัดเชื้อราในการควบคุมโรคใบไหม้แผลใหญ่ในแปลงทดลอง

การทดลองในแปลงปลูกทดสอบ พบว่าทุกกรรมวิธีการทดลองมีระดับความรุนแรงของโรคใบไหม้แผลใหญ่โดยรวมทั้งต้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญมีค่าอยู่ระหว่าง 3.38–3.80 ซึ่งบ่งบอกว่าในแปลงปลูกทดลองมีการระบาดของโรคใบไหม้แผลใหญ่ในระดับปานกลางค่อนข้างสูง (Table 2, Fig. 3) เมื่อประเมินเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงโรคใบไหม้แผลใหญ่บนใบในแต่ละกรรมวิธีพบว่า tebuconazole+trifloxystrobin อัตรา 15 g/20L มีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงโรคเฉลี่ยต่ำที่สุดมีค่าเท่ากับ 18.28% รองลงมาได้แก่ pyraclostrobin อัตรา 15 cc/20L มีค่าเท่ากับ 22.75% แตกต่างจากกรรมวิธีควบคุมที่มีค่าเท่ากับ 40.75% อย่างมีนัยสำคัญ ส่วน metominostrobin+difenoconazole อัตรา 10+10 cc /20L และ metominostrobin อัตรา15 cc/20L มีเปอร์เซ็นต์ความรุนแรงโรคเฉลี่ยเท่ากับ 40.88% และ 36.62% ตามลำดับซึ่งไม่แตกต่างจากชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (Table 2, Fig. 3) สอดคล้องกับรายงานของ Carpane และคณะ , 2020 ที่ใช้สารเคมีในกลุ่ม DMI+QoI (tebuconazole+trifloxystrobin) ในการควบคุมโรคใบไหม้แผลใหญ่ข้าวโพดได้ดีในสภาพแปลงปลูกของประเทศอาร์เจนตินาและปารากวัย

Table 2 Efficacy of fungicides for controlling of northern corn leaf blight disease (NCLB) in field experiment

Treatment	NCLB rating scale	% Leaf area affected by disease	% Disease control efficacy
1.Metominostrobin 15 cc/20L	3.67	40.88 a	-0.13
2.Metominostrobin+Difenoconazole 10+10cc/20L	3.80	36.62 ab	4.13
3.Tebuconazole+Trifloxystrobin 15 g/20L	3.52	18.28 c	22.47
4.Pyraclostrobin 15 cc/20L	3.38	22.75 bc	18.00
5.Control	3.77	40.75 a	-
mean	3.63	31.87	
CV (%)	7.82	36.55	
F-test	ns	*	

Means with the same letter are not significantly different ($p < 0.05$)



Fig. 3 Disease severity of northern corn leaf blight disease in field experiment: metominostrobin 15 cc/20L (A); metominostrobin+difenoconazole 10+10cc/20L (B); tebuconazole+trifloxystrobin 15 g/20L (C); pyraclostrobin 15 cc/20L (D); control (water) (E)

สรุปผลและเสนอแนะ

สาร metominostrobin (QoI) อัตรา 15 cc/20L มีประสิทธิภาพในการควบคุมเชื้อรา *Exselohilum tursicum* ในระดับห้องปฏิบัติการ และจะมีประสิทธิภาพดีขึ้นเมื่อใช้ร่วมกับ difenoconazole (DMI) อัตรา 10 cc/20L สอดคล้องกับผลการทดลองในแปลงปลูกทดสอบ พบว่าสาร metominostrobin+difenoconazole อัตรา 10+10 cc/20L มีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้สาร metominostrobin อัตรา 15 cc/20L เพียงอย่างเดียว โดยในการทดลองนี้พบว่าสาร tebuconazole+trifloxystrobin อัตรา 15 g/20L มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพดดีที่สุดทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและแปลงปลูกทดสอบ จากการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าการควบคุมโรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพดควรใช้สารเคมีในกลุ่ม DMI ร่วมกับกลุ่ม QoI เพื่อให้มีประสิทธิภาพที่ดีขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ บริษัท ซาโกร (ประเทศไทย) จำกัด ที่สนับสนุนงบประมาณในการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

เกษรินทร์ เกิดสริ. 2553. การควบคุมโรคใบไหม้แผลใหญ่ของข้าวโพดที่เกิดจากเชื้อ *Exserohilum turcicum* ด้วยสารเคมีและเชื้อปฏิปักษ์. วิทยานิพน์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ชุติมันต์ พานิชศักดิ์พัฒนา, เตือนใจ บุญ-หลง. 2545. โรคข้าวโพดและการป้องกันกำจัด. กองโรคพืชและจุลชีววิทยา กรมวิชาการเกษตร.69 หน้า.

พีระวรรณ พัฒนวิภาส, ทัศนาพร ทัศคร, บูรณี พั่ววงษ์แพทย์, วัชรี วิทยวรรณกุล, ศิวิไล ลาภบรรจบ. 2554. การควบคุมโรคใบไหม้แผลใหญ่โดยชีววิธี. การประชุมวิชาการข้าวโพดและข้าวฟ่างแห่งชาติ ครั้งที่ 35. วันที่ 24–27 พฤษภาคม 2554. ณ โรงแรมมารวย การ์เด้น กรุงเทพฯ .

พีระวรรณ พัฒนวิภาส, อมรรัตน์ ภู่ไพบูลย์, ปิยรัตน์ ธรรมกิจวัฒน์, วันเพ็ญ ศรีทองชัย, ณัฏฐิมา โฆษิตเจริญกุล. 2549. การจัดทำบัญชีรายชื่อโรคและเชื้อสาเหตุโรคของข้าวโพดเพื่อการนำเข้า. ใน: เอกสารประกอบการประชุมเชิงปฏิบัติการโครงการวิจัยแม่บทข้าวโพดข้าวฟ่างมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 2. วันที่ 9–11 มีนาคม 2549. ณ สีดารีสอร์ท เมือง นครนายก.

ประสาทพร สมติะมาน, สุทธิพงษ์ วทยานียเวช, นิภาพร บุตรสิงห์, ปัทมา ศิริธัญญา. 2556. ความหลากหลายทางชีวภาพของเชื้อ *Exserohilum turcicum* และการประเมินระดับความต้านทานของข้าวโพดต่อโรคใบไหม้แผลใหญ่, การประชุมคลัสเตอร์เมล็ดพันธุ์ วันที่ 4–5 กุมภาพันธ์ 2556. ห้องประชุมอาคารบ้านวิทยาศาสตร์สิรินธร อุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย, จ.ปทุมธานี.

นิรนาม. 2549. การสัมมนาเชิงปฏิบัติการ ระบบการส่งเสริมและวิเคราะห์ปัญหาในการผลิตข้าวโพดหวานเพื่ออุตสาหกรรม.สมาคมปรับปรุงพันธุ์พืชและขยายพันธุ์พืชแห่งประเทศไทย ศูนย์วิจัยพืชไร่ชัยนาทและสำนักวิจัยและพัฒนาการเกษตรเขตที่ 5. วันที่ 1–3 มีนาคม 2549. ณ โรงแรมมนตรี, ชัยนาท.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2564. ข้าวโพดหวาน: เนื้อที่เพาะปลูก เนื้อที่เก็บเกี่ยว ผลผลิต และผลผลิตต่อไร่ รวมทั้งประเทศ ปี 2564. https://www.oae.go.th/assets/portals/1/fileups/prcaidata/files/ sweet%20corn64.pdf 14 ธันวาคม 2565.

Blandino, M., Galeazzi, M., Savoia, W., Reyneri, A. 2012. Timing of azoxystrobin+propiconazole application on maize to control northern corn leaf blight and maximize grain yield. Field Crops Res. 139: 20–29.

Carpane, P.D., Peper A.M., Kohn, F. 2020. Management of northern corn leaf blight using nativo (Trifloxistrobin+Tebuconazole) fungicide applications. Crop Protection 127: 104982.

Fullerton, R.A. 1982. Assessment of leaf damage caused by northern leaf blight in maize. New Zealand Journal of Experimental Agriculture 10(3): 313–316.

Kumar, S., Archana Ranj, A., Jha, M.M. 2009. Efficacy of fungicide against *Helminthosporium maydis* of maize. Ann. Plant Prot. Sci. 17(1): 255–256.

Grover R.K., Moore, J.D. 1962. Toxicometric studies of fungicides against brown rot organisms *Sclerotinia fructicola* and *S. laxa*. Phytopathology 52: 876–880.

Liu, G., Kennedy, R., Greenshields, D.L., Peng, G., Forseille, L., Selvaraj G., Wei, Y. 2007. Detached and attached arabidopsis leaf assays reveal distinctive defense responses against hemibiotrophic *Colletotrichum* spp. Mol. Plant Microbe. Interact. 20: 1308–1319.

ศึกษาความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอก (ไกลโฟเซต กลูโฟซิเนต และไดควอต) ในกล้วยหอมทอง

Study on phytotoxicity of post-emergence herbicide (glyphosate, glufosinate and diquat) in *Musa* (AAA) 'Kluai Hom Thong'

เอกรัตน์ ธนูทอง[a,*], **จรัญญา ปิ่นสุภา**[b], **ภัทร์พิชชา รุจิระพงศ์ชัย**[a], **ปรัชญา เอกฐิน**[a], **เทอดพงษ์ มหาวงศ์**[a], **อุษณีย์ จินดากุล**[a]

Akekarat Tanutong[a,*], Jarunya Pinsupa[b], Phatphitcha Rujirapongchai[a], Pruchya Ekkathin[a], Terdphong Mahawong[a], Aussanee Chindakul[a]

[a]กลุ่มวิจัยวัชพืช สำนักวิจัยพัฒนาการอารักขาพืช กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900

[b]กลุ่มวิชาการ สถาบันวิจัยพืชไร่และพืชทดแทนพลังงาน กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพฯ 10900

[a]Weed Science Research Group, Plant Protection Research and Development Office, Department of Agriculture, Bangkok 10900, Thailand

[b]Academic Group, Field and Renewable Energy Crops Research Institute, Department of Agriculture, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: akekarat.t@gmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษาความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอกในกล้วยหอม ทำการทดลอง ณ อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบุรี วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี ได้แก่ กรรมวิธีพ่นสาร glyphosate, glufosinate และ diquat อัตราแนะนำ 240, 97.5 และ 298.4 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ตามลำดับ เปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสาร ผลการทดลองพบว่า สาร glufosinate และ diquat มีความเป็นพิษปานกลาง ที่ระยะ 15 วันหลังพ่นสาร โดยใบอ่อนมีลักษณะแกร็น ลดรูป และไม่พัฒนาต่อ จากนั้นที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร ต้นกล้วยหอมสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ ในขณะที่สาร glyphosate มีความเป็นพิษรุนแรง ที่ระยะ 15 วันหลังพ่นสาร จากนั้นต้นกล้วยหอมตาย ที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร

คำสำคัญ: กล้วย, สารกำจัดวัชพืชประเภทไม่เลือกทำลาย, สารกำจัดวัชพืชประเภทเคลื่อนย้าย, สารกำจัดวัชพืชประเภทสัมผัส

Abstract

The study on phytotoxicity of post-emergence herbicide in *Musa* (AAA) 'Kluai Hom Thong'. The experiment was conducted at Mueang Phetchaburi district, Phetchaburi province. The experimental was arranged in a RCB with five replications and four treatments including glyphosate, glufosinate and diquat at 240, 97.5 and 298.4 g ai/rai respectively. compare with nontreated. The results showed that glufosinate and diquat is moderately toxic at 15 days after application. The immature leaf stunted, injury and not developed. *Musa* (AAA) 'Kluai Hom Thong' can then grow normally 30 days after application. While glyphosate is severely toxic at 15 days after application. *Musa* (AAA) 'Kluai Hom Thong' completely killed at 30 days after application.

Keywords: Banana, Contact herbicides, Non-selective herbicides, Translocated herbicides

คำนำ

การจัดการวัชพืชในแปลงกล้วยหอมปลูกใหม่มีความสำคัญ โดยเฉพาะในช่วงที่กล้วยหอมมีอายุ 1–3 เดือนหลังปลูก เนื่องจากเป็นระยะที่กล้วยหอมต้องการความชื้นสูง ซึ่งสภาพดังกล่าวส่งเสริมให้วัชพืชเจริญเติบโตได้ดีและรวดเร็ว โดยวัชพืชจะแก่งแย่งธาตุอาหาร น้ำ และแสงแดด การปล่อยให้วัชพืชขึ้นแข่งขันกับกล้วยหอมตั้งแต่เริ่มปลูก ส่งผลให้การเจริญเติบโตของกล้วยหอมชะงัก ต้นแคระแกร็น อีกทั้งวัชพืชยังเป็นที่อยู่อาศัยของศัตรูพืชอื่น ๆ (พรชัย, 2540; กลุ่มวิจัยวัชพืช, 2560) การควบคุมวัชพืชมีหลายวิธี เช่น ใช้เครื่องจักรกล แรงงานคน หรือใช้สารกำจัดวัชพืช ซึ่งปัจจุบันเกษตรกรประสบปัญหาขาดแคลนแรงงาน และค่าจ้างแรงงานสูง เกษตรกรจึงนิยมใช้สารกำจัดวัชพืชในการป้องกันกำจัดเพิ่มมากขึ้น โดยสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอกที่เกษตรกรนิยมใช้ คือ สาร paraquat เช่นเดียวกับในประเทศออสเตรเลียก็มีการใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat, diquat และ glufosinate อัตรา 250, 115 และ 200 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ตามลำดับ เพื่อกำจัดวัชพืชในกล้วยเช่นเดียวกัน (Tony, 2016) แต่ในปัจจุบันประเทศไทยได้ยกเลิกการใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat ตั้งแต่วันที่ 1 มิถุนายน 2563 เนื่องจากมีความไม่ปลอดภัยต่อเกษตรกรผู้ใช้ ผู้บริโภค และสิ่งแวดล้อม (ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม, 2563) จากปัญหาการยกเลิก การใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat ข้างต้น ส่งผลให้เกษตรกรไทยไม่สามารถใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat ได้อีกต่อไป ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอก ได้แก่ glyphosate, glufosinate และ diquat ในกล้วยหอมทอง สำหรับเป็นทางเลือกแทนการใช้สารกำจัดวัชพืช paraquat ให้แก่เกษตรกร

อุปกรณ์และวิธีการ

การทดสอบความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอกต่อการเจริญเติบโตของกล้วยหอม

ผสมวัสดุปลูกซึ่งประกอบด้วย ดินและปุ๋ยคอก (มูลวัว) ในอัตราส่วน 3 ต่อ 1 ลงในกระบะซีเมนต์ขนาด 50×50 เซนติเมตร และปลูกกล้วยหอมจำนวน 1 หน่อต่อกระบะ โดยใช้หน่อกล้วยหอมที่มีความสมบูรณ์และใกล้เคียงกัน หลังจากปลูกกล้วยหอมประมาณ 2 เดือน (มีจำนวนใบ 4–5 ใบ) ทำการพ่นสารกำจัดวัชพืชตามกรรมวิธีการทดลอง โดยพ่นลงบนใบของกล้วยหอม ด้วยเครื่องพ่นสารกำจัดวัชพืชแบบสะพายหลัง (knapsack sprayer) หัวพ่นแบบรูปพัด (flat fan) ใช้อัตราน้ำ 80 ลิตรต่อไร่ และเมื่อกล้วยหอมมีอายุ 3 เดือนหลังปลูก ใส่ปุ๋ยเคมีสูตร 15-15-15 อัตรา 150 กรัมต่อต้น ในทุกกรรมวิธีการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 5 ซ้ำ 4 กรรมวิธี ประกอบด้วย

กรรมวิธีที่ 1 พ่นสาร glyphosate-isopropylammonium 48% SL อัตราแนะนำ 240 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่
กรรมวิธีที่ 2 พ่นสาร glufosinate-ammonium 15% SL อัตราแนะนำ 97.5 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่
กรรมวิธีที่ 3 พ่นสาร diquat dibromide 37.3% SL อัตราแนะนำ 298.4 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่
กรรมวิธีที่ 4 ไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช (control)

บันทึกข้อมูล ดังนี้ 1) ความเป็นพิษต่อต้นกล้วยหอม ที่ระยะ 3, 7, 15, 30, 45, 60 และ 90 วันหลังพ่นสาร โดยให้คะแนนจากการประเมินด้วยสายตาตามลักษณะที่ปรากฏ ดัดแปลงมาจากวิธีการประเมินของ จรัญญา และคณะ (2562) ดังนี้ 0 = ไม่เป็นพิษ, 1–3 = เป็นพิษเล็กน้อย, 4–6 = เป็นพิษปานกลาง, 7–9 = เป็นพิษรุนแรง, 10 = พืชปลูกตาย

ระดับคะแนน	ลักษณะที่ปรากฏ
0	พืชปลูกไม่แสดงอาการเกิดพิษ สามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติเช่นเดียวกับ control
1	ใบเปลี่ยนสีบริเวณขอบใบไม่ถึงกลางใบ เจริญเติบโตได้ปกติ
2	ใบเปลี่ยนสีบางส่วนแต่ไม่ทั่วทั้งใบ เจริญเติบโตได้ปกติ
3	ใบเปลี่ยนสีทั้งใบแต่ไม่ทั่วต้น เจริญเติบโตได้ปกติ
4	ใบเปลี่ยนสีทั้งใบแต่ไม่ทั่วต้น หรือใบผิดรูป หรือมีอาการไหม้บริเวณขอบใบไม่ถึงกลางใบ ใบใหม่เจริญเติบโตได้ปกติ และมีส่วนสีเขียวปรากฏ 60% เมื่อเทียบกับ control
5	ใบเปลี่ยนสีทั้งใบแต่ไม่ทั่วต้น หรือใบผิดรูป หรือใบไหม้บางส่วนแต่ไม่ทั่วทั้งใบ ใบใหม่เจริญเติบโตได้ปกติ และมีส่วนสีเขียวปรากฏ 50% เมื่อเทียบกับ control
6	ใบเปลี่ยนสีทั้งใบแต่ไม่ทั่วต้น หรือใบผิดรูป หรือใบไหม้ทั้งใบ ใบใหม่เจริญเติบโตได้ปกติ และมีส่วนสีเขียวปรากฏ 40% เมื่อเทียบกับ control
7	ใบเปลี่ยนสี หรือใบผิดรูป หรือใบไหม้ทั้งต้น แต่มีส่วนสีเขียวปรากฏ 30% เมื่อเทียบกับ control
8	ใบเปลี่ยนสี หรือใบผิดรูป หรือใบไหม้ทั้งต้น แต่มีส่วนสีเขียวปรากฏ 20% เมื่อเทียบกับ control
9	ใบเปลี่ยนสี หรือใบผิดรูป หรือใบไหม้ทั้งต้น แต่มีส่วนสีเขียวปรากฏ 10% เมื่อเทียบกับ control
10	พืชปลูกตายทั้งหมด

2) ความสูงของต้นกล้วยหอม ที่ระยะ 0, 30, 60 และ 90 วันหลังพ่นสาร โดยวัดจากส่วนลำต้นเหนือดินจากพื้นดินถึงโคนก้านใบของใบที่คลี่ออกแล้ว

3) จำนวนใบและจำนวนหน่อ ที่ระยะ 0, 30, 60 และ 90 วันหลังพ่นสาร

4) น้ำหนักสด (ชั่งน้ำหนักสดส่วนลำต้นเหนือดินของกล้วยหอม) และน้ำหนักแห้งของต้นกล้วยหอม (อบแห้งส่วนลำต้นเหนือดินของกล้วยหอมที่อุณหภูมิ 60 °C จำนวน 120 hr) ที่ระยะ 90 วันหลังพ่นสาร

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อกล้วยหอม

จากการประเมินความเป็นพิษของสารกำจัดวัชพืชต่อกล้วยหอมด้วยสายตา โดยเปรียบเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช (Table 1 และ Fig. 1–4) พบว่า สาร glyphosate มีความเป็นพิษเล็กน้อย (คะแนนเท่ากับ 1 และ 2) ต่อกล้วยหอม ที่ระยะ 3 และ 7 วันหลังพ่นสาร โดยใบอ่อนที่ม้วนแบบซิก้า (cigar leaf) และใบที่สัมผัสสารกำจัดวัชพืชมีอาการซีดเหลือง (chlorosis) แต่ก้านใบ กาบใบ และลำต้นเทียม (pseudostem) ยังมีสีเขียวอยู่ จากนั้นที่ระยะ 15 วันหลังพ่นสาร ความเป็นพิษเพิ่มขึ้นอยู่ในระดับรุนแรง (คะแนนเท่ากับ 7) โดยใบอ่อนที่ม้วนแบบซิก้าแกร็นและไม่พัฒนาต่อ ใบอ่อนเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมเขียวอ่อนทั้งใบ ใบอื่น ๆ เปลี่ยนเป็นสีเหลืองถึงน้ำตาลเข้ม จากนั้นใบแห้งและไหม้ (necrosis) เมื่อเข้าสู่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร ต้นกล้วยหอมตาย (คะแนนเท่ากับ 10) สำหรับสาร glufosinate มีความเป็นพิษเล็กน้อย (คะแนนเท่ากับ 3) ต่อกล้วยหอม ที่ระยะ 3 และ 7 วันหลังพ่นสาร โดยใบอ่อนมีลักษณะเป็นจุดแผลสีน้ำตาล และเป็นปื้นสีเหลืองกระจายทั่วแผ่นใบ ใบอื่น ๆ มีอาการเป็นปื้นช้ำน้ำเล็กน้อย แต่พื้นที่ใบส่วนใหญ่มีสีเขียวปกติ จากนั้นที่ระยะ 15 วันหลังพ่นสาร ความเป็นพิษเพิ่มขึ้นอยู่ในระดับปานกลาง (คะแนนเท่ากับ 4) โดยใบอ่อนที่ม้วนแบบซิก้าและใบอ่อนมีลักษณะเป็นแถบสีเขียวอ่อนสลับเหลืองอ่อนทั้งแผ่นใบ ใบมีลักษณะแกร็น ลดรูป และไม่พัฒนาต่อ เมื่อเข้าสู่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร ต้นกล้วยหอมเจริญเติบโตได้ตามปกติ (คะแนนเท่ากับ 0) ในขณะที่สาร diquat มีความเป็นพิษรุนแรง (คะแนน

เท่ากับ 9 และ 7) ต่อกล้วยหอม ที่ระยะ 3 และ 7 วันหลังพ่นสาร โดยใบอ่อนที่ม้วนแบบซิก้าและใบที่สัมผัสสารเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลไหม้แห้ง ก้านใบ กาบใบ และลำต้นเทียมเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล และมีอาการช้ำน้ำ จากนั้นใบอ่อนที่ม้วนแบบซิก้าและใบอ่อนมีอาการซีดเหลือง ขอบใบและบางจุดของแผ่นใบมีอาการแห้งและไหม้ ช้ำน้ำ จากนั้นที่ระยะ 15 วันหลังพ่นสาร ความเป็นพิษลดลงอยู่ในระดับปานกลาง (คะแนนเท่ากับ 6) โดยใบอ่อนที่ม้วนแบบซิก้าและใบอ่อนเปลี่ยนเป็นสีเขียวอ่อนอมเหลืองทั้งใบ มีลักษณะแกร็น ลดรูป และไม่พัฒนาต่อ เมื่อเข้าสู่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร ต้นกล้วยหอมเจริญเติบโตได้ตามปกติ (คะแนนเท่ากับ 0)

ทั้งนี้ สาร glyphosate เป็นสารประเภทไม่เลือกทำลาย ที่ใช้ฉีดพ่นหลังวัชพืชงอก สารสามารถเคลื่อนย้ายเข้าสู่เนื้อเยื่อลำเลียงอาหารไปยังส่วนต่าง ๆ ของพืช แล้วทำลายจุดเจริญของพืชทั้งส่วนของยอดและราก (ทศพล, 2560; Thomson, 1983; Shaner et al., 2014) ซึ่งสอดคล้องกับอาการความเป็นพิษที่ระยะ 3, 7 และ 15 วันหลังจากกล้วยหอมได้รับสาร ที่มีอาการ chlorosis เกิดขึ้นก่อน ทำให้ใบที่ยังไม่แก่เต็มที่ (immature leaves) และจุดเจริญถูกทำลาย จากนั้นจึงเกิดอาการ necrosis ตามมา ส่งผลให้ต้นกล้วยหอมตาย ที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร ในขณะที่สาร glufosinate และ diquat เป็นสารที่ไม่สามารถเคลื่อนย้ายได้ เนื่องจากเป็นสารสัมผัส เช่นเดียวกับสาร paraquat (ทศพล, 2560; Shaner et al., 2014) จึงทำให้ต้นกล้วยหอมแสดงอาการเกิดพิษเพียงที่ระยะ 3, 7 และ 15 วันหลังพ่นสาร จากนั้นสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ ที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร เช่นเดียวกับที่ Tony (2016) รายงานว่าสารกำจัดวัชพืชในกล้วยที่นิยมใช้ในประเทศออสเตรเลีย ส่วนใหญ่เป็นสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอก ได้แก่ paraquat, diquat, และ glufosinate อัตรา 250, 115 และ 200 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ ตามลำดับ โดยสามารถควบคุมวัชพืชได้ดี ไม่เป็นพิษต่อกล้วย อีกทั้งยังไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต และจุลินทรีย์ที่อยู่ในดิน

Table 1 Phytotoxicity of *Musa* (AAA) 'Kluai Hom Thong' at 3, 7, 15, 30, 45, 60 and 90 days after application

Treatments	Rates	Phytotoxicity						
	(g ai/rai)	3 DAA[1/]	7 DAA	15 DAA	30 DAA	45 DAA	60 DAA	90 DAA
1. glyphosate 48% SL	240	1[2/]	2	7	10	10	10	10
2. glufosinate 15% SL	97.5	3	3	4	0	0	0	0
3. diquat 37.3% SL	298.4	9	7	6	0	0	0	0
4. control	-	0	0	0	0	0	0	0

[1/] DAA = Days after application

[2/] Phytotoxicity was assessed by visual rate from 0–10; 0 = normal, 1–3 = slightly toxic, 4–6 = moderately toxic, 7–9 = severely toxic, 10 = completely killed

การเจริญเติบโตของกล้วยหอม

ผลของสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นหลังวัชพืชงอกต่อการเจริญเติบโตของกล้วยหอม (Table 2–3) พบว่า ความสูงของต้นกล้วยหอมที่ระยะก่อนพ่นสารในทุกกรรมวิธีมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีความสูงอยู่ระหว่าง 42.2–43.6 เซนติเมตร เมื่อเข้าสู่ระยะ 30, 60 และ 90 วันหลังพ่นสาร พบว่า กรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช มีความสูงมากที่สุดอยู่ 71.4, 97.4 และ 116.8 เซนติเมตร ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดวัชพืช เช่นเดียวกับน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้วยหอม ที่ระยะ 90 วันหลังพ่นสาร ซึ่งพบว่า กรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืชมีน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งสูงที่สุดอยู่ 5,405.0 และ 441.6 กรัม ตามลำดับ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดวัชพืช สำหรับจำนวนใบที่ระยะก่อนพ่นสารในทุกกรรมวิธีมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมี

จำนวนใบอยู่ระหว่าง 4.3–4.6 ใบต่อต้น แต่เมื่อเข้าสู่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร พบว่า กรรมวิธีพ่นสาร glufosinate, diquat และกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีจำนวนใบอยู่ระหว่าง 8.2–9.4 ใบต่อต้น มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสาร glyphosate ที่ไม่สามารถนับจำนวนใบได้ เนื่องจากต้นกล้วยหอมตาย ในขณะที่ระยะ 60 วันหลังพ่นสาร กรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช มีจำนวนใบสูงที่สุดอยู่ 15.0 ใบต่อต้น แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกกรรมวิธีที่พ่นสารกำจัดวัชพืช ส่วนจำนวนหน่อของกล้วยหอม พบว่า ที่ระยะก่อนพ่นสารและระยะ 30 วันหลังพ่นสาร พบว่า กล้วยหอมยังไม่มีการแตกหน่อ เมื่อเข้าสู่ระยะ 60 และ 90 วันหลังพ่นสาร กรรมวิธีพ่นสาร glufosinate และกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ โดยมีจำนวนหน่ออยู่ระหว่าง 2.8–3.8 และ 3.0–4.0 หน่อต่อต้น ตามลำดับ มากกว่าและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกรรมวิธีพ่นสาร glyphosate และ diquat ที่มีจำนวนหน่ออยู่ระหว่าง 0.0–1.0 และ 0.0–1.4 หน่อต่อต้น ตามลำดับ

ทั้งนี้กรรมวิธีพ่นสาร glyphosate ทำให้กล้วยหอมตายสมบูรณ์ ที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร ส่งผลให้ไม่สามารถบันทึกข้อมูลความสูง จำนวนใบ จำนวนหน่อ น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของกล้วยหอมได้ ในขณะที่สาร glufosinate และ diquat มีความเป็นพิษปานกลาง ที่ระยะ 15 วันหลังพ่นสาร จึงส่งผลต่อการเจริญเติบโตทางด้านความสูง ที่ระยะ 30, 60 และ 90 วันหลังพ่นสาร จำนวนใบ ที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้วยหอม ที่ระยะ 90 วันหลังพ่นสาร เมื่อเทียบกับกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช แต่อย่างไรก็ตามกรรมวิธีพ่นสาร glufosinate นั้นมีองค์ประกอบของการเจริญเติบโตต่าง ๆ ดีกว่ากรรมวิธีพ่นสารกำจัดวัชพืชอื่น ๆ อีกทั้งยังมีจำนวนใบ ที่ระยะ 90 วันหลังพ่นสาร และจำนวนหน่อ ที่ระยะ 60 และ 90 วันหลังพ่นสาร ไม่แตกต่างกันทางสถิติกับกรรมวิธีไม่พ่นสารกำจัดวัชพืช เช่นเดียวกับงานวิจัยของ เอกรัตน์ และคณะ (2566) ที่ได้ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชต่อการควบคุมวัชพืชในแปลงกล้วยหอมทอง พบว่า สาร ametryn, diuron, glufosinate และ topramezone สามารถควบคุมวัชพืชได้ดีมากกว่า 70% จนถึงระยะ 30 วันหลังพ่นสาร โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของกล้วยหอม

Table 2 Effect of herbicides on growths of *Musa* (AAA) 'Kluai Hom Thong' at 0, 30, 60 and 90 days after application

Treatments	Rates (g ai/rai)	Growths of *Musa* (AAA) 'Kluai Hom Thong'					
		Plant height (cm)				Fresh weight (g)	Dry weight (g)
		0 DAA[1/]	30 DAA	60 DAA	90 DAA	90 DAA	90 DAA
1. glyphosate 48% SL	240	43.4	0.0[d]	0.0[d]	0.0[d]	0.0[d]	0.0[d]
2. glufosinate 15% SL	97.5	42.2	60.4[b]	78.4[b]	93.2[b]	4,060.0[b]	275.8[b]
3. diquat 37.3% SL	298.4	43.0	45.8[c]	51.8[c]	59.8[c]	1,575.0[c]	114.6[c]
4. control	-	43.6	71.4[a]	97.4[a]	116.8[a]	5,405.0[a]	441.6[a]
F-test		ns	*	*	*	*	*
C.V. (%)		6.4	11.8	10.0	17.8	17.1	9.0

[1/] DAA = Days after application

* = significant at $p < 0.05$ ns = not significant

Means within the same column followed by the same letter are not signification different by Duncan Multiple Range Test at $p < 0.05$

Table 3 Effect of herbicides on Number of Leaves and Number of Suckers of *Musa* (AAA) 'Kluai Hom Thong' at 0, 30, 60 and 90 days after application

Treatments	Rates (g ai/rai)	Growths of *Musa* (AAA) 'Kluai Hom Thong'							
		Number of Leaves (Leaves/plant)				Number of Suckers (Suckers/plant)			
		0 DAA[1/]	30 DAA	60 DAA	90 DAA	0 DAA	30 DAA	60 DAA	90 DAA
1. glyphosate 48% SL	240	4.3	0.0[b]	0.0[d]	0.0[c]	0.0	0.0	0.0[b]	0.0[c]
2. glufosinate 15% SL	97.5	4.4	9.2[a]	14.0[b]	17.8[a]	0.0	0.0	2.8[a]	3.0[a]
3. diquat 37.3% SL	298.4	4.4	8.2[a]	12.4[c]	15.4[b]	0.0	0.0	1.0[b]	1.4[b]
4. control	-	4.6	9.4[a]	15.0[a]	17.8[a]	0.0	0.0	3.8[a]	4.0[a]
F-test		ns	*	*	*			*	*
C.V. (%)		21.6	14.4	5.9	6.5			48.8	34.8

[1/] DAA = Days after application

* = significant at p <0.05 ns = not significant

Means within the same column followed by the same letter are not signification different by Duncan Multiple Range Test at $p < 0.05$



3 DAA 7 DAA 15 DAA 30 DAA 60 DAA 90 DAA

Fig. 1 Effect of glyphosate herbicides on phytotoxicity of *Musa* (AAA) 'Kluai Hom Thong' at 3, 7, 15, 30, 60 and 90 days after application (DAA)



3 DAA 7 DAA 15 DAA 30 DAA 60 DAA 90 DAA

Fig. 2 Effect of glufosinate herbicides on phytotoxicity of *Musa* (AAA) 'Kluai Hom Thong' at 3, 7, 15, 30, 60 and 90 days after application (DAA)



3 DAA 7 DAA 15 DAA 30 DAA 60 DAA 90 DAA

Fig. 3 Effect of diquat herbicides on phytotoxicity of *Musa* (AAA) 'Kluai Hom Thong' at 3, 7, 15, 30, 60 and 90 days after application (DAA)



3 DAA 7 DAA 15 DAA 30 DAA 60 DAA 90 DAA

Fig. 4 Control of *Musa* (AAA) 'Kluai Hom Thong' at 3, 7, 15, 30, 60 and 90 days after application (DAA)

สรุป

การพ่นสารกำจัดวัชพืช glufosinate และ diquat อัตรา 97.5 และ 298.4 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ มีความเป็นพิษปานกลาง ที่ระยะ 15 วันหลังพ่นสาร จากนั้นที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร ต้นกล้วยหอมสามารถเจริญเติบโตได้ตามปกติ ในขณะที่สารกำจัดวัชพืช glyphosate อัตรา 240 กรัมสารออกฤทธิ์ต่อไร่ มีความเป็นพิษรุนแรง ที่ระยะ 15 วันหลังพ่นสาร จากนั้นต้นกล้วยหอมตาย ที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร ดังนั้นสารกำจัดวัชพืช glufosinate และ diquat จึงเหมาะสมสำหรับใช้ในแปลงปลูกกล้วยหอม เนื่องจากไม่ส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของกล้วยหอม ที่ระยะ 30 วันหลังพ่นสาร เป็นต้นไป

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มวิจัยวัชพืช. 2560. การจำแนก และการจัดการวัชพืชในพืชเศรษฐกิจ. โรงพิมพ์ชุมนุมสหกรณ์การเกษตรแห่งประเทศไทย จำกัด, นนทบุรี.

จรัญญา ปิ่นสุภา, อุษณีย์ จินดากุล, เทอดพงศ์ มหาวงษ์, พรนภัส วิชานนะณานนท์, ประชาธิปัตย์ พงษ์ภิญโญ. 2562. ประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชประเภทพ่นก่อนวัชพืชงอกในผักชีฝรั่ง. วารสารวิชาการเกษตร 37(3): 320–331.

ทศพล พรพรหม. 2560. สารป้องกันกำจัดวัชพืช: หลักการและกลไกการทำลายพืช. พิมพ์ครั้งที่ 3. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

ประกาศกระทรวงอุตสาหกรรม. 2563. บัญชีรายชื่อวัตถุอันตราย (ฉบับที่ 6) พ.ศ. 2563. https://www.dla.go.th/work/paraquat.pdf, 18 ธันวาคม 2566.

พรชัย เหลืองอาภาพงศ์. 2540. วัชพืชศาสตร์ (Weed Science). โรงพิมพ์ลินคอร์น, กรุงเทพฯ.

เอกรัตน์ ธนูทอง, จรัญญา ปิ่นสุภา, ปรัชญา เอกฐิน. 2566. ศึกษาประสิทธิภาพสารกำจัดวัชพืชต่อการควบคุมวัชพืชในแปลงกล้วยหอมทอง. ใน: รายงานการประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 20. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.

Shaner, D.L., Jachetta, J.J., Senseman, S. et al. 2014. Herbicide Handbook, 10th ed. Weed Science Society of America. Lawrence, New York, NY, USA.

Thomson, W.T. 1983. Agricultural chemicals, Book II: Herbicides. Thomson Publications, Fresno, CA, USA.

Tony Pattison. 2016. Horticulture Innovation Australia. Department of Agriculture and Fisheries (DAF), Banana (R&D Levy), The University of Queensland, Horticulture Innovation Australia Limited.

ผลของกรดซาลิไซลิกต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของผลพริกขี้หนูหลังเก็บเกี่ยวพันธุ์ซุปเปอร์ฮอทและการชักนำความต้านทาน

Effect of salicylic acid on control anthracnose of postharvest *Capsicum frutescens* cv. Super-hot fruits and induced disease resistance

วีรภรณ์ เดชนำบัญชาชัย*, **บุญญวดี จิระวุฒิ**, **รัตตา สุทธยาคม**

Weeraporn Dejnumbunchachai*, Boonyawadee Chirawut, Ratta Suttayakom

กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร กรมวิชาการเกษตร กรุงเทพมหานคร 10900

Postharvest and Processing Research and Development Division, Department of Agriculture, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: tar_doa@yahoo.co.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบวิธีการใช้กรดซาลิไซลิกและระยะเวลาในการใช้กรดซาลิไซลิกที่เหมาะสมในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริก พบว่าการพ่นผลพริกและการแช่ผลพริกด้วยกรดซาลิไซลิก 500 มก./ล. หลังการเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกรทันที และกรรมวิธีที่แช่ผลพริกหลังเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกร มาแล้ว 1 วัน โดยพบการเกิดโรคและดัชนีความรุนแรงของโรคต่ำ การเกิดโรค 6.20 6.70 และ 6.70% ตามลำดับ ดัชนีความรุนแรงของโรค 1.80 1.80 และ 1.80% ตามลำดับ สัมพันธ์กับการชักนำการสร้างเอนไซม์ไคติเนสมีค่าสูงสุดเท่ากับ 1.07 1.05 และ 1.05 ตามลำดับ และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูง คือ 153.35 151.76 และ 142.32 mgGAE/100g fresh weight เมื่อเทียบกับกรรมวิธีที่แช่ผลพริกในน้ำ (กรรมวิธีควบคุม) หลังการเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกรทันที พบการเกิดโรค 17.20% ดัชนีความรุนแรงของโรค 4.40% การชักนำการสร้างเอนไซม์ไคติเนส 0.53 units/mg protein และมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 78.41 mgGAE/100g fresh weight

คำสำคัญ: กรดซาลิไซลิก, ฟีนอลิก, เอนไซม์ไคติเนส, แอนแทรคโนส

Abstract

The objective of this study was to determine the appropriate method and duration application of salicylic acid for controlling anthracnose disease in chilli. The results showed that spraying and soaking methods on chilli fruits with salicylic acid at 500 mg/l at 0 day and 1 day after harvest expressed low disease incidence of 6.20%, 6.70% and 6.70%. respectively, and disease severity index of 1.80%, 1.80% and 1.80%. respectively. These periods greatly showed the highest chitinase activity at 1.07, 1.05 and 1.05 units/mg protein. respectively and total phenolic contents of 153.35, 151.76 and 142.32 mgGAE/100g fresh weight. Respectively, when compared with soaking chilli fruits at 0 day after harvest in water (control). The disease incidence was 17.20% and the disease severity index was 4.40%. It also displayed chitinase activity of 0.53 units/mg protein and total phenolic content of 78.41 mgGAE/100g fresh weight, which were lower amounts than salicylic acid treatments.

Keywords: Anthracnose, Chitinase, Phenolic, Salicylic acid

คำนำ

พริกเป็นพืชที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจสูง ปัญหาสำคัญของการปลูกพริกคือการเกิดโรคต่าง ๆ ซึ่งทำให้ผลผลิตลดลง สาเหตุเกิดจากเชื้อราในสกุล *Colletotrichum* การเข้าทำลายจะเริ่มตั้งแต่อยู่ในแปลงปลูก และแสดงอาการของโรคแอนแทรคโนสหลังการเก็บเกี่ยว ดังนั้นเกษตรกรส่วนใหญ่เลือกใช้สารเคมีกำจัดเชื้อราเพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนส ก่อให้เกิดผลตกค้างในผลพริก การใช้สารปลอดภัย เช่น กรดซาลิไซลิกก็เป็นอีกแนวทางนึงที่มีความปลอดภัยต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค เนื่องจากการทดลองของ วีรภรณ์ และคณะ (2563) พบว่าการแช่ผลพริกด้วยกรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 500 มก./ล. นาน 3 นาที และบ่มกระตุ้นความต้านทานบนผลพริก 12 ชั่วโมง สามารถลดความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสได้ดีที่สุด มีขนาดแผลเล็กที่สุด เท่ากับ 0.26 ซม. สัมพันธ์กับการชักนำการสร้างเอนไซม์ไคติเนสที่มีค่าสูงสุด เท่ากับ 1.65 units/mg protein ซึ่งเอนไซม์ไคติเนส มีคุณสมบัติในการย่อยผนังเซลล์ของเชื้อรา ส่งผลให้เชื้อราไม่สามารถเจริญต่อไปได้ แต่อย่างไรก็ตามบางครั้งเกษตรกรไม่สามารถแช่ผลพริกได้ทันทีหลังเก็บเกี่ยวตามคำแนะนำ เนื่องจากเมื่อเกษตรกรเก็บพริกจากแปลงปลูกจะทำการคัดเลือกเบื้องต้นเพื่อให้ได้คุณภาพตรงตามที่บริษัทกำหนด จากนั้นบริษัทจะรับผลผลิตพริกที่แปลงเกษตรกรเพื่อขนส่งไปยังโรงคัดบรรจุรวมใช้เวลา 1–2 วัน ดังนั้นการทดลองนี้มุ่งศึกษาการใช้กรดซาลิไซลิกเพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนสหลังจากผ่านกรรมวิธีต่าง ๆ เพื่อให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการจัดการหลังเก็บเกี่ยวของพริกขี้หนูเพื่อควบคุมโรคแอนแทรคโนส

อุปกรณ์และวิธีการ

ทดสอบวิธีการใช้กรดซาลิไซลิกและระยะเวลาสำหรับการใช้กรดซาลิไซลิกภายหลังเก็บเกี่ยวต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริก

นำผลพริกขี้หนูพันธุ์ซุปเปอร์ฮอท ระยะผลสีแดงจากแปลงเกษตรกร จังหวัดนครราชสีมา มาทดสอบวิธีการใช้กรดซาลิไซลิกที่มีประสิทธิภาพ โดยทดสอบ 2 วิธี คือ การแช่ผลพริกในกรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 500 มก./ล. เป็นเวลา 3 นาที และการพ่นกรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 500 มก./ล. ลงบนผลพริก เปรียบเทียบกับกรรมวิธีควบคุมและกรรมวิธีที่ใช้สารเคมีโพรคลอราซ ความเข้มข้น 250 มก./ล. นาน 3 นาที และทดสอบระยะเวลาในการใช้กรดซาลิไซลิกที่เหมาะสมในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริก โดยทดสอบ 3 ระยะเวลา คือ การใช้กรดซาลิไซลิกกับผลพริกภายหลังการเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกรทันที การใช้กรดซาลิไซลิกกับผลพริกภายหลังจากเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกรมาแล้ว 1 วัน และการใช้กรดซาลิไซลิกกับผลพริกภายหลังจากเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกรมาแล้ว 2 วัน กรดซาลิไซลิกและความเข้มข้นที่เหมาะสมที่นำมาทดสอบในการศึกษาครั้งนี้ มาจากผลการทดลองเรื่อง “การใช้สารปลอดภัยกระตุ้นความต้านทานโรคแอนแทรคโนสของพริกขี้หนูหลังการเก็บเกี่ยว” (วีรภรณ์ และคณะ, 2563) พบว่า กรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 500 มก./ล. บ่มกระตุ้นความต้านทานบนผลพริก 12 ชั่วโมง มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสได้ดี โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) เปรียบเทียบ 12 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำ ซ้ำละ 25 ผล บรรจุผลพริกในถาดโพลิโพรพิลีน (PP) หุ้มด้วยฟิล์มพลาสติกโพลิเอทิลีน (PE) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15°C นาน 21 วัน

กรรมวิธีที่ 1 กรรมวิธีควบคุม (แช่น้ำทันที) นาน 3 นาที หลังการเก็บเกี่ยวผลพริกที่แปลงเกษตรกร

กรรมวิธีที่ 2 พ่นกรดซาลิไซลิกที่ความเข้มข้น 500 มก./ล. ทันที ทั่วผลพริกหลังการเก็บเกี่ยวผลพริกที่แปลงเกษตรกร

กรรมวิธีที่ 3 แช่กรดซาลิไซลิกที่ความเข้มข้น 500 มก./ล. ทันที นาน 3 นาที หลังการเก็บเกี่ยวผลพริกที่แปลงเกษตรกร

กรรมวิธีที่ 4 แช่โพรคลอราซที่ความเข้มข้น 500 มก./ล. ทันที นาน 3 นาที หลังการเก็บเกี่ยวผลพริกที่แปลงเกษตรกร

กรรมวิธีที่ 5 กรรมวิธีควบคุม (แช่น้ำ) นาน 3 นาที หลังการเก็บเกี่ยวผลพริกที่แปลงเกษตรกร 1 วัน

กรรมวิธีที่ 6 พ่นกรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 500 มก./ล. ทั่วผลพริกหลังการเก็บเกี่ยวผลพริกที่แปลงเกษตรกร 1 วัน

กรรมวิธีที่ 7 แช่กรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 500 มก./ล. นาน 3 นาที หลังการเก็บเกี่ยวผลพริกที่แปลงเกษตรกร 1 วัน

กรรมวิธีที่ 8 แช่โพรคลอราซ ความเข้มข้น 500 มก./ล. นาน 3 นาที หลังการเก็บเกี่ยวผลพริกที่แปลงเกษตรกร 1 วัน

กรรมวิธีที่ 9 กรรมวิธีควบคุม (แช่น้ำ) นาน 3 นาที หลังการเก็บเกี่ยวผลพริกที่แปลงเกษตรกร 2 วัน

กรรมวิธีที่ 10 พ่นกรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 500 มก./ล. ทั่วผลพริกหลังการเก็บเกี่ยวผลพริกที่แปลงเกษตรกร 2 วัน

กรรมวิธีที่ 11 แช่กรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 500 มก./ล. นาน 3 นาที หลังการเก็บเกี่ยวผลพริกที่แปลงเกษตรกร 2 วัน

กรรมวิธีที่ 12 แช่โพรคลอราซ ความเข้มข้น 500 มก./ล. นาน 3 นาที หลังการเก็บเกี่ยวผลพริกที่แปลงเกษตรกร 2 วัน

<u>บันทึกข้อมูล</u> วันที่ 14 และ 21 วัน ของการเก็บรักษา

1. การเกิดโรค (%) โดยการนับจำนวนผลพริกที่แสดงอาการโรคต่อจำนวนผลพริกทั้งหมด นำค่าที่ได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การเกิดโรค โดยใช้สูตรดังต่อไปนี้

$$\% \text{ Disease incidence} = \frac{\text{Number of infected chilli fruits} \times 100}{\text{Total number of chilli fruits}} \quad (1)$$

2. ความรุนแรงของโรคโดยวัดพื้นที่ผิวที่แสดงอาการของโรคเทียบกับพื้นที่ผิวทั้งหมด ประเมินการเกิดโรค โดยแบ่งระดับความรุนแรง เป็น 5 ระดับ ดังนี้

ระดับ 0= ไม่แสดงอาการของโรค ระดับ 1= พบแผลสีน้ำตาลบนผลพริก = 1-5%

ระดับ 2= พบแผลสีน้ำตาลบนผลพริก = 6-10% ระดับ 3= พบแผลสีน้ำตาลบนผลพริก = 11-15%

ระดับ 4= พบแผลสีน้ำตาลบนผลพริก >16%

จากนั้นคำนวณดัชนีความรุนแรงของโรค (Disease severity index) ตามสูตรดังนี้ (ดัดแปลงจาก จันจิรา, 2550)

$$\% \text{ Disease severity index} = \frac{(na\times0) + (nb\times1) + (nc\times2) + (nd\times3) + (ne\times4) \times 100}{N\times4} \quad (2)$$

na = no symptoms disease =0 nb = severity of disease =1 nc = severity of disease =2

nd = severity of disease =3 ne = severity of disease =4 N = tolal number of chilli fruits

ทดสอบวิธีการกรดซาลิไซลิกและระยะเวลาสำหรับการใช้กรดซาลิไซลิกภายหลังเก็บเกี่ยวต่อการชักนำกิจกรรมเอนไซม์ไคติเนส

นำผลพริกขี้หนูพันธุ์ซุปเปอร์ฮอท ระยะผลสีแดงจากแปลงเกษตรกร จังหวัดนครราชสีมา ที่ผ่านกรรมวิธีต่าง ๆ (เช่นเดียวกับข้อ 1.1) เก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นความต้านทานที่ผิวพริกขี้หนู เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่แช่ผลพริกในน้ำ (กรรมวิธีควบคุม) เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำผลพริกมาผ่าเอาเมล็ดออก เก็บผลพริกในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20°C สำหรับทดสอบเอนไซม์ไคติเนส โดยวิธีการตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ไคติเนส (ดัดแปลงจากวิธีการ

ของ El Ghaouth et al., 2003) ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 585 นาโนเมตร คำนวณหาค่า NAG ที่เกิดขึ้นโดยใช้กราฟมาตรฐาน 1 หน่วยกิจกรรมเอนไซม์ คือปริมาณเอนไซม์ 1 มิลลิลิตร ที่ทำให้เกิด NAG 1ไมโครกรัม ในเวลา 1 นาที

ทดสอบวิธีการใช้กรดซาลิไซลิกและระยะเวลาสำหรับการใช้กรดซาลิไซลิกภายหลังเก็บเกี่ยวต่อการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

นำผลพริกขี้หนูพันธุ์ซุปเปอร์ฮอท ระยะผลสีแดงจากแปลงเกษตรกร จังหวัดนครราชสีมา ที่ผ่านกรรมวิธีต่าง ๆ (เช่นเดียวกับข้อ 1.1) เก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง เพื่อกระตุ้นความต้านทานที่ผิวพริกขี้หนู เปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่แช่ผลพริกในน้ำ (กรรมวิธีควบคุม) เมื่อครบเวลาที่กำหนด นำผลพริกมาผ่าเอาเมล็ดออก เก็บผลพริกในตู้เย็นที่อุณหภูมิ –20°C สำหรับทดสอบสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยวิธีการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ด้วยวิธี Foline Ciocalteu method ดัดแปลงจากวิธีการของ Singleton and Rossi (1965) และ Ketsa and Atantee (1998) ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของ Gallic acid ในหน่วยมิลลิกรัมต่อ 100 กรัม น้ำหนักสดตัวอย่างพริก [gallic acid equivalents (GAE); mg/100 g fresh weight (FW)]

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทดสอบวิธีการใช้กรดซาลิไซลิกและระยะเวลาสำหรับการใช้กรดซาลิไซลิกภายหลังเก็บเกี่ยวต่อการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริก

เมื่อนำผลพริกขี้หนูพันธุ์ซุปเปอร์ฮอทระยะผลแดงมาทดสอบวิธีการใช้กรดซาลิไซลิก โดยทำการทดสอบ 2 วิธี คือ การแช่ผลพริกในกรดซาลิไซลิก 500 มก./ล. เป็นเวลา 3 นาที และการพ่นกรดซาลิไซลิก 500 มก./ล. ลงบนผลพริกให้ทั่ว เก็บรักษา 21 วัน พบว่าทั้งสองวิธีการให้ผลการเกิดโรคและดัชนีความรุนแรงของโรคไม่แตกต่างกันทางสถิติตลอดการเก็บรักษา สามารถเลือกใช้วิธีการพ่นหรือวิธีการแช่ผลพริกด้วยกรดซาลิกไซลิกวิธีการใดก็ได้ ขณะที่ระยะเวลาในการใช้กรดซาลิไซลิกที่เหมาะสมในการควบคุมโรคแอนแทรคโนสของพริก 3 ระยะเวลา คือ การใช้กรดซาลิไซลิกกับผลพริกภายหลังการเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกรทันที การใช้กรดซาลิไซลิกกับผลพริกภายหลังจากเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกรมาแล้ว 1 วัน และการใช้กรดซาลิไซลิกกับผลพริกภายหลังจากเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกรมาแล้ว 2 วัน พบว่า ระยะเวลาในการใช้กรดซาลิไซลิกภายหลังเก็บเกี่ยวผลพริกมีผลต่อการเกิดโรคและดัชนีความรุนแรงของโรคแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยการใช้กรดซาลิไซลิกกับผลพริกหลังการเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกรทันที หลังจากเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกรมาแล้ว 1 วัน และหลังจากเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกรมาแล้ว 2 วัน มีการเกิดโรคและดัชนีความรุนแรงของโรคต่ำกว่ากรรมวิธีที่แช่ผลพริกในน้ำ (กรรมวิธีควบคุม) สามารถลดความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสได้ดีกว่า

เมื่อเก็บรักษาผลพริกนาน 21 วัน พบว่ากรรมวิธีที่พ่นผลพริกและกรรมวิธีที่แช่ผลพริกด้วยกรดซาลิไซลิก หลังการเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกรทันที และกรรมวิธีที่แช่ผลพริกด้วยกรดซาลิไซลิก หลังการเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกร มาแล้ว 1 วัน มีการเกิดโรคและดัชนีความรุนแรงของโรคต่ำ สามารถลดความรุนแรงของโรคแอนแทรคโนสได้ดี โดยมีการเกิดโรค 6.20% 6.70% และ 6.70% ตามลำดับ (Table1) ดัชนีความรุนแรงของโรค 1.80% 1.80% และ 1.80% ตามลำดับ (Table1) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่แช่ผลพริกในน้ำ (กรรมวิธีควบคุม) หลังการเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกรทันที มีการเกิดโรค 17.20% และดัชนีความรุนแรงของโรค 4.40% (Table 1) ในขณะที่การใช้กรดซาลิไซลิกเปรียบเทียบกับการใช้

สารเคมีโพรคลอราซพบว่าการเกิดโรคและดัชนีความรุนแรงของโรคให้ผลที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ สามารถใช้กรดซาลิไซลิกทดแทนสารเคมีโพรคลอราซได้ เนื่องจากสารเคมีโพรคลอราซเป็นสารเคมีที่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค สอดคล้องกับรายงานของ Tian et al. (2006) พบว่ากรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ ลดการเน่าเสียของผลสาลี่ที่เกิดจากเชื้อรา *Alternaria alternata* โดยกรดซาลิไซลิกจะกระตุ้นผลสาลี่ให้มีการสร้างสารที่เกี่ยวข้องกับกลไกการต้านทานต่อเชื้อรา *A. alternata* เช่น เบต้า-1,3 กูลคาเนส (ß-1,3-glucanase), ฟีนิลอะลานีน แอมโมเนีย ไลเอส (phenylalanine ammonia lyase), เพอร์ออกซิเดส (peroxidase) และ โพลีฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase) นอกจากกรดซาลิไซลิกจะใช้เพื่อลดการเกิดโรคแล้ว กรดซาลิไซลิกอาจจะเกี่ยวข้องกับระบบ signal transduction ซึ่งจะไปชักนำให้พืชเกิดความต้านทานโดยการสร้างสารต่าง ๆ เช่น โพลีฟีนอล (polyphenol) หรือ Pathogenesis-related protein (PR-protein) (Hahlbrock and Scheel, 1989) โดย PR-protein ช่วยให้พืชมีความต้านทานต่อเชื้อสาเหตุโรคได้ เช่น เอนไซม์ไคติเนส และกูลคาเนส จัดเป็น PR-protein ที่พืชสร้างขึ้นเพื่อตอบสนองต่อการเข้าทำลายของเชื้อโรคและสภาวะกดดันต่าง ๆ (Bowles, 1990)

Table 1 Effects of salicylic acid with soaking and spraying methods at different periods of time after harvest on disease incidence and disease severity index of Anthracnose disease on chilli fruit stored at 15°C for 14 and 21 days

Treatment	14 days		21 days	
	Disease incidence (%)	Diseaseseverity index (%)	Disease incidence (%)	Diseaseseverity index (%)
control (water soaked immediately)	5.40^{ab}	1.60^{ab}	17.20^{bc}	4.40^{bc}
500 mg/l salicylic acid sprayed immediately	1.90^{a}	0.60^{a}	6.20^{a}	1.80^{a}
500 mg/l salicylic acid soaked immediately for 3 min	1.50^{a}	0.60^{a}	6.70^{a}	1.80^{a}
500 mg/l prochloraz soaked immediately for 3 min	3.50^{ab}	1.00^{ab}	6.30^{a}	1.80^{a}
control (water soaked at 1 days after harvest)	9.00^{b}	2.40^{b}	12.50^{abc}	3.60^{ab}
500 mg/l salicylic acid sprayed at 1 days after harvest for 3 min	4.10^{ab}	1.20^{ab}	8.30^{ab}	2.20^{a}
500 mg/l salicylic acid soaked at 1 days after harvest for 3 min	1.50^{a}	0.60^{a}	6.70^{a}	1.80^{a}
500 mg/l prochloraz soaked at 1 days after harvest for 3 min	3.50^{ab}	1.20^{ab}	6.30^{a}	1.80^{a}
control (water soaked at 2 days after harvest)	19.00^{c}	4.80^{c}	19.40^{c}	5.40^{c}
500 mg/l salicylic acid sprayed at 2 days after harvest for 3 min	8.20^{b}	2.20^{b}	12.60^{abc}	3.40^{ab}
500 mg/l salicylic acid soaked at 2 days after harvest for 3 min	4.00^{ab}	1.20^{ab}	12.20^{abc}	3.40^{ab}
500 mg/l prochloraz soaked at 2 days after harvest for 3 min	5.80^{ab}	1.60^{ab}	10.40^{abc}	3.00^{ab}
CV(%)	40.20	68.95	20.20	45.82

(1) Mean in the same column followed by different superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

ทดสอบวิธีการใช้กรดซาลิไซลิกและระยะเวลาสำหรับการใช้กรดซาลิไซลิกภายหลังเก็บเกี่ยวต่อการชักนำกิจกรรมเอนไซม์ไคติเนส

วิธีการแช่และวิธีการพ่นกรดซาลิไซลิกบนผลพริกขี้หนูพันธุ์ซุปเปอร์ฮอท ต่อการชักนำการสร้างเอนไซม์ไคติเนสในผลพริกให้ผลไปในทิศทางเดียวกับการเกิดโรคและดัชนีความรุนแรงของโรค คือไม่แตกต่างกันทางสถิติ ในขณะที่ระยะเวลาในการใช้สารปลอดภัยที่เหมาะสมมีผลต่อความสามารถในการชักนำการสร้างเอนไซม์ไคติเนสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกรรมวิธีการพ่นผลพริกและกรรมวิธีที่แช่ผลพริกด้วยกรดซาลิไซลิก 500 มก./ล. หลังการเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกรทันทีและกรรมวิธีการพ่นผลพริกและกรรมวิธีที่แช่ผลพริกหลังเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกร มาแล้ว 1 วัน สามารถชักนำให้เกิดการสร้างเอนไซม์ไคติเนสได้สูง คือมีค่าเท่ากับ 1.07 1.05 1.10 และ1.05 units/mg protein ตามลำดับ (Table 2) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่แช่ผลพริกในน้ำ (กรรมวิธีควบคุม) หลังการเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกรทันที และหลังเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกร มาแล้ว 1 วัน สามารถชักนำการสร้างเอนไซม์ไคติเนสได้ 0.53 และ 0.64 units/mg protein ตามลำดับ (Table 2) แต่เมื่อเก็บผลพริกที่แปลงเกษตรกรมาแล้ว 2 วัน แล้วจึงนำมาแช่และพ่นด้วยกรดซาลิไซลิกนั้น ประสิทธิภาพในการชักนำการสร้างเอนไซม์ไคติเนสลดลง คือมีค่าเท่ากับ 0.46 และ 0.43 units/mg protein ตามลำดับ (Table 2) ซึ่งไม่แตกต่างจากการแช่ผลพริกในน้ำ (กรรมวิธีควบคุม) สามารถชักนำการสร้างเอนไซม์ไคติเนสได้คือ 0.40 units/mg protein (Table 2) เนื่องจากการกระตุ้นความต้านทานโดยใช้กรดซาลิไซลิกนั้นเป็นการตอบสนองทางสรีรวิทยาที่ซับซ้อนของพืชและการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์ก็อาจเกี่ยวข้องกับพันธุ์พืช ช่วงเวลาในการใช้กรดซาลิไซลิก และความรุนแรงของโรค (Zhang et al., 2016)

ทดสอบวิธีการใช้กรดซาลิไซลิกและระยะเวลาสำหรับการใช้กรดซาลิไซลิกภายหลังเก็บเกี่ยวต่อการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

เมื่อทดสอบวิธีการใช้กรดซาลิไซลิกและระยะเวลาสำหรับการใช้กรดซาลิไซลิกหลังเก็บเกี่ยวที่ต่างกันต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่า กรรมวิธีการพ่นผลพริกและกรรมวิธีที่แช่ผลพริกด้วยกรดซาลิไซลิก 500 มก./ล. หลังการเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกรทันที และกรรมวิธีการพ่นผลพริกหลังเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกร มาแล้ว 1 วัน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด คือมีค่าเท่ากับ 153.35 151.76 และ 148.53 mgGAE/100g fresh weight ตามลำดับ (Table 2) เมื่อเปรียบเทียบกับกรรมวิธีที่แช่ผลพริกในน้ำ (กรรมวิธีควบคุม) หลังการเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกรทันที และหลังเก็บเกี่ยวที่แปลงเกษตรกร มาแล้ว 1 วัน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 78.74 และ 69.09 mgGAE/100g fresh weight ตามลำดับ (Table 2) ซึ่งสอดคล้องกับ Vimala and Suriachandraselvan (2009) พบว่ากรดซาลิไซลิกความเข้มข้น 1 mM ช่วยเพิ่มการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกและเพิ่มกิจกรรมเอนไซม์ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนียไลเอสในกระเจี๊ยบเขียวเพื่อต้านทานต่อเชื้อ *Erysiphe cichoracearum* การสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพื่อสังเคราะห์เป็นลิกนิน และสารประกอบฟีนอลิกอื่น ๆ ที่ช่วยเสริมสร้างความแข็งแกร่งของผนังเซลล์ผ่านกระบวนการ phenyl propanoid pathway โดยมีเอนไซม์ที่สำคัญคือ เอนไซม์ฟีนิลอะลานีนแอมโมเนียไลเอส จากนั้นจะเกิดการสังเคราะห์เอนไซม์ไคติเนส ที่มีผลในการทำลายเชื้อราสาเหตุโรคโดยตรง เนื่องจากผนังเซลล์เชื้อราประกอบด้วยไคตินเอนไซม์ไคติเนสจะไปย่อยผนังเซลล์ของเชื้อราให้ไม่สามารถเข้าทำลายพืชได้ (นิชดา, 2561) พบว่าการสังเคราะห์เอนไซม์ไคติเนส นี้จะเกิดขึ้นที่เวลา 24-48 ชั่วโมง ภายหลังจากการที่เชื้อสาเหตุโรคเข้าทำลาย (Trouvelot et al., 2014) ดังนั้นเมื่อมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงก็จะสามารถยับยั้งเชื้อจุนทรีย์ก่อโรคได้ (Esekhiagbe et al., 2009; Sengul et al., 2009)

Table 2 Effects of salicylic acid with soaking and spraying methods at different periods of time after harvest on induction of chitinase enzyme activity and total phenolic compounds on chilli fruits

Treatment	Chitinase activity (units/mg protein) [(1)]	Total phenolic compounds (mgGAE/100g fresh weight) [(1)]
control (water soaked immediately)	0.53^{bc}	78.40^{f}
500 mg/l salicylic acid sprayed immediately	1.07^{a}	153.35^{a}
500 mg/l salicylic acid soaked immediately for 3 min	1.10^{a}	151.76^{a}
500 mg/l prochloraz soaked immediately for 3 min	0.63^{b}	98.46^{e}
control (water soaked at 1 days after harvest)	0.64^{b}	69.09^{g}
500 mg/l salicylic acid sprayed at 1 days after harvest for 3 min	1.05^{a}	148.53^{ab}
500 mg/l salicylic acid soaked at 1 days after harvest for 3 min	1.05^{a}	142.32^{b}
500 mg/l prochloraz soaked at 1 days after harvest for 3 min	0.52^{bc}	97.33^{e}
control (water soaked at 2 days after harvest)	0.40^{cd}	38.00^{h}
500 mg/l salicylic acid sprayed at 2 days after harvest for 3 min	0.46^{cd}	122.86^{d}
500 mg/l salicylic acid soaked at 2 days after harvest for 3 min	0.43^{cd}	132.03^{c}
500 mg/l prochloraz soaked at 2 days after harvest for 3 min	0.36^{d}	62.44^{g}
CV (%)	11.98	6.10

[(1)] Mean in the same column followed by different superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

สรุป

วิธีการพ่นและการแช่ผลพริกขี้หนูพันธุ์ซุปเปอร์ฮอท ด้วยกรดซาลิไซลิก ความเข้มข้น 500 มก./ล. นาน 3 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15°C นาน 21 วัน สามารถควบคุมโรคแอนแทรคโนสได้ดีเหมือนกันทั้งสองวิธีการเมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม การพ่นหรือการแช่ด้วยกรดซาลิไซลิกหลังจากเก็บเกี่ยวจากแปลงปลูกทันที หรือใช้กับผลที่เก็บมาแล้ว 1 วัน จะสามารถควบคุมโรคได้โดยมีความสัมพันธ์กับการชักนำความต้านทานโรคเนื่องจากมีการสร้างเอนไซม์ไคติเนสและปริมาณสารฟีนอลิกที่เพิ่มขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการกลุ่มวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวพืชสวน กองวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ที่ช่วยให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

จันจิรา อายะวงศ์. 2550. ชีววิทยาการเข้าทำลาย ระบาดวิทยาและถ่ายทอดผ่านเมล็ดของเชื้อรา *Phaeophleospora destructans* (M.J. Wingf & Crous), F.A. Ferreira & B. Sutton. สาเหตุโรคใบไหม้ของยูคาลิปตัส. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิชดา จิมขุนทด. 2561.กลไกการชักนำความต้านทานต่อโรคสแคปในองุ่นของสูตรสำเร็จไคโตซาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

วีรภรณ์ เดชนำบัญชาชัย, บุญญวดี จิระวุฒิ, รัตตา สุทธยาคม. 2563. การใช้สารปลอดภัยกระตุ้นความต้านทานโรคแอนแทรคโนสของพริกขี้หนูหลังการเก็บเกี่ยว. ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 58. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ, หน้า 167–174.

Bowles, D.J. 1990. Defense-related proteins in higher plants. Annu. Rev. Biochem. 59: 873–907.

El Ghaouth, A., Wilson, C.L., Wisniewski, M. 2003. Control of postharvest decay of apple fruit with *Candida saitoana* and induction of defense response. Phytopathology 93: 344–348.

Esekhiagbe, M., Agatemor, M.M.U., Agatemor, C. 2009. Phenolic content and antimicrobial potentials of *Xylopia aethiopica* and *Myristica argentea*. Maced. J. Chem. Chem. Eng. 28: 159–162

Hahlbrock, K., Scheel, D. 1989. Physiology and Molecular Biology of Phenylpropanoid Metabolism. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 40: 347–369.

Ketsa, S., Atantee, S. 1998. Phenolic, lignin, peroxidase activity and increased firmness of damaged pericarp of mangosteen fruit after impact. Postharvest Biol. Technol. 14: 117–124. doi.org/10.1016S025-5214(98)00026-X

Pakdeevaraporn, P., Wasee, S., Taylor, P.W.J., Mongkolporn, O. 2005. Inheritance of resistance to anthracnose caused by *Colletotrichum capsici*. Plant Breed. 124(2): 206–208. doi.org/10.1111/j.1439-0523.2004.01065.x

Sengul, M., Yildiz, H., Gungor, N., Cetin, B., Eser, Z., Ercisli, S. 2009. Total phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of some medicinal plants Pakistan. J. Pharm. Sci. 22(1): 102–106

Singleton, V.L., Rossi, J.A. 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolydic-phosphotungstic acid reagent. Am. Soc Enol. Viticulture 16: 144–157.

Than, P.P., Prihastuti, H., Phoulivong, S., Taylor, P.W.J., Hyde, K.D. 2008. Chilli anthracnose disease caused by *Colletotrichum* species. J. Zhejiang Univ. Sci. B. 9(10): 764–778.

Tian, S., Wan, Y., Qin, G.Z., Xu, Y. 2006. Induction of defense responses against *Alternaria* rot by different elicitors in harvested pear fruit. Appl. Microbiol. Biotechnol. 70(6): 726–734.

Trouvelot, S., Heloir, M.C., Poinssot, B., Gauthier, A., Paris, F., Guillier, Combier, Trda, L. 2014. Carbohydrates in plant immunity and plant protection: Roles and potential application as foliar sprays. Front. Plant Sci. 5: 1–14.

Vimala, R., Suriachandraselvan, M. 2009. Induced resistance in bhendi against powdery mildew by foliar application of salicylic acid. J. Biopestic. 2(1): 111–114.

Zhang, Y., Shi, X., Zhang, B. Li, Q., Liang, W., Wang, C. 2016. Salicylic acid confers enhanced resistance to Glomerella leaf spot in apple. Plant. Physiol. Biochem. 106: 64–72.

การใช้ชีวภัณฑ์ *Bacillus amyloliquefaciens* DL9 ควบคุมโรคขั้วหวีเน่าของกล้วยหอม

Biocontrol agent of *Bacillus amyloliquefaciens* DL9 for controlling crown rot disease of banana

บุญญวดี จิระวุฒิ*, รัตตา สุทธยาคม, วีรภรณ์ เดชนำบัญชาชัย, กัลยลักษณ์ เสนาะสำเนียง, ณัฐกานต์ สาตราภัย

Boonyawadee Chirawut*, Ratta Suttayakom, Weeraporn Dejnumbunchachai, Kanyalak Sanosomneng, Nutthakan Sattrapai [a]

กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กรุงเทพฯ 10900

Department of Agriculture, Ministry of Agriculture and Cooperatives, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: ppathku@gmail.com

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาชีวภัณฑ์ *Bacillus amyloliquefaciens* DL9 ควบคุมโรคขั้วหวีเน่าของกล้วยหอม พบว่า ชีวภัณฑ์ *B. amyloliquefaciens* DL9 อัตราการใช้ 20 และ 15 กรัม/ลิตร มีประสิทธิภาพดีในการควบคุมโรคขั้วหวีเน่าของกล้วยหอมที่ปลูกเชื้อรา *Lasiodiplodia theobromae* ซึ่งเป็นเชื้อราที่ทำให้เกิดอาการของโรคขั้วหวีเน่ารุนแรง หลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 14°C เป็นเวลา 14 วัน แล้วนำมาบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน กล้วยหอมที่จุ่มในชีวภัณฑ์ *B. amyloliquefaciens* DL9 อัตราการใช้ 20 และ 15 กรัม/ลิตร มีขนาดแผล 0.68 และ 0.68 ซม. เปรียบเทียบกับกล้วยหอมจุ่มน้ำ (กรรมวิธีควบคุม) มีขนาดแผล 1.27 ซม. และการใช้ชีวภัณฑ์ *B. amyloliquefaciens* DL9 ไม่มีผลต่อการสูญเสียน้ำหนัก ความแน่นเนื้อของผลกล้วยหอม และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้

คำสำคัญ: กล้วยหอม, ชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์, โรคขั้วหวีเน่า

Abstract

This research examined biocontrol agent of bacterial antagonist strain *Bacillus amyloliquefaciens* DL9 to control crown rot of banana. Biocontrol agent *B. amyloliquefaciens* DL9 used at the rate of 15 and 20 g/l were found to be effective in controlling crown rot disease caused by *Lasiodiplodia theobromae* the fungus causes the most severe symptoms on inoculated bananas after stored at 14°C for 14 days and kept at room temperature for another 3 days. The results showed that dipping bananas in suspension of *B. amyloliquefaciens* DL9 bioproduct at the rates of 15 and 20 g/l had lesion diameters of 0.68 and 0.68 cm compared with control treatment which had lesion size of 1.27 cm. Biocontrol product of *B. amyloliquefaciens* DL9 does not affect on weight loss, firmness and total soluble solid changes during banana ripening.

Keywords: Banana, Biocontrol agent of antagonistic bacterium, Crown rot disease

คำนำ

กล้วยหอมอยู่ในวงศ์ Musaceae ชื่อวิทยาศาสตร์ *Musa* (AAA Group) 'Gros Michel' หรือ *Musa* (AAA Group) 'Kluai Hom Thong' หรือ *Musa acuminata*) 'Kluai Hom Thong' (เบญจมาศ, 2558) เป็นผลไม้เศรษฐกิจชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพในการส่งออก ปลูกได้ทั่วทุกภูมิภาคของประเทศ ปัญหาสำคัญของกล้วยหอมทองหลังการเก็บเกี่ยวก็คือ อ่อนแอต่อโรคขั้วหวีเน่า จะแสดงอาการเมื่อกล้วยเริ่มสุก และอาการเพิ่มขึ้นเมื่อกล้วยสุกมากขึ้น เชื้อราสาเหตุโรคได้แก่ เชื้อรา *Colletotrichum musae, Lasiodiplodia theobromae, Fusarium* sp. (Snowdon, 1990) เชื้อราเหล่านี้มีอยู่ทั่วไปในแปลงปลูกกล้วย ซึ่งจะดำรงชีวิตแบบ saprophyte ในเศษซากพืช และต้นกล้วยที่ตายในแปลง (Jones, 2000)

การควบคุมโรคขั้วหวีเน่าของกล้วยโดยใช้จุลินทรีย์ปฏิปักษ์เป็นอีกแนวทางในการป้องกันกำจัดโรคที่มีความปลอดภัยต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค ปัจจุบันมีการนำจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์หลายชนิด มาพัฒนาให้อยู่ในรูปแบบของชีวภัณฑ์ เนื่องจากการผลิตในรูปแบบชีวภัณฑ์จะทำให้เกิดความสะดวกต่อการนำไปใช้ ตัวอย่างชีวภัณฑ์ที่ผลิตจากแบคทีเรียปฏิปักษ์ที่มีประโยชน์ เช่น *Bacillus subtilis* ได้แก่ ลาร์มิน่า® และ *Streptomyces griseoviridis* ได้แก่ Mycostop® โดยในแต่ละสูตรของแบคทีเรียมีประสิทธิภาพแตกต่างกัน จากการศึกษาของบุญญวดีและคณะ (2560) พบว่า แบคทีเรีย *Bacillus amyloliquefaciens* DL9 สามารถยับยั้งความรุนแรงของโรคผลเน่าของเงาะที่ปลูกเชื้อรา *L. theobromae* ได้ 57.82% และสารสกัดหยาบของแบคทีเรียไม่เป็นพิษต่อเซลล์ไตลิง ซึ่งมีลักษณะของเซลล์ใกล้เคียงกับเซลล์ของมนุษย์ และเมื่อพัฒนาแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* DL9 อยู่ในรูปชีวภัณฑ์ผง มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคผลเน่าของเงาะที่ปลูกเชื้อรา *L. theobromae* ได้ดีเช่นเดียวกับการใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์โดยตรง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ *B. amyloliquefaciens* DL9 และหาอัตราการใช้ที่เหมาะสมในการควบคุมโรคขั้วหวีเน่าของกล้วยหอมทดแทนการใช้สารเคมี เพื่อลดการเน่าเสีย ยืดอายุการเก็บรักษา

อุปกรณ์และวิธีการ

ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ B. amyloliquefaciens DL9 ในการควบคุมโรคขั้วหวีเน่าของกล้วยหอมหลังจากการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรค

การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคขั้วหวีเน่าของกล้วยหอม

นำกล้วยหอมที่แสดงอาการของโรคขั้วหวีเน่ามาแยกเชื้อสาเหตุด้วยวิธี tissue transplanting โดยตัดเนื้อเยื่อของขั้วหวีที่เป็นโรคบริเวณรอยต่อระหว่างเนื้อเยื่อปกติและเนื้อเยื่อที่แสดงอาการของโรค ขนาด 5×5 มม.^{2} แช่ชิ้นเนื้อเยื่อในสารละลายคลอร็อกซ์ (Clorox®) 10% นาน 5 นาที แล้วนำมาวางในจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหาร Potato Dextrose Agar (PDA) บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง (25±2°C) จนเชื้อราเจริญออกจากชิ้นเนื้อเยื่อ แยกเชื้อราให้บริสุทธิ์ เก็บเชื้อราสาเหตุโรคขั้วหวีเน่าในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไว้สำหรับใช้ในการทดลองต่อไป

การเตรียมชีวภัณฑ์ B. amyloliquefaciens DL9

เลี้ยงแบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* DL9 ในอาหารเหลว tryptic soy broth (TSB) 300 มล. เขย่า 130 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน จากนั้นนำไปตกตะกอนเซลล์ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง 3,500 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 4°C นาน 15 นาที นำเฉพาะเซลล์ของแบคทีเรียมาทำการเจือจางความเข้มข้นด้วยน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ ปรับความเข้มข้นของเชื้อด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ให้มีค่า OD เท่ากับ 1 ที่ความยาวของคลื่นแสง 600 นาโนเมตร นำแบคทีเรีย 20 มล. ผสม

กับน้ำกลั่นนึ่งฆ่าเชื้อ 20 มล. เขย่า 20 นาที ผสมกับแป้งข้าวเจ้า 100 กรัม น้ำตาลทราย 10 กรัม และน้ำมันถั่วเหลือง 1 มล. (ส่วนผสมของชีวภัณฑ์นำมานึ่งฆ่าเชื้อด้วยเครื่องอบความชื้นความดันสูง (autoclave) 121°C ความดัน 15 ปอนด์/นิ้ว^2 นาน 15 นาที) คลุกให้เข้ากัน นำส่วนผสมไปทำให้แห้ง โดยใช้เตาอบอุณหภูมิ 40°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะแห้ง บรรจุใส่ถุงฟอยล์ 50 กรัม/ถุง ตรวจปริมาณแบคทีเรียในชีวภัณฑ์ด้วยวิธี standard plate counts

ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ B. amyloliquefaciens DL9 ควบคุมโรคขั้วหวีเน่า

คัดเลือกกล้วยหอมดิบที่สมบูรณ์ ตัดหวีย่อย หวีละ 4–5 ผล ปลูกเชื้อราสาเหตุโรคขั้วหวีเน่า โดยทำแผลบนขั้วหวี แล้ววางชิ้นวุ้นขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มม. ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อราอายุ 2 วัน เรียงใส่ตะกร้าหุ้มถุงพลาสติกที่พ่นด้วยน้ำกลั่น เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลานำชิ้นวุ้นออก หลังจากนั้นนำกล้วยหอมจุ่มในชีวภัณฑ์แบคทีเรียปฏิปักษ์ อัตราการใช้ต่าง ๆ เป็นเวลา 5 นาที เปรียบเทียบกับจุ่มกล้วยหอมในน้ำ และโพรคลอราซ 250 มก./ล. เป็นเวลา 5 นาที ผึ่งให้แห้ง บรรจุในถุงพลาสติก ใส่ในกล่องกระดาษ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 14°C เป็นเวลา 14 วัน แล้วนำมาบ่มที่อุณหภูมิห้อง จนกล้วยหอมสุก วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด เปรียบเทียบ 6 กรรมวิธี จำนวน 5 ซ้ำ ซ้ำละ 4 หวีย่อย

กรรมวิธีที่ 1 น้ำ (กรรมวิธีควบคุม)

กรรมวิธีที่ 2 โพรคลอราซ 250 มก./ล.

กรรมวิธีที่ 3 ชีวภัณฑ์ DL9 อัตรา 5 ก./ล.

กรรมวิธีที่ 4 ชีวภัณฑ์ DL9 อัตรา 10 ก./ล.

กรรมวิธีที่ 5 ชีวภัณฑ์ DL9 อัตรา 15 ก./ล.

กรรมวิธีที่ 6 ชีวภัณฑ์ DL9 อัตรา 20 ก./ล.

<u>บันทึกผล</u> ความรุนแรงของโรคโดยวัดขนาดแผลที่แสดงอาการของโรคขั้วหวีเน่า (ซม.)

ศึกษาผลของการใช้ชีวภัณฑ์ B. amyloliquefaciens DL9 ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของกล้วยหอมหลังการเก็บรักษา

นำกล้วยหอมทองดิบที่สมบูรณ์ ตัดหวีย่อย หวีละ 4–5 ผล จุ่มกล้วยหอมในชีวภัณฑ์ *B. amyloliquefaciens* DL9 ตามกรรมวิธีเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 เป็นเวลา 5 นาที ผึ่งให้แห้ง บรรจุในถุงพลาสติก ใส่ในกล่องกระดาษ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 14°C เป็นเวลา 14 วัน นำมาบ่มที่อุณหภูมิห้อง จนกล้วยหอมสุก วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด จำนวน 5 ซ้ำ ซ้ำละ 4 หวีย่อย

<u>บันทึกผล 2 ครั้ง</u>

<u>ครั้งที่ 1</u> หลังจากเก็บที่อุณหภูมิ 14°C เป็นเวลา 14 วัน (ยกเว้นข้อ 3 ปริมาณของแข็งละลายน้ำ เนื่องจากกล้วยหอมยังไม่สุก)

<u>ครั้งที่ 2</u> หลังจากเก็บที่อุณหภูมิ 14°C เป็นเวลา 14 วัน แล้วบ่มกล้วยหอม เก็บที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน

1. การสูญเสียน้ำหนัก โดยชั่งน้ำหนักของกล้วยหอมก่อนและหลังการเก็บรักษา คำนวณ weight loss (%) (Wan Zaliha et al., 2016) ตาม Equation 1

$$\text{Weight loss (\%)} = \frac{(\text{Initial weight} - \text{Final weight}) \times 100}{\text{Initial weight}} \quad (1)$$

2. วัดความแน่นเนื้อของผลกล้วยหอม โดยใช้เครื่อง texture analyzer ยี่ห้อ Chatillon รุ่น 10 LBF ประเทศสหรัฐอเมริกา หัววัดขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 6 มม. โดยวางหัววัดให้ตั้งฉากกับผลกล้วยหอม กดลงบนเปลือกบริเวณกลางผล และตั้งระยะทางให้หัวกดแทงทะลุลงไปภายในผลกล้วยหอม เท่ากับ 5 มม. รายงานผลเป็นหน่วยนิวตัน (N)

3. ปริมาณของแข็งละลายในน้ำได้ของผลกล้วยหอม วัดโดยการหยดน้ำคั้นจากเนื้อกล้วยหอมลงบนเครื่อง digital refractometer ยี่ห้อ Atago รุ่น 10 PAL ประเทศญี่ปุ่น ค่าที่อ่านได้มีหน่วยวัดเป็นองศาบริกซ์ (°บริกซ์)

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ Analysis of Variance (ANOVA) แบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design: CRD) ประเมินความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกรรมวิธีโดยวิธี Ducan's multiple range test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ B. amyloliquefaciens DL9 ในการควบคุมโรคขั้วหวีเน่าของกล้วยหอมหลังจากการเข้าทำลายของเชื้อราสาเหตุโรค

การเตรียมเชื้อราสาเหตุโรคขั้วหวีเน่าของกล้วยหอม

เชื้อราสาเหตุโรคขั้วหวีเน่าที่ทำให้เกิดอาการรุนแรง คือ เชื้อรา *L. theobromae* ลักษณะอาการของโรคขั้วหวีเน่า อาการเริ่มแรกจะเป็นแผลสีน้ำตาลขยายไปตามขั้วหวี แผลขยายเป็นสีดำ สร้างเส้นใยสีขาวเทาบริเวณบาดแผล ถ้าอาการรุนแรงจะเน่าลุกลามไปยังผลกล้วย ทำให้ผลกล้วยหลุดร่วงจากขั้วหวี (Fig. 1A) เมื่อแยกเชื้อรา *L. theobromae* บริสุทธิ์แล้ว (Fig. 1B—1D) เก็บเชื้อราในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไว้สำหรับใช้ในการทดลอง

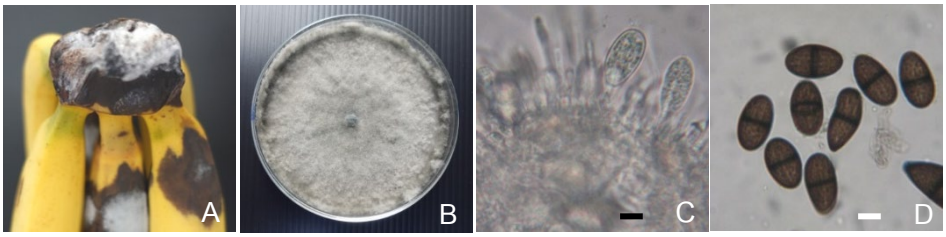


Fig. 1 Crown rot disease caused by *Lasiodiplodia theobromae* (A); colony of *L. theobromae* (B); conidiogenous cells of *L. theobromae* (C); mature conidia of *L. theobromae* (D), scale bars: 10 μm

การเตรียมชีวภัณฑ์ Bacillus amyloliquefaciens DL9

ชีวภัณฑ์ *B. amyloliquefaciens* DL9 มีลักษณะเป็นผงสีขาว ไม่ละลายน้ำ (Fig. 2) ส่วนผสมของชีวภัณฑ์ประกอบด้วย แป้งข้าวเจ้าเป็นแหล่งอาหารที่ดีของแบคทีเรีย ช่วยในการยึดเกาะเซลล์ แล้วยังป้องกันเซลล์จากความร้อนในระหว่างกระบวนการทำให้แห้งได้อีกด้วย น้ำตาลทราย (น้ำตาลซูโครส) และน้ำมันถั่วเหลือง ช่วยให้ปริมาณเซลล์แบคทีเรียที่รอดชีวิตมากขึ้น นำชีวภัณฑ์ *B. amyloliquefaciens* DL9 ที่ผ่านการอบจนแห้งมาตรวจปริมาณแบคทีเรีย

ด้วยวิธี standard plate counts โดยใช้เทคนิค spread plate พบว่า มีจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *B. amyloliquefaciens* DL9 1×10^8 CFU/g หลังจากนั้นบรรจุชีวภัณฑ์ *B. amyloliquefaciens* DL9 ที่อบแห้งในถุงฟอยล์ เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

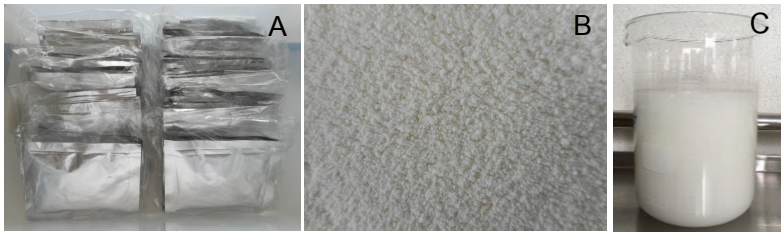


Fig. 2 Biocontrol agent of *Bacillus amyloliquefaciens* DL9: pack in foil pouches (A); flour powder formulation (B); suspension of biocontrol agent (C)

ทดสอบประสิทธิภาพของชีวภัณฑ์ B. amyloliquefaciens DL9 ควบคุมโรคขั้วหวีเน่า

กล้วยหอมที่จุ่มในสารแขวนลอยชีวภัณฑ์ *B. amyloliquefaciens* DL9 เก็บที่อุณหภูมิ 14°C เป็นเวลา 14 วัน ผลกล้วยหอมยังมีสีเขียว เริ่มแสดงอาการที่ขั้วหวีมีขนาดแผล 0.42–0.62 ซม. เมื่อเปรียบเทียบกับกล้วยหอมจุ่มในน้ำ (กรรมวิธีควบคุม) และโพรคลอราช 250 มก./ล. เป็นเวลา 5 นาที มีขนาดแผล 0.80 และ 0.48 ซม. (Table 1 และ Fig. 3) หลังจากนั้นนำมาบ่มแล้วเก็บที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน พบว่า กล้วยหอมที่จุ่มชีวภัณฑ์ DL9 มีขนาดแผลที่แสดงอาการของโรคขั้วหวีเน่ามีความแตกต่างทางสถิติ กล้วยหอมที่จุ่มชีวภัณฑ์ DL9 อัตราการใช้ 20 และ 15 ก./ล. สามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อรา *L. theobromae* ได้ดีที่สุด มีขนาดแผล 0.68 และ 0.68 ซม. เมื่อเปรียบเทียบกับกล้วยหอมจุ่มน้ำ (กรรมวิธีควบคุม) มีขนาดแผล 1.27 ซม. (Table 1 และ Fig. 3) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Alvindia and Natsuaki (2009) การใช้แบคทีเรียปฏิปักษ์แยกจากผิวผลกล้วย นำเซลล์แขวนลอย (10^8 CFU/ml) ของ *B. amyloliquefaciens* DGA14 พ่นให้ทั่วผลกล้วยหอม บรรจุในกล่อง เก็บที่อุณหภูมิ 25°C ความชื้นสัมพันธ์ 90–95% เป็นเวลา 13 และ 20 วัน มีประสิทธิภาพลดการเกิดโรคขั้วหวีเน่าได้ 58% และ 73%

Table 1 Effect of biocontrol agent to control banana crown rot disease caused by *Lasiodiplodia theobromae* inoculated bananas stored at 14°C for 14 days (storage time) and kept at room temperature for another 3 days (shelf life)

Treatment	Lesion diameter [(1)] (cm)	
	Storage time (14°C)	Shelf life (room temperature)
Water (control)	0.80	1.27[b]
250 mg/l Prochloraz	0.48	0.59[a]
5 g/l Bio-agent DL9	0.54	0.81[a]
10 g/l Bio-agent DL9	0.62	0.88[a]
15 g/l Bio-agent DL9	0.52	0.68[a]
20 g/l Bio-agent DL9	0.42	0.68[a]
F-test	ns	**
CV (%)	35.13	26.65

[(1)] Means within the same column followed by the same letter are not significantly different at 95% by DMRT

ns = non-significant difference, ** = significant at $p < 0.01$



Fig. 3 Effect of biocontrol agent to control crown rot disease caused by *Lasiodiplodia theobromae* inoculated bananas stored at 14°C for 14 days and kept at room temperature for another 3 days

(1) stored at 14°C for 14 days (2) kept at room temperature for another 3 days

(A) water (control) (B) 250 mg/l prochloraz (C) 5 g/l Bio-agent DL9

(D) 10 g/l Bio-agent DL9 (E) 15 g/l Bio-agent DL9 (F) 20 g/l Bio-agent DL9

ศึกษาผลของการใช้ชีวภัณฑ์ B. amyloliquefaciens DL9 ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของกล้วยหอมหลังการเก็บรักษา

นำกล้วยหอมจุ่มในสารแขวนลอยชีวภัณฑ์ DL9 อัตราการใช้ต่าง ๆ เปรียบเทียบกับกล้วยหอมจุ่มในน้ำ (กรรมวิธีควบคุม) และโพรคลอราซ 250 มก./ล. เก็บที่อุณหภูมิ 14°C เป็นเวลา 14 วัน พบว่า การสูญเสียน้ำหนักของกล้วยหอมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ มีการสูญเสียน้ำหนักของกล้วยหอม อยู่ในช่วง 0.29–0.32% (Table 2) ซึ่งมีการสูญเสียน้ำหนัก (%) น้อย เนื่องจากกล้วยหอมเก็บในถุงพลาสติกแล้วบรรจุลงกล่องกระดาษ และเมื่อนำมาบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน การสูญเสียน้ำหนักของกล้วยหอมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติเช่นกัน กล้วยหอมมีการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นมาก อยู่ในช่วง 5.97-6.44% เนื่องจากหลังการบ่มหวีกล้วยหอมด้วยสารเอทีฟอน นำกล้วยหอมออกจาก

ถุงพลาสติก บรรจุในกล่องกระดาษ แล้วคลุมด้วยกระดาษฟาง ทำให้มีการสูญเสียน้ำหนักมากกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 14°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิต่ำและเก็บกล้วยหอมในถุงพลาสติก

ความแน่นเนื้อของผลกล้วยหอม หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 14°C เป็นเวลา 14 วัน และนำมาบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ผลกล้วยหอมที่จุ่มในสารแขวนลอยชีวภัณฑ์ DL9 มีความแน่นเนื้อ 146.21-155.43 นิวตัน มีค่าใกล้เคียงกับผลกล้วยหอมจุ่มในน้ำ (กรรมวิธีควบคุม) มีความแน่นเนื้อ 160.97 นิวตัน (Table 2) และเมื่อนำมาบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน ผลกล้วยหอมสุก ทำให้ค่าความแน่นเนื้อลดลง อยู่ในช่วง 35.66–44.56 นิวตัน (Table 2)

ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของกล้วยหอม หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 14°C เป็นเวลา 14 วัน และนำมาบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยกล้วยหอมที่จุ่มในสารแขวนลอยชีวภัณฑ์ DL9 มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ อยู่ในช่วง 22.12—23.02°บริกซ์ ใกล้เคียงกับกรรมวิธีควบคุม มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 21.88°บริกซ์ (Table 3) แสดงว่าหวีกล้วยหอมที่จุ่มในสารละลายชีวภัณฑ์ DL9 ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลและกรดอินทรีย์ สอดคล้องกับการศึกษาของสังเวียน (2550) กล้วยหอมทองที่ทาขั้วหวีด้วยแบคทีเรียปฏิปักษ์ *Corynebacterium aquaticum* ไอโซเลต BBA 004 หรือ ไอโซเลต BBA015 และน้ำ (กรรมวิธีควบคุม) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 13°C นาน 3 สัปดาห์ หลังจากนั้นนำกล้วยหอมออกมาวางที่อุณหภูมิ 25°C นาน 4 วัน มีผลทำให้อัตราการหายใจและพัฒนาของสีเปลือกเพิ่มขึ้น (เปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเหลือง) แต่ไม่มีผลต่อการสูญเสียน้ำหนัก ความแน่นเนื้อ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และการยอมรับของผู้บริโภค (สี กลิ่น รสชาติและการยอมรับโดยรวม)

Table 2 Weight loss (%) and firmness (N) of treated banana fruit stored at 14°C for 14 days (storage time) and kept at room temperature (shelf life) for another 3 days

Treatment	Change of weight loss (%)		Change of firmness (N)	
	Storage time	Shelf life	Storage time	Shelf life
Water (control)	0.32	6.13	160.97	40.23
250 mg/l Prochloraz	0.31	6.03	152.46	39.84
5 g/l Bio-agent DL9	0.33	6.39	155.43	35.66
10 g/l Bio-agent DL9	0.29	5.97	151.82	44.56
15 g/l Bio-agent DL9	0.29	6.26	152.64	38.13
20 g/l Bio-agent DL9	0.30	6.44	146.21	39.97
F-test	ns	ns	ns	ns
CV (%)	9.15	4.47	4.71	16.49

ns Means in the same column are not significantly different ($p > 0.05$)

Table 3 Values of total soluble solid (°brix) of treated banana fruit stored at 14°C for 14 days and kept at room temperature for another 3 days

Treatment	Total soluble solid (°brix)
Water (control)	21.88
250 mg/l Prochloraz	22.60
5 g/l Bio-agent DL9	22.42
10 g/l Bio-agent DL9	22.12
15 g/l Bio-agent DL9	23.02
20 g/l Bio-agent DL9	22.58
F-test	ns
C.V. (%)	3.44

ns Means in the same column are not significantly different ($p > 0.05$)

สรุป

ชีวภัณฑ์ *B. amyloliquefaciens* DL9 มีประสิทธิภาพในการควบคุมโรคขั้วหวีเน่าของกล้วยหอมหลังการเก็บเกี่ยว โดยกล้วยหอมที่จุ่มชีวภัณฑ์ *B. amyloliquefaciens* DL9 อัตรา 20 และ15 ก./ล. เก็บที่อุณหภูมิ 14°C เป็นเวลา 14 วัน สามารถลดการเข้าทำลายของเชื้อรา *L. theobromae* ได้ดี บริเวณขั้วหวีที่ปลูกเชื้อรา *L. theobromae* มีขนาดแผล 0.42 และ 0.52 ซม. เมื่อเปรียบเทียบกับกล้วยหอมจุ่มน้ำ (กรรมวิธีควบคุม) มีขนาดแผล 0.80 ซม. หลังจากนั้นนำมาบ่มแล้วเก็บที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน กล้วยหอมที่จุ่มชีวภัณฑ์ *B. amyloliquefaciens* DL9 มีขนาดแผล 0.68 และ 0.68 ซม. ส่วนกล้วยหอมจุ่มน้ำ มีขนาดแผล 1.27 ซม. และการใช้ชีวภัณฑ์ *B. amyloliquefaciens* DL9 ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของกล้วยหอมหลังการเก็บรักษา ได้แก่ การสูญเสียน้ำหนัก ความแน่นเนื้อ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้

เอกสารอ้างอิง

บุญญวดี จิระวุฒิ, อมรา ชินภูติ, รัตตา สุทธยาคม. 2560. โรคผลเน่าของเงาะหลังการเก็บเกี่ยวและการควบคุมโดยแบคทีเรียปฏิปักษ์. วารสารวิชาการเกษตร 35(3): 229–242.

เบญจมาศ ศิลาย้อย. 2558. กล้วย. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

สังเวียน คำนึง. 2550. ผลของเชื้อแบคทีเรียปฏิปักษ์ร่วมกับกรดซาลิไซลิกต่อโรคขั้วหวีเน่าและคุณภาพของกล้วยหอมทอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

Alvindia, D.G., Natsuaki, K.T. 2009. Biocontrol activities of *Bacillus amyloliquefaciens* DGA14 isolated from banana fruit surface against banana crown rot-causing pathogens. Crop Protection 28: 236–242.

Jones, D.R. 2000. Diseases of Banana, Abac'a and Enset. CABI Publishing, UK.

Snowdon, A.L. 1990. A Color atlas or post-harvest diseases and isorders of fruits and vegetables, Vol. 1: General introduction and fruits. CRC Press Boca Raton, Florida, FL, USA, pp. 126–127.

Wan Zaliha, W.S., Yusnita, H., Nor Atiqah, L. 2016. Effect of plant growth regulators on postharvest quality of banana (*Musa* sp. AAA BERANGAN). J. Trop. Plant Physiol. 8: 52–62.

สาขาสัตว์

(Subject: Animals)

ภาคโปสเตอร์

(Poster Presentation)

Effect of density on developmental duration of *Aedes aegypti* larvae under insect growth regulator insecticide susceptibility testing condition following the WHO's recommendations

Nachareeya Kanchanaromon[a], Sungsit Sungvornyothin[b] and Waraporn Juntarajumnong[a,c,*]

[a] Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

[b] Department of Medical Entomology, Faculty of Tropical Medicine, Mahidol University, Bangkok 10400, Thailand

[c] Center for Advanced Studies for Agriculture and Food, Kasetsart University Institute for Advanced Studies, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: waraporn.j@ku.th

Abstract

WHO's recommendation on susceptibility testing for long-time action larvicide is needed to improve on the density of testing larva. To select the appropriate larva density by comparing the development duration among different groups of larva density conditions. *Aedes aegypti,* Bora Bora strain was studied on development duration from late L3 to pupa stage with five density conditions of 5, 10, 15, 20 and 25 larvae/500 mL water. Kaplan-Meier and the Log-Rank methods were used to calculate median development duration and comparison among the different densities, respectively. The median development duration of density conditions of 5 and 10 larvae/cup were 3 days whereas density conditions of 15, 20, and 25 larvae/cup were 4 days. The pairwise comparison among five density conditions show statistically significant difference of median development duration between the larva density group of 5 and 10 larvae/cup and the larva density group of 15, 20, and 25 larvae/cup. The larva density group of 5 and 10 larvae/cup showed faster development duration. The larva density groups of 5 and 10 larvae/cup should be the candidates for susceptibility testing of long-time larvicide, especially the IGR insecticide. The WHO's recommendation on susceptibility testing for long-time action larvicide is needed to improve.

Keywords: *Aedes aegypti*, Density, Development duration, Insecticide susceptibility test, WHO's recommendation

Introduction

Aedes aegypti mosquito is considered to be a main vector for transmission of dengue virus causing dengue outbreak throughout Thailand for decades (Tanayapong et al., 2013). Most people infected with dengue virus was suffer from sickness by dengue fever or even dead by dengue haemorrhagic fever and dengue shock syndrome. The outbreak in Thailand usually increase in every other year or every other two years therefore dengue fever is still one of important vector borne disease (Saita et al., 2022).

Although dengue vaccine is available for a commercial, there are still some limitations in term of health condition (Izmirly et al., 2020). Hence, the major weapon to defend against dengue infection is insecticides used to kill mosquito vectors (Manjarres-Suarez and Olivero-Verbel, 2013). Temephos, an organophosphate larvicide, is extensively applied to kill larvae mosquitoes since 1950 until present due to its cost-effectiveness and community acceptance (Jirakanjanakit et al., 2007; Grisales et al., 2013). The long-term application of temephos can lead to the development of insecticide resistance in mosquitoes (Paeporn et al., 2003). Therefore, Insect Growth Regulator (IGR) insecticides can be used as alternative larvicides that solve the problem of resistance and environmental safety (Sadanandane et al., 2012).

The insecticide susceptibility testing is an important method to evaluate the efficiency of killing action for the appropriate dose or type of insecticide for decision-making in national and international policy for mosquito control. This testing can also evaluate the level of insecticide resistance for each population of the tested mosquitoes, which involves selection of the appropriate insecticide. Thus, the standard method of insecticide susceptibility testing is significant to the result of the insecticide and the mosquito evaluation.

Since the recommendation on the larva density for susceptibility testing for chemical larvicide by the World Health Organization (WHO) was about 20 larvae in the third (L3) to the fourth (L4) stage in the 100 to 200 mL of water volume. The monitoring duration was recommended to be done 24 hours after exposure, and the testing was done for three to four containers of testing and at least two containers of the negative control (WHO, 2016). This recommendation became the traditional practice for all larvicidal chemicals for monitoring and controlling the larva stage of mosquito, especially *Aedes aegypti*. However, this traditional practice is not appropriate to evaluate the susceptibility and toxicity of a group of IGR insecticides because this insecticide requires a longer duration to monitor its killing action. For example, Pyriproxyfen, an IGR insecticide, usually shows killing action when the larvicide-exposed larvae develop to the pupal stage and then become the dead pupae several days after exposure. According to the traditional practice, much of the larvae die from starvation if they are not fed, or from water pollution if they were supplied some food. These unrelated mortality results cause problems in interpreting the testing data. This experiment was designed specifically to select the appropriate larva density condition for by comparing the development duration among different larva density conditions.

Materials and Methods

Mosquito strain and rearing condition

The Bora Bora strain of *Aedes aegypti,* recognized as the insecticide susceptible the reference strain, was reared and used in this experiment. This strain was donated for research purposes from the Laboratoire de Lutte contre les Insectes Nuisibles (LLIN), Montpellier, France (WHO Collaborating Centre) since 2011 and has been reared continuously in the insectary belonging to Entomology Department, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkhen Campus, Thailand, until the present. The mosquito rearing condition was specified for 25±2°C and 12:12 L:D lighting period. The mosquito eggs, which are less than 3 months old, were submerged in the rearing trays containing 18×28×4 cm^3 of water volume. The hatched larvae (larva stage 1, L1) were fed with the powder of ground fish food pellets (Optimum®, Perfect Companion Group Co., Ltd.). Since the L1 larvae developed to the larva stage 2 (L2), they were reared in the determined density condition of 300 larvae per rearing tray. The L2, L3, and L4 larvae were fed with 2, 3, and 4 medium-size pellets of fish food per rearing tray per day, respectively. The weight of medium-size fish food is averagely 0.7 gram per pellet. The pupae were collected and counted every day. The accumulated 300 pupae were collected into a small plastic bowl with 150 ml of water. The bowl was put into the mosquito cage of 20×20×30 cm^3. In every cage, the sugar bottle contained cotton stick soaked in 10% sugar solution was supplied as carbohydrate source for the emerged mosquitoes. The mosquito colonies were continued generations by blood supply with artificial feeding method following Phanitchat et al. (2017).

Experimental design

This experiment was designed to monitor and compare the development duration from late larva stage 3 (L3) to pupa stage (P) of Aedes aegypti larvae among different larva densities. The late L3 larvae were removed from the insectary to the toxicological laboratory, where a rearing condition was specified similarly to the insectary. Since the preliminary trials with 250 mL of water per rearing cup (following the WHO's recommendation, WHO, 2016), much of the larvae died from starvation if they were not fed or from water pollution if they were supplied even with ground fish food. Thus, this experiment was designed to increase the volume of water per rearing cup to 500 mL (2×volume of the WHO's recommendation). The larvae were reared in the 32-ounce plastic cup (946 ml, approximately), with approximately half of the cup volume for water and the other half for air breathing space of adults and immatures. The cup was covered with the dome cap to prevent the adult mosquitoes from escaping.

Five densities of larvae—5, 10, 15, 20 and 25 larvae per cup—were used in this experiment. The larvae were fed every 3 days with 1, 2, 3, 4 and 5 baby-size pellets of fish food for densities of 5, 10, 15, 20 and 25 larvae per rearing cup, respectively. The weight of baby-size fish food is averagely 0.01 gram per pellet. The presenting pupae, which moulted from larvae, were counted and reared in rearing cups until they became

adults. The emerged adults were counted and removed from rearing cups daily. To reduce the bias result, three or four rearing cups of each larva density were done.

The number of alive (AP) and dead (DP) pupae and the alive (AA) and dead (DA) adults from each rearing cup were recorded daily until all individuals became adults or died. The daily recorded data from each rearing cup of similar larva density was pooled together. Then calculate these data for the daily number of larvae becoming pupae (LtoP) of each larva density according to Equation 1:

$$LtoP_{(t)} = AP_{(t))} + DP_{(t)} + AA_{(t)} + DA_{(t)}AP_{(t-1)} \quad (1)$$

When (t) is the recent day of the data record and (t-1) is the day before.

However, some larvae or pupae did not develop to adult as usual; therefore, the monitoring duration was limited to only 14 days, which extended to approximately 5 times the normal developmental duration of L3 to pupa and approximately 5 times the normal developmental duration of pupa to adult of *Aedes aegypti* under laboratory conditions (Wohl et al., 2023). The larvae or pupae that were still presenting longer than this monitoring duration were discarded from the experiment. The LtoP value during the 14 days of each larva density groups were used to calculate the development duration from late larva stage 3 to pupa stage statistically.

Statistical analysis

The survival analysis process was used in this experiment, comprising the Kaplan-Meier method and the Log-Rank method. The Kaplan-Meier method was used for estimating the mean and median development duration of larvae in each larva density condition. The Log-Rank method was used for comparing the development duration among the groups of larvae of different larva density conditions. For this study, the 95% confident interval of statistically significant difference, or $p < 0.05$, was interpret as different development duration between paired groups of larva density. The LtoP value was transformed into the dataset of individual development duration in day units and the larva density groups by MS Excel and statistically were analysed by SPSS software version 18.

Ethics statements

Animal care or biosafety and all experimental procedures were approved by the Animal Experiment Committee, Biosafety Committee Kasetsart University (Approval no. ACKU63-AGR-005)

Results

Total 262 of 265 larvae were monitored and transformed to dataset for statistical analysis, whereas the other three larvae were dead in the first day of experiment. The Kaplan-Meier method estimated the shortest mean development duration from L3 to pupa stage as 2.974–3.100 days (median as 3 days) for the groups of

5 and 10 larvae/cup and estimated the longest mean development as 4.136–4.458 days (median as 4 days) duration for the groups of 15, 20 and 25 larvae/cup (Table 1).

Table 1 The mean and median development duration from the L3 to pupa stage for the groups of larvae in each larva density condition

No. of larvae/cup	Total number of larvae	Mean development duration (days)	Median development duration (days)	Standard Error	95 Table CI* (days)
5	20	3.100	3	0.114	2.726–3.474
10	39	2.974	3	0.120	2.741–3.208
15	44	4.136	4	0.159	3.847–4.426
20	59	4.458	4	0.120	4.050–4.863
25	100	4.350	4	0.182	4.082–4.618
Total	262				

*CI = Confident interval of the mean development duration (day) by using the Kaplan-Meier method of Survival analysis statistics

Table 2 Pairwise comparison of statistically significant difference on the development duration larvae among different larva density conditions

No. of larvae/cup	*p*-value*			
	5	10	15	20
5				
10	0.559			
15	0.000	0.000		
20	0.000	0.000	0.262	
25	0.000	0.000	0.218	0.738

* In this studies, *p*-value < 0.05 was statistically significant difference for pairwise comparison on Log-Rank method of Survival analysis statistic

The Log-Rank method was used pairwise comparison of the development duration among the groups of larvae of five larva density conditions. The statistically significant difference, *p*-value, was calculated and shown in Table 2. The larva density groups were divided to 2 groups of similar development duration. The groups of 5 and 10 larvae/cup which were statistically significant different in development duration from the groups of 15, 20 and 25 larvae/cup (Fig. 1).

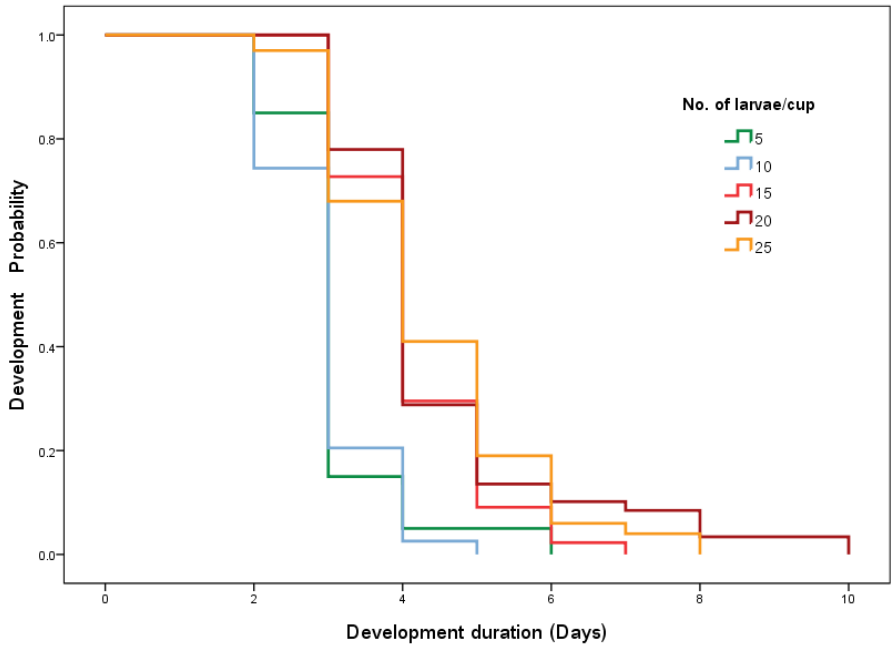


Fig. 1 Survival curve of development duration from late L3 to pupa stage among five groups of larva density

Discussion

Density is the noteworthy biological parameter affects to the immature stages of mosquito by slowing development duration (Frogner, 1980) and increasing the mortality rate (Washburn et al., 1991), due to the increasing of intraspecific competition for resources, intraspecific interference, and parasitism (Kleckner et al., 1995; Lord, 1998). Even though, much of research shows significant effects of density in container environments on mosquito population dynamics (Renshaw et al., 1993; Lord, 1998; Gleiser et al., 2000; Gimnig et al., 2002; Arrivillaga and Barrera, 2003; Juliano et al., 2004; Reiskind et al., 2004), but no research studies on the effect of density to small container.

This study is specific research focusing on the development duration of the tested *Aedes aegypti* larvae in the small container following the WHO's recommendation when testing the long-time action larvicide, especially IGR insecticide group. The larvicidal action of the IGR insecticide is usually present during the molting period during larval or pupal stages, which the monitoring duration is needed for at least 3 days. The method of efficacy testing for this insecticide is needed to clearly distinguish the result of non-exposure to insecticide (negative control)) from the result of the insecticide exposure (treatment) by supporting the tested larvae alive for at least 3 days as well. The appropriated amount of fish food is needed to feed on the larvae. In this experiment, the water volume in rearing cup has been changed from 200 mL to 500 mL by the reason to prevent polluted condition of water from fish food. Consequently, the nutrient from the fish food causes most of the larvae can survive and develop to be pupa stage.

The development duration of the non-insecticide exposed larvae is needed to be clarified for select the appropriate number of larvae per rearing cup to determine the testing protocol. Even though the density of

20–25 larvae/cup has been recommended by WHO (WHO, 2016), the development duration is longer than the normal development time of *Aedes aegypti* under the laboratory rearing condition (averagely 3 days from 200 larvae/container) (Wohl et al., 2023). From this research, the density of 5 and 10 larvae/cup which is not only statistically significant difference from the other conditions, but also similar to the normal development time should be selected as the number of larvae/cup for long-time larvicide testing. In the future, the comparison between the development duration from late L3 to pupa stage of the exposed and unexposed IGR larvicide in the density condition of 5 and 10 larvae/cup should be experimented.

Conflict of Interest

The authors declare that there are no conflicts of interest.

Acknowledgements

The authors would like to thank Department of Entomology, Faculty of Agriculture, Kasetsart University for supporting insect mass rearing laboratory and equipment in this research. This research is funded by Kasetsart University through the Graduate School Fellowship Program.

References

Arrivillaga, J., Barrera, R. 2003. Food as a limiting factor for *Aedes aegypti* in water-storage containers. J. Vector Ecol. 29: 11–20.

Chase, J.M., Knight, T. 2003. Drought-induced mosquito outbreaks in wetlands. Ecol. 6(11): 1017–1024.

Frogner, K.J. 1980. Variable developmental period: intraspecific competition models with conditional age-specific maturity and mortality schedules. Ecol. 61: 1099–1106.

Gimnig, J.E., Ombok, M., Otieno, S., Kaufman, M.G., Vulule, J.M., Walker, E.D. 2002. Density-dependent development of *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae) larvae in artificial habitats. J. Med. Entomol. 39(1): 162–172.

Gleiser, R.M., Urrutia, J., Gorla, D.E. 2000. Body size variation of the floodwater mosquito *Aedes albifasciatus* in Central Argentina. Med. Vet. Entomol. 14(1): 38–43.

Grisales, N., Poupardin, R., Gomez, S., Fonseca-Gonzalez, I., Ranson, H., Lenhart, A. 2013. Temephos resistance in *Aedes aegypti* in Colombia compromises dengue vector control. PLoS Negl. Trop. Dis. 7(9): e2438.

Izmirly, A. M., Alturki, S. O., Alturki, S. O., Connors, J., Haddad, E. K. 2020. Challenges in dengue vaccines development: pre-existing infections and cross-reactivity. Front. Immunol. 11: 1055.

Jirakanjanakit, N., Saengtharatip, S., Rongnoparut, P., Duchon, S., Bellec, C., Yoksan, S. 2007. Trend of temephos resistance in *Aedes* (*Stegomyia*) mosquitoes in Thailand during 2003—2005. Environ. Entomol. 2014, 36(3): 506–511.

Juliano, S.A., Lounibos, L.P., O'Meara, G.F. 2004. A field test for competitive effects of *Aedes albopictus* on *A. aegypti* in South Florida: differences between sites of coexistence and exclusion? Oecologia. 139: 583–593.

Kleckner, C.A., Hawley, W.A., Bradshaw, W.E., Holzapfel, C.M., Fisher, I.J. 1995. Protandry in *Aedes sierrensis*–the significance of temporal variation in female fecundity. Ecol. 76(4): 1242–1250.

Lord, C.C. 1998. Density dependence in larval *Aedes albopictus* (*Diptera: Culicidae*). J. Med. Entomol. 35(5): 825–829.

Manjarres-Suarez, A., Olivero-Verbel, J. 2013. Chemical control of *Aedes aegypti*: A historical perspective. Rev. Costarric. Salud. Pública. 22(1): 68–75.

Paeporn, P., Komalamisra, N., Thongrungkiat, S., Deesin, V., Eshita, Y., Rongsriyam, Y. 2003. Potential development of temephos resistance in *Aedes aegypti* related to its mechanism and susceptibility to dengue virus. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health 34: 136–141.

Phanitchat, T., Apiwathnasorn, C., Sumroiphon, S., Samung, Y., Naksathit, A., Thawornkuno, C., Juntarajumnong, W., Sungvornyothin, S. 2017. The influence of temperature on the developmental rate and survival of *Aedes albopictus* in Thailand. Southeast Asian J. Trop. Med. Public Health 48: 799–808.

Reiskind, M.H., Walton, E.T., Wilson, M.L. 2004. Nutrient-dependent reduced growth and survival of larval *Culex restuans* (Diptera: Culicidae): Laboratory and field experiments in Michigan. J. Med. Entomol. 41(4): 650–656.

Renshaw, M., Service, M.W., Birley, M.H. 1993. Density-dependent regulation of *Aedes cantans* (*Diptera, Culicidae*) in natural and artificial populations. Ecol. Entomol. 18(3): 223–233.

Sadanandane, C., Boopathi Doss, P. S., Jambulingam, P. 2012. Efficacy of three formulations of diflubenzuron, an insect growth regulator, against *Culex quinquefasciatus* Say, the vector of Bancroftian filariasis in India. Indian J. Med. Res. 136(5): 783–791.

Saita, S., Maeakhian, S., Silawan, T. 2022. Temporal variations and spatial clusters of dengue in Thailand: Longitudinal study before and during the coronavirus disease (COVID-19) pandemic. Trop. Med. Infect. Dis. 7(8): 171.

Tanayapong, S., Pengsaa, K., Thisyakorn, U., Hospital, B.P. 2018. Changing epidemiology of dengue patients in Ratchaburi, Thailand. Asian Biomed. 7(4): 561–566.

Washburn, J.O., Mercer, D.R., Anderson, J.R. 1991. Regulatory role of parasites: Impact on host population shifts with resource availability. Science. 253: 185–188.

Wohl, M.P., McMeniman, C.J. 2023. Batch Rearing *Aedes aegypti*. Cold Spring Harbor protocols. 1(3): 108017.

World Health Organization (WHO). 2016. Monitoring and managing insecticide resistance in *Aedes* mosquito populations. Interim guidance for entomologists. WHO/ZIKV/VC/16.1, Geneva, Switzerland.

การศึกษาการเจริญเติบโตของปลิงทะเลขาว (*Holothuria scabra*) ในโรงเพาะฟักของสถานีวิจัยเพื่อการพัฒนาชายฝั่งอันดามัน จังหวัดระนอง

Study on the growth of sea cucumber (*Holothuria scabra*) in the hatchery of the Andaman Coastal Development Research Station in Ranong Province

กิตติพศ คุ้มรักษา* ,**ฤทธิชัย คงสบาย** ,**ปิยะวัฒน์ พรหมรักษา**, **นัทธพงศ์ ชุมเชื้อ**, **ไชยธวัฒน์ ทองนอก**

Kittipot Kumruksa*, Rittichai Kongsabai, Piyawat Promraksa, Nuttapong Chumchue, Chaitawat Thongnork

สถานีวิจัยเพื่อการพัฒนาชายฝั่งอันดามัน คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ระนอง 85120

Andaman Coastal Research Station for Development, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Ranong 85120, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: kittipot20.nk@gmail.com

บทคัดย่อ

การทดลองเลี้ยงปลิงทะเลขาว (*Holothuria scabra*) จำนวน 60 ตัว ขนาดเริ่มต้นเฉลี่ย 9.70±1.93 กรัม เลี้ยงในถังไฟเบอร์กลาสทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.6 เมตร สูง 0.78 เมตร ความหนาแน่น 20 ตัวต่อ 1 ถัง ให้อาหารกุ้งบดผสมสาหร่ายสไปรูลิน่าผง จำนวน 3 ซ้ำ เก็บข้อมูลการเติบโตและการรอดตายของปลิงทะเลขาวทุกตัว โดยทำการเลี้ยงระหว่างเดือนมิถุนายนถึงเดือนพฤศจิกายน 2566 ผลการศึกษาเมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปลิงทะเลขาวมีน้ำหนักเฉลี่ยเท่ากับ 12.68±7.49 กรัม โดยมีอัตราการเติบโตต่อตัวต่อวัน (ADG) เฉลี่ยเท่ากับ 0.03±0.47 กรัมต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) เฉลี่ยเท่ากับ 0.28±2.65 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน และอัตราการรอดตายเท่ากับร้อยละ 64.00±12.85 เมื่อพิจารณาการเจริญเติบโตของปลิงทะเลขาวจากค่าเฉลี่ยของน้ำหนักในแต่ละเดือนจะพบว่าในช่วงเดือนกรกฎาคมถึงเดือนตุลาคมปลิงทะเลขาวจะมีการเจริญเติบโตได้ดี การเพิ่มน้ำหนักตัวของปลิงทะเลขาวมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ (r = 0.60–0.80)

คำสำคัญ: การเพาะเลี้ยง, คุณภาพน้ำ, ปลิงทะเลขาว (*Holothuria scabra*), อัตราการเจริญเติบโต

Abstract

The sixty *Holothuria scabra* with an average initial size of 9.7±1.93 grams were reared in cylindrical fiberglass tanks with a diameter of 1.6 meters, height of 0.78 meters, and stocking density of 20 individuals per tank. They were fed a diet of ground shrimp mixed with spirulina powder supplemented with 3 repetitions. Growth and survival data of *H. scabra* were recorded from June to November 2023. At the end of the experiment, it was found that the average weight of *H. scabra* was 12.68±7.49 grams with a daily weight gain (ADG) of 0.03±0.47 grams per day, 0.28±2.65 percent per day of specific growth rate (SGR), and 64.00±12.85 percent of survival rate. Considering the growth of *H. scabra* based on the monthly average weight, it was observed that the growth was favorable during the period from July to October. Increasing body weight in white sea cucumber was positively correlated to dissolved oxygen in the water (r = 0.60–0.80).

Keywords: Culture, Growth rate, Water quality, White Sea cucumber (*Holothuria scabra*)

คำนำ

ปลิงทะเลขาว (*Holothuria scabra* Jaeger, 1833) มีชื่อสามัญคือ White sea cucumber หรือ Sand fish เป็นสัตว์ที่ไม่มีกระดูกสันหลัง อาศัยอยู่หน้าดินบริเวณแนวชายฝั่งทะเล ประเทศไทยพบมากในแนวหญ้าทะเลชายฝั่งทะเลอันดามัน (พังงา ภูเก็ต กระบี่ ตรัง และสตูล) ปลิงทะเลขาวเป็นสัตว์อีกชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญในการย่อยสลายของเสียให้กับระบบนิเวศ ปลิงทะเลขาวจะกินเศษซากสารอินทรีย์ หญ้าทะเล สาหร่ายที่เน่าเปื่อย ทราย และตะกอนดิน โดยใช้หนวด (Tentacle) ในการจับอาหารนำเข้าสู่ทางเดินอาหาร ดูดซับสารอาหารไว้ หลังจากนั้นขับถ่ายออกมาเป็นตะกอนดินที่สะอาด นอกจากปลิงทะเลขาวจะช่วยในการย่อยสลายของเสียให้กับระบบนิเวศน์แล้วยังเป็นสัตว์น้ำที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจ ปลิงทะเลขาวเริ่มนิยมนำมาบริโภคเนื่องจากมีโภชนาการที่สูง โดยเฉพาะโปรตีน 55% และปริมาณคอลลาเจน 18.38% ของน้ำหนักตัว ซึ่งมากกว่าหูฉลาม และตีนไก่ (Sroyraya et al., 2017) ปลิงทะเลขาวน้ำหนักสด 1 กิโลกรัม ราคา 500 บาท และปลิงทะเลขาวตากแห้ง 1 กิโลกรัม 3,000–7,000 บาท (ศุภกานต์ และคณะ, 2564)

ปัจจุบันมีการเลี้ยงปลิงทะเลขาวหลายรูปแบบ คือ การเลี้ยงปลิงขาวในบ่อดิน การเลี้ยงปลิงขาวในคอกในทะเล การเลี้ยงปลิงขาวในบ่อคอนกรีต และการเลี้ยงปลิงขาวในบ่อคอนกรีตร่วมกับการเลี้ยงสัตว์น้ำชนิดอื่น เนื่องจากมีความต้องการบริโภคปลิงขาวมากขึ้นอีกทั้งมีมูลค่าสูงขึ้นทำให้ประชากรปลิงขาวทั่วโลกถูกทำประมงจนเกินกำลังการเกิดทดแทนในธรรมชาติและอยู่ในสภาวะเสี่ยงต่อการสูญพันธุ์ ประชากรปลิงขาวมีแนวโน้มลดจำนวนลงรวมถึงได้สูญพันธุ์ไปแล้วจากบางพื้นที่ (Skewes et al., 1998; Strehlow, 2004; Ivy et al., 2006;Hamel et al., 2013) สำหรับประเทศไทยเนื่องจากยังไม่มีการเพาะเลี้ยงปลิงขาวเชิงพาณิชย์ทำให้ผลผลิตปลิงขาวทั้งหมดมาจากการจับจากธรรมชาติทั้งสิ้น (วิจิตรา, 2556) หนึ่งในแหล่งทำประมงที่สำคัญของปลิงขาวที่ใหญ่เป็นอันดับต้น ๆ ของประเทศไทย คือ แนวหญ้าทะเลบริเวณเกาะลิบง จังหวัดตรัง ซึ่งในพื้นที่ดังกล่าวปลิงทะเลขาวเป็นหนึ่งในสัตว์น้ำเศรษฐกิจสำคัญ ร่วมกับสัตว์น้ำชนิดอื่น เช่น หอยชักตีน เป็นต้น (อัญญารัตน์, 2552) แต่อย่างไรก็ตาม จำนวนปลิงทะเลขาวยังมีแนวโน้มลดลงอย่างต่อเนื่อง ทั้งนี้ โรงเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำของสถานีวิจัยเพื่อการพัฒนาชายฝั่งอันดามัน จังหวัดระนอง อยู่บริเวณใกล้ชายฝั่งทะเลและปากคลองกำพวน ซึ่งเป็นแหล่งน้ำที่มีความเหมาะสมในการเลี้ยงสัตว์ทะเล จึงได้จัดระบบการเลี้ยง ระบบน้ำ และระบบการให้อาหาร เพื่อสร้างสภาพแวดล้อมที่สมบูรณ์ให้ปลิงทะเลขาว ดังนั้นการศึกษาข้อมูลการเจริญเติบโตของปลิงทะเลขาวโดยการนำมาเลี้ยงแบบระบบปิดของโรงเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำของสถานีวิจัยเพื่อการพัฒนาชายฝั่งอันดามัน จังหวัดระนอง และศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของปลิงทะเลขาว จึงเป็นข้อมูลพื้นฐานสำคัญสำหรับการประเมินและจัดการทรัพยากรปลิงทะเลขาวอย่างยั่งยืนสำหรับการประกอบอาชีพ ตลอดจนเป็นแหล่งผลิตลูกพันธุ์ปลิงทะเลขาวที่ได้จากการเพาะขยายพันธุ์ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมน้ำทะเลสำหรับการเลี้ยงปลิงทะเลขาว

สูบน้ำทะเลผ่านถุงกรอง ขนาด 50 ไมครอน ใส่ในถังพักน้ำความจุ 3,000 ลิตร เติมคลอรีนผงปริมาณ 30 ppm เพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ให้อากาศ 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 3–4 วัน เพื่อให้คลอรีนในน้ำสลายตัวจนหมด ตรวจสอบปริมาณคลอรีนในน้ำโดยใช้ชุดทดสอบคลอรีน ถ้าปรากฏสีเหลืองบนชุดทดสอบ ให้เติมโซเดียมไทโอซัลเฟต (Sodium thiosulfate) เพื่อสลายคลอรีน นำน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วมาเลี้ยงปลิงทะเลขาว

การเตรียมลูกพันธุ์ปลิงทะเลขาว

รวบรวมลูกพันธุ์ปลิงทะเลขาว จำนวน 60 ตัว ที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 9.7±2.98 กรัม จากชุมชนบ้านเกาะปู ตำบลเกาะศรีบอยา อำเภอเหนือคลอง จังหวัดกระบี่ นำมาพักในถังไฟเบอร์กลาสรูปทรงกระบอกที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 110 เซนติเมตร และมีความสูง 50 เซนติเมตร สามารถบรรจุน้ำได้ 300 ลิตร ติดอุปกรณ์ให้อากาศภายในถังอนุบาลลูกพันธุ์ปลิงทะเลขาวที่รวบรวมได้ในถังโดยให้อากาศตลอดเวลา เป็นเวลา 14 วัน ก่อนนำไปทำการทดลอง ให้ดินเลนธรรมชาติจากป่าชายเลนเป็นอาหาร ติดตั้งเครื่องกรองน้ำขนาดเล็กเพื่อให้น้ำในถังไฟเบอร์กลาสมีการหมุนเวียนตลอดเวลาเพื่อลดความเครียดจากการขนส่ง

การเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงปลิงทะเลขาว

เตรียมอาหารสำหรับใช้ในการทดลอง ประกอบด้วย กากถั่วเหลืองบดละเอียด (ร้อยละ 36) อาหารสำเร็จรูปสำหรับกุ้ง (ร้อยละ 36) สาหร่ายสไปรูลิน่าผง (ร้อยละ 16) ผงวุ้น (ร้อยละ 4) วิตามินรวม (ร้อยละ 3) น้ำมันถั่วเหลือง (ร้อยละ 2.5) น้ำมันหมึก (ร้อยละ 2.5) ตามขั้นตอนของ ธเนศ และคณะ (2560)

วิธีการทดลอง

เตรียมถังไฟเบอร์กลาสรูปทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 160 เซนติเมตร สูง 78 เซนติเมตร บรรจุน้ำได้ 1,000 ลิตร เติมทรายละเอียดให้มีความสูงจากพื้นถัง 5 เซนติเมตร เติมน้ำทะเลที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และมีค่าความเค็ม 28–30 ppt ปริมาณ 200 ลิตร ใส่หัวทรายให้อากาศตลอดเวลา ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ในแต่ละซ้ำใส่ปลิงทะเลขาว จำนวน 20 ตัว ให้อาหารระหว่างเวลา 16.00–17.00 น. โดยให้อาหารในปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัว ทำความสะอาดตะกอนและอาหารเหลือในช่วงเช้าของวันถัดไป เปลี่ยนถ่ายน้ำ 70 เปอร์เซ็นต์ ทุกสัปดาห์

การจัดเก็บและวิเคราะห์ข้อมูล

ชั่งน้ำหนักปลิงทะเลทุกตัวเดือนละ 1 ครั้ง และวัดคุณภาพน้ำทุกวัน 2 ช่วงเวลา คือ ช่วงเช้า ประมาณ 8.30–9.00 น. และช่วงบ่าย ประมาณ 15.00–15.30 น. คุณภาพน้ำที่ตรวจวัด ประกอบด้วย ออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved oxygen; DO, mg/l) ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และอุณหภูมิ (Temperature, C) โดยใช้เครื่อง Multimeter รุ่น YSI Pro 1020 และตรวจวัดความเค็ม โดยเครื่องวัดความเค็มแบบหักเหแสง (Refracto-salinometer) รุ่น ATC นำข้อมูลน้ำหนักตัวและคุณภาพน้ำมาวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยรายเดือน และวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson's Correlation Coefficient) เพื่อพิจารณาประสิทธิภาพการเจริญเติบโตของปลิงทะเลขาวภายใต้คุณภาพน้ำในช่วงเวลาศึกษา

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง นับจำนวนและชั่งน้ำหนักปลิงทะเลที่รอดชีวิตทั้งหมดเพื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์อัตราการเจริญเติบโต (Equation 1) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Equation 2) และอัตราการรอด (Equation 3) และวิเคราะห์สถิติพรรณนาเพื่ออธิบายการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของปลิงทะเลขาวที่ศึกษา

อัตราการเจริญเติบโต (Average Daily Gain ; ADG, กรัม/วัน) = (1)

$$\frac{\text{Final Average Weight-Initial Average Weight}}{\text{Duration (days)}}$$

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SGR, %/วัน) = (2)

$$\frac{(\ln(\text{Final Average Weight}) - \ln(\text{Initial Average Weight}))}{\text{Duration (days)}} \times 100$$

อัตราการรอด (Survival rate, %) = (3)

$$\frac{\text{Number of sea cucumber at the end}}{\text{The initial number of sea cucumber}} \times 100$$

ผลการทดลองและวิจารณ์

การเลี้ยงปลิงทะเลขาวในโรงเพาะฟักของสถานีวิจัยเพื่อการพัฒนาชายฝั่งอันดามัน จังหวัดระนอง ระหว่างเดือนมิถุนายนถึงเดือนตุลาคม 2565 จากการรวมรวมลูกพันธุ์จากชุมชนบ้านเกาะปู ตำบลเกาะศรีบอยา อำเภอเหนือคลอง จังหวัดกระบี่ ถูกที่ความหนาแน่น 20 ตัวต่อถัง เฉลี่ย 10 ตัวต่อตารางเมตร เพื่อจำกัดพื้นที่ให้ปลิงทะเลพบอาหารได้ง่าย และมีพื้นที่เพียงพอในการฝังตัวลงในทราย ขนาดปลิงทะเลขาวในการเลี้ยงเริ่มต้นมีน้ำหนักเฉลี่ย 9.72±2.98 กรัม และมีน้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลองเท่ากับ 12.68±7.49 กรัม (Table 1)

Table 1 Average body weight of white sea cucumber and water quality as dissolved oxygen (DO), pH, and temperature (Temp) during the experimental period

Month	Weight (g)	Water quality in the morning			Water quality in the evening		
		DO (mg/l)	pH	Temp (°C)	DO (mg/l)	pH	Temp (°C)
June	9.72±2.98	5.65±0.10	8.25±0.06	26.78±1.11	5.30±0.14	8.38±0.05	29.35±0.64
July	5.81±2.42	5.83±0.10	8.23±0.05	26.65±0.58	5.15±0.06	8.30±0.08	29.83±0.77
August	18.85±10.78	6.78±0.17	8.28±0.05	26.30±0.59	6.28±0.26	8.38±0.10	29.78±0.74
September	29.11±15.92	7.38±0.68	8.25±0.13	26.10±0.24	6.70±0.57	8.38±0.10	29.03±1.32
October	35.94±20.85	6.15±0.26	7.98±0.32	26.65±0.31	6.08±0.15	8.15±0.06	27.60±0.27
November	12.68±7.49	5.65±0.17	8.13±0.15	26.05±0.49	5.63±0.22	8.10±0.27	27.15±0.66

The value are means±standard deviations

การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักตัวของปลิงทะเลขาวมีความผันแปรตลอดระยะเวลาทดลอง (Fig. 1) โดยปลิงทะเลขาวมีน้ำหนักตัวลดลงในช่วงเดือนมิถุนายนถึงกรกฎาคม จากนั้นมีการปรับเพิ่มน้ำหนักตัวตามลำดับ โดยมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในระหว่างเดือนกันยายนถึงเดือนตุลาคม และมีน้ำหนักเฉลี่ยลดลงในเดือนพฤศจิกายน ซึ่งในช่วงที่มีการเจริญเติบโตลดลงเกิดเนื่องจากปลิงทะเลหลายตัวคายอวัยวะภายในออกมา ที่เป็นผลของความเครียดจากสภาพแวดล้อมที่มีอุณหภูมิเฉลี่ยต่ำในช่วงวัน (26.05±0.49 ถึง 27.15±0.66 องศาเซลเซียส) ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงปลิงทะเลคือ 29–31 องศาเซลเซียส (อาภรณ์, 2566) ทั้งนี้ แม้ว่าปลิงทะเลขาวจะมีค่าเฉลี่ยน้ำหนักตัวเพิ่มสูงที่สุดในเดือนกันยายนถึงตุลาคม (35.94±20.85 กรัม) แต่มีความผันแปรของน้ำหนักตัวสูงกว่าช่วงเวลาอื่น แสดงให้เห็นว่า ปลิงทะเลขาวที่เลี้ยงทดลองมีการตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมและการจัดการได้แตกต่างกัน จึงจำเป็นต้องให้ความสำคัญต่อคุณภาพการจัดการ และการควบคุมสภาพแวดล้อมของการเพาะเลี้ยง

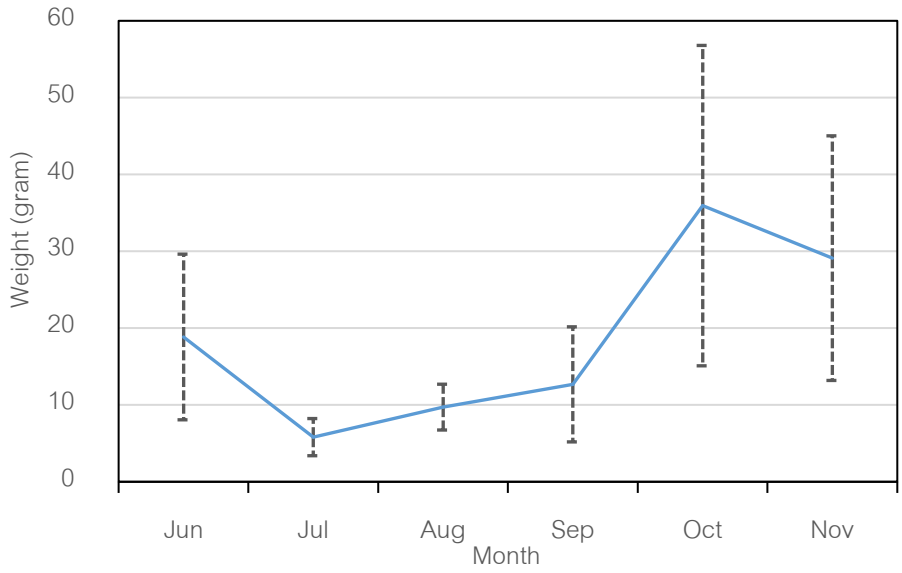


Fig. 1 Monthly average body weight of white sea cucumber across the experimental period

ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (r) ระหว่างน้ำหนักตัวและค่าคุณภาพน้ำมีค่าระหว่าง -0.54 ถึง 0.80 โดยน้ำหนักตัวของปลิงทะเลขาวมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในช่วงเช้า (r = 0.60) และปริมาณออกซิเจนละลายน้ำในช่วงบ่าย (r = 0.80) ในขณะที่ น้ำหนักตัวของปลิงทะเลขาวมีความสัมพันธ์เชิงลบกับค่าความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิของน้ำทั้งในช่วงเช้า (r = -0.55 และ -0.18) และช่วงบ่าย (r = -0.17 และ -0.39) แสดงให้เห็นว่าการเพาะเลี้ยงปลิงทะเลขาวให้มีน้ำหนักตัวเพิ่มขึ้นจะขึ้นอยู่กับปริมาณออกซิเจนละลายน้ำที่สูงขึ้น ทั้งนี้ การเพาะเลี้ยงให้ปลิงทะเลขาวมีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นยังจำเป็นต้องศึกษาและควบคุมความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิของน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยงให้เหมาะสมด้วย

ปลิงทะเลขาวที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 6 เดือนในถังไฟเบอร์กลาสทรงกระบอก (Table 2) มีน้ำหนักเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลองเท่ากับ 12.68±7.49 กรัม มีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย 0.03±0.47 กรัมต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ย (SGR) มีค่า 0.28±2.65 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน และอัตราการรอดเฉลี่ยร้อยละ 64.00±12.85 โดยที่ การเจริญเติบโตของปลิงทะเลขาวมีความแตกต่างกับรายงานผลการวิจัยของ ปิยะวัฒน์ และคณะ (2563) ที่ศึกษาการเลี้ยงปลิงทะเลขาวแบบกั้นคอก บริเวณชุมชนบ้านเกาะปู อำเภอศรีบอยา อำเภอเหนือคลอง จังหวัดกระบี่ โดยเลี้ยงระหว่างเดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม 2565 ที่พบว่า ค่าเฉลี่ยของอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะมีค่า 0.06% ต่อวัน และอัตราการเจริญเติบโตต่อวันมีค่า 61.12 กรัม ซึ่งช่วงเวลาที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงปลิงทะเลขาวอยู่ในช่วงเดือนตุลาคมถึงเดือนมีนาคม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเพาะเลี้ยงในถังไฟเบอร์กลาสจำเป็นต้องควบคุมสภาพแวดล้อมและคุณภาพน้ำให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการมีชีวิตรอดของปลิงทะเลขาว ซึ่งยังจำเป็นต้องศึกษาวิจัยถึงปัจจัยที่เหมาะสมต่อไป

Table 2 Average growth rate and survival rate of white sea cucumber

Parameter	Minimum	Maximum	Mean	Standard deviation
Average daily gain (g/day)	-0.94	0.63	0.03	0.47
Specific Growth Rate (%/day)	-3.73	4.73	0.28	2.65
Survival rate (%)	50.00	95.00	64.00	12.85

สรุป

การเพาะเลี้ยงปลิงทะเลขาวในถังไฟเบอร์กลาสที่ความจุ 1,000 ลิตร ที่ความหนาแน่น 20 ตัวต่อถัง เฉลี่ย 10 ตัวต่อตารางเมตร เป็นเวลา 6 เดือน เมื่อสิ้นสุดการทดลองมีอัตราการเจริญเติบโตต่อตัวต่อวันเท่ากับ 0.03±0.47 กรัม อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ยเท่ากับ 0.28±2.65 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน และอัตราการรอดเฉลี่ยร้อยละ 64.00±12.85 โดยปลิงทะเลขาวจะมีการเจริญเติบโตที่ดีในช่วงเดือนกรกฎาคมถึงเดือนตุลาคม 2566 ซึ่งการเพิ่มขึ้นของน้ำหนักตัวมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ แต่มีความสัมพันธ์เชิงลบกับความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิของน้ำที่ใช้เพาะเลี้ยง

เอกสารอ้างอิง

ธเนศ พุ่มทอง, สุนิตา เลี่ยมใหม่, ศุภกานต์ ชัยโชติรานันท์, กัญจนี พรหมจินดา, ประเสริฐ โศภน, ยสวันต์ ตินิกุล, รัชนก ตินิกุล, จารุวรรณ ผลเจริญ. 2560. การพัฒนาระบบการเพาะเลี้ยงปลิงทะเล (*Holothuria scabra*, Jaeger 1833) และการเพิ่มผลผลิตในการเพาะเลี้ยงโดยใช้ฮอร์โมนควบคุมการพัฒนาต่อมเพศและการผลิตเซลล์สืบพันธุ์. สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) (สวก.).

ปิยะวัฒน์ พรหมรักษา, กนกวรรณ ขาวด่อน, สาโรจน์ เริ่มดำริห์, กิตติพศ คุ้มรักษา, นัทธพงศ์ ชุมเชื้อ. 2565. การศึกษาการเลี้ยงปลิงทะเลขาว (*Holothuria scabra*) ในแหล่งเลี้ยงตามแนววิถีชุมชนในพื้นที่บ้านเกาะปู ตำบลเกาะศรีบอยา อำเภอเหนือคลอง จังหวัดกระบี่. น. 405–412. ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 61 (สาขาประมง). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศุภกานต์ ชัยโชติรานัน, วาสนา พรมราช, สุนิตา เลี่ยมใหม่. 2564. ศึกษาการอนุบาลปลิงทะเลชนิด *Holothuria scabra* Jaeger, 1833 ระยะ Doliolaria จนถึงระยะ juvenile ด้วยอาหารต่างชนิดกัน. เอกสารวิชาการฉบับที่ 1/2564. กองวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง, กรมประมง.

อัญรัตน์ เสียมไหม. 2552. มูลค่าจากการใช้ประโยชน์แหล่งหญ้าทะเลด้านการประมงของชุมชนบนเกาะลิบงจังหวัดตรัง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อาภรณ์ เทพพานิช, ศุภกานต์ ชัยโชติรานัน, วาสนา พรมราช, วริศรา ประดิษฐ์. 2566. คู่มือการเพาะเลี้ยงปลิงขาว (*Holothuria scabra*, Jaeger 1833). กองวิจัยและพัฒนาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง กรมประมง.

Hamel, J.F., Mercier, A., Conand, C., Purcell, S., Toral-Granda, T.G., Gamboa, R. 2013. Holothuriascabra. The IUCN Red List of Threatened Species 2013: e.T180257A1606648. dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2013-1.RLTS.T180257A1606648.en

Sroyraya, M., Peter, J.H., Tanapan, S., Ruchanok, T., Prapaporn, J., Tanate, P., Prasert, S. 2017. Nutritional components of the sea cucumber *Holothuria scabra*. Funct. Foods Health Dis. 7(3): 168–181. doi.org/10.31989/ffhd.v7i3.303

สาขาสัตวแพทยศาสตร์

(Subject: Veterinary Medicine)

ภาคโปสเตอร์

(Poster Presentation)

กรณีศึกษา: การตรวจยืนยันภาวะรังไข่คงค้างโดยการเหนี่ยวนำด้วยฮอร์โมนเอชซีจีในสุนัข

A case report: The diagnosis of ovarian remnant syndrome with hCG hormone challenge in dog

พรรณธิภาภรณ์ จันทร์ควง[a], **ภาคภูมิ บุศยพลากร**[a], **ปิยทิพย์ ชูเฉลิมพร**[a], **ชื่นสุมน ลิ้มมานนท์**[a,b,*]

Panthiphaporn Chankuang[a], Pharkpoom Budsayaplakorn[a], Piyathip Choochalermporn[a], Chunsumon Limmanont[a,b,*]

[a]โรงพยาบาลสัตว์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ 10900

[b]ภาควิชาเวชศาสตร์คลินิกสัตว์เลี้ยง คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ 10900

[a]Theriogenology Center, Kasetsart University Veterinary Teaching Hospital, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

[b]Department of Companion Animal and Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author. E mail address: Chunsumon.l@ku.th

บทคัดย่อ

สุนัขเพศเมียมีประวัติทำหมันแล้ว พันธุ์ผสม อายุ 11 ปี 2 เดือน น้ำหนัก 22.5 กิโลกรัม เข้ารับการตรวจที่ศูนย์ระบบสืบพันธุ์ โรงพยาบาลสัตว์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จากการพบลักษณะถุงน้ำใกล้ตำแหน่งไตขวาด้วยการตรวจอัลตราซาวนด์ช่องท้อง สุนัขไม่เคยมีอาการเป็นสัด ผลการตรวจร่างกายทั่วไปปกติ ไม่พบสิ่งคัดหลั่งจากอวัยวะเพศ อวัยวะเพศยังคงมีขนาดปกติ พบก้อนเนื้อบริเวณเต้านมคู่ที่ 2 ทางด้านขวาขนาด 5×7 cm เต้านมข้างซ้ายเต้าสุดท้าย ลักษณะแข็ง ขนาดประมาณ 1×1 cm ได้รับการตรวจวินิจฉัยเพิ่มเติมด้วยการเหนี่ยวนำกระตุ้นด้วยฮอร์โมนเอชซีจี (Human chorionic gonadotropin; hCG) 300 IU, ฉีดเข้าชั้นกล้ามเนื้อ พบว่าภายหลังการกระตุ้นด้วยฮอร์โมนเอชซีจี 14 วัน ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสูงขึ้นเป็น 1.45 ng/mL ร่วมกับการพบถุงน้ำตำแหน่งใกล้ไตข้างขวา ทำให้สงสัยว่าสุนัขมีภาวะรังไข่คงค้าง จึงได้แก้ไขโดยการผ่าตัด พบมีรังไข่คงค้างทั้ง 2 ข้าง และร่วมกับการผ่าตัดเนื้องอกบริเวณเต้านม ผลตรวจทางพยาธิวิทยายืนยันว่าตำแหน่งทั้ง 2 ข้างเป็นเนื้อเยื่อ รังไข่ โดยข้างขวาจะพบว่ามีถุงน้ำรังไข่ร่วมด้วย และก้อนเนื้อที่เต้านมรายงานผล lipoma และ solid carcinoma

คำสำคัญ: รังไข่คงค้าง, สุนัข, ฮอร์โมนเอชซีจี

Abstract

A 11 year and 2 month, 22.5 kg BW, neuter crossbreed female dog with cystic lesion near right kidney by general ultrasonography checkup. History taking, the dog was no signs of estrus. Physical examinations were normal. There was no vaginal discharge and normal vulva size. Two masses were detected at the second of right mammary gland size 5×7 cm. and the last of left mammary gland with hard and size 1×1 cm. The human chorionic gonadotropin (hCG) was used to hormone challenge to confirm the ovarian remnant. Serum progesterone was 1.45 ng/mL, and cystic lesion near right kidney was detected again by abdominal ultrasonography post hCG challenge 14 days. Surgical treatment was remove both ovaries remnant and mass removals. Histopathology results were right ovarian remnant with ovarian cyst, left ovarian remnant, lipoma and solid carcinoma.

Keywords: Dog, human Chorionic Gonadotropin (hCG), Ovarian remnant syndrome

คำนำ

ภาวะรังไข่คงค้าง (Ovarian Remnant Syndrome; ORS) คือภาวะที่มีการค้างหรือคงเหลืออยู่ของเนื้อเยื่อรังไข่หลังจากสุนัขหรือแมวได้รับการทำหมัน (Johnston et al., 2001; Mullikin et al., 2022) โดยอาจเกิดจากความผิดพลาดจากการผ่าตัดที่นำรังไข่ออกไม่หมด หรืออาจเกิดจากการทำเนื้อเยื่อรังไข่ตกลงในช่องท้องในระหว่างการผ่าตัดทำหมัน (Feldman et al., 2004; Wallace, 1991;) สุนัขจะแสดงอาการเป็นสัด โดยมีระยะก่อนการเป็นสัด (proestrus) ระหว่างเป็นสัด (estrus) หรือหลังการเป็นสัด (diestrus) โดยอาจพบอวัยวะเพศบวม (vulvar swelling) สิ่งคัดหลั่งจากอวัยวะเพศ (vaginal discharge) เต้านมขยายใหญ่ (mammary engorgement) พฤติกรรมเปลี่ยน (behavioral change) ภาวะท้องเทียม (pseudopregnancy) หรืออาจพบภาวะ Uterine stump pyometra ร่วมด้วยได้ (Miller,1995; Percival et al.,2020) ระยะเวลาการแสดงอาการของสัตว์ภายหลังการทำหมันอยู่ระหว่าง 3 เดือน ถึง 5 ปี ขึ้นอยู่กับปริมาณของเนื้อเยื่อรังไข่ที่คงเหลือ และการเกิดหลอดเลือดไปเลี้ยงรังไข่ที่เหลืออยู่ภายในช่องท้อง (Miller, 1995) หรืออาจเกิดได้จากการมี accessory ovarian tissue หรือ supernumerary ovaries ซึ่งอาจจะมีขนาดเล็กหรือแบ่งแยกได้ยาก ทำให้มีโอกาสคงค้างได้ (Machado et al., 2008; Mcentee, 1990; Stone, 2003; Temiz et al., 2008) ภาวะรังไข่คงค้างสามารถพบได้ในสุนัขและแมว โดยส่วนใหญ่มักพบในสุนัขมากกว่าแมว ภาวะรังไข่คงค้างมักพบการเหลือของรังไข่ข้างขวามากกว่าข้างซ้าย หรืออาจพบการคงเหลือของรังไข่ทั้ง 2 ข้างได้ การวินิจฉัยแยกโรคนั้นอาจต้องแยกจากโรคความผิดปกติของระบบแข็งตัวของเลือด โรคช่องคลอดอักเสบ การบาดเจ็บหรือกระแทก เนื้องอกช่องคลอด หรือสิ่งแปลกปลอมในช่องคลอด (Mullikin et al., 2022)

การวินิจฉัยภาวะรังไข่คงค้าง สามารถทำได้โดยประเมินจากอาการแสดง (clinical sign) และอาจใช้ผลเซลล์ช่องคลอด (vaginal cytology) ซึ่งสามารถทำได้ง่ายและรวดเร็วที่สุด โดยอาจพบลักษณะของเซลล์จำพวก superficial cells ได้ (Olson et al.,1987) หรือ การกระตุ้นด้วยฮอร์โมน (Hormone stimulation test) คือตรวจวัดระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนและ/หรือ โปรเจสเตอโรนในช่วงเวลาก่อน และหลังการกระตุ้นด้วยฮอร์โมน Gonadotropin Releasing Hormone (GnRH) หรือ human Chorionic Gonadotropin (hCG) โดยการกระตุ้นด้วยฮอร์โมนนี้เอง อาจช่วยในการวินิจฉัยได้ในกรณีที่สัตว์ไม่แสดงอาการเป็นสัด (Kumar et al., 2018) การตรวจด้วยคลื่นความถี่สูงหรืออัลตราซาวด์อาจพบลักษณะของรังไข่ที่คงค้างได้ แต่อาจขึ้นอยู่กับขนาดของรังไข่ที่คงค้าง ความชำนาญของผู้ปฏิบัติงาน หรือช่วงระหว่างเป็นสัด (estrus) (Mullikin et al., 2022) การผ่าตัดเปิดตรวจช่องท้อง และตรวจจุลพยาธิวิทยา (histopathology) ถือว่าเป็นการวินิจฉัยเจาะจง (definite diagnosis) (Johnston et al., 2001; Mullikin et al., 2022)

การกระตุ้นด้วยฮอร์โมนเอง ถือเป็นวิธีการวินิจฉัยภาวะรังไข่คงค้างในสัตว์ได้ค่อนข้างดี สามารถทำได้ด้วยการฉีด GnRH หรือ hCG เข้าไป โดยฮอร์โมนที่กล่าวมาจะทำให้เกิดการตกไข่ (ovulation) ขึ้นในสุนัขและแมว ทำให้เกิดการพัฒนา Corpus luteum ส่งผลให้ระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนเพิ่มสูงขึ้น โดยทำการวัดระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโนซ้ำ 1–2 สัปดาห์ หลังทำการกระตุ้นให้เกิดการตกไข่ (Sontas, Gürbulak & Ekici, 2007) โดยมีการใช้ GnRH 2.2 μg/kg ฉีดเข้าชั้นกล้ามเนื้อ หรือ hCG 50 IU/kg ฉีดเข้าชั้นกล้ามเนื้อ หลังจากนั้นตรวจวัดระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรน ก่อนและหลังจากฉีดฮอร์โมน 1-2 สัปดาห์ (Prats, 2001; Romagnoli, 2004; Sontas et al., 2007) โดยหากมีเนื้อเยื่อของรังไข่ที่คงค้างอยู่ภายในช่องท้อง จะพบว่าระดับฮอร์โมนเอสโตรเจนจะลดต่ำลง ส่วนฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนจะเพิ่มขึ้น (Feldman and Nelson, 2004; Perkins and Frazer, 1995; Prats, 2001).

อุปกรณ์และวิธีการ

การซักประวัติ

สุนัขเพศเมียทำหมันแล้ว พันธุ์ผสม อายุ 11 ปี 2 เดือน น้ำหนัก 22.5 กิโลกรัม เข้ารับการตรวจที่ศูนย์ระบบสืบพันธุ์ โรงพยาบาลสัตว์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เมื่อ 29 มกราคม 2566 ด้วยปัญหาสงสัยมีภาวะรังไข่คงค้าง พบโดยบังเอิญจากการตรวจอัลตร้าซาวด์ช่องท้องในการตรวจประเมินอวัยวะภายในช่องท้อง เมื่อ 14 ธันวาคม 2565 (Fig.1–2) จากการซักประวัติเพิ่มเติม สุนัขได้รับการทำหมันในช่วงขวบปีแรก ไม่เคยพบสิ่งคัดหลั่งจากอวัยวะเพศหรืออาการเป็นสัด

การตรวจร่างกาย

ผลการตรวจร่างกายทั่วไปปกติ ไม่พบสิ่งคัดหลั่งจากอวัยวะเพศ อวัยวะเพศยังคงมีขนาดปกติ พบก้อนเนื้อบริเวณเต้านมคู่ที่ 2 ทางด้านขวาขนาด 5×7 เซนติเมตร (cm) เต้านมข้างซ้ายเต้าสุดท้าย ลักษณะแข็ง ขนาดประมาณ 1×1 cm

การตรวจทางคลินิก

อ้างอิงจากผลการวินิจฉัยด้วยอัลตราซาวนด์ช่องท้อง เมื่อ 14 ธันวาคม 2565 ด้วยเครื่องอัลตราซาวนด์ GE® รุ่น logic E10 ความถี่ 3–10 เมกะเฮิรตซ์ พบตำแหน่งตอตัวมดลูก (uterine stump) และลักษณะคล้ายถุงน้ำตำแหน่งใกล้ไตข้างขวา (Fig.1–2) ผลการตรวจเซลล์เยื่อบุช่องคลอด พบเซลล์ประเภท non cornified cell ซึ่งแปลผลได้ว่าสุนัขกำลังอยู่ระยะ anestrus, diestrus หรือ สุนัขที่ทำหมันสมบูรณ์แล้ว และมีการเจาะตรวจซีรั่มเอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรน พบอยู่ในระดับน้อยกว่า 10 pg/mL และ 0.96 ng/mL ตามลำดับ

การวินิจฉัยแยกโรค (Differential diagnosis)

ภาวะรังไข่คงค้างหรือสุนัขทำหมันครบสมบูรณ์แล้วและก้อนเนื้อที่เต้านม

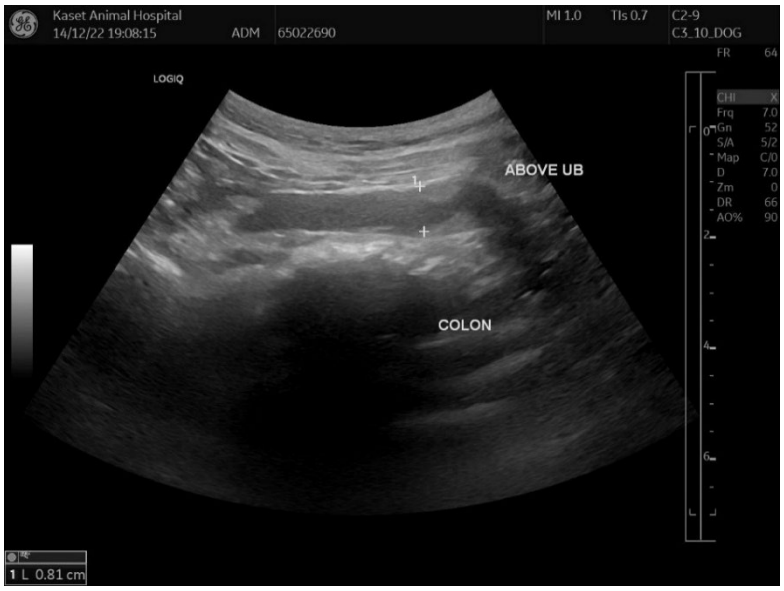


Fig. 1 Sonographic finding (14/12/2022): Tubular organ above urinary bladder, diameter size 0.8 cm with hypoechoic luminal fluid; possibly uterine stump



Fig. 2 Sonographic finding (14/12/2022): Cystic lesion size 1.4X0.8 cm present near at right kidney; possibly right ovary position

การตรวจเพื่อวินิจฉัยแยกโรค

เนื่องจากการตรวจอัลตร้าซาวด์พบลักษณะคล้ายรังไข่ จากการซักประวัติไม่เคยพบการเป็นสัดหลังจากการทำหมัน เซลล์เยื่อบุช่องคลอดไม่ได้บ่งชี้สุนัขกำลังอยู่ในระยะมีฮอร์โมนเอสโตรเจน และผลซีรั่มฮอร์โมนเอสโตรเจนและโปรเจสเตอโรน อยู่ในระดับต่ำที่อาจพบตามปกติในสุนัขที่ทำหมันได้สมบูรณ์แล้วหรือสุนัขที่ยังมีรังไข่คงค้างในช่วงที่ไม่มีการสร้างฮอร์โมนเพศ วันที่ 12 มีนาคม 2566 จึงได้ใช้ hCG (Chorulon®, MSD ประเทศไทย) ขนาด 300 IU ฉีดเข้าชั้นกล้ามเนื้อ (IM) เพื่อกระตุ้นและทดสอบการคงค้างของรังไข่ โดยเจาะเก็บซีรั่มฮอร์โมนเอสโตรเจน (ชั่วโมงที่ 0) และ (ชั่วโมงที่ 1.5) (Table 1) และนัดติดตาม ในวันที่ 26 มีนาคม 2566 เพื่อตรวจซีรั่มโปรเจสเตอโรน (Table 1) ร่วมกับการอัลตราซาวนด์ 14 วันหลังที่กระตุ้นด้วยฮอร์โมน hCG (Fig. 3-4)

ผลลัพธ์

Table 1 Serum estrogen and progesterone before and post the human chorionic gonadotropin (hCG) hormone challenge

Sex hormone	Estrogen (pg/mL)		Progesterone (ng/mL)
	Hour 0 (before challenge)	Hour 1.5 (after challenge)	Day 14 (after challenge)
Results	< 10	<10	1.45

Note: Estrogen and progesterone are < 10 pg/mL, < 1 ng/mL in neuter dog.



Fig. 3 Sonographic finding (26/3/2023): Tubular organ above urinary bladder, diameter size 0.74 cm with hypoechoic luminal fluid; possibly uterine stump



Fig. 4 Sonographic finding (26/3/2023): Cystic lesion size 1.2X0.8 cm present near at right kidney; possibly right ovary position

การวินิจฉัยเจาะจง (Definite diagnosis)

จากผลการติดตามระดับฮอร์โมนโปรเจสเตอโรนสูงขึ้นและสูงกว่า 1 ng/mL หลังการทำ hCG challenge ร่วมกับการกลับมาพบลักษณะ cystic lesion ใกล้ไตข้างขวาจากการอัลตราซาวนด์ (Fig. 4) ซึ่งน่าจะเป็นข้างที่มีรังไข่คงค้างอยู่ สรุปผลได้ว่ามีภาวะรังไข่คงค้างและก้อนเนื้อที่เต้านม ดังนั้นสุนัขมีปัญหารังไข่คงค้างข้างขวา (right ovarian remnant syndrome) และก้อนเนื้อที่เต้านม (mammary gland tumor)

การรักษา

การผ่าตัดเปิดหน้าท้องเพื่อตัดเนื้อเยื่อส่วนที่สงสัยรังไข่คงค้าง การตรวจตอมดลูกที่เหลือและการผ่าก้อนเนื้อที่เต้านมออก

การเตรียมตัวตัวก่อนผ่าตัด ผลการวินิจฉัยด้วยการตรวจเอกซเรย์ช่องอก (Fig. 5A-B) และผลเลือดค่าความสมบูรณ์เม็ดเลือดและค่าเคมีโลหิต (Table 2-3) เพื่อประเมินการวางยาสลบก่อนผ่าตัด โดยจากผลการตรวจวินิจฉัยด้วยการตรวจเอกซเรย์ช่องอกพบว่าขนาดหัวใจปกติ พบกระดูกสันหลังส่วนอกงอก (T1-13) ไม่พบของเหลวในเยื่อหุ้มปอดหรือต่อมน้ำเหลืองในช่องอกที่ผิดปกติ ผลเลือด พบภาวะโลหิตจาง (Anemia)

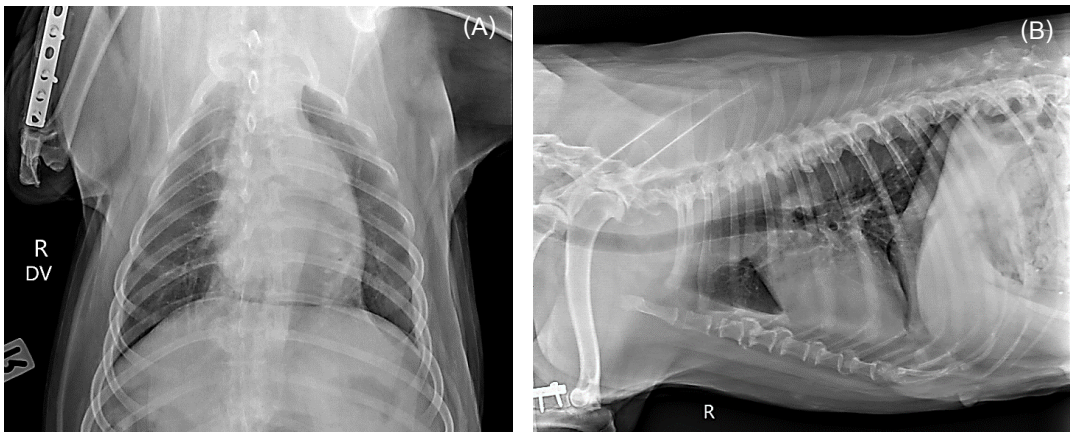


Fig. 5 Radiographic finding: Heart shadow size is in 2/3 thoracic ratio (A). Bronchial wall is slightly increase opacity multiple spur present at T1–13 (B). There were no evidence of pleural effusion, and lymphadenopathy in thorax (A–B).

Table 2 Hematology results from Auto-Hematology Analysis Synmex® model XN-10 SN: 37935

Parameter	Result	Unit	Reference
Red blood cell (RBC)	5.38	10^6/uL	4.95–7.87
Hemoglobin (HGB)	10.70	g/dL	11.9–18.9
Hematocrit (HCT)	32.50	%	35–57
Mean corpuscular volume (MCV)	60.41	fL	66–77
Mean corpuscular hemoglobin (MCH)	19.89		
Mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC)	32.92	g/dL	21–26.2
White blood cell (WBC)	11.61	10^3/uL	5–14.1
Neutrophil	8.753	10^3/uL	2.9–12
Lymphocyte	1.231	10^3/uL	0.4–2.9
Monocyte	0.708	10^3/uL	0.1–1.4
Eosinophil	0.905	10^3/uL	0–1.3
Basophil	0.116	10^3/uL	0–0.14
Platelet	200	10^3/uL	200–500
Red cell distribution width (RDW)	14.8		
Blood morphology		Crenation, ovalocyte, anisocytosis	

Table 3 Blood chemistry profiles from ILab® 650

Blood Chemistry	Result	Unit	Reference
Blood urea nitrogen (BUN)	20	mg/dL	8–28
Creatinine	1.22	mg/dL	0.5–1.7
Alanine transaminase (ALT)	42	U/L	10–109

การผ่าตัดเปิดตรวจช่องท้อง (abdominal exploration) เพื่อเข้าไปหารังไข่คงค้าง สุนัขเข้ารับการวางยาสลบเพื่อทำการผ่าตัดโดยใช้ midazolam dose 0.2 mg/kg เป็นยานำสลบ และเหนี่ยวนำการสลบ โดยใช้ propofol dose 3.4 mg/kg, เข้าทางกระแสเลือด (IV) ควบคุมความเจ็บปวดโดยใช้ morphine dose 0.5 mg/kg, IM รวมถึงให้ prophylactic antibiotic ก่อนผ่าตัดเป็น cefazolin dose 20 mg/kg, IV เมื่อสัตว์สลบจึงเตรียมตัวสัตว์ตามหลักการปลอดเชื้อสำหรับผ่าตัด เมื่อเตรียมตัวเรียบร้อยจึงการผ่าตัดโดยการกรีดเปิดบริเวณแนวกลางลำตัว (ventral midline) ผ่านแนว linea alba เข้าช่องท้อง ทำการหาตำแหน่งที่จะเป็นตำแหน่งของรังไข่ที่คงค้างโดยพบลักษณะถุงน้ำขนาด 0.5X0.5 cm (Fig. 6A) ตำแหน่งใกล้ไตข้างซ้าย และข้างขวาพบรังไข่ที่เหลือค้าง ขนาด 1X1 cm (Fig. 6B) จึงผูกเส้นเลือดที่มาเลี้ยง (ovarian vessel) แล้วตัดถุงน้ำที่อยู่ทางด้านซ้ายและรังไข่ทางด้านขวาออก และส่งตรวจชิ้นเนื้อต่อไป จากนั้นจึงเปิดหาตำแหน่งของ uterine stump ซึ่งอยู่ใต้กระเพาะปัสสาวะพบลำของมดลูก (uterine body) ขนาดยาวประมาณ 6 cm (Fig. 7) จึงมัดเส้นเลือดที่มาเลี้ยง (uterine vessels) แล้วตัดตัวมดลูกที่เหลือให้สั้นลง จากนั้นทำการตรวจสอบว่าไม่มีเลือดออกในช่องท้องแล้วจึงทำการเย็บปิดช่องท้อง

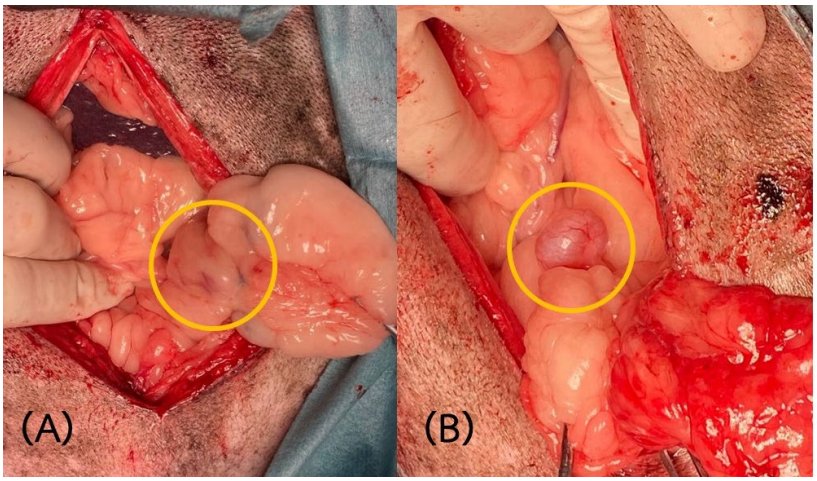


Fig. 6 Left ovarian remnant with small cyst 0.5X0.5 cm (A), and right ovarian remnant size 1X1 cm (B)

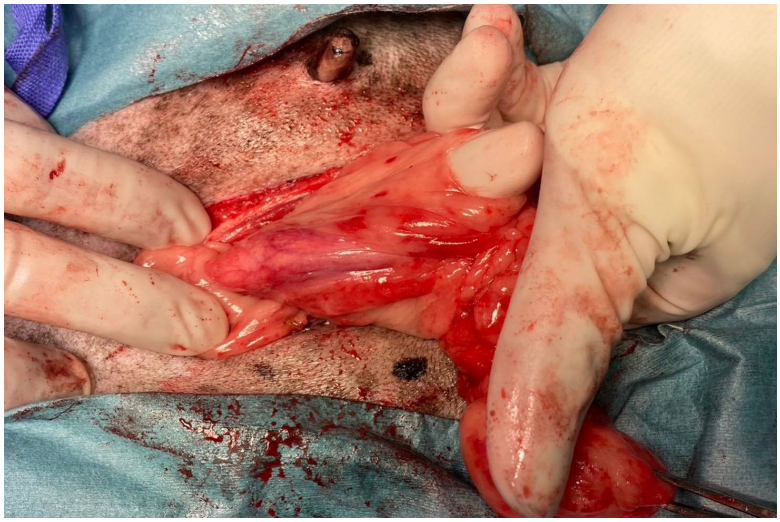


Fig. 7 Uterine stump are 6 cm

การผ่าตัดก้อนเนื้อที่เต้านม พบก้อนที่เต้านมคู่ที่ 2 ทางด้านขวาขนาด 5×7 cm และคู่ที่ 5 ทางด้านซ้าย ขนาด 1×1 cm ทำการผ่าตัดแบบ simple mastectomy โดยการกรีดเป็นวงรีรอบเต้านมและเลาะเต้านมออก และนำส่งตัวอย่างชิ้นเนื้อเพื่อวิเคราะห์ต่อไป

ผลทางพยาธิวิทยาของชิ้นเนื้อ ตำแหน่งชิ้นเนื้อทั้ง 4 ตำแหน่ง พบการรายงาน ดังนี้ 1. Remnant of right ovary with ovarian cyst จากชิ้นเนื้อบริเวณรังไข่ข้างขวา 2. Remnant of left ovary จากชิ้นเนื้อบริเวณรังไข่ข้างซ้าย 3. Lipoma จากก้อนที่เต้านมคู่ที่ 2 ทางด้านขวา 4. Solid carcinoma จากก้อนที่เต้านมคู่ที่ 5 ทางด้านซ้าย จากผลทางพยาธิวิทยาทำให้สามารถสรุปการวินิจฉัยเจาะจง (definite diagnosis) ได้ว่า สัตว์ป่วยมีภาวะรังไข่คงค้างและมะเร็งเต้านม

วิจารณ์ผล

การวินิจฉัยภาวะรังไข่คงค้าง ส่วนมากจะเริ่มจากการเจ้าของแจ้งว่า (client complaint) สัตว์มีอาการเป็นสัดแม้จะทำหมันไปแล้ว การตรวจวินิจฉัยจะแยกได้จากประวัติ การแสดงอาการการเป็นสัด ผลเซลล์เยื่อบุช่องคลอดที่อาจพบลักษณะ cornified cell ที่บงชี้ถึงระยะ estrus หรือจากอิทธิพลของฮอร์โมนเอสโตรเจน การตรวจค่าฮอร์โมนเอสโตรเจนและโปรเจสเตอ-โรนพื้นฐาน และการตรวจอัลตราซาวนด์เพื่อค้นหาตำแหน่งหรือข้างที่มีการคงค้าง ในกรณีศึกษาเรื่องภาวะรังไข่คงค้างพบร่วมจากปัญหาการเกิดเต้านมขยายใหญ่จากภาวะท้องเทียม โดยที่เจ้าของอาจจะไม่ได้แจ้งปัญหาเกี่ยวกับอาการเป็นสัด ซึ่งอีกจุดสังเกตของปัญหาการคงค้างของรังไข่ที่ทำให้เกิดกลุ่มอาการที่สัมพันธ์กับระดับฮอร์โมนเพศโปรเจสเตอโรนที่สร้างจากรังไข่ ร่วมกับเนื้องอกรังไข่ชนิด granulosa cell tumor (Chinawat et al., 2021) อย่างไรก็ดีไม่ทุกตัวที่จะมีการแสดงออกหรือตรวจค้นหาได้ทันทีจากขั้นตอนที่กล่าวมา หนึ่งในทางเลือกที่ช่วยในการยืนยันภาวะรังไข่คงค้างก็คือการกระตุ้นด้วยฮอร์โมน (hormone challenge) โดยพบว่ามักพบระดับฮอร์โมนเพศที่สูงขึ้น (Feldman and Nelson, 2004; Perkins and Frazer, 1995; Prats, 2001) นอกจากนั้นกรณีศึกษาดังกล่าวยังได้นำเสนอการตรวจอัลตราซาวนด์อาจจะไม่ให้ข้อมูลที่แน่ชัดทั้งหมด อาจไม่พบรังไข่ในช่วงเวลาที่ฮอร์โมนเพศต่ำมาก ส่วนศัลยแพทย์จึงยังจำเป็นจะต้องตรวจเช็คตำแหน่งของรังไข่ทั้งสองข้างร่วมกับตอมดลูกที่เหลือ

จากการผ่าตัดแก้ไขภาวะรังไข่คงค้าง มักพบว่าสาเหตุส่วนใหญ่เกิดจากการที่การผ่าตัดครั้งก่อนมีการผ่าตัดแผลที่มีขนาดเล็ก ทำให้พื้นที่ในการทำงานมีจำกัด จึงอาจจะทำให้เกิดความผิดพลาดขึ้นได้ง่าย โดยในการผ่าตัดแก้ไขนั้นค่อนข้างทำได้ยากกว่าการทำหมันแบบปกติ เนื่องจากจะต้องเปิดแผลผ่าตัดให้กว้างขึ้นกว่าการทำหมันแบบปกติมาก เพื่อที่จะได้เข้าไปหารัง-ไข่ที่เหลือได้ชัดเจนขึ้น อีกทั้งการผ่าตัดแก้ไขในบางครั้งอาจจะพบว่ามีการยึดเกาะกันของอวัยวะจากผลการผ่าตัดครั้งก่อน ซึ่งบางครั้งอาจจะทำให้ต้องมีการเพิ่มระยะเวลา และวิธีการผ่าตัด เช่น อาจจะต้องมีการตัดต่อลำไส้ หรือตัดกระเพาะปัสสาวะ เป็นต้น ซึ่งอาจจะส่งผลกระทบกับตัวสัตว์ และค่าใช้จ่ายในการรักษาที่เพิ่มสูงขึ้น

สรุป

ภาวะรังไข่คงค้างยังคงเป็นปัญหาที่พบได้ ซึ่งเกือบทั้งหมดมักเกิดจากการเปิดผ่าตัดทำหมันที่ไม่เรียบร้อยโดยมีการคงเหลือชิ้นเนื้อรังไข่ไว้ ระยะเวลาการแสดงอาการกลับสัดสั้นหรือยาวหลังการทำหมันนั้นขึ้นกับขนาดของชิ้นเนื้อรังไข่ที่คงเหลือ กรณีการศึกษานี้จะเห็นว่าสุนัขไม่มีอาการเป็นสัดแต่พบลักษณะคล้ายถุงน้ำที่รังไข่โดยบังเอิญจากการตรวจอัลตรา- ซาวนด์ รวมถึงการตรวจค้นหาจากเซลล์เยื่อบุช่องคลอด และค่าฮอร์โมนเพศอาจจะเป็นข้อจำกัดในบางตัว การใช้การเหนี่ยวนำด้วยฮอร์โมนกระตุ้นการทำงานรังไข่จึงเป็นอีกวิธี เพื่อยืนยันการวินิจฉัยให้แน่นชัดก่อนการเปิดผ่า นอกจากนั้นรังไข่ที่คงค้างจะยังคงทำให้สุนัขมีความเสี่ยงของโรคเนื้องอกเต้านมเช่นเดียวกับสุนัขที่ไม่ได้ทำหมัน หรือปัญหา stump pyometra จึงควรทำการแก้ไขเมื่อตรวจพบและยืนยันการวินิจฉัยขั้นสุดท้ายจากการส่งชิ้นเนื้อตรวจทางพยาธิ

กิตติกรรมประกาศ

ผศ.น.สพ.ดร.เกรียงศักดิ์ ไพรหิรัญกิจ พยาธิสัตวแพทย์ผู้ประเมินผลตรวจเนื้อเยื่อ

เอกสารอ้างอิง

Feldman, E.C., Nelson, R.W. 2004. Ovarian remnant syndrome. Canine and Feline Endocrinology and Reproduction. 3rd ed, WB Saunders Company. Philadelphia, PA, USA. 11830, pp. 892–893.

Johnston, S.D., Kustritz, M.V., Olson, P.S. 2001. Canine and feline theriogenology.

McEntee, K. (ed.). 1990. Reproductive pathology of domestic mammals. Academic Press. New York, NY, USA.

Miller, D.M. 1995. Ovarian remnant syndrome in dogs and cats: 46 cases (1988–1992). J. Vet. Diagn. Invest. 7: 572–574.

Mullikin, K., Byron, M., Chen, J., Cheong, S.H., Gartley, C., de Amorim, M.D. 2022. Ovarian remnant syndrome in small animals: case series. Clinical Theriogenology. 14: 370-377.

Percival, A., Singh, A., Gartley, C., Balsa, I., Case, J.B., Mayhew, P.D., Oblak, M., Brisson, B. A., Runge, J.J., Valverde, A., Alex Zur Linden, R., Gatineau, M. 2020. Single-port laparoscopic treatment and outcome of dogs with ovarian remnant syndrome: 13 Cases (2010–2018). J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 56: 114–119.

Sontas, B.H., Gürbulak, K., Ekici, H. 2007. Ovarian remnant syndrome in the bitch: A literature review. Arch. Med. Vet. 39: 99–104.

Stone, E.A. 2003. Ovary and uterus. In: Small animal surgery. 3rd ed. WB Saunders Company. Philadelphia, PA, USA. 1487–1502.

Supphasitthikulchaia, C., Chuachotea, T., Promoola, S., Limmanont, C. 2021. Pseudopregnancy and granulosa cell tumor in dog with ovarian remnant syndrome: A case report. In: Proceedings of 59th Kasetsart University Annual Conference: Plants, Animals, Veterinary Medicine, Fisheries, Agricultural Extension and Home Economics, Bangkok, Thailand. [in Thai].

Wallace, M.S. (1991). The ovarian remnant syndrome in the bitch and queen. Vet. Clin. N. Am. - Small Anim. 21: 501–507.

สาขาประมง

(Subject: Fisheries)

ภาคโปสเตอร์

(Poster Presentation)

In Vitro efficacy of povidone-iodine and hydrogen peroxide in controlling *VIbrio parahaemolyticus* (AHPND)

Pakawat Poldetch*, Akira Wongwannaraksa

Ruamrudee International School, Bangkok 10510, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: pakawatp28@rism.ac.th

Abstract

Vibrio parahaemolyticus, especially the strain that causes acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND), poses significant challenges in shrimp aquaculture, leading to substantial economic losses. Effective control measures are crucial for maintaining shrimp health and industry sustainability. This study investigated the *in vitro* efficacy of povidone-iodine (PVP-I) and hydrogen peroxide (H_2O_2) in controlling *V. parahaemolyticus* (AHPND), focusing on their bactericidal and biofilm inhibition capabilities. The study employed broth microdilution methods to determine the minimum inhibitory concentrations (MICs) of PVP-I and H_2O_2 against *V. parahaemolyticus* (AHPND). Time-kill assays were conducted to assess the time-dependent bactericidal effects of both chemicals. Additionally, the efficacy of these disinfectants in inhibiting biofilm formation of *V. parahaemolyticus* (AHPND) was evaluated. PVP-I and H_2O_2 effectively inhibited bacterial growth and biofilm formation of *V. parahaemolyticus* (AHPND) at concentrations starting from 10 ppm. Time-kill assays indicated a more immediate bactericidal effect of PVP-I compared to H_2O_2. PVP-I and H_2O_2 can control *V. parahaemolyticus* (AHPND) in shrimp aquaculture. Their capacity to inhibit both growth and biofilm formation of the bacteria suggests their applicability in preventing and managing AHPND in shrimp farming. These findings open avenues for developing practical application protocols and further *in vivo* studies to enhance aquaculture health management strategies.

Keywords: Bactericidal efficacy, Biofilm inhibition, Disinfectants, Shrimp aquaculture, *Vibrio parahaemolyticus* (AHPND)

Introduction

In aquaculture, controlling waterborne pathogenic bacteria is crucial for the health and sustainability of aquatic species. A significant threat includes *V. parahaemolyticus*, particularly the strains causing acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND), which has been responsible for severe economic losses in the shrimp farming industry. AHPND has drastically reduced shrimp production in affected areas, with global losses estimated at around USD 43 billion (Tran et al., 2013). The secretion of Pir toxin proteins characterises the disease from a unique strain of *V. parahaemolyticus*, which is critical in the pathogenesis of AHPND (Zhou et al., 2021; Ha et al., 2023).

Povidone-iodine (PVP-I) is a broad-spectrum biocide effective against bacteria, fungi, viruses, and protozoans and is widely used in aquaculture. Its germicidal concentration in aquaculture water has been identified as 25 ppm for 12 hr, or 10-20 ppm to kill 99-100% of bacteria in indoor aquaculture water containing *V. parahaemolyticus* (AHPND) at a concentration of $2x10^8$ CFU/mL (Nunan et al., 2014). PVP-I is generally considered safe for oranda goldfish at concentrations below 60 ppm (Yalsuyi et al., 2021). For shrimp larvae, PVP-I immersion at 20 ppm for 20 seconds was proven to be safe (Pangastuti et al., 2009). Hydrogen peroxide (H_2O_2) is another common disinfectant known for its antimicrobial effects and ability to degrade into harmless by-products: water and oxygen. It is used in aquaculture as an immersion treatment against various disease-causing organisms, including parasites, bacteria, and fungi. H_2O_2 in aquaculture in the United States is regulated by the FDA, with a maximum treatment concentration of 500 µl/L on fish and their eggs (Rach et al., 1998).

The *in vitro* antibacterial activity of the PVP-I and H_2O_2 has been documented for *Vibrio* spp. bacteria; for example, 0.5% PVP-I with 5 minutes of exposure was found useful against *V. cholerae* (Sauerbrei et al., 2020) and 25 ppm H_2O_2 could successfully suppress *V. harveyi* after 48 hr (Ganjoor and Mehrabi, 2017). Nonetheless, the effective doses of these two substances against *V. parahaemolyticus* (AHPND) have rarely been reported in the literature. This study aimed to evaluate the *in vitro* efficacy of two commonly used disinfectants, PVP-I and H_2O_2, in controlling the *V. parahaemolyticus* (AHPND) in aquatic environments. The study consisted of three experiments: time-kill, broth microdilution, and biofilm formation inhibition assays. The results offer beneficial insights into the optimal use of PVP-I and H_2O_2 in controlling AHPND in shrimp aquaculture.

Materials and Methods

Bacterial isolation

Vibrio parahaemolyticus (AHPND) isolated from Aquaculture Business Research Center (ABRC), Faculty of Fisheries, Kasetsart University was used. The isolate was cultured on nutrient agar supplemented with 1.5% NaCl and incubated at 37°C for 18-24 hr Then, it was sub-cultured one more time prior to use.

Experiment 1: Time-kill assay

A time-kill assay was conducted to evaluate the bactericidal activity of PVP-I and H_2O_2 *V. parahaemolyticus* (AHPND), following the methodology described by Elexson et al., (2014) with some modifications. The assay was performed in a nutrient agar (NA) medium supplemented with 1.5% NaCl. The *V. parahaemolyticus* (AHPND) culture, initially incubated overnight in a 96-well plate, was exposed to two different concentrations of both disinfectants: 10 and 100 ppm. The bacterial count was performed by the spread-plate technique at 0, 15, 30 min, 1, 2, 4, 8, and 24 hr of exposure. This assessment aimed to delineate the time-dependent bactericidal effects of PVP-I (Mundipharam LTD. Bangkok, Thailand) and H_2O_2 (Siribuncha Co., LTD. Nonthaburi, Thailand) against *V. parahaemolyticus* (AHPND).

Experiment 2: Broth microdilution assay

The susceptibility test of bacteria to PVP-I and H_2O_2 was performed using the broth microdilution technique (CLSI 2014), and the result was presented as the minimum inhibitory concentration (MIC). The study began by dispersing the bacterium in 0.85% NaCl, followed by measuring the absorbance value with a spectrophotometer at a wavelength of 625 nm (optical density: OD) to obtain an absorbance value between 0.08 and 0.13, which is equivalent to a bacterial concentration of $1x10^8$ CFU/mL The bacteria were then diluted two 100-fold with 0.85% NaCl to obtain a bacterial concentration of approximately $1x10^4$ CFU/mL

The MIC was determined by preparing different concentrations of PVP-I and H_2O_2 in a 96-well microtiter plate using a 2-fold serial dilution method to obtain concentrations range from 20 to 0.039 ppm (50 µL/well). A volume of 25 µL of bacterial solution (approximately $1x10^4$ CFU/mL) was added to each well. Mueller-Hinton Broth (MHB) (25 µL) was added immediately for PVP-I and after 1 hour for H_2O_2 to provide essential nutrients for any surviving bacteria, enabling the bacterial growth to be visually detectable. The addition time of MHB was based on the time of action of the test substances from a time-kill assay. At the end of this step, 10 different concentrations of the chemicals were obtained, namely 10, 5, 2.5, 0.625, 0.312, 0.156, 0.078, 0.039, and 0.019 ppm. Each concentration was tested in quadruplicates, with each well containing approximately $2.5x10^3$ CFU/mL of bacteria. The 96-well microtiter plate was then incubated at 37°C for 18-24 hr, and the results were read by observing the formation of bacterial turbidity in each well. The chemical with the lowest concentration that showed no bacterial growth was considered to be the MIC.

Experiment 3: Biofilm formation inhibition assay

After the bacterial growth inhibition assay was completed, the 96-well plate from the broth microdilution experiment was gently washed with clean water and dried overnight at room temperature. The biofilm in each well was stained with 1% crystal violet for 30 minutes, washed with clean water, and left overnight. Then, 150 µL of 95% ethanol was added to each well until a homogeneous solution was obtained. Finally, the absorbance of each well was measured at 600 nm using a microplate reader. The % biofilm formation inhibition was calculated using the following Equation 1:

$$\% \text{ inhibition} = \frac{\text{Absorbance of the control} - \text{Absorbance of the chemical}}{\text{Absorbance of the control}} \times 100 \quad (1)$$

Results

PVP-I at the concentrations of 10 and 100 ppm completely inhibited the growth of *V. parahaemolyticus* (AHPND) from 0 to 24 hr of exposure. H_2O_2 at the concentration of 10 ppm effectively inhibited the growth of *V. parahaemolyticus* (AHPND) after approximately 2 hr, the concentration of 100 ppm effectively inhibited the growth of *V. parahaemolyticus* (AHPND) after 0.5 hr (Fig. 1). The MICs of PVP-I and H_2O_2 against *V. parahaemolyticus* (AHPND) were 10 ppm (Fig. 2).

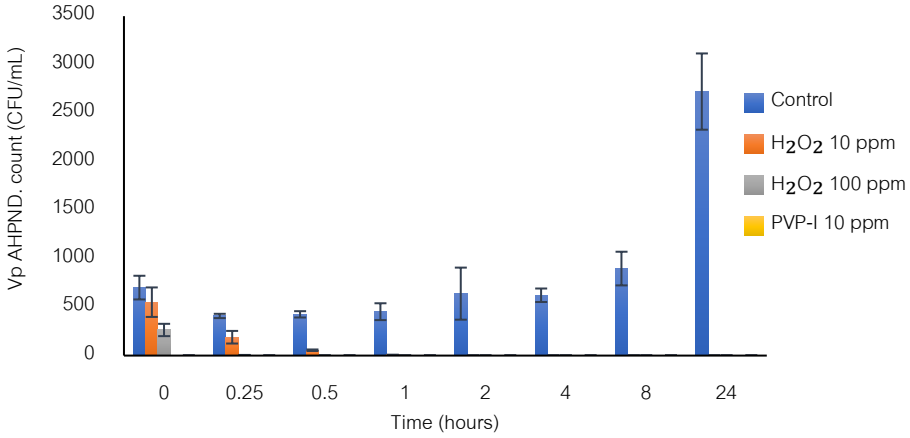


Fig. 1 Time-kill assay of PVP-I and H_2O_2 against *V. parahaemolyticus* (AHPND)

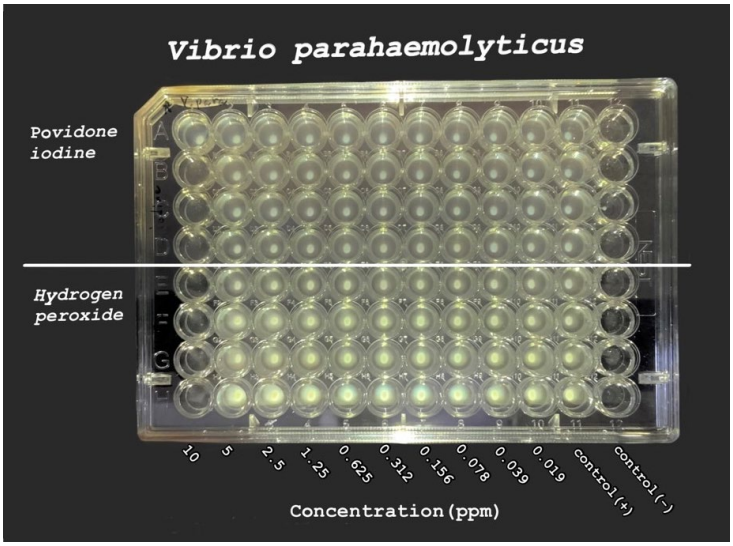


Fig. 2 Susceptibility of *V. parahaemolyticus* (AHPND) to PVP-I and H_2O_2 determined by broth microdilution assay

PVP-I could inhibit the biofilm formation of *V. parahaemolyticus* (AHPND) best at concentrations of 5-10 ppm, by approximately 27 and 32%, respectively. Likewise, H_2O_2 showed highest inhibition at 5-10 ppm, by approximately 33 and 39%, respectively. Note that H_2O_2 showed a better ability to inhibit the formation of biofilms of the bacteria than PVP-I at all concentrations tested (Fig. 3 and Fig. 4).

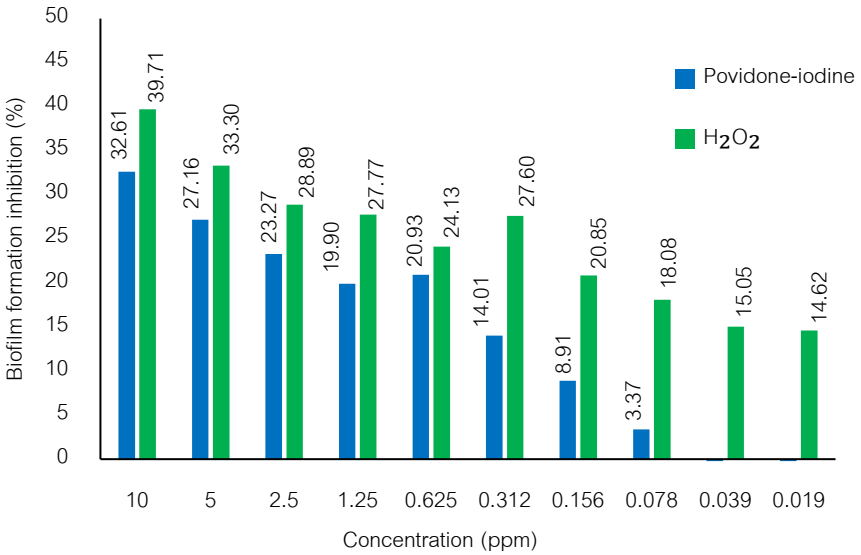


Fig. 3 Biofilm formation inhibition of PVP-I and H_2O_2 against *V. parahaemolyticus* (AHPND) indicated by absorbance reduction

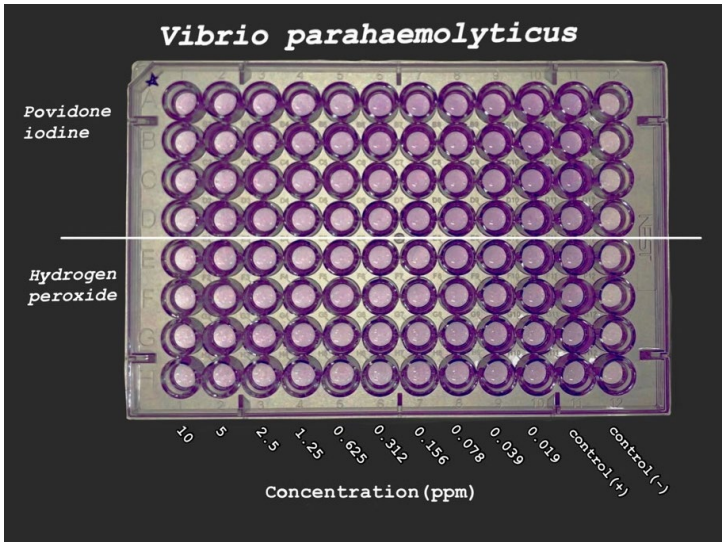


Fig. 4 Biofilm formation inhibition of PVP-I and H_2O_2 against *V. parahaemolyticus* (AHPND) indicated by crystal violet staining

Discussion

Acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) poses a severe threat to the shrimp farming industry globally. This disease is primarily caused by specific strains of *Vibrio parahaemolyticus* that carry plasmid-encoded toxins PirA and PirB. Shrimp farming has been experiencing significant economic losses due to the high mortality rate of farmed shrimp within a short period (Tran et al., 2013). Unfortunately, there is currently no effective treatment available for AHPND. Therefore, early diagnosis and disinfection of the water before use is crucial in preventing the spread of AHPND since antibiotics in aquaculture have raised concerns about environmental pollution and the development of antibiotic-resistant bacteria. (Eshik et al., 2018; Lin et al., 2019; Okeke et al., 2022; Santos et al., 2020). PVP-I and H_2O_2 are widely used as disinfectants for treating external parasites and pathogens in aquaculture. These compounds have been recommended for the prophylactic treatment of fish eggs, and they play a crucial role in maintaining the health and well-being of aquatic species (Chalupnicki et al., 2011; Patrick et al., 2019)

This study demonstrated that 10 ppm PVP-I and H_2O_2 effectively inhibited the growth and biofilm formation of *V. parahaemolyticus* (AHPND). The results were consistent with previous studies highlighting their antibacterial properties (Ganjoor and Mahrebi, 2017; Sauerbrei et al., 2020). The ability of both disinfectants to inhibit biofilm formation is particularly significant, as biofilms are known to protect bacteria from adverse conditions. Both PVP-I and H_2O_2 inhibited *V. parahaemolyticus* (AHPND) biofilm formation in a concentration-dependent manner. The highest inhibitory activity for PVP-I was observed at 10 ppm, resulting in a 32% reduction in biofilm formation compared to the control. H_2O_2 exhibited a stronger inhibitory effect than PVP-I at all concentrations tested. The highest biofilm inhibition by H_2O_2 was observed at 10 ppm, with a 39% reduction compared to the control.

These findings underscore the importance of appropriate concentration for aquacultural applications to control *V. parahaemolyticus* (AHPND) infection. The time-kill assay revealed the time-dependent bactericidal effects of both disinfectants. PVP-I showed immediate effectiveness at both tested concentrations (10 and 100 ppm), whereas H_2O_2 required approximately 2 hr at 10 ppm and 0.5 hr at 100 ppm to be 100% effective. This suggests a faster action of PVP-I than H_2O_2, an essential consideration in aquaculture settings where rapid response can be crucial. The study's findings are particularly relevant to the aquaculture industry, where managing bacterial pathogens is crucial for the health of aquatic species and economic sustainability. Given the broad-spectrum biocidal properties of PVP-I and H_2O_2 and their relatively safe profiles for aquatic species, these disinfectants present viable options for controlling AHPND in shrimp aquaculture (Nunan et al., 2014; Rach et al., 1998). These results support the use of these disinfectants in shrimp aquaculture for controlling AHPND, contributing to the health and sustainability of shrimp farming. Future research should focus on *in vivo* studies and the development of practical application protocols to maximise the benefits of these treatments in real-world aquaculture settings.

Conclusion

The study conclusively demonstrates the *in vitro* efficacy of PVP-I and H_2O_2 in controlling the proliferation of *V. parahaemolyticus* (AHPND) in aquatic environments. Both disinfectants at 10 ppm effectively inhibited the growth of the bacteria, with PVP-I showing a more immediate effect. PVP-I and H_2O_2 at 10 ppm inhibited biofilm formation by 32% and 39%, respectively. The findings of this study thus offer significant insights for aquaculture practitioners and researchers, highlighting the potential of PVP-I and H_2O_2 as effective tools in managing bacterial diseases in aquaculture.

Acknowledgements

The authors extend our sincere gratitude to Mr. Kom Penpoo, General Science Educator at Ruamrudee International School Middle School, for his invaluable supervision and guidance throughout this scientific project. The authors are also deeply grateful to Asst. Prof. Dr. Tirawat Rairat, Mr. Parattagorn Kachapol, and Ms. Arunothai Keetanon for their generous support. Their willingness to provide us with all the necessary materials and share their knowledge of microbiology techniques was instrumental in our ability to conduct this research effectively.

References

Chalupnicki, M.A., Ketola, H.G., Starliper, C.E. Gallagher. D. 2011. Efficacy and toxicity of iodine disinfection of Atlantic salmon eggs. N. Am. J. Aquac. 73: 124–128. doi.org/10.1080/15222055.2011.559865

CLSI. 2014. Methods for Broth Dilution Susceptibility Testing of Bacteria Isolated from Aquatic Animals; Approved Guideline (VET04-A2), 2nd ed. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, PA, USA.

Elexson, N., Hejri, L.A., Rukayadi, Y., Soopna, P., Lee, H.Y., Zainazor, T.C.T., Ainy, M.N., Nakaguchi, Y., Mitsuaki, N., Son. R. 2014. Effect of detergents as antibacterial agents on biofilm of antibiotics-resistant *Vibrio parahaemolyticus* isolates. Food Control. 35: 378–385. doi.org/10.1016/j.foodcont.2013.07.020

Eshik, M.E., Punom, N.J., Begum, M.K., Khan, M.T., Saha, M.L., Rahman, M.S. 2018. Molecular characterisation of acute hepatopancreatic necrosis disease causing *Vibrio parahaemolyticus* strains in cultured shrimp *Penaeus monodon* in south-west farming region of Bangladesh. Dhaka Univ. J. Biol. Sci. 27: 57–68. doi.org/10.3329/dujbs.v27i1.46411

Ganjoor, M., Mehrabi, M. 2017. Inhibitory effect of hydrogen peroxide (H_2O_2) and ionic silver (Sanosil-25®) on the growth of a pathogenic bacterium (*Vibrio harveyi*) isolated from shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Oceanography & Fisheries Open Access Journal 2. doi.org/10.19080/OFOAJ.2017.02.555591

Ha, P.T.H., Thi, Q.V.C., Thuy, N.P., Luan, N.T. 2023. Multi-antibiotics resistance phenotype of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* isolated from acute hepatopancreatic necrosis disease in *Litopenaeus vannamei* farmed in the Mekong Delta. J. World Aquac. Soc. 54: 1070–1087. doi.org/10.1111/jwas.12945

Lin, S.J., Chen, Y.F., Hsu, K.C., Chen, Y.L., Ko, T.P., Lo, C.F., Wang, H.C., Wang, H.C. 2019. Structural insights to the heterotetrameric interaction between the *Vibrio parahaemolyticus* $PirA^{vp}$ and $PirB^{vp}$ roxins and activation of the cry-like pore-forming domain. Toxins (Basel) 11: 1–15. doi.org/10.3390/toxins11040233

Nunan L.M., Lightner, D., Pantoja, C., Jimenez, S.G. 2014. Detection of acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND) in Mexico. Dis. Aquat. Org. 111: 81–86. doi.org/10.3354/dao02776

Okeke, E.S., Chukwudozie, K.I., Nyaruaba, R., Ita, R.E., Oladipo, A.O., Ejeromedoghene, O., Atakpa, E.O., Agu, C.V., Okoye, C.O. 2022. Antibiotic resistance in aquaculture and aquatic organisms: A review of current nanotechnology applications for sustainable management. Environ. Sci. Pollut. Res. Int. 29: 69241–69274. doi.org/10.1007/s11356-022-22319-y

Pangastuti, A., Suwanto, A., Lestari, Y., Suhartono, M.T. 2009. Effect of povidone- iodine treatment on bacterial community associated with white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae. Mar. Res. Indonesia. 34: 71–80. doi.org/10.14203/mri.v34i2.471

Patrick, G., Tarnecki, A.M., Rhody, N.R., Schloesser, R., Main, K., Floyd, R.F. 2019. Disinfection of almaco jack (*Seriola rivoliana* valenciennes) eggs. Aquac. Res. 50: 3793–3801. doi.org/10.1111/are.14342

Rach, J.J., Gaikowski, M.P., Howe, G.E., Schreier, T.M. 1998. Evaluation of the toxicity and efficacy of hydrogen peroxide treatments on eggs of warm- and coolwater fishes. Aquac. 165: 11–25. doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00248-8

Santos, H.M., Tsai, C.Y., Maquiling, K.R., Tayo, L.L., Mariatulqabtiah, A.R., Lee, C.W., Chuang, K.P. 2020. Diagnosis and potential treatments for acute hepatopancreatic necrosis disease (AHPND): A review. Aquacult.Int. 28: 169–185. doi.org/10.1007/s10499-019-00451-w

Sauerbrei, A. 2020. Bactericidal and virucidal activity of ethanol and povidone-iodine. Microbiologyopen. 2020 Sep; 9:e1097. doi.org/10.1002/mbo3.1097.

Tran, L., Nunan, L., Redman, R.M., Mohney, L.L., Pantoja, C.R., Fitzsimmons, K., Lightner, D.V. 2013. Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. Dis Aquat Organ. 105: 45–55. doi.org/ 10.3354/dao02621

Yalsuyi, A.M., Vajargah, M.F., Hajimoradloo, A., Galangash, M.M., Prokic, M.D., Faggio, C. 2021. Can Betadine (10% povidone-iodine solution) act on the survival rate and gill tissue structure of Oranda goldfish (*Carassius auratus*). Vet.Res.Commun. 46: 389–396. doi.org/10.1007/s11259-021-09862-8

Zhou, Z., Li, R., Aweya, J.J., Yao, D., Wang, F., Li, S., Tuan, T.N., Zhang, Y. 2021. The PirB toxin protein from *Vibrio parahaemolyticus* induces apoptosis in hemocytes of *Penaeus vannamei*. Virulence. 12: 481–492. doi.org/10.1080/21505594.2021.1872171

Functional identification of molt-inhibiting hormone receptor as G-protein coupled receptor by RNAi in mud crab *Scylla olivacea*

Thatsaphon Khanleg[a] , Sanit Piyapattanakorn[a,c], Sirinart Techa[b,c,*]

[a]Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

[b]National Center for Genetic Engineering and Biotechnology (BIOTEC), National Science and Technology Development Agency (NSTDA), Pathum Thani 12120, Thailand

[c]Center of Excellence for Marine Biotechnology, Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: sirinart.tec@biotec.or.th

Abstract

This research aimed to investigate the putative receptor of molt-inhibiting hormone (MIH) in Y-organ (YO) in mud crab, *Scylla olivacea*. We have isolated methuselah G-protein coupled receptor (GPCR): ScoGPCR-B3a and ScoGPCR-B3b, and their functions were examined through RNA interference in coupling with incubation studies of recombinant MIH (Trx-MIH). The dissected YOs were subjected to invitro knockdown at 5 μg/mL for 6 h and subsequently stimulated by Trx-MIH to observe responses in cAMP and Protein Kinase A (PKA). The cAMP responses were measured at 0, 1, and 5 min, while PKA responses were examined at 0, 30 min, 1 h, 4 h, and 6 h. The result showed cAMP levels in *dsGPCR-B3a* treated YO were decreased at 1, 5 min while those in the *dsGPCR-B3b* treated YO only dropped at 5 min. For the PKA, the levels in dsGPCR-B3a treated YO were decreased at 4 h, 6 h. According to our findings, it is reasonable to propose that ScoGPCR-B3a and ScoGPCR-B3b might serve as MIH receptors as they could generate cAMP and stimulate PKA upon activated by Trx-MIH. This finding is significant because molting stimulant(s) can be designed from this putative MIH receptor and it will be valuable in crustacean aquaculture.

Keywords: G-protein coupled receptor, Molt-inhibiting hormone, Mud crab, Protein Kinase A, RNAi

Introduction

Mud crabs (*Scylla olivacea*) are economically important for aquaculture in Thailand. The total export value in 2017 was 1,141.77 million baht (Department of Fisheries, 2018), and the value of soft-shell crabs is much higher than that of the hard-shell form. This has led to the rapid growth of the soft-shell crab production business. However, due to the difficulty of production, producers need to monitor and harvest the crabs immediately after molting. Currently, they amputate the legs or use chemicals that are not supported by academic documents to stimulate molting. Therefore, if we can develop a method to stimulate molting, it will make the crabs grow faster

Molting of crustaceans stimulated by a hormone named ecdysteroid but are inhibited by inhibit – molting hormone (MIH). MIH is stored and released from the sinus glands to inhibit to Y-organ (YO) for ecdysteroid genesis (Webster and Keller, 1986; Chang et al., 1993; Spaziani et al.,1999). Since MIH is a neuropeptide hormone (Webster and Keller, 1986; Nakatsuji et al., 2008), it cannot diffuse into the cytosol. The signal must be transmitted through a receptor on the YO's cell membrane. When the MIH hormone binds to the receptor, it triggers a signal transduction pathway within the YO, resulting in the upregulation of Cyclic AMP (cAMP) and leading to the activation of Protein kinase A (PKA) as shown in the proposed model in Fig. 1 (Mykles and Chang, 2020). Therefore, this study aimed to identify the putative receptor for MIH by following its signaling pathway. The methuselah GPCRs, named ScoGPCR-B3a and ScoGPCR-B3b, were isolated and characterized to examine whether they could serve as the MIH receptor. *In vitro* knockdown of ScoGPCR-B3a and ScoGPCR-B3b in the YOs was performed, followed by stimulation with recombinant MIH (Trx-MIH). The experimental YOs were measured for responses in cAMP and PKA production, revealing that dsGPCR-B3a impairs signal transmission in both cAMP and PKA. These findings may contribute to the search for possible methods to effectively stimulate molting for use in the soft-shell crab production industry.

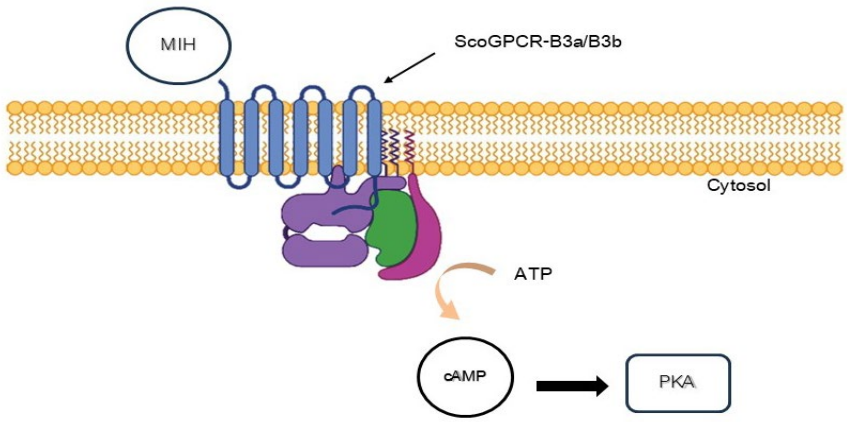


Fig. 1 The model of MIH signaling pathway in Y-organ (Mykles, 2021). In this study the putative MIH receptor(s) are ScoGPCR-B3a and/or ScoGPCR-B3b

Materials and Methods

Animals and sample collections

Mud crabs (50–80 g) were purchased from Nakorn Si Thammarat province, Thailand. Crabs at intermolt stage were screened *via* the swimming leg under stereomicroscope and were acclimated in concrete pond (1.0x1.5x0.7 m) in closed recirculating aquaculture system (RAS) with the following parameters: salinity 20-25 ppt, temperature 28-32 °C, pH 7.5-8.5, alkalinity 150-180 mg/L, calcium $\geq$ 400 mg/L as $CaCO_3$, magnesium 1:3 (Ca:Mg) mg/L as $CaCO_3$, ammonium 0.5 mg/L, and nitrite less than 1.0 mg/L. This acclimation process lasted for one week, during which the crabs were fed daily with frozen squid or clam, equivalent to 10% of their body weight. Y-organ (YO) that was bivalently located in the cephalothorax as ectodermal gland were excised from intermolt mud crabs. The dissected YOs were collected and placed in incubating media (0.05% M199 in crustacean saline) for 30 minutes before the experiment.

Synthesis of double-stranded RNA (dsRNA)

Sequence of GPCR-B3a and GPCR-B3b genes already received (accession no. MH298824 and MG983220, respectively). Then, the dsRNA was created by using T7-linked primers specific to each gene in a PCR reaction consisting of 2X PCR mastermix, T7-linked forward primer, T7-linked reverse primer and the cDNA template It was checked for size and the sample to confirm the results again, after which the plasmids were extracted. Then cut with EcoR-1 to get the T7-link template (Techa and Chung, 2015). After that create dsRNA using the OneScribe T7 Transcription Kit (abm®) by following the instructions provided. At the end of the reaction, remove the DNA templates and confirm the results with Gel Electrophoresis (Fig. 2A). and confirm knockdown ScoGPCR-B3a and ScoGPCR-B3b gene by quantitative PCR (qPCR) (Fig. 2B; 2C).

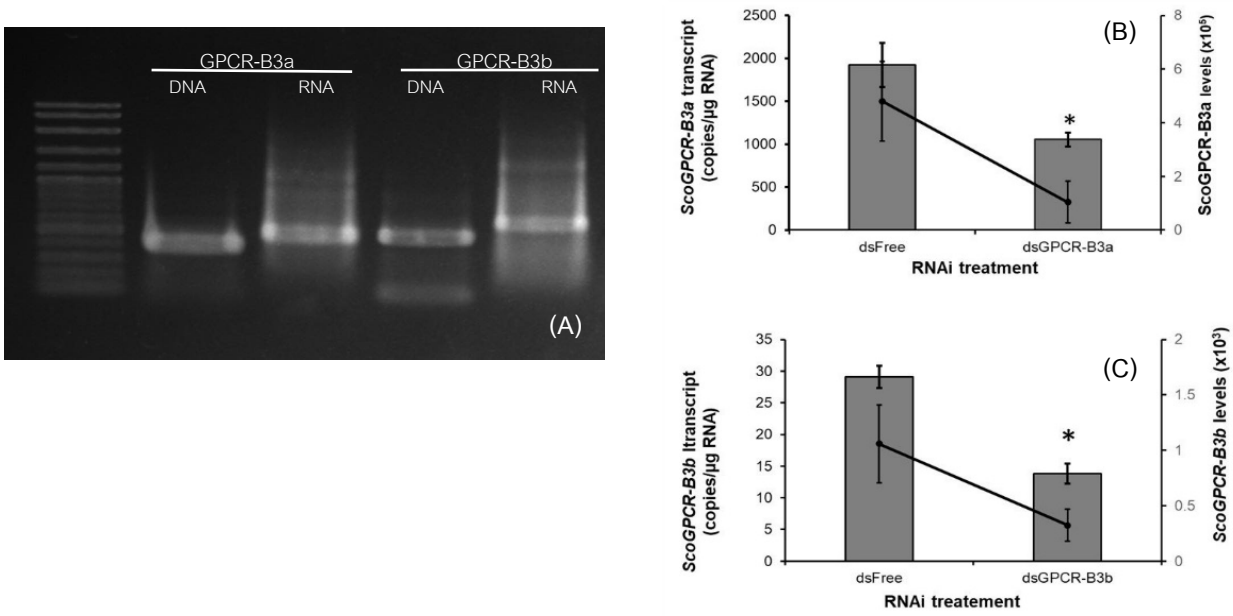


Fig. 2 Gel Electrophoresis shows ScoGPCR-B3a and ScoGPCR-B3b templates in comparison with the dsRNA products (A). Efficiency of *in vitro* knockdown for ScoGPCR-B3a (B) and ScoGPCR-B3b (C) transcripts when YO was incubated with dsRNA-free and dsScoGPCR-B3a or dsGPCR-B3b (n=3). The bar graph represents the result obtained from quantitative PCR (qPCR) while the line graph depicts from semi-quantitative PCR at 35 cycles with plasmid contained ScoGPCR-B3a or ScoGPCR-B3b at $1x10^5$ copies as reference for analysis intensity by ImageJ program. Statistical analysis in qPCR result was analyzed by student t-test: * indicates $p \leq 0.05$

cAMP/PKA Assay

The Y-organ, post-acclimation, was incubated at room temperature in 5 µg/mL dsRNA (GPCR-B3a and GPCR-B3b) as described by Xie et al., 2018 and Tu et al., 2021, for 6 hours with shaking. Subsequently, it was incubated in 5 fmol/mL saline with Trx-MIH for 0, 1, and 5 minutes, and the detection was performed using the DirectX® Cyclic AMP Immunoassay Kit. For PKA analysis, the Y-organ, post-incubation with dsRNA (GPCR-B3a), was treated with 5 fmol/mL saline and Trx-MIH for 0 min, 30 min, 1 hr, 4 hr, and 6 hr. The detection was carried out using the DirectX® PKA (Protein Kinase A) Activity Kit, and the optical density generated from each well was read in a microplate reader at 450 nm (Fig. 3). Statistical analysis was performed using one-way ANOVA (*$p \leq 0.05$), and each treatment was conducted in triplicate (n = 3/treatment).

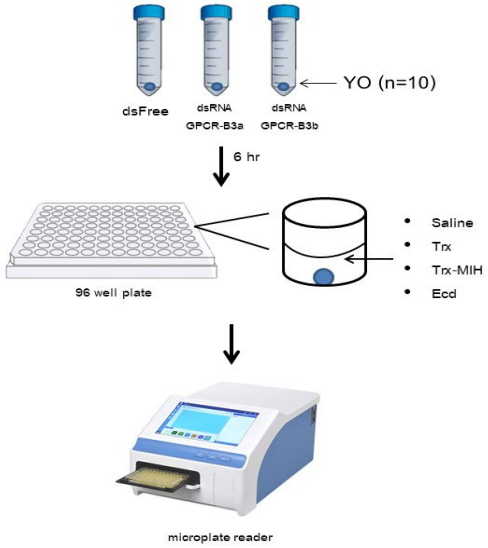


Fig. 3 Diagram of experiment for this *in vitro* knockdown in coupling with cAMP or PKA assay

Results and Discussion

This study aimed to examine whether the isolated ScoGPCR-B3a and ScoGPCR-B3b could serve as putative receptor for MIH. Since MIH receptor resides mainly in YO, the knockdown was performed through *in vitro* method in the dissected YO (Xie et al., 2018; Tu et al., 2021). This technique is effective as the transcripts of the ScoGPCR-B3a and ScoGPCR-B3b were reduced at 45.2% and 52.5%, respectively (Fig. 2B and 2C). These knockdown YOs were subjected for study in cAMP and PKA responses. The results showed that cAMP levels in normal YO (dsRNA-free) showed considerable variation in which the cAMP levels in intact YO induced by Trx-ScoMIH increased relative to the incubation times, a response not observed in other incubation treatments. The elevation in cAMP production following MIH induction is a common occurrence, reported in YO of *C. antennarius* and *G. lateralis* (Mattson and Spaziani, 1985; Chen et al., 2020; Mykles, 2021). On the other hand, cAMP levels in YO treated with dsGPCR-B3a were significantly decreased at 1 min (2.60±0.66 nmol/mg) and 5 min (3.00±1.15 nmol/mg protein) whereas the levels in intact YOs showed continuous increase at 13.79±1.44 nmol/mg protein and 19.28±0.40 nmol/mg protein, respectively. For the dsGPCR-B3b-treated YO, the levels only dropped at 5 min (4.94±1.77 nmol/mg protein) as shown in Fig. 4B. The deficiency in cAMP production in dsGPCR-B3a-treated YO becomes apparent as early as 1 min, with a more pronounced effect observed at 5 min, where the failure is also detected in dsGPCR-B3b-treated YO. These findings could infer that the defect responses in cAMP could be the consequences of the knockdown of ScoGPCR-B3a and ScoGPCR-B3b.

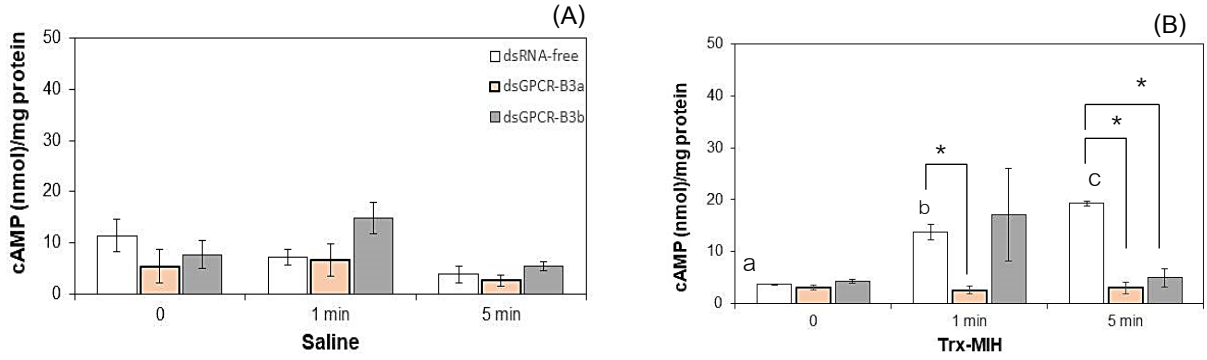


Fig. 4 Responses of cAMP in the YOs treated with dsGPCR-B3a (pink bar) and dsGPCR-B3b (grey bar) upon they were stimulate by Trx-MIH in comparison with the incubation media (Saline). Statistics was analyzed using one-way ANOVA. * Indicates $p \leq 0.05$

Since cAMP mediates the activity of PKA, the subsequent response through PKA activity was examined to confirm MIH signaling. Regarding the PKA response within a specific timeframe, the intact and dsGPCR-B3a treated YOs showed different responses. In intact YOs, PKA activity appeared to increase at 4 and 6 hours (357.72 ± 96.15 and 359.71±51.85 U/mg, respectively) as depicted in Fig. 5B (blue bar). On the other hand, the levels in dsGPCR-B3a-treated YOs declined at 4 and 6 hours (119.28±53.38 and 53.76±8.033 U/mg, respectively) (Fig. 5B, red bar). This result indicates that the defect in dsGPCR-B3a leads to impairment in the MIH signaling cascade. Taken together, the knockdown of ScoGPCR-B3a could result in defects in both cAMP and PKA responses when stimulated with Trx-MIH. In conclusion, the study demonstrates that in the mud crab YO, both ScoGPCR-B3a and ScoGPCR-B3b have the potential to function as MIH receptors, as they can generate cAMP and stimulate PKA upon activation by Trx-MIH. This finding is significant because further studies built upon this knowledge could explore practical approaches to control molting that will be valuable in crustacean aquaculture. Specifically, molting stimulant(s) can be designed from this putative MIH receptor; therefore, additional studies are required to validate and elaborate on this hypothesis, and we are currently in the process of conducting them.

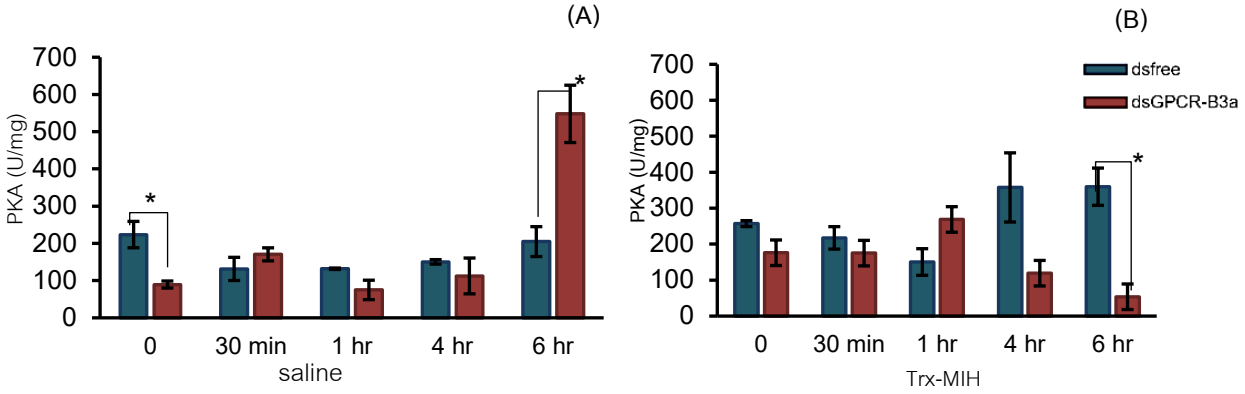


Fig. 5 Responses of PKA in the YOs treated with dsGPCR-B3a (red bar) upon they were stimulate by Trx-MIH in comparison with the incubation media (Saline). Statistics was analyzed using one-way ANOVA. * Indicates $p \leq 0.05$.

Conflict of Interest

The authors declare that there are no conflicts of interest.

Acknowledgements

This study was supported by Center of Excellence for Marine Biotechnology, Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand and The Institute for the Promotion of Teaching Science and Technology (IPST) under the Research Fund for DPST Graduates with First Placement (Grant no. 032/2558)

References

Chen, H.Y., Toullec, J.Y., Lee, C.Y. 2020. The crustacean hyperglycemic hormone superfamily: Progress made in the past decade. Front. Endocrinol. 11: 578958. doi.org/10.3389/fendo.2020.578958

Chang, E.S., Bruce, M.J., Tamone, S.L. 1993. Regulation of crustacean molting: A multi-hormonal system. American Journal of Zoology, 33: 324–329.

Mattson, M.P., Spaziani, E. 1985. Cyclic AMP mediates the negative regulation of Y-organ ecdysteroid production. Mol. Cell. Endocrinol. 42: 185–189. doi.org/10.1016/0303-7207(85)90106-6

Mykles, D.L., Chang, E.S. 2020. Hormonal control of the crustacean molting gland: Insights from transcriptomics and proteomics. Gen. Comp. Endocrinol. 294.

Mykles, D.L. 2021. Signaling pathways that regulate the crustacean molting gland. Front. Endocrinol. 12: 674711.

Nakatsuji, T., Lee, C.Y., Watson, R.D. 2009. Crustacean molt-inhibiting hormone: Structure, function, and cellular mode of action. Comp. biochem. physiol. 152: 139–148.

Sagi, A., Manor, R., Ventura, T. 2013. Gene silencing in crustaceans: From basic research to biotechnologies. Genes, 4: 620–645.

Saïdi, B., Bessé, N.d., Webster, S.G., Sedlmeier, D., Lachaise, F. 1994. Involvement of cAMP and cGMP in the mode of action of molt-inhibiting hormone (MIH) a neuropeptide which inhibits steroidogenesis in a crab. Mol. Cell. Endocrinol. 102: 53–61.

Shyamal, S., Das, S., Guruacharya, A., Mykles, D.L., Durica, D.S. 2018. Transcriptomic analysis of crustacean molting gland (Y-organ) regulation via the mTOR signaling pathway. Scientific Reports volume 8: 7307.

Spaziani, E., Mattson, M.P., Wang, W.L., Mcdougall, H.E. 1999. Signaling pathways for ecdysteroid hormone synthesis in crustacean Y-organs. American Journal of Zoology 39: 496–512.

Techa, S., Chung, J.S. 2015. Ecdysteroids Regulate the Levels of Molt-Inhibiting Hormone (MIH) Expression in the Blue Crab, Callinectes sapidus. PLoS ONE 10: e0117278. doi:10.1371/journal. pone.0117278

Tran, N.M., Mykles, D.L., Eilzur, A., Ventura, T. 2019. Characterization of g-protein coupled receptors from the black land crab *Gecarcinus lateralis* Y organ transcriptome over the molt cycle. BMC Genomics 74.

Tu, S., Xu, R., Wang, M., Xie, X., Bao, C., Zhu, D., 2021. Identification and characterization of expression profiles of neuropeptides and their GPCRs in the swimming crab, Portunus trituberculatus. PeerJ. 9: 12179.

Webter, S.G., Keller, R. 1986. Purification, characterisation and amino acid composition of the putative molt-inhibiting hormone (MIH) of *Carcinus maenas* (Crustacea, Decapoda). J. Comp. Physiol. B. 156: 617–624.

Lethal concentration 50 of Glutaraldehyde and Trichlorfon: Differential concentration on zebrafish (*Danio rerio*)

Chaluch Limpasontipong[a] Tanwarat Choojit[a], Tasneem Tosaman[a], Janista Jamnong[a], Thanakrit Ratanaprapaporn[a], Thanakrit Manujantarat[b], Suwaree Kitikiew[c], Sahabhop Dokkaew[a,d], Phunsin Kantha[a,e,*]

[a]Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

[b]PCN Marketing & Distribution Co., Ltd, Samut Sakhon 74130, Thailand

[c]Department of Animal Production Technology and Fisheries, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand.

[d]Ornamental Fish and Aquatic Plant Research and Technology Transfer Center, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

[e]Samut Songkharm Fisheries Research Station, Kasetsart University, Samut Songkhram 75000, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: phunsin.k@ku.th

Abstract

The utilization of chemical agents in the quarantine and disinfection process is a critical aspect of managing healthy ornamental fish, both as household aquarium and within retail stores. Effective management ensures the health and well-being of fish, preventing the spread of diseases. Among the various chemicals utilized, glutaraldehyde and Trichlorfon are commonly used due to their efficacy in controlling pathogens. Our study focuses on these two chemicals, specifically examining the LC50 (lethal concentration for 50% of the organism) values when used with zebrafish (*Danio rerio*). It is a species often used as a model organism in aquatic toxicology due to its genetic similarity to other vertebrates and its transparent embryo, which allows for easy observation of developmental stages. The LC50 metric is an important parameter in toxicology, which providing insight into the concentration of a substance that is lethal to half of a test population under specified conditions. Our results have shown that the LC50 for glutaraldehyde is approximately 5-6 mg/L., while Trichlorfon, the LC50 is found to be around 58 mg/L. Understanding these values is essential for determining safe and effective dosages for use in fish quarantine and disinfection practices.

Keywords: Danio rerio, Glutaraldehyde, Lethal Concentration 50, Toxicity, Trichlorfon

Introduction

Glutaraldehyde is a saturated five-carbon dialdehyde known for its potent antimicrobial properties. Belonging to the aldehyde family, glutaraldehyde is characterized by carbonyl groups that readily react with nucleic acids and proteins, effectively alkylating sulfhydryl, hydroxyl, carboxyl, and amino groups (O'Brien et al., 2005; Younus, 2014). This exceptional reactivity enables glutaraldehyde to cross-link amine groups on the outer cell walls and cell membranes of bacteria and other microorganisms. Its efficacy against a broad spectrum of pathogens, including Gram-negative bacteria, fungi, and viruses, is attributed to this cross-linking ability (McDonnell and Russell, 1999; Russell, 1994). The robust antimicrobial action of glutaraldehyde is vital in various applications, such as disinfection and sterilization processes in healthcare and industrial facilities (Rutala and Weber, 2019). Understanding its molecular interactions and cross-linking mechanisms provides valuable insights into optimizing its use for effective pathogen control.

Trichlorfon, also known as dimethyl 2,2,2-trichloro-1-hydroxyethyl phosphate, stands out as a water-soluble organophosphate pesticide with widespread application as a veterinary medicinal product globally (Wang et al., 2010). Its primary purpose is to eliminate or regulate fish parasites like *Ergasilus* sp., *Lernaea* sp., *Dactylogyrus* sp., and *Trichodina* sp. (Duncan et al., 2020). The toxicological classification of Trichlorfon categorizes it as class II, signifying a high level of toxicity. However, its active ingredient demonstrates a short persistence in the environment due to rapid hydrolysis in air, water, and soil. This characteristic ensures minimal environmental impact. Notably, Trichlorfon major decomposition product is dichlorvos, another organophosphate pesticide extensively used worldwide for years in agricultural pest control. The dual role of Trichlorfon and its subsequent by product underscores their significance in fish health management and broader ecological considerations, contributing to the understanding of Trichlorfon effectiveness and its environmental implications and aquatic ecosystems (WHO, 1992; Coelho et al., 2011; Rico et al., 2012).

The zebrafish (*Danio rerio*), a species demonstrating a notable 70–80% genetic homology to humans and exhibiting vertebrate-like structures, has emerged as a significant animal model for evaluating the toxicity of medicinal plants (Lucini et al., 2018). Recognized for its genetic similarity to humans and anatomical parallels, the zebrafish stands as a powerful tool for discerning potential toxicity in medicinal plants. Researchers have emphasized its importance not only in identifying adverse effects of botanical substances but also in significantly contributing to the expansion of knowledge in drug development (Miyawaki, 2020). Its application in toxicity assessments highlights its pivotal role in advancing our understanding of the safety profiles of medicinal plants, thus facilitating the development of novel and safer pharmaceutical interventions.

Lethal concentration 50 (LC50) is indeed the concentration of a substance in the air that is required to cause the death of 50% of a group of test animals within a specified time frame. The clarification here is that LC50 can also refer to the lethal concentration in other environmental media, not just air. For example, LC50 can be determined for waterborne or soil exposure as well (Stephan, 1977).

The findings from the experiments conducted on glutaraldehyde toxicity revealed a diverse range of LC50 values across different fish species and exposure durations, such as *Cyprinodon variegatus*, *Lepomis macrochirus*, *Oncorhynchus kisutch*, *Oncorhynchus mykiss*, *Pimephales promelas* and *Takifugu bimaculatus* (Pereira et al., 2014*)*.

The results of previous LC50 trials conducted to assess the effects of Trichlorfon on various fish species such as follows: *Poecilia latipinna*, *Poecilia reticulata*, *Gambusia holbrooki* and *Xiphophorus helleri*. These findings contribute to our understanding of the potential impact of Trichlorfon on diverse fish species across varying exposure durations, providing valuable insights for environmental risk assessments and aquatic ecosystem management (Vajargah & Hedayati, 2014).

Material and Methods

The Zebrafish (Danio rerio)

A total of 300 *Danio rerio* specimens were procured from the Chatuchak fish market and subsequently subjected to a week-long quarantine period in a specially designated 24-inch tank, housing 50 liters of water. Throughout this quarantine phase, the zebrafish were provided with a carefully regulated feeding schedule, receiving nourishment at 10:00 a.m. and 6:00 p.m. each day, accompanied by a 20% water change to maintain optimal environmental conditions. Following the week of quarantine, during which the health of the fish was meticulously monitored to ensure they were free from any diseases, a fasting period of 48 hours was implemented prior to the commencement of zebrafish LC50 testing. This comprehensive protocol aimed to establish a controlled and healthy baseline for the experimental assessment, emphasizing the importance of the fish's welfare and ensuring the reliability of the results obtained during the testing phase.

Glutaraldehyde and Trichophyton

The glutaraldehyde utilized in the experiment was sourced from PCN Marketing & Distribution Co., Ltd., and it was supplied in a 15% concentration. Precise measurements and administration of the substance into the water of each tank were accomplished with Gilson brand micropipettes, specifically of the 100-1000 μL size range. Similarly, trichlorfon, in powder form, was also obtained from PCN Marketing & Distribution Co., Ltd. The concentration of trichlorfon was 97% using an OHAUS scale, specifically the PA214 model from OHAUS CORPORATION, USA. These meticulous sourcing, measurement, and solubility assessment procedures underscored the commitment to maintaining the accuracy and reliability of the experimental conditions, ensuring the consistency and validity of the results obtained while the course of the study.

Experiment setup

In order to conduct the experiment, used 12 tanks of a 24-inch aquariums and partitioned into halves. Install one aerator in each partition to ensure adequate aeration. The water volume in each block should be

maintained at 22.5 liters. The study involves exploring four different levels of trichlorfon concentration 8 mg/l, 16 mg/l, 32 mg/l, and 64 mg/l. And four levels of glutaraldehyde concentration 1.8 mg/l, 3.6 mg/l, 5.4 mg/l and 7.2 mg/l. Each concentration has three replicates. This experimental setup aims to examine the effects of varying concentrations of trichlorfon and glutaraldehyde on the aquatic environment within these controlled aquarium conditions.

Examine of survival and LC_{50}

Ten Zebrafish were exposed for 96h in tank with 22.5 L of water. During acute toxicity experiment the temperature was 28°C, pH 7.5 and dissolved oxygen 7.4 mg/l. Feeding was not provided to the specimens during the assay and test media was not renewed. Mortality rates were recorded at time 0, 24, 48, 72 and 96 h.

Data analysis

The LC50 value is derived through arithmetic regression equation fitting and graphical interpolation using GraphPad Prism 9. (R>0.98)

Results and Discussion

Glutaraldehyde LC_{50}

Upon introducing Glutaraldehyde into the water, an examination of water parameters including temperature, dissolved oxygen (DO), and pH revealed negligible alterations. Glutaraldehyde concentrations 1.8, 3.6, 5.4 and 7.2 mg/L were meticulously selected to investigate mortalities and ascertain the LC50 in *D. rerio*. The mortality rate of *D. rerio* exposed to Glutaraldehyde exhibited a dependence on both time and concentration levels. Calculation of the LC50 values involved determining the percentage of mortalities for each dose, as illustrated in Fig. 1. The LC50 values for Glutaraldehyde in D. rerio at 24, 48, 72, and 96 hours, accompanied by 95% confidence limits, were estimated at 6.36, 5.86, 5.76, and 5.67 mg/L, respectively, as detailed in Table 1.

The findings from the other studies conducted on glutaraldehyde toxicity revealed a diverse range of LC50 values across different fish species and exposure durations. In the case *of Cyprinodon variegatus*, the LC50 ranged between 32 and 40 mg/l at 96 hr (SLI, 1993, USEPA, 2000). *Danio rerio* exhibited a specific LC50 value of 5.8 mg/l at 96 hr (OECD SIDS, 1998). *Lepomis macrochirus* demonstrated distinct LC50 values of 14.9 mg/l at 24 hr, 11.8 mg/l at 48 hr, and a range of 11.2-12.2 mg/l at 96 hr (Vilkas, 1978). *Oncorhynchus kisutch* recorded an LC50 of 3 mg/l at 96 hr (SFU, 1993), while *Oncorhynchus mykiss* displayed a variability with a range of 9.5-12 mg/l at 96 hr (UCC, 1977). *Pimephales promelas* showed LC50 values of 5.4-6 mg/l at 96 hr (SLI, 1989, UCC, 1996). Lastly, *Takifugu bimaculatus* exhibited a spectrum of LC50 values, including 9.25 mg/l at 24 hr, 9.03 mg/l at 48 hr, 7.03 mg/l at 72 hr, and 5.48 mg/l at 96 hr (Jian-Shao et al., 2017). These findings

contribute valuable insights into the varied susceptibility of different fish species to glutaraldehyde under distinct exposure durations.

Trichlorfon LC_{50}

Following the introduction of Trichlorfon into the water, an assessment of water parameters encompassing temperature, dissolved oxygen (DO), and pH revealed no discernible changes. Trichlorfon concentrations ranging from 8, 16, 32 and 64 mg/L to investigate mortalities and the LC50 in *D. rerio*. The mortality dynamics of *D. rerio* exposed to Trichlorfon exhibited a dependency on both time and concentration levels, same as Glutaraldehyde. Computation of the LC50 values involved the utilization of the mortality percentage corresponding to each dosage (Fig. 2). However, for Trichlorfon in *D. rerio*, the LC50 values, accompanied by 95% confidence limits is 58.94 mg/L at 48 hr, were solely estimated for the 48-hour time point, as the range of the results proved to be excessively broad, as outlined in Table 1.

The results of previous LC50 trials conducted to assess the effects of Trichlorfon on various fish species are detailed as follows: In the case of *Poecilia latipinna*, the LC50 values were observed to be 53.01 mg/l at 24 hours, 41.84 mg/l at 48 hours, 18.94 mg/l at 72 hours, and 9.80 mg/l at 96 hours. Similarly, *Poecilia reticulata* exhibited LC50 values of 64.88 mg/l at 24 hours, 42.82 mg/l at 48 hours, 25.97 mg/l at 72 hours, and 9.80 mg/l at 96 hours. *Gambusia holbrooki* displayed LC50 values of 50.67 mg/l at 24 hours, 35.41 mg/l at 48 hours, 24.85 mg/l at 72 hours, and 9.95 mg/l at 96 hours. Meanwhile, *Xiphophorus helleri* demonstrated values of 54.22 mg/l at 24 hours, 24.41 mg/l at 48 hours, 10.30 mg/l at 72 hours, and 7.99 mg/l at 96 hours (Vajargah & Hedayati, 2014). These findings contribute to our understanding of the potential impact of Trichlorfon on diverse fish species across varying exposure durations, providing valuable insights for environmental risk assessments and aquatic ecosystem management.

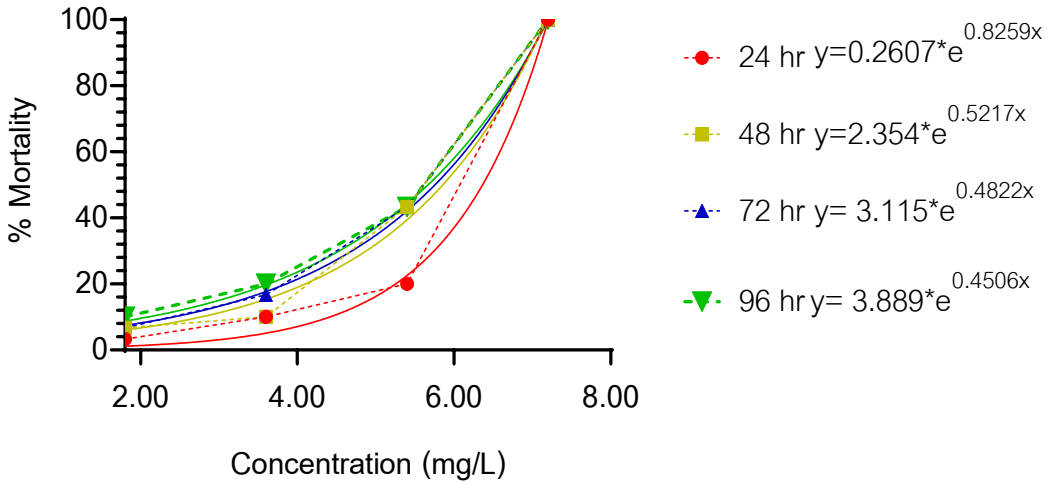


Fig. 1 Mortality curve of Zebra fish (*Danio rerio)* in Glutaraldehyde (24 hr,48 hr,72 hr and 96 hr)

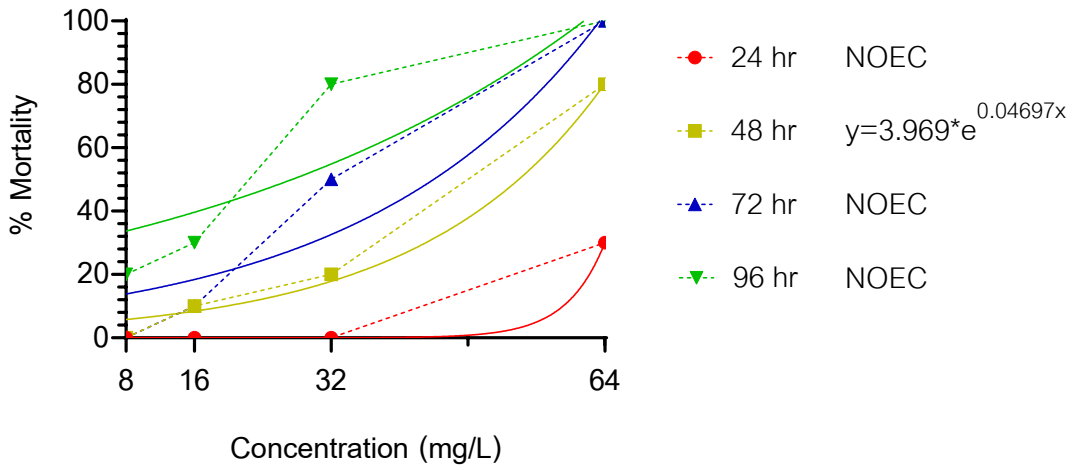


Fig. 2 Mortality curve of Zebra fish (*Danio rerio)* in Trichlorfon (24 hr, 48 hr, 72 hr and 96 hr)

Table 1 acute toxicity of Glutaraldehyde and Trichlorfon to Zebra fish (*Danio rerio)*

	Concentration	% Mortality				LC50 (mg/L)			
	(mg/L)	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr	24 hr	48 hr	72 hr	96 hr
Glutaraldehyde	1.8	3.3	6.7	6.7	10.0				
	3.6	10.0	10.0	16.7	20.0	6.36	5.86	5.76	5.67
	5.4	20.0	43.3	43.3	43.3				
	7.2	100.0	100	100	100				
Trichlorfon	8	0.0	0.0	0.0	20.0				
	16	0.0	10.0	10.0	30.0	NOEC	53.94	NOEC	NOEC
	32	0.0	20.0	50.0	80.0				
	64	30.0	80.0	100.0	100				

Conclusion

The LC50 results for Glutaraldehyde, measured at 24, 48, 72, and 96 hr, fall within the range of 5.67 to 6.36 mg/L, while Trichlorfon exhibits an LC50 of 58.94 mg/L at the 48 hr. These concentrations were determined as LC50 in adult zebrafish experiments. The obtained data serves as a valuable reference for the application of Glutaraldehyde and Trichlorfon in the treatment of parasites and pathogens affecting ornamental fish and in aquaculture fish. The results advance our comprehension of optimal dosage levels for addressing health concerns in aquatic environments, thereby improving the overall management of fish health and well-being.

Conflict of Interest

The authors declare that there are no conflicts of interest.

Acknowledgements

We would like to express our profound gratitude Kasetsart University, Faculty of fisheries. The ornamental fish and aquatic plant research center of Kasetsart University facilitates the facility for the experiment. Their generous support and the invaluable resources they provided have been instrumental in the success of our experiment. Their commitment to fostering research and innovation has greatly enriched our work.

Reference

Coelho, S., Oliveira, R., Pereira, S., Musso, C., Domingues, I., Bhujel, R.C., Soares, A.M., Nogueira, A.J. 2011. Assessing lethal and sub-lethal effects of trichlorfon on different trophic levels. Aquat. Toxicol. 103: 191–198.

Duncan, W.P., Idalino, J.J.S., da Silva, A.G., Moda, R.F., da Silva, H.C.M., Matoso, D.A., Gomes, A.L.S. 2020. Acute toxicity of the pesticide trichlorfon and inhibition of acetylcholinesterase in *Colossoma macropomum* (*Characiformes: Serrasalmidae*). Aquac. Int. 28: 815–830.

Jian-Shao, W., Lei-Bin, L., Zhi-Huang, Z., Jian-Xing, Z., Jian-Tao, Y. 2017. Acute toxicity of six drugs to *Fugu bimaculatus*. Fish. Res. 39: 455.

Lucini, C., D'Angelo, L., Cacialli, P., Palladino, A., De Girolamo, P. 2018. BDNF, brain, and regeneration: insights from zebrafish. Int. J. Mol. Sci. 19: 3155.

McDonnell, G., Russell, A.D. 1999. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. Clin. Microbiol. Rev. 12: 147–179.

Miyawaki, I. 2020. Application of zebrafish to safety evaluation in drug discovery. J. Toxicol. Pathol. 33: 197–210.

O'Brien, P.J., Siraki, A.G., Shangari, N. 2005. Aldehyde sources, metabolism, molecular toxicity mechanisms, and possible effects on human health. Crit. Rev. Toxicol. 35: 609–662.

Pereira, S.P., Oliveira, R., Coelho, S.n., Musso, C., Soares, A.M., Domingues, I., Nogueira, A.n.J. 2014. From sub cellular to community level: toxicity of glutaraldehyde to several aquatic organisms. Sci. Total Environ., 470: 147–158.

Rico, A., Satapornvanit, K., Haque, M.M., Min, J., Nguyen, P.T., Telfer, T.C., Van Den Brink, P.J. 2012. Use of chemicals and biological products in Asian aquaculture and their potential environmental risks: A critical review. Rev. Aquac. 4: 75–93.

Russell, A. 1994. Glutaraldehyde: Current status and uses. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 15: 724–733.

Rutala, W.A., Weber, D.J. 2019. Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities, 2008. Update: May 2019.

SFU. 1993. The acute toxicity of glutaraldehyde to juvenile Coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. Burnaby, British Columbia, Canada: Simon Fraser University.

SLI. 1989. Acute toxicity of Ucarcide to fathead minnow (*Pimephales promelas*) under static conditions. Wareham, MA: Springborn Life Sciences, Inc.

SLI. 1993. Glutaraldehyde – acute toxicity to eastern oysters (*Cyprinodon variegatus*) under flow-through conditions. Wareham, MA: Springborn Laboratories, Inc.

Stephan, C.E. 1977. Methods for calculating an LC50. ASTM International.

UCC. 1977. Acute toxicity of 25% aqueous glutaraldehyde to the water flea, Daphnia magna Straus. Union Carbide Corporation Environmental Services Project No. 11506-61-01, Tarrytown, NY, USA.

UCC. 1996. Glutaraldehyde-reduction of fish toxicity by reaction with sodium bisulfite. South Charleston, WV: Union Carbide Corporation.

USEPA. 2000. Pesticide ecotoxicity database, formerly: environmental effects database (EEDB). Washington, D.C.: Environmental Fate and Effects Division, U.S. EPA.

Vajargah, M.F., Hedayati, A. 2014. Acute toxicity of trichlorofon on four viviparous fish: *Poecilia latipinna*, *Poecilia reticulata*, *Gambusia holbrooki* and *Xiphophorus helleri* (*Cyprinodontiformes: Poeciliidae*). J. Coast. Life Med. 2: 511–514.

Vilkas. The acute toxicity of 50% glutaraldehyde to Bluegill Sunfish, *Lepomis macrochirus* Rafinesque. Union Carbide Environmental Services Project No 11506-61-04; 1978b.

Wang, G., Dai, H., Li, Y., Li, X., Zhang, J., Zhang, L., Fu, Y., Li, Z. 2010. Simultaneous determination of residues of trichlorfon and dichlorvos in animal tissues by LC-MS/MS. Food Addit. Contam. 27: 983–988.

WHO. 1992. Trichlorfon. World Health Organization.

Younus, S. 2014. Synthesis and Characterization of Chitosan-Glutaraldehyde. PhD diss., University of Saskatchewan Saskatoon. Saskatoon, Canada.

Efficacy of Trichlorfon and Glutaraldehyde baths against ornamental fish parasites

Tanwarat Choojit[a] Chaluch Limpasontipong[a], Janista Jamnong[a], Tasneem Tosaman[a] , Thanakrit Ratanaprapaporn[a], Thanakrit Manujantarat[b], Sahabhop Dokkaew[a,c], Suwaree Kitikiew[d], Phunsin Kantha[a,e,*]

[a]Department of Aquaculture, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

[b]PCN Marketing & Distribution Co., Ltd, Samut Sakhon 74130, Thailand

[c]Ornamental Fish and Aquatic Plant Research and Technology Transfer Center, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

[d]Department of Animal Production Technology and Fisheries, Faculty of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand.

[e]Samut Songkharm Fisheries Research Station, Kasetsart University, Samut Songkhram 75000, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: phunsin.k@ku.th

Abstract

The cultivation of aquatic animals and ornamental fish is rapidly expanding. Understanding common external parasite infections in these fish is crucial for their management in aquarium tanks. Parasites commonly found in the fish market, such as Fish lice (*Argulus* sp.), Anchor worm (*Lernaea cyprinacea*), Trichodina (*Trichodina* sp.), and Monogeneans (*Dactylogyrus* sp.), pose significant challenges for aquarium fish. Aquaculture often relies on chemicals like Trichlorfon and Glutaraldehyde to address this problem. Parasite infestations in fish can lead to serious health problems, including tissue hyperplasia, necrosis, and hematological changes. Dose tests and optimal treatments for various ornamental fish in different species like goldfish (*Carassius auratus*), Oto (*Otocinclus vittatus*), and Guppy (*Poecilia reticulata*), respectively. This study indicates that the trial concentrations of glutaraldehyde and trichlorfon are effective treatments that can cure the infected fish 24 or 48 hours. However, *Trichodina* sp. was not effectively purified with trichlorfon at concentrations of 0.5 and 1 mg/L. Additionally, the environmental impact of current chemicals is a concern, prompting interest in sustainable control methods such as biological control, selective breeding, and improved management.

Keywords: Fish disease, Glutaraldehyde, Ornamental fish, Parasite, Trichlorfon

Introduction

At present, the cultivation of aquatic animals and ornamental fish is rapidly expanding (Livengood and Chapman, 2007). External parasite infections, such as fish lice, anchor worms, trichodinid, and monogenean, are common in aquaculture. These parasites can infect various parts of the fish's body, including the skin, fins, and gills. They feed on blood or various mucous membranes, thereby weakening the fish (Landsberg et al., 1998; Reed et al., 2009; Overstreet, 2021). The parasites on fish cause stress or wounds, facilitating the spread of other types of germs throughout the fish's body. Consequently, a variety of drugs and chemicals are used to eliminate parasites in aquaculture. Such as trichlorfon and glutaraldehyde are examples of chemicals within the group of insecticides applied to eliminate parasites in fish.

Parasites commonly found in ornamental fish include Fish lice, belonging to the genus *Argulus*, are prevalent but rarely cause severe impacts on fish populations due to low infection intensity (Scholz, 1999). Fish lice is common in fish farms, facilitating transmission, and stressors negatively influence the host immune response. The anchor worm, widely affects freshwater fish, causing recurring infections that adversely impact fish growth and health (Piasecki et al., 2004; Attia et al., 2022). The infection of anchor worms lead to secondary bacterial infection. The symtoms of fish are nervousness, dropped scales and loss of appetites (Hossain et al., 2013). Trichodina, a prevalent ectoparasite that affects both freshwater and marine fish. Trichodina becoming an epizootic condition in high-density fish environments (Meyer, 1991; Paperna, 1991). Stressful conditions, such as those in crowded pond settings, trigger the pathogenicity of Trichodina species, impacting the feeding and respiration of small fish, primary lesions involve hyperplasia and necrosis of epidermal cells, leading to excess mucus production (Mitchell and Rodger, 2011). Also destructive impact on gill epithelium (Adly et al., 2015). Trichodina infection was founded on the body surface, fins, and gills. Interestingly, even apparently healthy fish without clinical signs exhibited infections by small trichodina on the gills (Valladão et al., 2013). Many monogeneans live on the fish body surface, feeding on mucus and epithelial cells of the skin and gills. Fish infested with monogeneans may display signs of lethargy, swim near the surface, clamped fins, seek corners of tank, and anorexia. Additionally, they may be observed rubbing against the bottom or sides of the tank (Reed et al., 2009). Severe monogenean infestations alter hematological parameters in affected fish, with a short life cycle contributing to high infection levels in mariculture systems (Kelly et al., 2010). Underscoring the need for comprehensive understanding and effective management in aquaculture

Glutaraldehyde, with the chemical formula 1, 5-pentanedial is a saturated five-carbon dialdehyde renowned for its potent biocidal attributes (Sano et al., 2005). Glutaraldehyde features carbonyl groups that exhibit high reactivity with nucleic acids and proteins, effectively alkylating sulfhydryl, hydroxyl, carboxyl, and amino groups (Migneault et al., 2004). This exceptional reactivity allows glutaraldehyde to cross-link amine groups on the outer cell walls and membranes of bacteria and other microorganisms. Its effectiveness against a diverse range of pathogens, including Gram-negative bacteria, fungi, and viruses, stems from this cross-linking capability (Migneault et al., 2004). The robust antimicrobial action of glutaraldehyde is crucial in various

applications, notably in healthcare settings and industrial facilities for disinfection and sterilization processes. Insight into its molecular interactions and cross-linking mechanisms is pivotal for optimizing its utilization in controlling pathogens effectively (Migneault et al., 2004). The report found that effective to control *Flavobacterium psychrophilum* growth for Sanitization of Rainbow Trout Eyed Eggs (Grasteau et al., 2015). Glutaraldehyde demonstrates toxicity to both warm water and cold water fish, with a slightly higher level of toxicity in freshwater fish (Leung, 2001). Understanding its molecular interactions and cross-linking mechanisms is crucial for optimizing its utilization in effectively controlling a diverse range of pathogens.

Trichlorfon is a globally utilized water-soluble organophosphate pesticide (OP) in veterinary medicine. Its primary role is to regulate fish parasites, including *Ergasilus* sp., *Lernaea* sp., *Dactylogyrus* sp., and *Trichodina* sp. (Roth et al., 1993). Trichlorfon is classified as toxicological class II, indicating high toxicity. However, its active component undergoes rapid hydrolysis in air, water, and soil, leading to minimal environmental impact. Notably, trichlorfon is primary decomposition product is dichlorvos, another widely used OP in global agricultural pest control. The dual role of Trichlorfon and its byproduct underscores their significance in fish health management, broader ecological considerations and impact on aquatic ecosystems (WHO, 1992). The widespread use of dichlorvos further emphasizes the interconnectedness of aquaculture and broader agricultural practices in chemical management.

On the in vitro efficacy of glutaraldehyde-crosslinked chitosan microspheres against the fish-pathogenic ciliate *Philasterides dicentrarchi* suggests that glutaraldehyde is resulting ciliate death (Paramá et al., 2005). Glutaraldehyde is employed in the decontamination of aquaculture establishments. It works by denaturing the proteins of microorganisms, demonstrating high effectiveness against a broad spectrum of pathogens (Abd El-Hack et al., 2022). Glutaraldehyde maintains its efficacy even in the presence of organic matter. When applied in liquid form as a cold sterilant, it proves suitable for heat-sensitive equipment (McDonnell and Russell, 1999). However, glutaraldehyde requires extended exposure times for optimal results (Beauchamp et al., 1992). In their study, (Goven and Amend, 1982) assessed the anthelmintic properties of trichlorfon against external monogenetic trematodes in fish, specifically *Gyrodactylus elegans* and *Dactylogyrus vastator*. Trichlorfon exhibited effectiveness against *D. vastator* at concentrations effectiveness against both parasites. The therapeutic baths of trichlorfon demonstrated high effectiveness against *D. cycloancistrium* (Cruz et al., 2022).

The study aimed to comprehensively evaluate the therapeutic effects of two distinct antiparasitic drugs, Trichlorfon and glutaraldehyde, administered through therapeutic baths. The research centered on ornamental fish species, specifically Goldfish (*C. auratus*), Oto (*O. vittatus*), and Guppy (*P. reticulata*). To induce parasitic infections, common fish parasites, including Trichodina (*Trichodina* sp.), Anchor worm (*L. cyprinacea*), Fish lice(*A. foliaceus*) and Monogenean (*Gyrodactylus* sp.), were intentionally introduced. The concentrations of trichlorfon (0.5 and 1 mg/l) and glutaraldehyde (2.25 and 3 mg/l) were precisely administered during therapeutic

treatments. The study meticulously collected data on survival rates and pre-post infection conditions for a thorough analysis.

Material and Methods

Ornamental fish

Goldfish (*C. auratus*) size 9–10 cm. infected Fish lice (*A. foliaceus*) and Anchor worm (*L. cyprinacea*). Otofish (*O. vittatus*) size 3–4 cm. infected Trichodina (*Trichodina sp*.) and Guppyfish (*P. reticulata*) size 3–4 cm. infected Monogenean (*Gyrodactylus* sp.) from Chatuchack fish market in Bangkok, Thailand.

Chemical assay

In the experiment, both glutaraldehyde and trichlorfon were procured from the reputable company PCN Marketing & Distribution Co., Ltd. Shop. Glutaraldehyde, provided in a 15% concentration, was administered precisely into the water of each tank using Gilson brand micropipettes with a volume range of 100–1000 μL. Trichlorfon, acquired in powder from PCN Marketing & Distribution Co., Ltd. Shop, underwent through solubility assessment, revealing a solubility of 97% determined with an digital scale (OHAUS co., Ltd., PA214, USA). These procedures in sourcing, measurement, and solubility assessment underscore our commitment to maintaining accuracy and reliability in the experimental conditions to ensure the consistency and validity of the results obtained throughout the study.

Experimental setup

The experiment was conducted in nine standard 24-inch aquariums, each divided in half, with 22.5 liters of water in each tank. Take goldfish infected with at least three Fish lice (*A. foliaceus*) and Anchor worm (*L. cyprinacea*) to test the effectiveness of glutaraldehyde by bathing them in a solution of glutaraldehyde, divided into two sets of experiments at concentrations of 2.25 and 3 mg/l. Each set of three experiments was repeated for a total of 96 hours. Data were collected every 24, 48, 72, and 96 hours before the start of the experiment, recording images of the fish at each angle. Record the symptoms of the initial fish, then add the medicine according to the specified concentration. Observe and record the toxic effects of glutaraldehyde by observing indications such as irritation, depression, panting, and record the survival rate of fish and the number of parasites remaining until the end of the experiment.

Glutaraldehyde and trichlorfon are used to treat Trichodina (*Trichodina* sp.). Take a total of 9 Otto fish infected with *Trichodina* sp. to experiment by bathing them in glutaraldehyde and trichlorfon, divided into three sets of experiments, each with three replicates. Bathe fish infected with *Trichodina* sp. in glutaraldehyde at a concentration of 2.25 and 3 mg/l and in trichlorfon at concentrations of 0.5 and 1 mg/l. Record pectoral fin and tail fin images of fish before and after the experiment. Take the fish and examine them through a compound

light microscope with a 10X objective to compare the amount of parasites before and after the experiment. Record the results of drug toxicity by observing the fish's symptoms from the start of the experiment until the end.

Test the efficiency of glutaraldehyde and trichlorfon in eliminating monogenean (*Gyrodactylus* sp.). Take a total of 9 guppies infected with monogenean and test them by bathing in glutaraldehyde and trichlorfon, divided into three sets of experiments, each with three replicates. Bath fish infected with monogenean in glutaraldehyde at a concentration of 2.25 and 3 mg/l and in Trichlorfon 97% at concentrations of 0.5 and 1 mg/l. Record pectoral fin and tail fin images of fish before and after the experiment. Take the fish and examine them through a magnifying microscope (10×) to compare the amount of parasites before and after the experiment. Record the results of drug toxicity by observing the fish's symptoms from the start of the experiment until the end.

Results and Discussion

Symptoms of fish exposure to parasite

Before conducting the experiment, fish samples were collected for experimentation, involving the photography and parasites from different observation points. Specifically, goldfish infected with fish lice (Fig. 1 a.-c.) revealed a concentration around the caudal fin area, with scattered distribution over the body. Anchor worms were found on the sides of all the body (Fig. 1 d.-f.). In Otto fish, tricronida was identified through microscopic examination, densely adhering to the pectoral and caudal fins (Fig. 1 g.-i.). A substantial number of monogeneans, affixing to the caudal fin of guppies, was observed in the image (Fig. 1 j.-l.). Most parasitized fish exhibited signs of depression, sluggish swimming, body rubbing against the fish tank, and a high mortality rate, possibly stemming from parasitic interactions (Faruk, 2018). These interactions involve a sequence of changes, starting with the initial penetration of host cells, followed by ingestion or attachment, and progressing to establishment, growth, multiplication, senescence, and eventual release of infectious stages (Barber, 2005). The speed of this process can vary, with certain protistan infections showing rapid progression, resulting in acute infections with the potential for fatal outcomes and impacting populations (Feist and Longshaw, 2008). Similar with our observations, the infected fish were appear the adverse behavior with the previous studies.

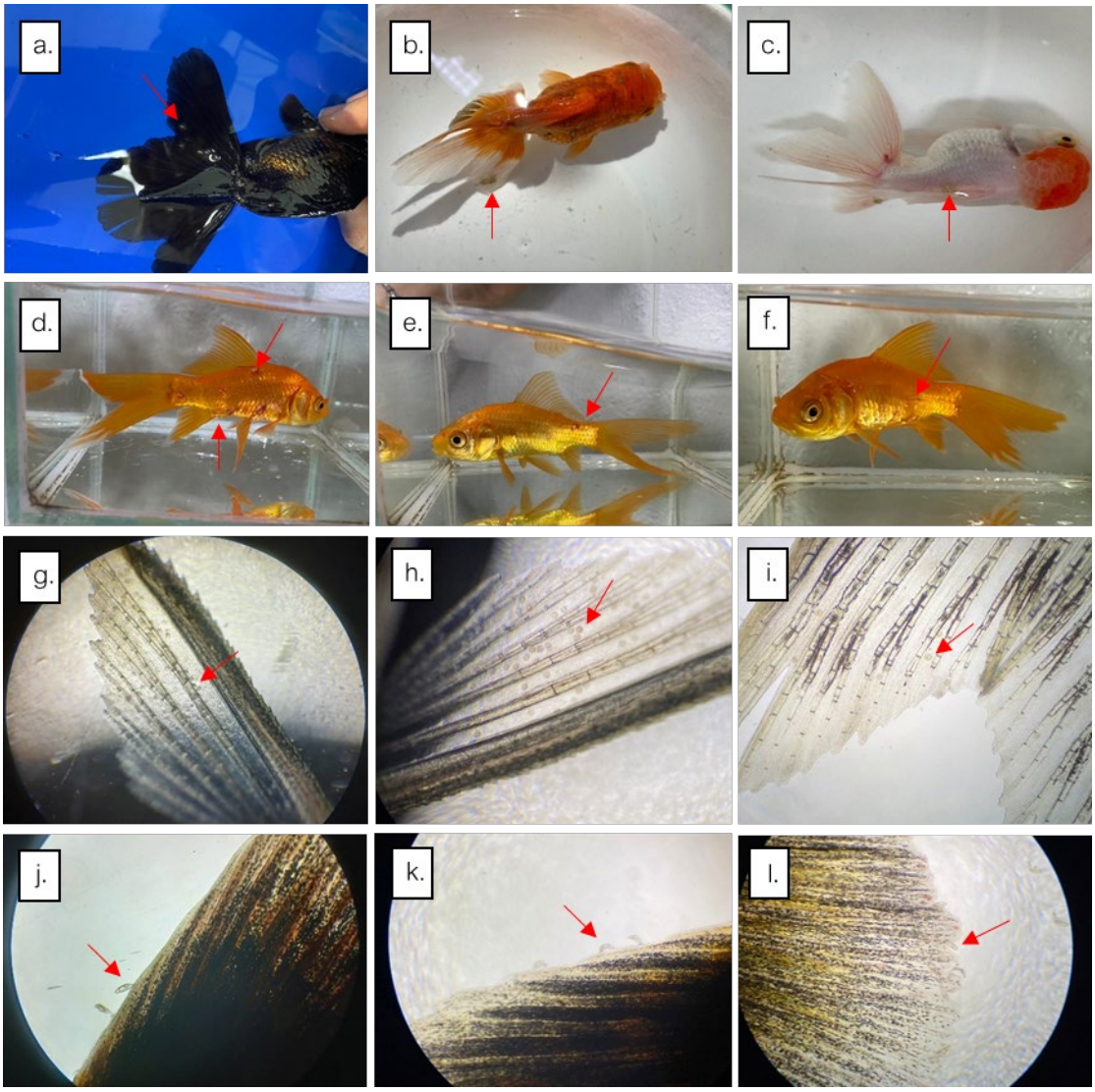


Fig. 1 Infection fish lice (*A. foliaceus*) in goldfish (*C. auratus*) (a.- c.). Infection anchor worm (*L. cyprinacea*) in goldfish (*C. auratus*) (d.- f.). Infection trichodina (*Trichodina* sp.) in otofish (*O. vittatus*) (g.- i.) and infection monogenean (*Gyrodactylus* sp.) in guppy fish (*P. reticulata*) (j.- l.) from Chatuchak fish market

Infection intensities fish parasites

From the Fig. 2, bathing fish infected with fish lice in both concentrations of glutaraldehyde resulted in in a gradual decrease in the number of fish lice. The dead parasites, detached from the host and visible in the sediment, were categorized as deceased. In glutaraldehyde at concentrations of 2.25 mg/L, there were 43.79% and 6.67% of fish lice remaining. After 24 and 48 hours, respectively, until no fish lice were found clinging to the fish after 72 hours. In glutaraldehyde concentration 3 mg/L, after 24 hours no fish lice were found clinging to the fish on the fish, remains of fish lice were found at the bottom of the tank. In addition, it was observed that the fish were feeling lethargic.

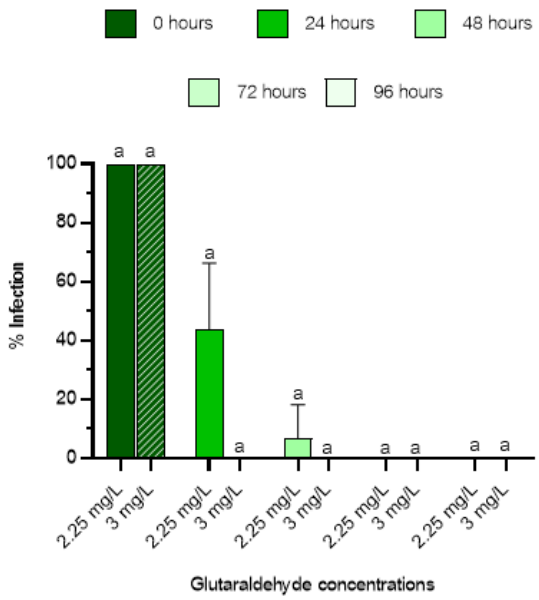


Fig. 2 Infection intensities fish lice (*A. foliaceus*) in goldfish (*C. auratus*) from Chatuchak fish market. Treated with glutaraldehyde at concentrations of 2.25 mg/L and 3 mg/L. The data are presented as mean±SD. Statistical analysis was performed using Student's t test for the difference of different concentration between each group ($p < 0.05$)

From the Fig. 3 Bathing fish infected with anchor worms in both concentrations of glutaraldehyde resulted in a rapid decrease in the number of anchor worms until no anchor worms were found clinging to the fish after 24 hours in glutaraldehyde, concentration 3 mg/ L. In the concentration of 2.25 mg/L, after 24 hours it was found that there were still anchor worms clinging to the fish. But the number decreased to 33.33% and no anchor worms were found on the fish after 48 hours. The fish becoming lethargic. And the wound caused by the anchor worm gradually improved throughout the experiment.

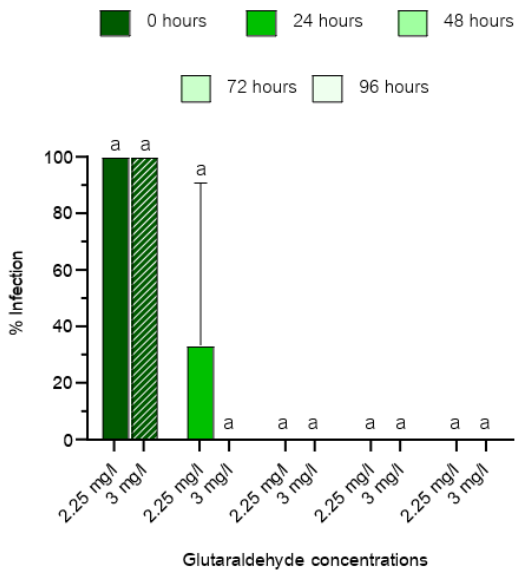


Fig. 3 Infection intensities anchor worm (*L. cyprinacea*) in goldfish (*C. auratus*) from Chatuchak fish market. Treated with glutaraldehyde at concentrations of 2.25 mg/L and 3 mg/L. The data are presented as mean ± SD. Statistical analysis was performed using Student's t test for the difference of different concentration between each group ($p < 0.05$)

The Fig. 4 shows the effective elimination of trichodina through immersion in glutaraldehyde at concentrations of 2.25 mg/L. Over the course of 24 and 48 hours, the prevalence of trichodina steadily declined to 76.08% and 36.86%, respectively, reaching complete eradication within 72 hours. Remarkably, the fish exhibited no adverse reactions to trichlorfon at a concentration of 0.5 mg/L. Throughout the experiment, the occurrence of trichodina gradually diminished, with 92.30%, 86.16%, 71.70%, and 66%. Unfortunately, at a concentration of 0.5 mg/L, all fish died after 48 hours of the treatment.

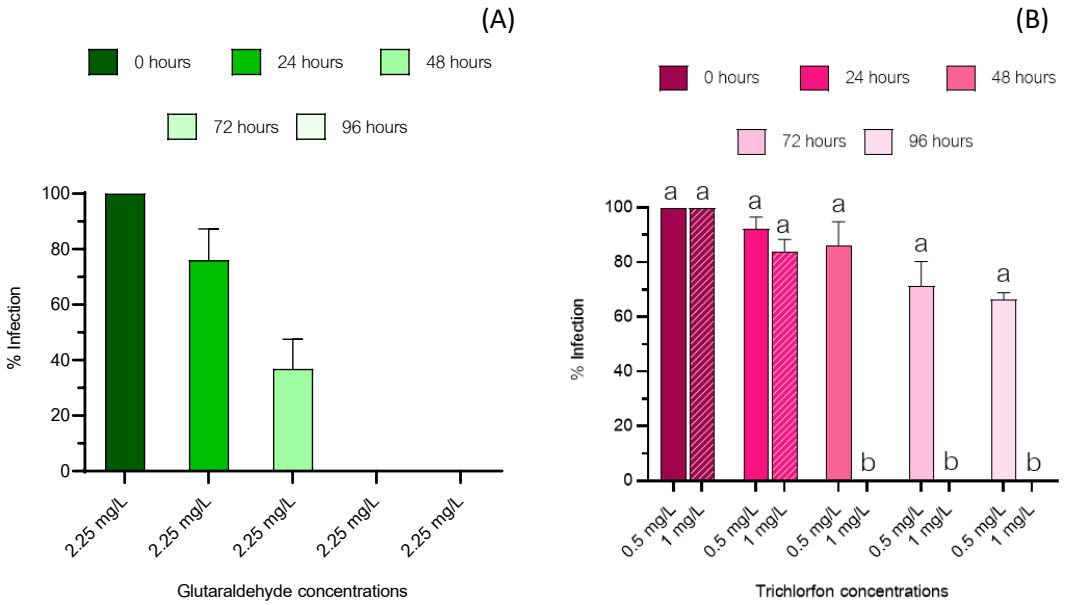


Fig. 4 Infection intensities trichodina (*Trichodina* sp.) in otofish (*O. vittatus*) from Chatuchak fish market. Treated with glutaraldehyde at concentrations (A) of 2.25 mg/L and trichlorfon at Concentrations (B) of 0.5 mg/L and 1 mg/L. The data are presented as mean ± SD. Statistical analysis was performed using Student's t test for the difference of different concentration between each group ($p < 0.05$)

Fig. 5 showed the eradication of monogeneans by immersing them in different concentrations of glutaraldehyde and trichlorfon, revealing noticeable patterns. When exposed to glutaraldehyde at 2.25 mg/L, the monogenean population exhibited a gradual decline, reaching 47.06% reduction after 24 hours and complete elimination after 48 hours. Concurrently, the fish exhibited signs of lethargy. For trichlorfon at a concentration of 0.5 mg/L, the monogenean count decreased to 26.13% after 24 hours and further reduced to 10.36% after 48 hours, with the fish displaying signs of depression and swimming sluggishly. At a concentration of 1 mg/L, parasites decreased to 10.20% after 24 hours and were eradicated after 48 hours, accompanied by the fish becoming lethargic and swimming lazily.

In previous study, Trichlorfon exhibited 95% effectiveness against *Dactylogyrus vastator* at concentrations ranging from 0.4 to 1.6 mg/l after a 24-hour exposure, while no significant impact was observed on *Gyrodactylus elegans* even at concentrations up to 2.0 mg/l, while a combination of mebendazole at 0.4 mg/l and trichlorfon at 1.8 mg/l displayed complete efficacy with 100% effectiveness against both parasites. (Goven and Amend, 1982). And therapeutic baths with a concentration of 150 mg/L of trichlorfon demonstrated high effectiveness (92.99%) against *Dawestrema cycloancistrium* without causing any observed physiological impairments in arapaima. This concentration can be safely used for controlling and treating infestations of *D. cycloancistrium*. (Cruz et al., 2022).

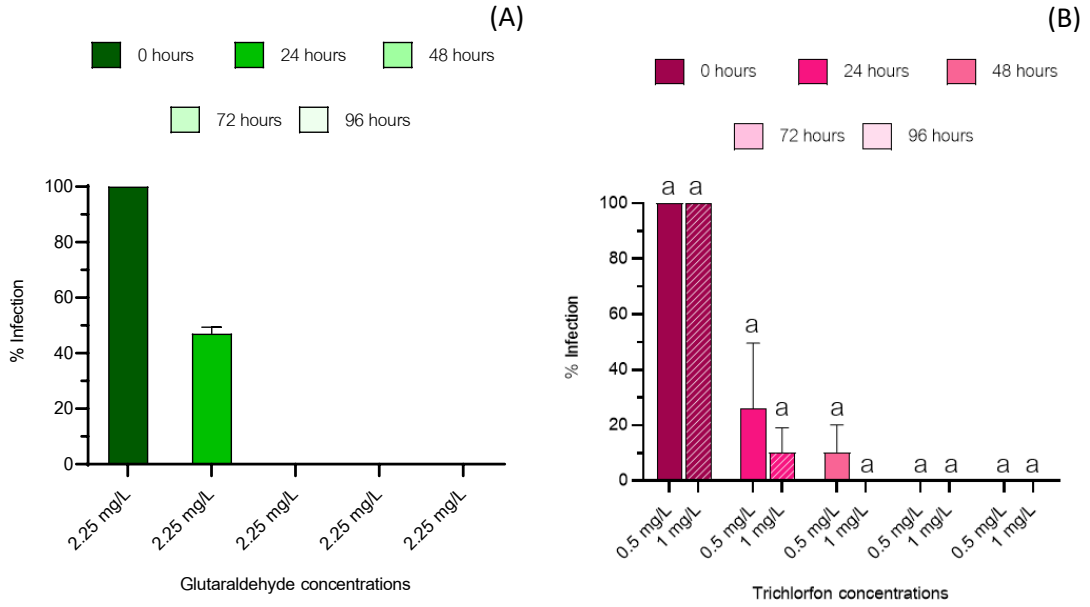


Fig. 5 Infection intensities monogenean (*Gyrodactylus* sp.) in guppyfish (*P. reticulata*) from Chatuchack fish market. Treated with glutaraldehyde at concentrations of 2.25 mg/L and trichlorfon at concentrations of 0.5 mg/L and 1 mg/L. The data are presented as mean ± SD. Statistical analysis was performed using Student's *t* test for the difference of different concentration between each group ($p < 0.05$)

Trichlorfon has the potential to induce behavioral changes in fish, characterized by erratic swimming, slow movements, and prolonged periods of staying at the bottom of tank. Moreover, trichlorfon triggered apoptosis in the hepatocytes of *C. auratus gibelio* through the mitochondrial pathway. (Xu et al., 2009; Coelho et al., 2011). In the study of viviparous fish, the 96-hour LC50 values were 9.80, 9.80, 9.95, and 7.99 mg/L for *Poecilia latipinna*, *Poecilia reticulata*, *Gambusia holbrooki*, and *Xiphophorus helleri*, respectively (Vajargah and Hedayati, 2014). This information is crucial in determining the maximum acceptable doses of Glutaraldehyde and trichlorfon for aquarium fish species. It is particularly important due to the potential accumulation of toxins in aquatic animals, which can subsequently impact human health through the food chain.

Conclusion

The main objective of this study is to test the efficiency of glutaraldehyde and trichlorfon at various levels to determine the appropriate concentration for effectively preventing and eliminating parasites in aquarium fish. The results indicate that parasites such as fish lice, anchor worms, and monogeneans were effectively eliminated within 24-72 hours when the fish were exposed to glutaraldehyde concentrations of 2.25 mg/L and 3 mg/L, as well as trichlorfon concentrations of 0.5 mg/L and 1 mg/L. Notably, trichodina was eliminated within 24-72 hours when the fish were treated with glutaraldehyde. However, when the fish were immersed in trichlorfon at concentrations of 0.5 mg/L and 1 mg/L, trichodina persisted even after 96 hours. Additionally, immersing fish in both types of anti-parasitic drugs also causes the fish to lethargy and swimming

slow behavior. Therefore, glutaraldehyde is most effective in eliminating parasites because they can be eradicated within 24-72 hours even at a low concentration of 2.25 mg/L. It has little impact on fish, and this impact can be further reduced by changing the water after treatment. Consequently, this experiment suggests guidelines for the use of trichlorfon and glutaraldehyde at appropriate concentrations to safely eliminate parasites such as fish lice, anchor worms, trichodina, and monogeneans in ornamental fish.

Conflict of Interest

The authors declare that there are no conflicts of interest.

Acknowledgements

We express sincere gratitude to Kasetsart University's Faculty of Fisheries and the Ornamental Fish and Aquatic Plant Research Center for their crucial role in facilitating our experiments. The generous support and invaluable resources from Kasetsart University have been integral to the success of our research, highlighting their unwavering dedication to advancing innovation and enriching our work.

Reference

Abd El-Hack, M.E., El-Saadony, M.T., Ellakany, H.F., Elbestawy, A.R., Abaza, S.S., Geneedy, A.M., Khafaga, A.F., Salem, H.M., Abd El-Aziz, A.H., Selim, S. 2022. Inhibition of microbial pathogens in farmed fish. Mar. Pollut. Bull. 183: 114003.

Adly, M.A., Abd El-Galil, M.A.A., Soliman, F.M., Ahmed, F. 2015. Histopathological studies on trichodinosis of farmed Oreochromis niloticus. Am. J. Life Sci. 3: 30–37. doi:10.11648/j.ajls.s.2015030601.15

Attia, M.M., Alzahrani, A.M., Hanna, M.I., Salem, H.M., Abourehab, M.A., El-Saadony, M.T., Thabit, H. 2022. The Biological Activity of Illicium verum (Star Anise) on Lernaea cyprinacea-Infested *Carassius auratus* (Goldfish): In Vivo Study. Life, 12(12), 2054.

Barber, I. 2005. Parasites grow larger in faster growing fish hosts. International journal for parasitology 35: 137–143.

Beauchamp, R.O., St Clair, M.B.G., Fennell, T.R., Clarke, D.O., Morgan, K.T., Karl, F.W. 1992. A critical review of the toxicology of glutaraldehyde. Crit. Rev. Toxicol. 22: 143–174.

Coelho, S., Oliveira, R., Pereira, S., Musso, C., Domingues, I., Bhujel, R.C., Soares, A.M., Nogueira, A.J. 2011. Assessing lethal and sub-lethal effects of trichlorfon on different trophic levels. Aquat. Toxicol. 103: 191–198.

Cruz, M.G.d., Jerônimo, G.T., Bentes, S.P.C., Gonçalves, L.U. 2022. Trichlorfon is effective against Dawestrema cycloancistrium and does not alter the physiological parameters of arapaima (*Arapaima gigas*): A large Neotropical fish from the Amazon. J. Fish Dis., 45: 203–212.

Faruk, M.A.R. 2018. Fish parasite: infectious diseases associated with fish parasite. In Seafood Safety and Quality, (pp. 154–176). CRC Press.

Feist, S., Longshaw, M. 2008. Histopathology of fish parasite infections–importance for populations. J. Fish Biol. 73: 2143–2160.

Goven, B.A., Amend, D.F. 1982. Mebendazole/trichlorfon combination: a new anthelmintic for removing monogenetic trematodes from fish. J. Fish Biol. 20: 373–378.

Grasteau, A., Guiraud, T., Daniel, P., Calvez, S., Chesneau, V., Le Hénaff, M. (2015). Evaluation of glutaraldehyde, chloramine-T, Bronopol, Incimaxx Aquatic® and hydrogen peroxide as biocides against Flavobacterium psychrophilum for sanitization of rainbow trout eyed eggs. J. Aquac. Res. Dev. 6: 10.4172.

Hossain, M., Rahman, M., Islam, M., Alam, M., Rahman, H. 2013. Lernaea (anchor worm) investigations in fish. Int. j. for. anim. fish. res. 1: 12–19.

Kelly, D.W., Thomas, H., Thieltges, D.W., Poulin, R., Tompkins, D.M. 2010. Trematode infection causes malformations and population effects in a declining New Zealand fish. J. Anim. Ecol. 79: 445–452.

Landsberg, J., Blakesley, B., Reese, R., McRae, G., Forstchen, P. 1998. Parasites of fish as indicators of environmental stress. Environ. Monit. Assess. 51: 211–232.

Leung, H.-W. 2001. Ecotoxicology of glutaraldehyde: review of environmental fate and effects studies. Ecotoxicol. Environ. Saf. 49: 26–39.

Livengood, E., Chapman, F.A. 2007. The Ornamental Fish Trade: An Introduction with Perspectives for Responsible Aquarium Fish Ownership: FA124/FA124, 5/2007. Edis, 2007(16).

McDonnell, G., Russell, A.D. 1999. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. Clin. Microbiol. Rev. 12: 147–179.

Meyer, F.P. 1991. Aquaculture disease and health management. Anim. Sci. J. 69: 4201–4208.

Migneault, I., Dartiguenave, C., Bertrand, M.J., Waldron, K.C. 2004. Glutaraldehyde: behavior in aqueous solution, reaction with proteins, and application to enzyme crosslinking. Biotechniques 37: 790–802.

Mitchell, S., Rodger, H. 2011. A review of infectious gill disease in marine salmonid fish. J. Fish Dis. 34: 411–432.

Overstreet, R.M. 2021. Parasitic diseases of fishes and their relationship with toxicants and other environmental factors. In Pathobiology of marine and estuarine organisms (pp. 111–156). CRC press. FL, USA

Paperna, I. 1991. Diseases caused by parasites in the aquaculture of warm water fish. Annu. Rev. Fish Dis. 1: 155–194.

Paramá, A., Luzardo, A., Blanco-Méndez, J., Sanmartín, M., Leiro, J. 2005. In vitro efficacy of glutaraldehyde-crosslinked chitosan microspheres against the fish-pathogenic ciliate Philasterides dicentrarchi. Dis. Aquat. Organ. 64: 151–158.

Pereira, S.P., Oliveira, R., Coelho, S.n., Musso, C., Soares, A.M., Domingues, I., Nogueira, A.n.J. 2014. From sub cellular to community level: toxicity of glutaraldehyde to several aquatic organisms. Sci. Total Environ. 470: 147–158.

Piasecki, W., Goodwin, A.E., Eiras, J.C., Nowak, B.F. 2004. Importance of Copepoda in freshwater aquaculture. Zool. Res. 43: 193–205.

Reed, P., Francis-Floyd, R., Klinger, R., Petty, D. 2009. Monogenean parasites of fish. Fisheries and aquatic sciences. University of Florida UF, IFAS Extension. FA28, USA, 4, pp.1–4.

Roth, M., Richards, R., Sommerville, C. 1993. Current practices in the chemotherapeutic control of sea lice infestations in aquaculture: a review. J. Fish Dis., 16: 1–26.

Sano, L.L., Krueger, A.M., Landrum, P.F. 2005. Chronic toxicity of glutaraldehyde: differential sensitivity of three freshwater organisms. Aquat. Toxicol. 71, 283–296.

Scholz, T. 1999. Parasites in cultured and feral fish. Vet. Parasitol. 84: 317–335.

Vajargah, M.F., Hedayati, A. 2014. Acute toxicity of trichlorofon on four viviparous fish: *Poecilia latipinna*, *Poecilia reticulata*, *Gambusia holbrooki* and *Xiphophorus helleri* (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). J. Coast. Life Med. 2: 511–514.

Valladão, G., Pádua, S., Gallani, S., Menezes-Filho, R., Dias-Neto, J., Martins, M., Ishikawa, M., Pilarski, F. 2013. *Paratrichodina africana* (Ciliophora): a pathogenic gill parasite in farmed Nile tilapia. Vet. Parasitol. 197: 705–710.

WHO. 1992. Trichlorfon. World Health Organization.

Xu, W.-N., Liu, W.-B., Liu, Z.-P. 2009. Trichlorfon-induced apoptosis in hepatocyte primary cultures of Carassius auratus gibelio. Chemosphere 77: 895–901.

การเปลี่ยนแปลงความลาดชันชายหาดในช่วงมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือและมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ บริเวณชายหาดประพาส อำเภอสุขสำราญ จังหวัดระนอง

The Beach slope change during Northeast monsoon and Southwest monsoon at Prapas Beach Suksamran District, Ranong Province

วรวิช ป้านนาค*, อภิษฎา ทองเปี่ยม, นันทพงศ์ กิมไพ

Worawit Pannak*, Aphitsada Thongpiam. Nantapong Kimpai

[a]สถานีวิจัยเพื่อการพัฒนาชายฝั่งอันดามัน คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

[a]Andaman Coastal Research Station for Development, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: Worawit.pan@ku.th

บทคัดย่อ

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงความลาดชันชายหาดบริเวณชายหาดประพาส อำเภอสุขสำราญ จังหวัดระนอง ในช่วงมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ เดือนมกราคม มีนาคม และพฤษภาคม และมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ เดือนกรกฎาคม กันยายน และพฤศจิกายน ปี 2566 พบว่าฤดูมรสุมมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความลาดชันและปริมาณมวลทรายของชายหาด โดยในช่วงมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือหาดมีความลาดชัน 18.67–23.63 เมตร ปริมาณมวลทรายเท่ากับ 60.72–90.60 ลูกบาศก์เมตร ส่วนช่วงมรสุมตะวันตกเฉียงใต้หาดมีความลาดชัน 20.39–29.71 เมตร ปริมาณมวลทรายช่วง 42.83–82.63 ลูกบาศก์เมตร เดือนพฤษภาคมมีความลาดชันมากที่สุดและเดือนกันยายนมีความลาดชันน้อยที่สุดตามลำดับในทุกสถานี ปริมาณมวลทรายมีการเปลี่ยนแปลงตามช่วงฤดูกาลโดยสถานี L3 มีค่าแปรผกผันกับ สถานี L1 สถานี L2 สถานี L4 และสถานี L5 จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าความลาดชัน และปริมาณมวลทรายตามระยะเวลาและช่วงฤดูกาลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

คำสำคัญ: การเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาล, ความลาดชันชายหาด, จังหวัดระนอง, หาดประพาส

Abstract

The study on seasonal beach slope changes at Prapas Beach Suksamran District, Ranong Province, during Northeast monsoon in January, March, and May and Southwest monsoon in July, September, and November in 2023. It was found that the monsoon influences the slope change and the sand volumn on the beach. During the northeast monsoon, the beach slope ranges from 18.67–23.63, and the sand volume ranges from 60.72–90.60 cubic meters. Meanwhile, during the southwest monsoon, the beach slope ranges from 20.39–29.71, and the sand volume ranges from 42.83–82.63 cubic meters. The month of May has the steepest slope, while September has the least slope at all stations. The sand volumn varies seasonally, and L3 station is inversely proportional to L1 station, L2 station, L4 station, and L5 station. Statistical analysis revealed significant differences in the slope and sand mass quantities over time and seasons ($p < 0.05$).

Keywords: Beach slope, Prapas Beach, Ranong Province, Seasonal variations

คำนำ

การเปลี่ยนแปลงความลาดชันของพื้นที่ชายฝั่งทะเลมีสาเหตุจากหลากหลายปัจจัย ต้นเหตุของปัญหาส่วนใหญ่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศของโลกและการเปลี่ยนแปลงภูมิอากาศของพื้นที่ชายฝั่งทะเล รวมถึงปัจจัยร่วมที่อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว เช่น คลื่นลมแปรปรวน น้ำขึ้น-น้ำลง อีกทั้งกระแสน้ำในพื้นที่ก่อให้เกิดการกัดเซาะชายฝั่งในหลายพื้นที่ นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของระดับน้ำทะเลจากสภาวะโลกร้อนเป็นอีกปัจจัยที่เชื่อมโยงถึงการกัดเซาะชายฝั่ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อเกิดร่วมกับคลื่นลมในช่วงมรสุม อีกทั้งการกระทำของมนุษย์ เช่น การสร้างโครงสร้างบริเวณชายฝั่ง อาจส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงชายฝั่งในพื้นที่ได้ชัดเจนขึ้น (ธงชัย และคณะ, 2566; Doran et al., 2015) รวมไปถึงส่งผลกระทบด้านการท่องเที่ยว ด้านการประกอบอาชีพของชุมชน และสิ่งแวดล้อมบริเวณชายฝั่งได้

ชายหาดประพาสตั้งอยู่ที่หมู่ 2 ตำบลกำพวน อำเภอสุขสำราญ จังหวัดระนอง เป็นส่วนหนึ่งของอุทยานแห่งชาติแหลมสน มีความยาวทั้งสิ้นประมาณ 3 กิโลเมตร ตอนปลายของหาดติดกับบริเวณปากคลองกำพวนมีลักษณะเป็นหาดทรายกว้างซึ่งเกิดจากคลื่นสึนามิพัดพาทรายเข้ามาทับถม เมื่อปี พ.ศ. 2547 (สหัส, 2562) โดยกัญญารัตน์ (2560) รายงานว่า หาดประพาสมีการเปลี่ยนแปลงชายหาดอย่างต่อเนื่อง ระหว่างปี 2537 ถึง 2556 บางบริเวณเกิดการกัดเซาะ เกิดการสะสมตัว และบางบริเวณมีสภาพคงตัว ตอนกลางของหาด ทรายเคลื่อนที่ไปมาตามลักษณะพื้นที่และเวลา จากรายงานรวบรวมข้อมูล ฐานข้อมูลการกัดเซาะชายฝั่งรายจังหวัด 23 จังหวัด (กองบริหารจัดการพื้นที่ชายฝั่ง กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, มปป) พบว่าบริเวณหาดประพาสมีอัตราการกัดเซาะ 1-2 เมตรต่อปี

การศึกษาในครั้งนี้จัดทำขึ้นเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงความลาดชัน และการเคลื่อนตัวของมวลทรายในช่วงมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือและมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ บริเวณหาดประพาส เพื่อให้ทราบบทบาทของฤดูกาลที่มีต่อรูปแบบและทิศทางการกัดเซาะชายฝั่ง อีกทั้งข้อมูลยังสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการเฝ้าระวัง ติดตาม และจัดการต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุและอุปกรณ์ที่ใช้ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงความลาดชันชายหาด

1. เส้นเทปวัดระยะ
2. กล้องส่องระดับ Autometic Level ยี่ห้อ Topcon รุ่น AT-B4A
3. ไม้วัดระดับความสูง
4. กล้องถ่ายรูป
5. เครื่องระบุตำแหน่งพิกัดทางภูมิศาสตร์ (GPS)

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงความลาดชันชายหาดประพาสในครั้งนี้ ใช้วิธีการของ (เผชิญโชค และคณะ, 2561) โดยกำหนดสถานีตรวจวัดความลาดชันตลอดแนวชายหาด จำนวนทั้งสิ้น 5 สถานี ได้แก่ สถานี L1 - L5 แต่ละสถานีมีระยะห่างกันประมาณ 400 เมตร (Fig. 1) ดำเนินการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงความลาดชันของชายหาด จำนวนทั้งสิ้น 6 ครั้ง ในช่วงมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ เดือนมกราคม มีนาคม และพฤษภาคม และมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ เดือนกรกฎาคม กันยายน และพฤศจิกายน ปี 2566

วิธีการตรวจวัดการเปลี่ยนแปลงความลาดชันชายหาดทำโดยกำหนดจุดหมุดหลักฐาน (Benchmark; BM) ที่ทราบตำแหน่งและระดับความสูงที่แน่นอนโดยวางไม้ระดับไม้ที่ 0 ในจุดหมุดหลักฐานเป็นระดับอ้างอิงด้านหลัง (Backsight; BS) การศึกษาครั้งนี้ใช้จุดขอบถนนเลียบชายหาดด้านรอยต่อกับชายหาดเป็นจุดเริ่มต้นในการวางไม้ระดับไม้

ที่ 1 กำหนดให้เป็นระดับอ้างอิงไม้ระดับที่ 0 เมตร วางไม้ระดับไม้ที่ 2 ที่ตำแหน่งที่มีการเปลี่ยนแปลงความลึกโดยมีเส้นเทปวัดระยะวัดความกว้างของชายหาดและกำหนดแนวสำรวจ อ่านค่าระดับระหว่างไม้โดยใช้กล้องส่องระดับ Autometic Level ยี่ห้อ Topcon รุ่น AT-B4A ประเทศจีน ส่องหาค่าระดับที่อ่านได้จากไม้วัดระดับความสูงทางด้านหน้าเป็นระดับอ้างอิงด้านหน้า (Foresight; FS) และบันทึกค่าทุกๆ 4 เมตร คำนวณค่าความสูงในแนวดิ่งของชายหาด (Elevation) ตาม Equation 1 และ Equation 2

$$\text{Elevation (ELEV.)} = \text{HI} - \text{FS} \quad (1)$$

$$\text{HI} = \text{Elevation (ELEV.) at BM} + \text{BS} \quad (2)$$

Where; HI is a Height of Instrument

ข้อมูลการเปลี่ยนแปลงความลาดชันชายหาดมีการปรับข้อมูลจุดที่ตั้งบนโลกที่มีความสูงที่รู้จัก วัดจากระดับน้ำทะเลเฉลี่ยไม่ว่าจะสูงกว่าหรือต่ำกว่า (Height Datum) ให้อยู่ในความสูงที่ระดับเดียวกัน โดยใช้ระบบโครงข่ายการรังวัดด้วยดาวเทียมแบบจลน์ (RTK GNSS Network) รุ่น GNSS Titan TR7 Base Rover ในการอ้างอิง Height Datum ในแต่ละสถานีตรวจวัด จุดวางไม้ระดับไม้ที่ 0 แต่ละสถานีอยู่ในระดับความสูงดังตาราง (Table 1) คำนวณผลและสร้างภาพหน้าตัดความสูงต่ำของพื้นที่ชายหาดเป็นกราฟตามลักษณะการลาดชันของชายหาด และนำไปเปรียบเทียบวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของชายหาด คำนวณค่าความลาดชัน โดยความลาดชันในการศึกษาครั้งนี้จะแสดงเป็นระยะทางเป็นเมตรตามแนวราบต่อระยะทางตามแนวดิ่ง 1 เมตร (เมตร) และปริมาณมวลทรายในแต่ละสถานีจากการคำนวณพื้นที่ใต้กราฟเป็นปริมาณมวลทรายต่อหนึ่งเมตรความยาวชายหาด (ลูกบาศก์เมตร) ในโปรแกรม Microsoft Excel ตาม Equation 3 และ Equation 4 และคำนวณการเปลี่ยนแปลงมวลทรายเฉลี่ยสุทธิตาม Equation 5 (นิคม และคณะ, 2558)

$$\text{Slope} = 1/S \quad (3)$$

Where; S is the slope that calculates from slope formula in Microsoft Excel

$$\text{Area under curve} = A+B/2 \times h \quad (4)$$

Where; A is the elevation of 1 point, B is the elevation of another point and h is the height. And calculate the total.

$$\text{Net average sand volumn change} = \text{Northeast monsoon average sand volumn} - \text{Southwest monsoon average sand volumn} \quad (5)$$

Table 1 Elevation above mean sea level of benchmark at each station (meters)

L1	L2	L3	L4	L5
3.4085	3.2929	3.3077	3.282	3.2608

ข้อมูลความลาดชันและปริมาณมวลทราย ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างตามช่วงฤดูมรสุมและความแตกต่างระหว่างสถานีด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (Anova: Single factor) และความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของข้อมูลด้วยการวิเคราะห์สถิติ *t*-test



Fig. 1 The locations of monitoring stations for measuring changes in the slope of Prapas Beach

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงความลาดชันชายหาดพบว่าสถานี L1 ในเดือนพฤษภาคม หาดมีความลาดชันมากที่สุดเท่ากับ 22.40 เมตร รองลงมาเป็นเดือนพฤศจิกายน และเดือนกรกฎาคมเท่ากับ 22.53 และ 22.97 เมตร ตามลำดับ และมีค่าน้อยที่สุดในเดือนกันยายนเท่ากับ 29.71 เมตร สถานี L2 ในเดือนพฤษภาคม หาดมีความลาดชันมากที่สุดเท่ากับ 20.22 เมตร รองลงมาเป็นเดือนมีนาคม และเดือนมกราคมเท่ากับ 20.34 และ 20.65 เมตร ตามลำดับ และมีค่าน้อยที่สุดในเดือนกันยายนเท่ากับ 28.40 เมตร สถานี L3 ในเดือนพฤษภาคม หาดมีความลาดชันมากที่สุดเท่ากับ 19.23 เมตร รองลงมาเป็นเดือนมีนาคมและเดือนพฤศจิกายนเท่ากับ 19.99 และ 20.39 เมตร ตามลำดับ และมีค่าน้อยที่สุดในเดือนกันยายนเท่ากับ 27.29 เมตร สถานี L4 ในเดือนพฤษภาคมหาดมีความลาดชันมากที่สุดเท่ากับ 18.67 เมตร รองลงมาเป็นเดือนพฤศจิกายนและเดือนกรกฎาคมเท่ากับ 21.18 และ 23.03 เมตร ตามลำดับ และมีค่าน้อยที่สุดในเดือนกันยายนเท่ากับ 26.04 เมตร และสถานี L5 ในเดือนพฤษภาคม หาดมีความลาดชันมากที่สุดเท่ากับ 18.74 เมตร รองลงมาเป็นเดือนมีนาคมและเดือนกรกฎาคมเท่ากับ 19.75 และ 22.58 เมตร ตามลำดับ และมีค่าน้อยที่สุดในเดือนกันยายนเท่ากับ 25.19 เมตร (Table 2) จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าในเดือนพฤษภาคม ทุกสถานีที่ทำการตรวจวัดความลาดชันของหาดมีค่ามากที่สุด ส่วนในเดือนกันยายน ทุกสถานีที่ทำการตรวจวัดความลาดชันของหาดมีค่าน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบความลาดชันของหาดในช่วงฤดูมรสุมพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนความลาดชันในแต่ละสถานีพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

Table 2 The slope values of Prapas Beach at each study area during the Southwest monsoon and Northeast monsoon

Station	Northeast monsoon			Southwest monsoon		
	January	March	May	July	September	November
L1	23.29	23.63	22.40	22.97	29.71	22.53
L2	20.65	20.34	20.22	22.16	28.40	21.56
L3	20.75	19.99	19.23	22.44	27.29	20.39
L4			18.67	23.03	26.04	21.18
L5	22.54	19.75	18.74	22.58	25.19	21.61

* The beach slope is represented by the horizontal distance covered per unit of vertical distance

เมื่อพิจารณาจากค่าความลาดชันเฉลี่ยตามช่วงลมมรสุมพบว่าช่วงฤดูมรสุมตะวันออกเฉียงสถานี L4 มีค่าความลาดชันมากที่สุดเท่ากับ 18.67 เมตร และมีค่าน้อยที่สุดที่สถานี L1 เท่ากับ 23.09 เมตร ส่วนในช่วงลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้สถานี L3 และสถานี L5 มีค่าความลาดชันมากที่สุดเท่ากับ 23.03 เมตร และมีค่าน้อยที่สุดที่สถานี L1 เท่ากับ 24.67เมตร (Table 3) เมื่อทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยความลาดชันชายหาดโดยใช้ t-test พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

Table 3 The average slope values of Prapas Beach in each study area during the Southwest monsoon and Northeast monsoon

	L1	L2	L3	L4	L5
N/E monsoon	23.09	20.40	19.97	18.67	20.22
S/W monsoon	24.67	23.67	23.03	23.25	23.03

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณมวลทรายต่อหนึ่งเมตรความยาวชายหาดพบว่าสถานี L1 มีปริมาณมวลทรายมากที่สุดในเดือนพฤษภาคมเท่ากับ 88.78 ลูกบาศก์เมตร รองลงมาเป็นเดือนมีนาคม และเดือนมกราคมเท่ากับ 87.26 และ 80.20 ลูกบาศก์เมตร ตามลำดับ และมีค่าน้อยที่สุดในเดือนกันยายนเท่ากับ 57.33 ลูกบาศก์เมตร สถานี L2 มีปริมาณมวลทรายมากที่สุดในเดือนพฤษภาคมเท่ากับ 80.77 ลูกบาศก์เมตร รองลงมาเป็นเดือนมีนาคม และเดือนมกราคมเท่ากับ 78.91 และ 76.82 ลูกบาศก์เมตร ตามลำดับ และมีค่าน้อยที่สุดในเดือนกันยายนเท่ากับ 56.00 ลูกบาศก์เมตร สถานี L3 มีปริมาณมวลทรายมากที่สุดในเดือนกันยายนเท่ากับ 82.63 ลูกบาศก์เมตร รองลงมาเป็นเดือนพฤษภาคม และเดือนมีนาคมเท่ากับ 61.36 และ 60.72 ลูกบาศก์เมตร ตามลำดับ และมีค่าน้อยที่สุดในเดือนกรกฎาคมเท่ากับ 42.83 ลูกบาศก์เมตร สถานี L4 มีปริมาณมวลทรายมากที่สุดในเดือนพฤษภาคมเท่ากับ 80.98 ลูกบาศก์เมตร รองลงมาเป็นเดือนพฤศจิกายน และเดือนกรกฎาคมเท่ากับ 68.33 และ 66.12 ลูกบาศก์เมตร ตามลำดับ และมีค่าน้อยที่สุดในเดือนกันยายนเท่ากับ 61.26 ลูกบาศก์เมตร และสถานี L5 มีปริมาณมวลทรายมากที่ สุดในเดือนพฤษภาคมเท่ากับ 90.60 ลูกบาศก์เมตร รองลงมาเป็นเดือนมีนาคม และเดือนกรกฎาคมเท่ากับ 83.20 และ 69.54 ลูกบาศก์เมตร ตามลำดับ และมีค่าน้อยที่สุดในเดือนกันยายนเท่ากับ 52.82 ลูกบาศก์เมตร (Fig. 2)

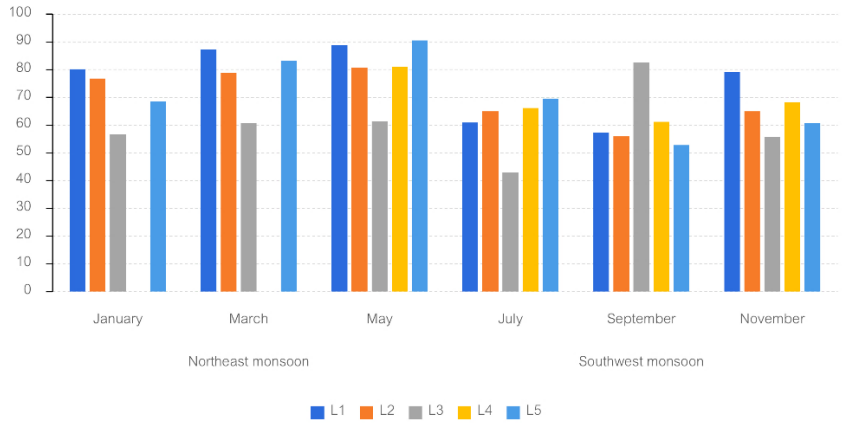


Fig. 2 The Sand volume calculated from the area under the curve per 1 unit of beach length (Cubic meter) during the Southwest monsoon and Northeast monsoon

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณมวลทรายต่อหนึ่งเมตรความยาวชายหาดเฉลี่ยในช่วงมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือกับช่วงมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ ซึ่งเมื่อพื้นที่ใต้กราฟลดลงแสดงว่ามวลทรายถูกพัดพาเข้ามายังบริเวณแนวสำรวจ และถ้าพื้นที่ใต้กราฟเพิ่มขึ้นแสดงว่ามวลทรายถูกพัดพาออกจากบริเวณแนวสำรวจ (นิคม และคณะ, 2558) สถานี L5 สถานี L1 สถานี L2 และสถานี L4 พื้นที่ใต้กราฟเพิ่มมากขึ้นเท่ากับ 19.75 19.60 16.86 และ 15.75 ลูกบาศก์เมตร ตามลำดับ ส่วนสถานี L3 พื้นที่ใต้กราฟลดลงเท่ากับ 0.84 ลูกบาศก์เมตร ซึ่งเป็นสถานีที่ใกล้กับตอนกลางของหาด อีกทั้งยังพบการการเปลี่ยนแปลงของปริมาณมวลทรายในทิศทางตรงกันข้ามกับสถานีอื่น ๆ สอดคล้องกับ กัญญารัตน์ และคณะ (2560) ที่พบว่าบริเวณตอนกลางของหาดทรายเคลื่อนที่ไปตามลักษณะพื้นที่และเวลา (Table 4, Fig. 3) จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าปริมาณมวลทรายตามระยะเวลา และช่วงฤดูมรสุมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

Table 4 Net average sand volumn change of Prapas Beach during the Northeast monsoon and Southwest monsoon

Station	Average sand volume (Cubic meter)		Net average sand volumn change
	Northeast monsoon	Southwest monsoon	
L1	85.41	65.81	19.60
L2	78.84	61.98	16.86
L3	59.60	60.44	-0.84
L4	80.98	65.24	15.75
L5	80.78	61.03	19.75

* When the area under the curve decreases, it indicates that the sand mass is transported into the area. Conversely, if the area under the curve increases, it indicates that the sand mass is transported out of the area

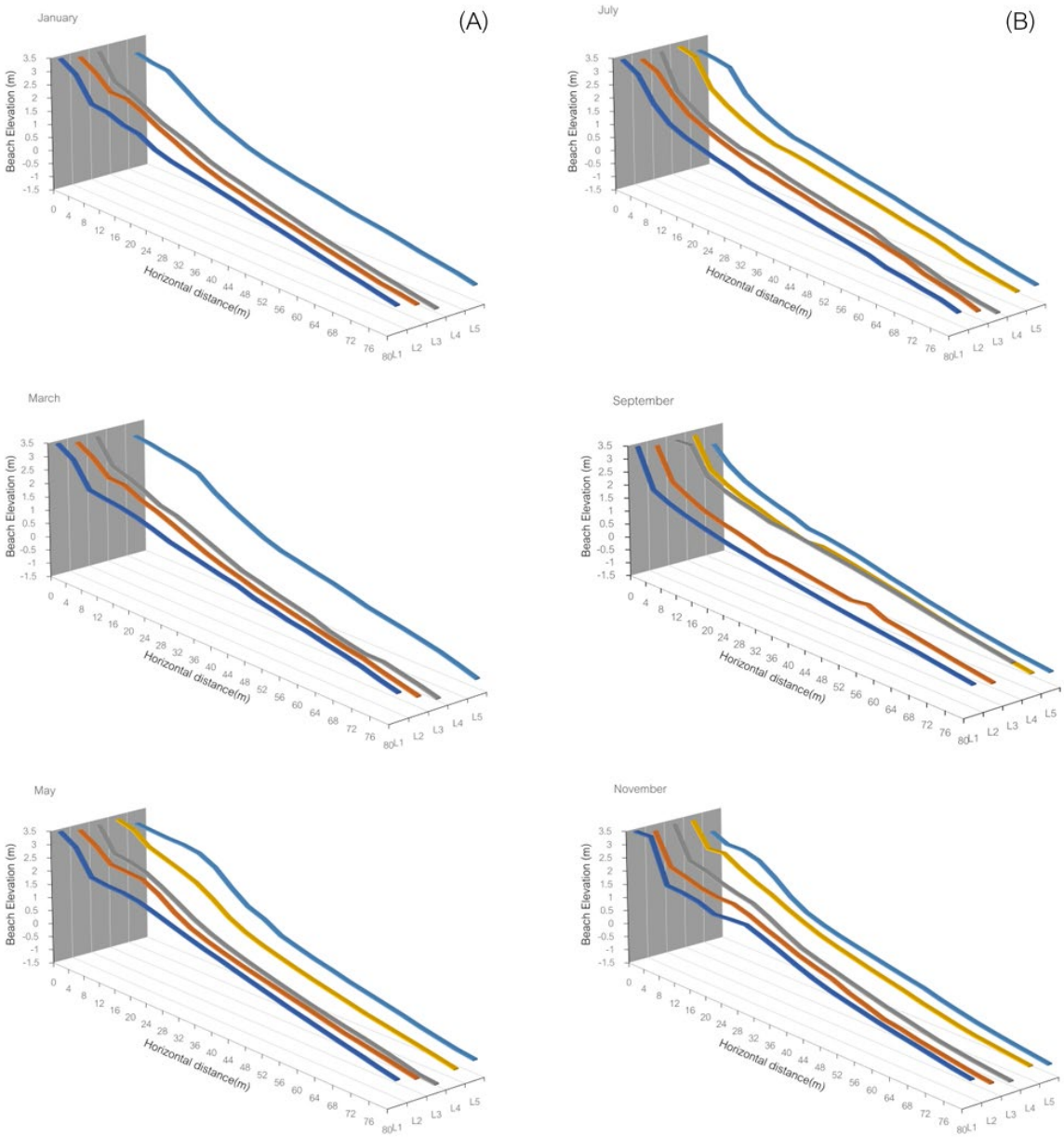


Fig. 3 Beach morphology during the the Northeast monsoon (A) and the Southwest monsoon (B)

มรสุมตะวันออกเฉียงเหนือสถานี L1 ถึงสถานี L5 เริ่มมีการค่อยๆ สะสมตัวของปริมาณมวลทราย โดยพบว่าในเดือนพฤษภาคมมีปริมาณมวลทรายเข้ามาสะสมอยู่มากที่สุดในทุกสถานียกเว้นสถานี L3 ปริมาณมวลทรายจะพบสะสมบริเวณใกล้จุดเริ่มสำรวจไปจนถึงระยะที่ 20 เมตร อีกทั้งความลาดชันมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มมากขึ้น โดยมีค่ามากที่สุดอยู่ในเดือนพฤษภาคมเช่นเดียวกัน แต่เมื่อเข้าสู่ช่วงมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ปริมาณมวลทรายและความลาดชันมีการลดลง ปริมาณมวลทรายจะลดลงมากที่สุดทุกสถานีในเดือนกันยายนยกเว้นสถานี L3 และความลาดชันชายหาดมีการเปลี่ยนแปลงลดลง โดยหาดมีความลาดชันน้อยที่สุดทุกสถานีในเดือนกันยายนเช่นเดียวกัน บริเวณสถานี L1 สถานี L2 และสถานี L3 พบการกัดเซาะบริเวณใกล้จุดเริ่มสำรวจ บางจุดกัดเซาะพื้นดินเดิมมาจนถึงแนวขอบถนนหรือจนทำให้เกิดการพังยุบตัวลง และมีการกลับมาเพิ่มปริมาณมวลทรายและความลาดชันขึ้นในช่วงเดือนพฤศจิกายน (Fig. 3, Fig. 4)

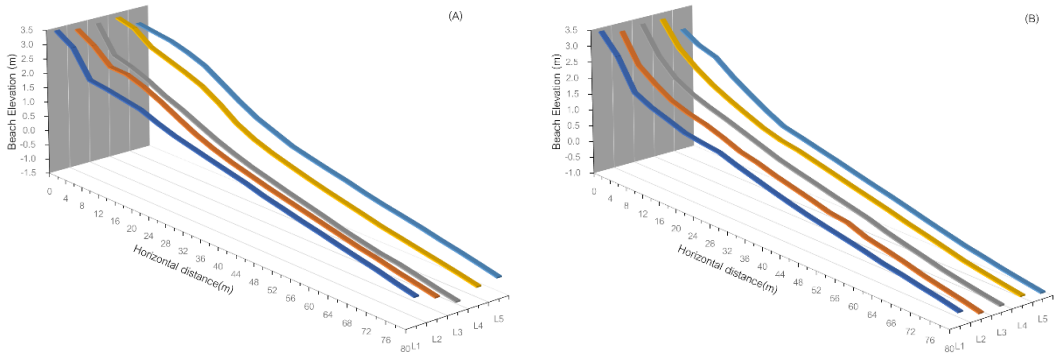


Fig. 4 Beach morphology by average during the the Northeast monsoon (A) and the Southwest monsoon (B)

จากผลการศึกษาพบว่าในช่วงมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือความลาดชันและปริมาณของมวลทรายต่อหนึ่งเมตรความยาวชายหาดมีค่าสูงกว่าช่วงมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ เนื่องจากในช่วงลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือ มีลมพัดในทิศตะวันตกเฉียงเหนือสลับกับทิศตะวันตกและตะวันออกด้วยความเร็วประมาณ 1–4 เมตรต่อวินาที คลื่นมีความสูงประมาณ 0.0–0.8 เมตร โดยจะพัดเข้าฝั่งอย่างช้าๆ ทำให้เกิดการจัดเรียงตัวหาดทรายให้เกิดความชันของแนวชายหาด และจะพัดพาทรายที่เป็นสันดอนใต้น้ำกลับขึ้นมาแนวชายฝั่ง ก่อให้เกิดเป็นหาดทรายดังเดิม ส่วนช่วงลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้มีลมพัดในทิศตะวันตกสลับกับทิศตะวันตกเฉียงใต้ด้วยความเร็วประมาณ 2–6 เมตรต่อวินาที คลื่นมีความสูงประมาณ 0.3–1.1 เมตร มีคาบเวลาประมาณ 1–3 วินาที มีอัตราเร็วน้ำทะเลประมาณ 1–10 เซนติเมตรต่อวินาที ซึ่งมีความรุนแรงพัดพาทรายออกจากพื้นที่ ทำให้แนวความลาดชันของชายหาดลดลง (นิคม และคณะ, 2558; กัญญารัตน์ และคณะ, 2566; Pereira,2024) (Fig. 5)

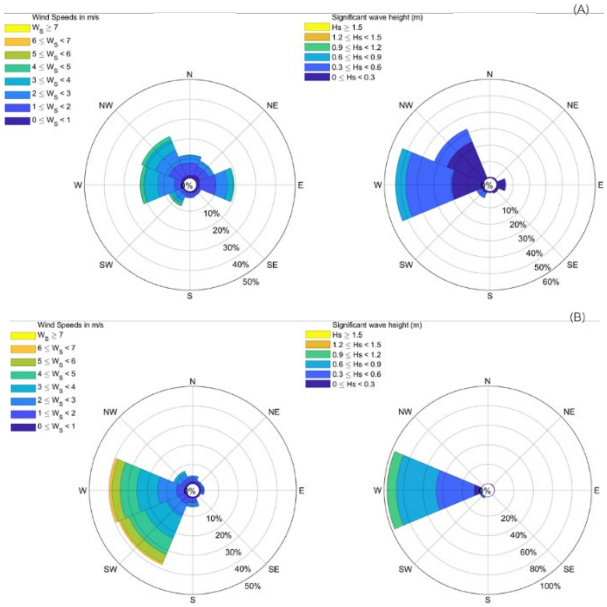


Fig. 5 Wind rose and wave rose during the Northeast monsoon (A) and Southwest monsoon (B), It was created with a set of wind rose commands in MATLAB program (Pereira,2024)

สรุป

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงความลาดชันชายหาดในช่วงมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือและมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ บริเวณชายหาดประพาส อำเภอสุขสำราญ จังหวัดระนอง พบว่าฤดูมรสุมมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความลาดชันและปริมาณมวลทรายของชายหาด จากการวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าความลาดชันและปริมาณมวลทรายตามระยะเวลาและช่วงฤดูกาลมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยในช่วงมรสุมตะวันตกเฉียงใต้บริเวณสถานี L1 สถานี L2 และสถานี L3 พบการกัดเซาะบริเวณใกล้จุดเริ่มสำรวจ บางจุดกัดเซาะพื้นดินเดิมมาจนถึงแนวขอบถนนหรือจนทำให้เกิดการพังยุบตัวลง ข้อมูลบางส่วนไม่สามารถตรวจวัดเนื่องจากมีการก่อสร้างแนวกันคลื่นบริเวณสถานี L4 และอุปสรรคด้านสภาพอากาศในการตรวจวัดช่วงฤดูมรสุม ควรเก็บข้อมูลการเปลี่ยนแปลงบริเวณแนวกันคลื่นเพิ่มเติมเพื่อนำข้อมูลมาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงในพื้นที่และติดตามผลกระทบจากการสร้างแนวกันคลื่น

เอกสารอ้างอิง

กัญญารัตน์ ราชเดิม, ปัทมา พุฒิรุ่งโรจน์, มณฑล อนงค์พรยศกุล. 2560. การเปลี่ยนแปลงชายฝั่งหาดประพาส จังหวัดระนอง ระหว่างปี 2537–2566. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 55. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. หน้า 845–852.

กองบริหารจัดการพื้นที่ชายฝั่ง กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. มปป. รายงานรวบรวมข้อมูล ฐานข้อมูลการกัดเซาะชายฝั่งรายจังหวัด 23 จังหวัด. หน้า 109–113.

ธงชัย สุธีรศักดิ์, วัชรวดี ลิ่มสุกล, วีระพงค์ เกิดสิน. 2566. การประมาณการเปลี่ยนแปลงสัณฐานของหาดทรายในหาดไม้ขาวหลังฤดูมรสุม. วารสารวิทยาศาสตร์ 51: 31–43.

นิคม อ่อนสี, อเนก สาวะอินทร์, สุรินทร์ กาญจนะ, นฤทธิ์ กล่อมพงษ์. 2558. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของแนวชายฝั่งทะเลอันดามัน อำเภอสิเกา. รายงานวิจัยคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง, คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย. สงขลา, หน้า 38–58.

เผชิญโชค จินตเศรณี, ประสาร อินทเจริญ, อนุกูล บูรณประทีปรัตน์. 2561. การเปลี่ยนแปลงความลาดชันชายหาดบางแสน ปี 2557. ใน: วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ปีที่ 23 (ฉบับที่ 3) กันยายน - ธันวาคม พ.ศ. 2561. มหาวิทยาลัยบูรพา. ชลบุรี. หน้า 1473–1480.

ศูนย์ปฏิบัติการอุทยานแห่งชาติทางทะเลที่ 1 จังหวัดชุมพร. 2558. การติดตามการเปลี่ยนแปลงสภาพชายหาดในอุทยานแห่งชาติทางทะเล ปีงบประมาณ 2558 กรณีศึกษา : อุทยานแห่งชาติสามร้อยยอด อุทยานแห่งชาติหาดวนกร อุทยานแห่งชาติหมู่เกาะชุมพร และอุทยานแห่งชาติหาดขนอม - หมู่เกาะทะเลใต้. รายงานการวิจัยอุทยานแห่งชาติ ปีที่ 12 ฉบับที่ 16. หน้า 3–5.

สหัส ราชเมืองขวาง. 2562. สัตว์น้ำไม่มีกระดูกสันหลังในระบบนิเวศชายฝั่ง อำเภอสุขสำราญ จังหวัดระนอง และบริเวณใกล้เคียง. พิมพ์ครั้งที่ 2. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

Daniel Pereira. 2024. Wind Rose. MATLAB Central File Exchange. https://www.mathworks.com/matlabcentral/fileexchange/47248-wind-rose. Retrieved January 12, 2024.

Doran, K.S., Long, J.W., Overbeck. J.R. 2015. A method for determining average beach slope and beach slope variability for U.S. sandy coastlines. USGS Publications Warehouse, Open-File Report 2015-1053. http://dx.doi.org/10.3133/ofr20151053.

ดัชนีความสมบูรณ์ของหอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) ต่อการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาล บริเวณชายฝั่งศรีราชา อำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี ประเทศไทย

Seasonal changes in condition index of green mussels (*Perna viridis*) cultured in Sriracha coast, Sriracha District, Chonburi Province Thailand

ปุณณภา เดชาทองน้อย*, อลงกต อินทรชาติ, อรรถวุฒิ กันทะวงศ์, กนกวรรณ ขาวด่อน, สาโรจน์ เริ่มดำริห์

Punnapa Daycharthongnoi*, Alongot Intarachart, Attawut Khantavong, Kanokwan Khaodon, Saroj Rermdumri

สถานีวิจัยประมงศรีราชา ศูนย์บริหารงานวิจัยและสนับสนุนวิชาการ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ชลบุรี 20110

Sriracha Fisheries Research Station, Center for Research and Academic Support Administration, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Chon Buri 20110, Thailand

*Corresponding author E-mail address: ffispad@ku.ac.th

บทคัดย่อ

ค่าดัชนีความสมบูรณ์ (Condition Index, CI) และลักษณะทางชีวภาพ ถูกนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงหอยแมลงภู่ (*Perna viridis*) เพื่อประเมินสุขภาพ ระยะเวลาเก็บเกี่ยว และผลผลิต จากการศึกษาดัชนีความสมบูรณ์ของหอยแมลงภู่จากการเลี้ยงแบบแพเชือกต่อการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาลบริเวณอ่าวศรีราชา จังหวัดชลบุรี ตั้งแต่เดือนมีนาคมถึงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ.2566 พบว่าค่าดัชนีความสมบูรณ์มีการเปลี่ยนแปลงตามฤดูกาล เดือนพฤษภาคมเป็นช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงสูงที่สุด และค่าดัชนีความสมบูรณ์ในแต่ละสถานีของแต่ละเดือนของหอยแมลงภู่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) นอกจากนั้นหอยแมลงภู่ยังมีความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างความยาวกับน้ำหนักซึ่งเป็นไปตามสมการการวิเคราะห์ความถดถอยในรูป $W = aL^b$ และผลของคุณภาพน้ำในช่วงที่ทำการศึกษาแสดงให้เห็นว่าหอยแมลงภู่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่คุณภาพน้ำเปลี่ยนแปลงในช่วงกว้าง ทั้งนี้เนื่องจากในช่วงเดือนเดือนสิงหาคมถึงกันยายน พ.ศ.2566 เกิดปรากฏการน้ำทะเลเปลี่ยนสีจึงส่งผลต่อดัชนีความสมบูรณ์ ดังนั้นการศึกษาในพื้นที่อย่างต่อเนื่องจึงเป็นสิ่งที่มีความสำคัญเพื่อดูแนวโน้มของปัจจัยสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงต่างๆในรอบปี

คำสำคัญ ดัชนีความสมบูรณ์, ฤดูกาล, หอยแมลงภู่, อ่าวศรีราชา

Abstract

The Condition Index (CI) is used in mariculture to assess health, harvest time, and yield. From this study the Condition Index (CI) green mussels (*Perna viridis*) raft culture in Sriracha bay, Chonburi Province, from March to November 2023. It was found that the condition index undergoes seasonal changes, with the month of May experiencing the highest level of fluctuations. Statistical analysis indicated significant differences ($p < 0.05$) in the condition index values in each station of each month. Furthermore, green mussels demonstrated a positive correlation of the length and weight expressed by the equation $W = aL^b$. The study also explored the influence of water quality on mussel survival. Results demonstrated the adaptability of green mussels to changing water quality conditions, particularly during the wide-ranging alterations. From August to September 2016, there was a noticeable plankton bloom, affecting the condition index. Consequently, the continuous monitoring of environmental factors becomes crucial to understanding the trends and changes occurring throughout the year.

Keywords Condition Index, Green Mussels (*Perna viridis*), Seasonal, Sriracha Bay

คำนำ

ในประเทศไทยหอยแมลงภู่เป็นสัตว์น้ำที่ได้รับการสนับสนุนให้เกษตรกรเพาะเลี้ยงเป็นอาชีพสร้างรายได้มาตั้งแต่อดีต(กรมประมง, 2536) ซึ่งในปี 2514 ประเทศไทยมีผลผลิตหอยแมลงภู่มากถึง 200,000 ตัน (Mensel, 1991) แต่ในปัจจุบันมีปริมาณลดลงเหลือเพียง 52,067.29 ตัน (กรมประมง, 2564) เนื่องจากการเพาะเลี้ยงหอยแมลงภู่ให้ประสบความสำเร็จต้องมีความรู้หลายด้าน เช่น ความรู้ในเรื่องวงจรการสืบพันธุ์ ซึ่งเป็นประโยชน์ทั้งในเชิงชีววิทยาและเชิงพาณิชย์ ทำให้ทราบความถี่ และช่วงเวลาการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ (Mc Coy and Chongpeepien, 1988) นอกจากนี้ช่วงเวลาการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์มีความแปรผันกับปัจจัยหลายอย่าง และส่งผลถึงฤดูกาลสืบพันธุ์ในรอบปีของสัตว์น้ำโดยเฉพาะในกลุ่มมอลลัสก์ (Gosling, 2003) ซึ่งความรู้ดังกล่าวสามารถใช้ในการพยากรณ์ช่วงเวลาการเกิดลูกหอยและสามารถวางแผนการเลี้ยงในรอบปีได้ จากการศึกษาที่ผ่านมาข้อมูลเกี่ยวกับวงจรการสืบพันธุ์ของแต่ละประชากรมีความแตกต่างกันไปไม่สามารถใช้แทนกันได้ (Snodden and Roberts, 1977) นอกจากนี้ในการเลี้ยงหอยแมลงภู่ยังสามรถประเมิณดัชนีความสมบูรณ์ (Condition Index, CI) ได้ซึ่งเป็นค่าที่ใช้บ่งบอกถึงความสมบูรณ์ของเนื้อหอย และยังสามารถบ่งชี้ถึงช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวผลผลิตหอย (Durve,1964) ในแต่ละฤดูกาลได้ กรณีที่หอยที่อาจจะมีขนาดเปลือกเท่ากันแต่ความอ้วนผอมของเนื้อหอยอาจจะแตกต่างกัน (Froese, 2006) ซึ่งจะประเมินได้จากน้ำหนักของเนื้อหอยแห้งต่อน้ำหนักเนื้อหอยแห้งรวมกับน้ำหนักเปลือกในหน่วยกรัม การเปลี่ยนแปลงของดัชนีความสมบูรณ์ขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมต่างๆ เช่น อุณหภูมิ อาหารในธรรมชาติ ความเค็ม และวงจรการสืบพันธุ์ (Okumus and Stirling, 1998) เป็นต้น ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงเป็นการศึกษาเพื่อที่จะประเมินดัชนีความสมบูรณ์ต่อการเปลี่ยนแปลงของฤดูกาลในรอบปี และเพื่อเพิ่มผลผลิตหอยแมลงภู่ซึ่งจะประโยชน์ต่อผู้เลี้ยงโดยสามารถคาดการณ์ช่วงเวลาที่จะลงวัสดุต่างๆ เพื่อใช้ล่อลูกหอยแมลงภู่ในธรรมชาติ ตลอดจนเป็นข้อมูลพื้นฐานที่จะนำไปสู่การพัฒนาการเลี้ยงหอยแมลงภู่เชิงพาณิชย์ให้ประสบผลสำเร็จเป็นการใช้ทรัพยากรอย่างคุมค่าและยั่งยืน

อุปกรณ์และวิธีการ

พื้นที่ทำการศึกษา

ทำการเก็บตัวอย่างหอยแมลงภู่จากแพเลี้ยงหอยแมลงภู่แบบแพเชือกบริเวณอ่าวศรีราชา จังหวัดชลบุรี ที่ระยะห่างจากชายฝั่งประมาณ 1 กิโลเมตร มีระดับความลึกอยู่ในช่วง 3-6 เมตร โดยเลือกเก็บตัวอย่างจากแพเลี้ยงหอยแมลงภู่ทั้งหมดจำนวน 4 สถานี สถานีที่ 1 และสถานีที่ 2 มีความหนาแน่นมาก (12 แพต่อ 1×10^4 ตารางเมตร) และสถานีที่ 3 มีความหนาแน่นปานกลาง (8 แพต่อ 1×10^4ตารางเมตร) สถานีที่ 4 เป็นพื้นที่ใหม่ที่เริ่มทำการเลี้ยงแบบแพและมีความหนาแน่นน้อย (4 แพต่อ 1×10^4ตารางเมตร) โดยที่ 1 แพ มีขนาด 4×10^2 ตารางเมตร (Fig. 1)

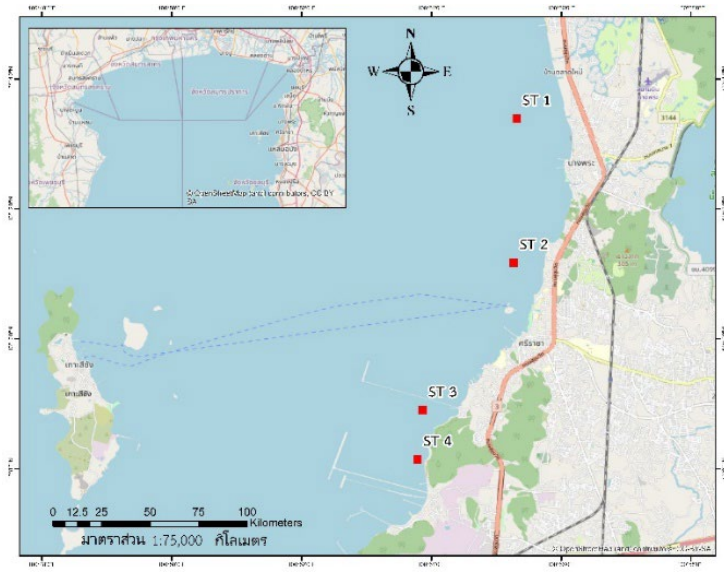


Fig.1 Map of study area in Gulf of Thailand, West part of gulf in Sriracha coast

การเก็บและวิเคราะห์ตัวอย่าง

สุ่มเก็บตัวอย่างจากแพเลี้ยงหอยแมลงภู่แบบแพเชือกทั้งหมดจำนวน 4 สถานี แต่ละสถานี สุ่มเก็บตัวอย่างหอยจำนวน 30 ตัว เก็บข้อมูลเดือนละ 1 ครั้ง จากนั้นนำข้อมูลมาทำการศึกษา ความสัมพันธ์ระหว่างความยาวและน้ำหนักเนื้อ และศึกษาดัชนีความสมบูรณ์ (Condition Index, CI) ในห้องปฏิบัติการ วัดความกว้างเปลือก (Shell width) ความยาวเปลือก (Shell length) และความหนาเปลือก (Shell thickness) ในหน่วยมิลลิเมตรโดยใช้เวอร์เนียร์คาลิเปอร์ ความละเอียด 0.1 มิลลิเมตร ชั่งน้ำหนักรวม (Total Weight = น้ำหนักเปลือก+น้ำหนักเนื้อเปียก) ด้วยเครื่องชั่งความละเอียด 4 ตำแหน่ง จากนั้นแยกส่วนเปลือกและเนื้อหอย ชั่งน้ำหนักเนื้อหอยเปียก (Fresh weight) และน้ำหนักเปลือกหอย (Shell weight) จดบันทึกข้อมูลแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักเนื้อหอยแห้งอีกครั้ง พร้อมจดบันทึกข้อมูล และนำข้อมูลทั้งหมดไปวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป

ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักกับความยาว (Weight–length relationships หรือ WLR) ถูกใช้เพื่อประมาณน้ำหนักที่เกี่ยวข้องกับความยาวที่กำหนดและตัวชี้วัดสภาพ (condition factors) เพื่อเปรียบเทียบสภาพประสิทธิภาพหรือสุขภาพของหอยโดยขึ้นอยู่กับความสมมาตรของหอย (Tesch, 1968) โดยความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักกับความยาวทราบได้จากการวิเคราะห์ความถดถอย ซึ่งจะแสดงในสมการรูป $W=aL^b$ (Le Cren's, 1951) โดยที่ W คือ น้ำหนักเนื้อหอย (Dry weight) หน่วยเป็นกรัม L คือ ความยาวเปลือก (Shell length) หน่วยเป็นเซนติเมตร a คือ ค่าคงที่ที่แสดงถึงจุดตัดแกน Yแสดงถึงค่าสัมประสิทธิ์การเติบโตเริ่มต้น และ b คือ ความชันของเส้นถดถอยแสดงถึงอัตราการเติบโตสัมพัทธ์

ค่าดัชนีความสมบูรณ์ (Condition Index, CI) การคำนวณหาค่าดัชนีความสมบูรณ์ของหอยสองฝามีวิธีการที่หลากหลาย ในครั้งนี้จะใช้ข้อมูล น้ำหนักเนื้อหอยแห้ง (Dry weight) และน้ำหนักเปลือกหอย (Shell weight) หน่วยเป็นกรัม แล้วคำนวณจากสูตร

$$\text{ดัชนีความสมบูรณ์; condition index} = \frac{\text{น้ำหนักเนื้อหอยแห้ง(กรัม)}}{\text{น้ำหนักเนื้อหอยแห้ง(กรัม)} + \text{น้ำหนักเปลือกหอย(กรัม)}} \times 100$$

การตรวจวัดคุณภาพน้ำเบื้องต้น

การเก็บข้อมูลคุณภาพน้ำเบื้องต้นจะมีการตรวจวัดเดือนละ 1 ครั้ง บริเวณเดียวกันทั้ง 4 สถานี โดยจะตรวจวัดค่าคุณภาพน้ำดังนี้ อุณหภูมิ (Temperature) ความเค็ม (Salinity) ค่าการนำไฟฟ้า (Conductivity) ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (Dissolve Oxygen) ของน้ำทะเล และปริมาณคลอโรฟิลล์ เอ (Chlorophyll A) ด้วยเครื่องวัดคุณภาพน้ำแบบหลายหัววัด (multiparameter probe; RINKO-profiler model ASTD)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ใช้โปรแกรม IMB SPSS Statistics Version 26 วิเคราะห์ข้อมูลเบื้องต้นด้วยสถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าเฉลี่ยและ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของค่าดัชนีความสมบูรณ์ เพื่อใช้สรุปข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ตัวอย่าง และใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One way analysis of variance หรือ ANOVA) ซึ่งทำการทดสอบโดยวิธี Post Hoc และใช้ Microsoft Excel version 2016 เพื่อวิเคราะห์ความถดถอย (regression analysis)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการการสุ่มเก็บหอยแมลงภู่ทั้ง 4 สถานี ตั้งแต่ เดือนมีนาคม ถึง เดือนพฤศจิกายน พ.ศ.2566 เป็นจำนวนทั้งหมด 1,080 ตัว โดยพบเพศเมีย 479 ตัว และเพศผู้ 47 ตัว ไม่สามารถระบุเพศได้ 554 ตัว ซึ่งโดยปกติแล้วสามารถแยกเพศของหอยแมลงภู่ได้จากสีของอวัยวะสืบพันธุ์ของหอยแมลงภู่แต่เมื่อถึงฤดูสืบพันธุ์ หอยแมลงภู่จะปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ออกภายนอกร่างกายทำให้สีของอวัยวะสืบพัธุ์ค่อนข้างจางจึงทำให้ยากต่อการจำแนกเพศ (McCoy and Chongpeepien, 1988) โดยแมลงภู่ทั้งหมด มีความกว้างเปลือกอยู่ในช่วง 1.0–5.5 เซนติเมตร มีความยาวเปลือกอยู่ในช่วง 2.1–9.2 เซนติเมตร มีความหนาเปลือกอยู่ในช่วง 0.7–3.0 เซนติเมตร และมีน้ำหนักรวมอยู่ในช่วง 0.97–45.82 กรัม ซึ่งโดยส่วนมากเชิงพาณิชย์มักจะใช้ความยาวของหอยแมลงภู่เป็นการกำหนดระยะเวลาการเก็บเกี่ยว และการเพิ่มขึ้นของความยาวในแต่ละเดือนเป็นไปตามรายงานของ อลงกตและสาโรจน์ (2548) ที่กล่าวว่าโดยเฉลี่ยแล้วหอยแมลงภู่จะมีความยาวเฉลี่ยเพิ่มขึ้นเดือนละประมาณ 1.13±0.53 เซนติเมตร

การตรวจวัดคุณภาพน้ำเบื้องต้น

คุณภาพน้ำบริเวณอ่าวศรีราชาตั้งแต่เดือนมีนาคม ถึง เดือนพฤศจิกายน พ.ศ.2566 มีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 28.14–32.03 องศาเซลเซียส ซึ่งมีค่าสูงสุดในเดือนมิถุนายน (32.03 องศาเซลเซียส) และต่ำสุดเดือนมีนาคม (28.14 องศาเซลเซียส) มีค่าความเค็มอยู่ในช่วง 27.14–31.76 ppt มีค่าสูงสุดในเดือนพฤศจิกายน (31.76 ppt) และต่ำสุดเดือนกันยายน (27.14 ppt) มีค่าออกซิเจนละลายในน้ำอยู่ในช่วง 3.82–8.26 มิลลิกรัมต่อลิตร มีค่าสูงสุดในเดือนสิงหาคม (8.26 มิลลิกรัมต่อลิตร) และต่ำสุดเดือนพฤษภาคม (3.82 มิลลิกรัมต่อลิตร) และมีค่าคลอโรฟิลล์ เออยู่ในช่วง 2.32–25.36 ไมโครกรัมต่อลิตร มีค่าสูงสุดในเดือนกันยายน (25.36 ไมโครกรัมต่อลิตร) และต่ำสุดเดือนพฤษภาคม (2.32 ไมโครกรัมต่อลิตร) (Fig. 2)

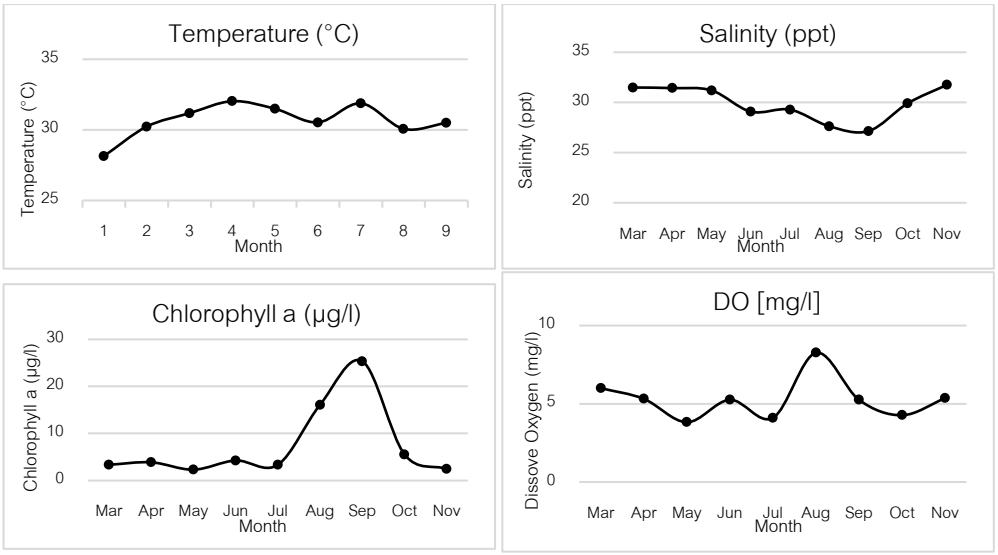


Fig. 2 Water Quality at 4 stations from February 2023 to October 2023 by Station (continue)

ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักกับความยาว (Weight–length relationships หรือ WLR)

ค่าความสัมพันธ์ระหว่างความยาวและน้ำหนักของหอยแมลงภู่สามารถแสดงได้ในรูปแบบสมการ $W= aL^b$ (Fig. 3) ดังนี้ สถานีที่ 1 $W=0.0708\times L^{0.367}$ สถานีที่ 2 $W=0.0619\times L^{0.4085}$ สถานีที่ 3 $W=0.1068\times L^{0.3418}$ สถานีที่ 4 $W=0.0514\times L^{0.4758}$ กล่าวคือ น้ำหนักของหอยแมลงภู่มีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันกับความยาว ความกว้าง และความหนา โดยทุกส่วนของหอยแมลงภู่เจริญเติบโตไปพร้อมกัน เช่นเดียวกับรายงานของ อลงกตและสาโรจน์ (2548) ซึ่งเคยหาความสัมพันธ์ระหว่างความยาวและน้ำหนักของหอยแมลงภู่ในอ่าวศรีราชา และพบว่าน้ำหนักของหอยแมลงภู่มีความสัมพันธ์ในทิศทางเดียวกันกับความยาว ความกว้าง และความหนา

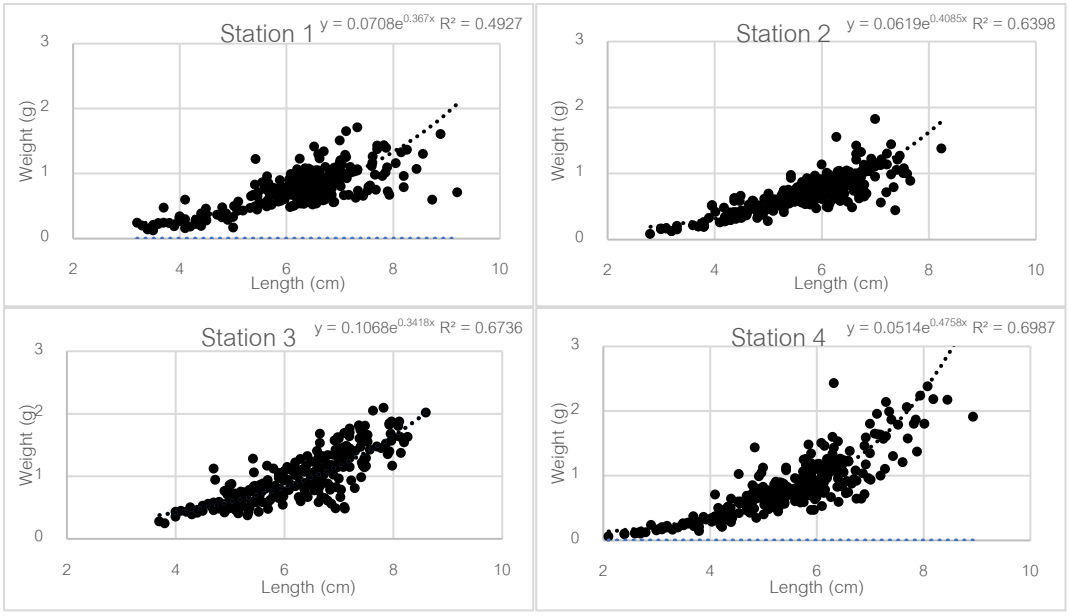


Fig. 3 Scatter plot of Length-weight relationship of *Perna viridis* 4 station in Sriracha coast, Sriracha district, Chonburi province from March 2023 to November 2023

ดัชนีความสมบูรณ์ (Condition index)

จากการศึกษาดัชนีความสมบูรณ์ (Condition Index, CI) ของหอยแมลงภู่ ในสถานีที่ 2 สถานีที่ 3 และสถานีที่ 4 มีการเปลี่ยนแปลงอยู่ 2 ช่วงเวลาคือ เริ่มเพิ่มขึ้นในเดือนเมษายนและสูงสุดในเดือนพฤษภาคมหลังจากนั้นลดลงต่ำสุดในเดือนมิถุนายน (Fig. 4) ซึ่งเป็นช่วงเปลี่ยนผ่านจากฤดูร้อนไปเป็นฤดูฝน และสอดคล้องกับรายงานของกองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง (2536) กรมประมงที่ระบุว่าฤดูกาลวางไข่ของหอยแมลงภู่ในบริเวณทะเลฝั่งตะวันออกของอ่าวไทยมีฤดูกาลวางไข่ 2 ช่วงเวลา คือช่วงเดือนพฤษภาคมถึงเดือนกรกฎาคม และช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงกุมภาพันธ์ และช่วงที่มีการปล่อยเซลล์สืบพันธุ์นั้นเป็นช่วงเวลาที่ผลผลิตมีมูลค่าต่ำเนื่องจากน้ำหนักตัวหอยจะลดลง (McCoy and Chongpeepien, 1988) ส่วนในสถานีที่ 1 นั้นที่มีแนวโน้มค่อนข้างแตกต่างจากสถานีอื่นๆเนื่องจากเป็นสถานีที่มีความหนาแน่นของแพหอยมากซึ่งอาจจะทำให้อาหารจากธรรมชาติไม่เพียงพอจึงมีการเจริญเติบโต และความสมบูรณ์น้อยและไม่สอดคล้องกับสถานีอื่น

จากการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมต่างๆ ในรอบปี 2566 ไม่ตรงตามฤดูกาล มีฝนตกทิ้งช่วง และเป็นระยะเวลานานเกิดการชะเอาธาตุอาหารจากแผ่นดินลงสู่ทะเลจำนวนมาก ทำให้เกิดปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสีต่อเนื่องหลายครั้ง ส่งผลกระทบต่อปริมาณผลผลิตเบื้องต้นของแหล่งน้ำ ซึ่งเป็นผลโดยตรงที่ทำให้คลอโรฟิลล์ เอ เพิ่มสูงขึ้นตั้งแต่เดือนสิงหาคมจนมีค่าสูงที่สุดในเดือนกันยายน ค่าปริมาณออกซิเจนละลายในน้ำ ความเค็มและอุณหภูมิน้ำทะเลมีการเปลี่ยนแปลงในช่วงกว้าง (Fig. 2) ทำให้ส่งผลต่อหอยแมลงภู่ทั้ง 4 สถานีที่ทำการศึกษา ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวจะกระตุ้นให้หอยแมลงภู่เกิดความเครียดและปล่อยเซลล์สืบพันธุ์ และส่งผลต่อดัชนีความสมบูรณ์ สอดคล้องกับ Galvao et al. (2015) ที่ระบุว่าค่าดัชนีความสมบูรณ์ไม่ได้ขึ้นอยู่กับขนาดหอยหรือเกี่ยวกับหอยโดยตรงเพียงอย่างเดียว แต่ยังขึ้นกับปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่างๆด้วย จึงควรมีการศึกษาอย่างต่อเนื่องเพื่อดูแนวโน้มผลของปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่างๆต่อดัชนีความสมบูรณ์ เพราะในแต่ละปีมีการเปลี่ยนแปลงทางสิ่งแวดล้อมต่างกันไปจากผลกระทบของภาวะโลกร้อน (global warming} และการเปลี่ยนแปลงทางสภาวะภูมิอากาศโลก (climate change)

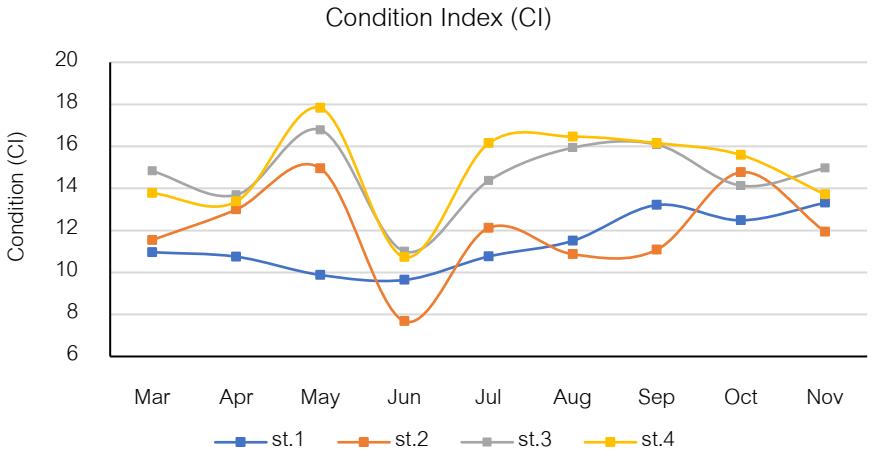


Fig. 4 Condition Index of Green mussels (*Perna viridis*) from March 2023 to November 2023 by Station

การวิเคราะห์ทางสถิติ

จากการนำข้อมูลดัชนีความสมบูรณ์ไปวิเคราะห์ในทางสถิติพบว่าค่าดัชนีความสมบูรณ์ของหอยแมลงภู่ในแต่ละเดือนของแต่ละสถานีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (Table 1) ซึ่งสอดคล้องกับ รายงานของกองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่ง (2536) ซึ่งรายงานว่าช่วงเดือนพฤษภาคมเป็นช่วงที่เริ่มฤดูกาลสืบพันธุ์ ทำให้หอยมีค่าดัชนีความสมบูรณ์สูง และนอกจากนี้ความสมบูรณ์ของพอยแมลงภู่ยังขึ้นกับปริมาณอาหารที่เพิ่มขึ้นในช่วงฤดูฝนด้วย ทั้งนี้ค่าดัชนีความสมบูรณ์ในแต่ละฤดูที่ต่างกันอาจเป็นเพราะคุณภาพสิ่งแวดล้อมที่เปลี่ยนไปในแต่ละปีและในแต่ละฤดูกาลด้วยเช่นกัน

Table 1 Condition Index (CI) of 4 Station from March 2023 to November 2023

Seasonal	Condition Index (CI) ($\bar{x} \pm SD$)	Station1	Station 2	Station 3	Station4
Summer season	March	10.96±2.62^{c}	11.54±1.13cde	14.82±2.67^{bc}	13.78±2.03^{c}
	April	10.75±1.54^{cd}	13.00±1.56b	13.69±1.71^{c}	13.37±1.42^{c}
Rainy season	May	9.58±2.06^{d}	14.96±1.88^{a}	16.78±2.52^{a}	17.82±1.91^{a}
	June	9.64±1.10^{d}	7.68±1.58^{f}	11.00±1.77^{d}	10.73±1.95^{d}
	July	10.76±1.42^{cd}	12.12±1.70^{bc}	14.37±4.57^{c}	16.14±5.63^{b}
	August	11.50±1.44^{bc}	10.86±1.59^{e}	15.93±2.36^{ab}	16.46±3.10^{b}
	September	13.20±2.32^{a}	11.08±1.60^{de}	16.08±1.80^{ab}	16.15±2.07^{b}
	October	12.48±2.82^{ab}	14.77±3.00^{a}	14.13±2.21^{c}	15.59±1.44^{b}
	November	13.31±3.18^{a}	11.94±1.38^{cd}	14.96±2.32^{bc}	13.71±1.48^{c}

* Means±SD in the same column followed by different superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

สรุป

จากการศึกษาดัชนีความสมบูรณ์ (Condition Index, CI) ของหอยแมลงภู่ทั้ง 9 เดือนที่ทำการศึกษามีการเปลี่ยนแปลงอยู่ 2 ช่วงเวลาคือเพิ่มขึ้นสูงสุดในเดือนพฤษภาคม หลังจากนั้นลดลงต่ำสุดในเดือนมิถุนายนแล้วจึงเริ่มเพิ่มขึ้นอีกครั้ง และจากผลคุณภาพน้ำทำให้ทราบว่าหอยแมลงภู่สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่ อุณหภูมิ และความเค็ม มีการเปลี่ยนแปลงในช่วงกว้างแต่ไม่ได้หมายความว่าค่าดัชนีความสมบูรณ์จะคงที่เสมอไป ดังเช่นการเพิ่มขึ้นของค่าดัชนีความสมบูรณ์ทั้ง 4 สถานี ในช่วงที่ 2 ที่ไม่ได้เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนซึ่งอาจเป็นเพราะได้รับผลกระทบจากการเกิดปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสีต่อเนื่องเป็นระยะเวลานานและค่าคุณภาพน้ำต่าง ๆ มีการเปลี่ยนแปลงภายในระยะเวลารวดเร็วเกินกว่าการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพตามปกติในแต่ละฤดูกาล ซึ่งส่งผลกระทบให้ค่าดัชนีความสมบูรณ์หอยแมลงภู่ในช่วงที่สองไม่เพิ่มขึ้นเท่าที่ควรจะเป็นแต่ในขณะเดียวกันก็ยังไม่สามารถสรุปได้ชัดเจนเนื่องจากปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสีแต่ละปีไม่ได้เกิดขึ้นในช่วงเวลาเดียวกันและระยะเวลาการเกิดของแต่ละรอบมีความยาวนานแตกต่างกัน

ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเรื่องนี้อย่างต่อเนื่องเพื่อให้เห็นความชัดเจนว่าปรากฏการณ์น้ำทะเลเปลี่ยนสีมีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตหรือดัชนีความสมบูรณ์ของหอยแมลงภู่

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณบริษัทเชือกและอวนสยาม จำกัด ในการอนุเคราะห์เชือกและอวนสำหรับทำแพเลี้ยงหอยแมลงภู่แบบแพเชือก

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง. 2536. การเลยงหอยแมลงภู่. กรมประมง, กองสงเสริมการประมง. กรุงเทพฯ.

กรมประมง. 2564. สถิติฟาร์มเลี้ยงหอยทะเลประจำปี 2564. กลุ่มสถิติการทำประมง. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. กรุงเทพฯ.

อลงกต อินทรชาติ, สาโรจน์ เริ่มดำริห์. 2548. การเจริญเติบโตของหอยแมลงภู่จากการเลี้ยงโดยวิธีเชือกล่อลูกหอยในอ่าวศรีราชา จังหวัดชลบุรี. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. หน้า 302–308.

Durve, V.S. 1964. On the percentage edibility and the index of condition of the oyster, *Crassostrea gryphoides* (SCHLOTHEIM). J. Mar. Biol. Assoc. U. K. 6: 128–135.

Froese, R. 2006. Cube law, condition factor, and weight-length relationships: History, meta-analysis and recommendations. J. Appl. Ichthyol. 22: 241–253.

Galvao, P. Longo R. Torres J.P.M., Malm O. 2015. Estimating the potential production of the brown mussel *Perna perna* (Linnaeus, 1758) reared in three tropical bays by different methods of condition indices. J. Mar. Biol. 2015: 1–11.

Gosling, E. 1992. The mussel mytilus: Ecology, physiology, genetics and culture. Dev. Aquacult. Fish. Sci. 25: 589.

Le Cren's, E.D. 1951. The length-weight relationship and seasonal cycle in gonad weights and condition in the Perch (Perca fluviatalis). J. Anim. Ecol. 20: 201–219.

Mc Coy, E.E., Chongpeepien, T. 1988. Bivalve Mollusc culture research in Thailand. Department of Fisheries, Bangkhen, Bangkok. pp. 170.

Mensel, W. 1991. Estuarine and marine bivalve mollusk culture. CRC Press. Florida, FL, USA.

Okumus, I., Stirling, H.P. 1998. Seasonal variations in the meat weight, Condition Index and biochemical composition of mussels (*Mytilus edulis* L.) in suspended culture in two Scottish sea lochs. Aquac. 159: 249–261.

Snodden, L.M. Roberts, D. 1997. Reproductive patterns and tidal effects on spat settlement of *Mytilus edulis* populations in Dundrum Bay, Northern Ireland. Mar. Biol. 77: 229–243.

Tesch, F.W. 1968. Age and growth. In: Methods for assessment of fish production in fresh waters. W.E. Ricker (Ed.). Blackwell Scientific Publications, Oxford, UK. pp. 93–123.

การใช้ครีมยีสต์ (cream yeast) จากเศษเหลือต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในระดับห้องปฏิบัติการ

Using the Cream Yeast Byproduct to Enhance *Litopenaeus vannamei* Growth and Survival Rate in Laboratory

แก้วตา ลิ้มเฮง*, สาธิต บุญน้อม, เสาวภา เขียนงาม

Kaewta Limhang*, Sathit Boonnom, Saowapar Khianngam

หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี เพชรบุรี 76120

Bachelor of Science Program in in Fisheries Science, Faculty of Animal Sciences and Agricultural Technology, Silpakorn University, Phetchaburi Information Technology Campus, Phetchaburi 76120, Thailand

*Corresponding author: E-mail address: limhang_k@su.ac.th

บทคัดย่อ

ศึกษาการใช้ครีมยีสต์ผสมในอาหารสำเร็จรูปในการเลี้ยงกุ้งขาว มี 4 กลุ่มการทดลอง คือ กลุ่มควบคุม C1 (ไม่ผสมครีมยีสต์) T1, T2 และ T3 เลี้ยงกุ้งขาวด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมครีมยีสต์ 1,2 และ 3% ตามลำดับ ทดลองในกุ้งขาวระยะโพสลาร์วา 12 เลี้ยงด้วยน้ำความเค็ม 10 ppt เลี้ยงกุ้งขาวระยะเวลา 75 วัน น้ำหนักเฉลี่ยกุ้งขาวสุดท้าย อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการรอดตาย และอัตราแลกเนื้อมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในกลุ่มควบคุมกับกลุ่มการทดลอง T1, T2 และ T3 คุณภาพน้ำในทุกพารามิเตอร์อยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งขาว สามารถใช้ครีมยีสต์ผสมในการเลี้ยงกุ้งขาวในอัตราส่วน 1–3% ผสมในอาหารให้กุ้งขาวกินได้ และการใช้ครีมยีสต์ที่อัตราส่วน 2% พบว่ามีปริมาณเชื้อแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอในตับและตับอ่อนและลำไส้น้อยกว่ากลุ่มการทดลองอื่น

คำสำคัญ: กุ้งขาวแวนนาไม, การเจริญและอัตราการรอดตาย, ครีมยีสต์

Abstract

Study the using cream yeast with commercial shrimp feed diets on rearing in *Litopenaeus vannamei*. The experiment was designed into four treatment groups as each commercial shrimp feed meal mixture containing the cream yeasts different of 0, 1, 2 and 3% (C1, T1, T2 and T3). Experimented with white shrimp were post-larva 12 (PL12). White shrimp reared in saline water of 10 ppt salinity. Shrimps were cultured in a period of 75 days. Final average body weight, average daily gain, survival rate and feed conversion ratio were significant statistically difference ($p < 0.05$) in C1 with T1, T2 and T3. Water quality in all parameters are still suitable for rearing white shrimp. Cream yeast with fed meal rearing white shrimp can be used at ratio 1–3% and used cream yeast as 2%, it was found that *Vibrio* spp. in hepatopanceas and in intestine of shrimp were lower compare other treatment.

Keywords: Cream Yeast, Growth and Survival Rate, *Litopenaeus vannamei*

คำนำ

ครีมยีสต์ (cream yeast) เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาล ในกระบวนการหมักจะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งส่วนใหญ่จะใช้ยีสต์ โดยยีสต์ที่ตายจะถูกปั่นเหวี่ยงออกมาในรูปครีมเหลวสีน้ำตาลเข้ม ซึ่งเป็นกากของเสียที่เกิดจากกระบวนการหมัก ครีมยีสต์พบว่ามีปริมาณอินทรีย์วัตถุ (79%) และธาตุไนโตรเจน (22%) นอกจากนั้นยังมีแร่ธาตุอื่น ๆ เช่น ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม และซัลเฟอร์ เป็นต้น ผู้วิจัยได้รับทราบข้อมูลของบริษัท อีเอส เพาเวอร์ จำกัด ในกระบวนการผลิตเอทานอลนั้น มีผลพลอยได้จากการผลิตเป็นครีมยีสต์ที่ต้องระบายออกประมาณ 8 ตันต่อวัน หรือ 2,640 ตันต่อปี ปัจจุบันมีวิธีการกำจัดโดยการนำไปผสมกับกากตะกอนหม้อกรอง (Filter cake) หากผสมไม่ดีก็จะเกิดกลิ่นเหม็นทำให้ส่งผลกระทบต่อสภาพแวดล้อม เพื่อเป็นการกำจัดกลิ่นอันเป็นมลภาวะ ในปี 2563 ทางบริษัท อีเอส เพาเวอร์ จำกัด จึงได้สั่งซื้อเครื่องอบแห้งครีมยีสต์ (Flash dryer) เพื่ออบครีมยีสต์จนได้ผลิตภัณฑ์เป็นครีมยีสต์แห้งและมีโปรตีนสูง 35 เปอร์เซ็นต์ สามารถจำหน่ายเป็นอาหารสัตว์ได้ปีละมากกว่า 800 ตัน จึงมีแนวคิดในการประยุกต์ใช้เศษเหลือและผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตเอทานอลจากกากน้ำตาลอย่างครีมยีสต์ เพื่อนำไปเป็นส่วนประกอบอาหารสัตว์น้ำ เช่น อาหารสำหรับการเลี้ยงกุ้งขาว ซึ่งเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย เนื่องจากคุณสมบัติของครีมยีสต์เหมาะสมสำหรับใช้เป็นแหล่งโปรตีน ให้ผลผลิตต่อหน่วยที่สูงประกอบด้วยโปรตีน 36–46 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง และมีโภชนาการทางอาหารสูง มีสารอาหารสำคัญ และวิตามินบี หรือซีลิเนียมซึ่งมีความสำคัต่อระบบสืบพันธุ์และการเจริญเติบโตของสัตว์ มีความหลากหลายในองค์ประกอบทำให้สัตว์น้ำเจริญเติบโตได้ดี และช่วยส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกัน (นุชนาถ, 2558; สาวิตรี, 2549; Yamine et al, 2022)

การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการใช้ครีมยีสต์ต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้งขาว เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาประสิทธิภาพการใช้ครีมยีสต์ในการเลี้ยงกุ้งขาว เพื่อเพิ่มมูลค่าของครีมยีสต์มาใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์น้ำ และการเพิ่มมูลค่าผลผลอยได้ รวมถึงการจัดการของเสียจากโรงงานผลิตน้ำตาล ที่จะทำให้กระบวนการผลิตน้ำตาลทรายมีของเหลือทิ้งมีปริมาณลดลงและส่งผลต่อสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุด

อุปกรณ์และวิธีการ

การวางแผนการทดลอง ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Ramdomized Design : CRD) แบ่งการทดลอง ดังนี้

กลุ่มควบคุม C1 (Control) เลี้ยงกุ้งขาวด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูป

กลุ่มการทดลอง T1 เลี้ยงกุ้งขาวด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมครีมยีสต์ 1%

กลุ่มการทดลอง T2 เลี้ยงกุ้งขาวด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมครีมยีสต์ 2%

กลุ่มการทดลอง T3 เลี้ยงกุ้งขาวด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ผสมครีมยีสต์ 3%

ครีมยีสต์ที่นำมาใช้ในการทดลอง มาจากกระบวนการผลิตเอทานอล ผ่านเครื่องอบแห้งครีมยีสต์ เพื่ออบครีมยีสต์จนได้ผลิตภัณฑ์เป็นครีมยีสต์

การเตรียมน้ำและสัตว์ทดลอง

นำน้ำความเค็มสูงจากนาเกลือมาปรับความเค็มด้วยน้ำจืด ให้ได้ระดับความเค็ม 10 ppt นำลูกกุ้งขาวระยะโพสลาร์วา 12 จากโรงเพาะฟักเอกชน จำนวน 1,200 ตัว พักและปรับสภาพก่อนการทดลอง ใช้ถังพลาสติกขนาด 500 ลิตร

(จำนวน 8 ถัง สำหรับพักลูกกุ้งที่นำมาจากฟาร์ม) เติมน้ำเค็มที่มีความเค็ม 10 ppt ให้มีปริมาตร 200 ลิตร ให้อากาศด้วยหัวทรายตลอดระยะเวลา ให้อาหารสำเร็จรูปสำหรับกุ้งขาว 4 มื้อต่อวัน เวลา 08.00 น., 11.00 น., 14.00 น. และ 18.00 น. เปลี่ยนถ่ายน้ำและดูดตะกอนอาหารทุก ๆ 3–5 วัน

คัดเลือกลูกกุ้งที่มีขนาดใกล้เคียงกัน น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นของลูกกุ้งมีค่าเท่ากับ 0.0426±0.016 กรัม แบ่งลูกกุ้งเป็น 4 กลุ่มการทดลอง กลุ่มการทดลองละ 4 ซ้ำ แต่ละซ้ำใส่ลูกกุ้งจำนวน 75 ตัว (คิดเป็นการปล่อยลูกกุ้งในบ่อดิน 75 ตัวต่อตารางเมตร หรือเท่ากับ 120,000 ตัวต่อไร่) เลี้ยงกุ้งในถังพลาสติกขนาด 500 ลิตร ที่เติมน้ำเค็ม 10 พีพีที ให้มีปริมาตรน้ำ 250 ลิตร จำนวน 16 ถัง ให้อาหารลูกกุ้งด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปตามแต่ละการทดลอง ให้อากาศด้วยหัวทรายตลอดระยะเวลาการเลี้ยง ใช้ตาข่ายกรองแสงสีดำพับ 2 ชั้น คลุมตลอด 24ชั่วโมง เลี้ยงกุ้งขาวเป็นระยะเวลา 75 วัน

ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งขาว

สุ่มตัวอย่างลูกกุ้งขาวทั้ง 4 การทดลอง จำนวนกุ้งซ้ำละ 20 ตัว และสุ่มตัวอย่างกุ้งชั่งน้ำหนักที่ 0, 15, 30, 45, 60 และ 75 วันของการเลี้ยง ชั่งน้ำหนักและคำนวณหาน้ำหนักเฉลี่ย อัตราการเจริญเติบโต หลังจากสิ้นสุดการเลี้ยง 75 วัน จึงคำนวณหาอัตราแลกเนื้อ น้ำหนักสุดท้าย และอัตราการรอดตาย ในระหว่างการเลี้ยงกุ้งขาว มีการตรวจวัดคุณภาพน้ำทุก ๆ 10 วัน ได้แก่ อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรดด่าง และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ ตรวจด้วยเครื่องวัด เครื่องวัดคุณภาพน้ำแบบมัลติพารามิเตอร์ รุ่น AL ยี่ห้อ Aqualytic/Germany

ศึกษาปริมาณแบคทีเรียในกุ้งขาว

นำตัวอย่างลูกกุ้งขาวระยะโพสลาวาร์ 10-12 (ก่อนเริ่มการทดลอง) ลูกกุ้งขาวที่เลี้ยงที่ 15 และ 30 วัน มาแยกเชื้อแบคทีเรียจากตัวลูกกุ้ง ใช้ตัวอย่างกุ้งจากชุดการทดลองซ้ำที่ 4 ของแต่ละกลุ่มการทดลอง ในการศึกษา จำนวนกุ้ง 5 ตัว ชั่งน้ำหนักลูกกุ้ง ใส่ในโกร่งบดที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว เติม 0.85% NaCl 9 ml บดให้ละเอียด แล้วเจือจางแบบ serial ten-fold dilution ด้วย 0.85% NaCl เลือกความเข้มข้นที่เหมาะสม 3 ระดับแล้วปิเปตระดับ ละ 100 ul ทำการ spread plate ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Trypticase Soy Agar (TSA) และ Thiosulphate Citrate Bile Salt Sucrose (TCBS) ที่เติมเกลือแกง (NaCl) 1.5 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง นับปริมาณแบคทีเรียรวมและแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ และนำตัวอย่างกุ้งขาวที่เลี้ยง 45, 60 และ 75 วัน จำนวน 5 ตัว มาแยกเชื้อแบคทีเรียจากตับและตับอ่อน (hepatopancreas) และลำไส้กุ้ง ตามวิธีการข้างต้นเช่นเดียวกัน

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

บันทึกข้อมูลที่ได้จากการทดลอง ค่าอัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย อัตราแลกเนื้อ วิเคราะห์ความแตกต่างทางด้านสถิติ โดยใช้วิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance) ตามแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยของแต่ละกลุ่มการทดลอง ด้วยการใช้โปรแกรม R

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาการเจริญเติบโต อัตารอดตายและอัตราแลกเนื้อของกุ้งขาวที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปผสมครีมยีสต์ในการเลี้ยง

น้ำหนักเฉลี่ยกุ้งขาวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (Table 1) ในกลุ่มควบคุม C1 กับกลุ่มการทดลอง T1, T2 และ T3 โดยมีค่าน้ำหนักเฉลี่ยกุ้งขาวเท่ากับ 10.25±1.41, 8.78±0.88 8.29±1.03 และ

8.11±0.76 กรัมต่อตัว ตามลำดับ ส่วนอัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการรอดตาย และอัตราแลกเนื้อ ในกลุ่มควบคุม C1 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับกลุ่มการทดลองอื่น จากการศึกษาในครั้งนี้จะเห็นได้ว่ากลุ่มการทดลอง T1, T2 และ T3 ที่มีการผสมครีมยีสต์ในอาหารนั้นมีค่าอัตราการรอดตายเท่ากับ 82.22±2.04, 86.67±3.53 และ 86.22±3.36 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ไม่มีการใช้ครีมยีสต์ ที่มีอัตรารอดตายเท่ากับ 54.67±4.81 เปอร์เซ็นต์ จึงส่งผลให้กุ้งที่เลี้ยงในถังมีความหนาแน่นน้อยกว่า ทำให้กุ้งกลุ่มควบคุมมีอัตราการเจริญเติบโตเฉลี่ย 10.25±1.41 กรัมต่อตัว ซึ่งมีค่าสูงกว่ากลุ่มการทดลอง T1, T2 และ T3 ส่วนในการทดลอง T1, T2 และ T3 ถึงจะมีอัตราการเจริญเติบโตแตกต่างกับกลุ่มควบคุม แต่จะเห็นได้ว่ามีอัตราการรอดตายที่ค่อนข้างสูง คือเกิน 80 เปอร์เซ็นต์ในทั้ง 3 กลุ่มการทดลอง เนื่องจากโปรตีนจากผนังเซลล์ยีสต์เป็นโปรตีนที่ดีต่อสุขภาพคนและสัตว์ และผนังเซลล์ยีสต์มีส่วนประกอบของแมนแนน (mannans) กลูแคน (glucan) และไคติน (chitin) ที่มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก ซึ่งพรีไบโอติกจะส่งเสริมการเจริญเติบโตที่เฉพาะเจาะจงกับจุลินทรีย์ที่มีต่อสุขภาพคนและสัตว์ ในผนังเซลล์ของยีสต์มีเบต้ากลูแคนที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันได้ดี (ประกานต์ และจารุณี, 2555 ; นุชนาถ, 2558; Yamine et al, 2022) ซึ่งอาจจะทำให้มีผลต่ออัตราการรอดตายของกุ้งที่มีค่าสูงจากกลุ่มการทดลองที่มีการผสมอาหารด้วยครีมยีสต์

Table 1 Growth rate, survival rate and feed conversion ratio of *Litopenaeus vannamei* fed diets containing rearing cream yeast concentrations

Treatment	Final average body weight (g/shrimp)	Average daily gain (g/shrimp/day)	Survival rate (%)	Feed conversion ratio (FCR)
C1	10.25±1.41[b]	0.1326±0.005[b]	54.67±4.81[b]	3.16±0.27[b]
T1	8.78±0.88[a]	0.1165±0.001[a]	82.22±2.04[a]	2.44±0.06[a]
T2	8.29±1.03[a]	0.1100±0.003[a]	86.67±3.53[a]	2.42±0.10[a]
T3	8.11±0.76[a]	0.1076±0.005[a]	86.22±3.36[a]	2.52±0.10[a]

The different alphabets in the same column mean significant difference ($p < 0.05$)

การศึกษาปริมาณแบคทีเรียรวมและแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ (*Vibrio* sp.) *ในกุ้งขาวที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปผสมครีมยีสต์*

ผลการศึกษาปริมาณแบคทีเรียรวมในการเลี้ยงกุ้งขาว พบว่าในช่วงเริ่มต้นการทดลองที่วันที่ 0 ในทุกกลุ่มการทดลองมีปริมาณของแบคทีเรียรวมในตัวกุ้งมีค่าใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 4.32-4.45x10^7 CFU/gหลังจากการเลี้ยงกุ้งวันที่ 15 และ 30 จะเห็นแนวโน้มการเพิ่มปริมาณของแบคทีเรียรวมที่ศึกษาในตัวกุ้งและที่ 45 วัน โดยตับและตับอ่อนและลำไส้ของกุ้ง จะมีปริมาณแบคทีเรียรวมเพิ่มขึ้นจากการเลี้ยงเริ่มต้น หลังจากนั้นในวันที่ 60 และ 75 พบว่าปริมาณแบคทีเรียรวมทั้งในตับและตับอ่อน ลำไส้กุ้งมีแนวโน้มลดลงเมื่อเทียบจากวันที่ 45 ของการเลี้ยง ส่วนปริมาณแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอในตัวกุ้ง ในช่วงเริ่มต้นการทดลองในวันที่ 0 นั้น ทุกกลุ่มการทดลองมีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอใกล้เคียงกัน อยู่ในช่วง 6.28-6.53 x10^6 CFU/g และกุ้งขาวที่เลี้ยง 60 และ 75 วัน ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอที่พบในตับและตับอ่อนและลำไส้ของกลุ่มการทดลอง T2 มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอน้อยกว่ากลุ่มการทดลองอื่น (Table 2)

แบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ (*Vibrio* spp.) เชื้อนี้พบได้ทั่วไปในน้ำทะเล แม้แต่กุ้งที่แข็งแรงก็สามารถพบเชื้อกลุ่มวิบริโอหลายสปีชีส์ในทางเดินอาหาร ตับและตับอ่อนของกุ้งได้ เชื้อกลุ่มวิบริโอหลายชนิดเป็นเชื้อจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารของกุ้งปกติ ก่อโรคได้ในกุ้งทุกระยะ เช่น โรคขี้ขาว ส่งผลทำให้กุ้งกินอาหารลดลง กุ้งโตช้า กุ้งมีขนาดแตกต่างกัน มีการอักเสบของลำไส้กุ้งที่เกิดจากการติด

เชื้อแบคทีเรีย กุ้งอ่อนแอจากการที่ไม่ได้รับสารอาหารเนื่องจากการอักเสบของระบบทางเดินอาหาร และโรคตับและตับอ่อนเสื่อมสภาพอย่างฉับพลัน (Acute hepatopancreatic necrosis disease: AHPND) โดยพบว่าโรคนี้เกิดจากเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* (ชัยวุฒิ, 2555; Chomwong.S. 2018; Kathy, et al., 2016; Wangman, et al., 2018) ปัจจัยที่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเชื้อ *Vibrio parahaemolyticus* ได้แก่ น้ำที่มีออกซิเจนต่ำ สารอินทรีย์สูง อาหารกุ้งตกค้างในบ่อ และเศษตะกอนอินทรีย์ตกค้าง เป็นต้น ส่วนในการศึกษาในครั้งนี้เลี้ยงกุ้งในถังพลาสติก มีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ ดูดตะกอนทุก 3-5 วัน เป็นการควบคุมเศษอาหารที่เหลือจากการกินอาหารของกุ้ง ขี้กุ้งและเศษซากของสิ่งมีชีวิตต่าง ๆ ที่อยู่ในบ่อเลี้ยงที่จะมีผลต่อการเพิ่มปริมาณของแบคทีเรียรวมและแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอที่เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคหรือมีผลต่อสุขภาพกุ้งที่เลี้ยงได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของธนิตและคณะ (2559) พบว่าแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* ในน้ำ ตะกอนดิน และในตับและตับอ่อนกุ้งมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่า BOD, COD, แอมโมเนีย และไนไตรท์ ดังนั้นในแนวทางการเลี้ยงกุ้งขาวเพื่อลดปัญหาการเกิดโรคตายด่วน จึงควรลดปริมาณสารอินทรีย์ภายในบ่อเลี้ยง ที่อาจจะช่วยลดปริมาณเชื้อแบคทีเรีย *V. parahaemolyticus* และแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอในบ่อเลี้ยงกุ้งได้ โดยพบว่าปริมาณแบคทีเรียวิบริโอรวมในน้ำอยู่ในช่วง 0.01 ± 0.00–$482.40\pm1.13\times10^4$ CFU/ml ปริมาณแบคทีเรียวิบริโอรวมในตับและตับอ่อนกุ้งอยู่ในช่วง 0.10 ± 0.05–$36.20\pm10.90\times10^5$ CFU/g ในบ่อเลี้ยงกุ้งขาวบ่อดิน มีการศึกษาของแก้วตา (2558) พบปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับโรคขี้ขาวในฟาร์มเลี้ยงกุ้งในจังหวัดเพชรบุรี พบปริมาณแบคทีเรียวิบริโอ (*Vibrio* spp.) เฉลี่ยที่พบในตับและตับอ่อนและลำไส้กุ้ง กุ้งขาวที่มีอายุการเลี้ยง 31-60 วัน มีค่า $5.32\pm0.52\times10^6$ CFU/g และ $5.21\pm0.48\times10^5$ CFU/g (จากตัวอย่างกุ้งขาวในบ่อปกติ) และ $4.08\pm0.64\times10^7$ CFU/g และ $1.83\pm0.56\times10^6$ CFU/g (จากตัวอย่างกุ้งขาวในบ่อที่มีอาการขี้ขาว) ซึ่งในการศึกษาในครั้งนี้พบปริมาณแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอในตับและตับอ่อนที่เลี้ยงในช่วง 60 วัน อยู่ในช่วง 9.40×10^3-5.13×10^6 CFU/g และในลำไส้ของกุ้งอยู่ช่วง 1.37×10^3-4.20×10^5 CFU/g อยู่ในช่วงที่ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอใกล้เคียงกับกุ้งขาวที่มีเลี้ยงในบ่อปกติ ด้วยการทดลองในครั้งนี้มีการควบคุมปริมาณสารอินทรีย์ อาหารที่เหลือตกค้างในบ่อ ขี้กุ้ง ซากสิ่งมีชีวิต โดยการดูดตะกอนและเปลี่ยนถ่ายน้ำในระหว่างการเลี้ยง จึงไม่มีปัญหาการเกิดโรคจากกลุ่มแบคทีเรียวิบริโอชนิดต่าง ๆ

การศึกษาสมบัติของน้ำในการเลี้ยงกุ้งขาวที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปผสมครีมยีสต์ในการเลี้ยง

ค่าอุณหภูมิ ความเค็ม พีเอช และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ ($p > 0.05$) (Table 3) คุณภาพน้ำในทุกพารามิเตอร์อยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งขาว โดยคุณสมบัติของน้ำที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงกุ้ง ที่มีค่าพีเอช 7.5–8.5 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมากกว่า 4 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งกุ้งขาวเป็นกุ้งทะเลที่มีความสามารถทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงของความเค็มได้ในช่วงกว้าง ถ้าความเค็มเปลี่ยนแปลงลดลงอย่างช้าๆ สามารถปรับตัวอยู่ที่ความเค็มเป็นศูนย์ หรือความเค็มที่เพิ่มขึ้นจนถึง 45 ppt ส่วนพีเอชของน้ำมีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของกุ้งมาก เนื่องจากพีเอชมีผลต่อคุณสมบัติของน้ำตัวอื่น ๆ เช่น มีผลต่อความเป็นพิษของแอมโมเนียไนไตรท์ และไฮโดรเจนซัลไฟด์ เป็นต้น พีเอชของน้ำที่เหมาะสมแก่การเลี้ยงกุ้งควรอยู่ระหว่าง 7.5–8.5 การเปลี่ยนแปลงของพีเอชในบ่อเลี้ยงกุ้งขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง เช่น คุณสมบัติของดิน ค่าความเป็นด่าง การผลิตและการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในน้ำ ซึ่งส่วนใหญ่จะขึ้นอยู่กับปริมาณแพลงก์ตอนพืชในบ่อเลี้ยง การศึกษาในครั้งนี้มีการเลี้ยงกุ้งในโรงเรือนที่มีลักษณะบ่อเลี้ยงเป็นถังพลาสติก 500 ลิตร และคลุมด้วยสแลนดำในระหว่างการเลี้ยง พีเอชของน้ำในรอบวันของการเลี้ยงกุ้งไม่ควรแตกต่างมากกว่า 0.5 การเปลี่ยนแปลงพีเอชของน้ำในรอบวันมากเกินไปจะมีผลทำให้กุ้งเครียดมีผลต่อการเจริญเติบโตด้วย ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีผลต่อการกินอาหาร การเจริญเติบโตและสุขภาพกุ้ง ถ้าปริมาณออกซิเจนต่ำเกินไปอาจมีผลทำให้กุ้งตายได้ การศึกษาในครั้งนี้มีการให้ออกซิเจนตลอดระยะเวลาการเลี้ยงอย่างเพียงพอด้วยหัวทราย ปริมาณออกซิเจนจึงอยู่ในช่วงที่เหมาะสมตลอดระยะเวลาการเลี้ยงกุ้งนาน 75 วัน ถ้าออกซิเจนต่ำกว่า 3.0 พีพีเอ็ม กุ้งจะไม่แข็งแรง การกินอาหารจะลดต่ำลงกว่าปกติ ในช่วงที่กุ้งกำลังลอกคราบ ถ้าระดับออกซิเจนต่ำกุ้งอาจจะลอกคราบแล้วตายได้ (ชลอ และพรเลิศ, 2547; Boyd,1982)

Table 2 Total of bacteria and *Vibrio* spp. in *Litopenaeus vannamei* obtained different concentrations of cream yeast in feed at 0, 15, 30, 45, 60 and 75 days

Days	Treatment	Total bacteria (CFU/g)			Total *Vibrio* sp. (CFU/g)		
		Whole shrimp	Hepatopancreas	Intestine	Whole shrimp	Hepatopancreas	Intestine
0	C1	$4.36x10^{7}$	-	-	$6.53x10^{6}$	-	-
	T1	$4.45x10^{7}$	-	-	$6.28x10^{6}$	-	-
	T2	$4.32x10^{7}$	-	-	$6.44x10^{6}$	-	-
	T3	$4.34x10^{7}$	-	-	$6.29x10^{6}$	-	-
15	C1	$1.30x10^{7}$	-	-	$1.68x10^{7}$	-	-
	T1	$1.54x10^{6}$	-	-	$8.40x10^{6}$	-	-
	T2	$1.23x10^{7}$	-	-	$7.65x10^{5}$	-	-
	T3	$4.23x10^{7}$	-	-	$2.10x10^{6}$	-	-
30	C1	$3.06x10^{8}$	-	-	$9.0x10^{5}$	-	-
	T1	$2.00x10^{6}$	-	-	$8.78x10^{5}$	-	-
	T2	$1.50x10^{8}$	-	-	$4.95x10^{6}$	-	-
	T3	$1.54x10^{8}$	-	-	$9.50x10^{6}$	-	-
45	C1	-	$2.12x10^{10}$	$3.19x10^{9}$	-	$5.35x10^{4}$	$1.96x10^{5}$
	T1	-	$2.48x10^{10}$	$2.41x10^{10}$	-	$5.13x10^{6}$	$3.25x10^{4}$
	T2	-	$1.20x10^{8}$	$1.69x10^{8}$	-	$6.70x10^{4}$	$1.75x10^{4}$
	T3	-	$1.04x10^{8}$	$8.30x10^{9}$	-	$5.33x10^{5}$	$1.67x10^{5}$
60	C1	-	$3.26x10^{6}$	$5.96x10^{6}$	-	$9.40x10^{3}$	$4.86x10^{3}$
	T1	-	$5.03x10^{9}$	$2.04x10^{7}$	-	$9.65x10^{5}$	$9.73x10^{4}$
	T2	-	$1.0x10^{6}$	$2.56x10^{6}$	-	$2.26x10^{4}$	$1.37x10^{3}$
	T3	-	$9.0x10^{5}$	$4.63x10^{6}$	-	$1.0x10^{5}$	$9.0x10^{4}$
75	C1	-	$1.04x10^{7}$	$8.83x10^{6}$	-	$4.30x10^{5}$	$1.61x10^{5}$
	T1	-	$2.23x10^{6}$	$2.43x10^{8}$	-	$2.28x10^{5}$	$3.19x10^{5}$
	T2	-	$1.98x10^{7}$	$8.50x10^{7}$	-	$1.0x10^{4}$	$5.17x10^{4}$
	T3		$1.85x10^{7}$	$5.90x10^{7}$	-	$4.63x10^{4}$	$4.20x10^{5}$

Table 3 Water quality parameters of rearing tanks of *Litopenaeus vannamei* obtains different concentrations of cream yeast in feed during 10-70 days

Water quality parameters	Treatment	Water Sampling (days)						
		10	20	30	40	50	60	70
Temperature (°C)	C1	27.7±0.4	27.2±0.3	27.6±0.4	27.9±0.3	26.8±0.3	27.5±0.1	27.6±0.2
	T1	27.7±0.3	27.7±0.4	27.6±0.2	27.5±0.1	27.0±0.1	27.8±0.2	27.6±0.2
	T2	27.5±0.2	27.7±0.4	27.3±0.4	27.7±0.4	26.9±0.2	27.6±0.1	27.6±0.1
	T3	27.7±0.3	27.6±0.2	27.6±0.3	27.2±0.2	27.5±0.1	27.7±0.3	27.7±0.3
Salinity (ppt)	C1	10.4±0.5	10.3±0.2	10.8±0.5	10.5±0.3	10.7±0.5	10.8±0.4	10.7±0.4
	T1	10.5±0.4	10.6±0.5	10.4±0.1	10.3±0.5	10.2±0.4	10.3±0.5	10.7±0.5
	T2	10.5±0.3	10.3±0.5	10.7±0.4	10.8±0.6	10.7±0.5	10.6±0.2	10.6±0.4
	T3	10.4±0.3	10.2±0.4	10.5±0.6	10.5±0.4	10.5±0.3	10.6±0.4	10.3±0.5
pH	C1	7.85±0.13	7.65±0.23	7.83±0.23	8.05 ±0.15	7.78±0.15	7.95±0.23	7.75±0.15
	T1	7.83±0.14	7.70±0.19	7.75±0.16	7.95±0.21	7.85±0.20	7.85±0.16	7.80±0.12
	T2	7.85±0.13	7.82±0.21	7.72±0.15	7.87±0.20	7.92±0.18	7.88±0.15	7.76±0.15
	T3	7.86±0.17	7.72±0.15	7.68±0.20	8.04±0.18	7.88±0.16	7.96±0.21	7.96±0.23
DO (mg/l)	C1	4.76±0.19	4.58±0.21	4.82±0.21	4.53±0.18	4.59±0.15	4.45±0.18	4.48±0.17
	T1	4.78±0.18	4.65±0.15	4.64±0.14	4.59±0.15	4.56±0.17	4.54±0.12	4.55±0.15
	T2	4.73±0.24	4.72±0.15	4.79±0.22	4.60±0.17	4.64±0.18	4.57±0.13	4.53±0.18
	T3	4.76±0.15	4.70±0.18	4.88±0.19	4.67±0.16	4.75±0.15	4.58±0.16	4.53±0.14

The different alphabets in the same column mean significant difference ($P<0.05$).

สรุป

การใช้ครีมยีสต์จากเศษเหลือต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของกุ้งขาวแวนนาไมในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยกุ้งขาวสุดท้าย อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน อัตราการรอดตาย และอัตราแลกเนื้อมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในกลุ่มควบคุมกับกลุ่มการทดลอง T1, T2 และ T3 กุ้งที่เลี้ยง 60 และ 75 วัน มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอในตับและตับอ่อน และลำไส้กุ้งในกลุ่มการทดลอง T2 มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอน้อยกว่ากลุ่มการทดลองอื่น ส่วนคุณภาพน้ำตลอดระยะเวลาการเลี้ยงกุ้งขาวพบว่าค่าอุณหภูมิ ความเค็ม พีเอช และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) คุณภาพน้ำในทุกพารามิเตอร์อยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงกุ้งขาว การศึกษาในครั้งนี้พบว่าสามารถใช้ครีมยีสต์ผสมในการเลี้ยงกุ้งขาวในอัตราส่วน 1–3% ผสมในอาหารให้กุ้งขาวกินได้ ส่วนที่การใช้อัตราส่วน 2% พบว่ามีแนวโน้มเชื้อแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอในตับและตับอ่อน และลำไส้น้อยกว่ากลุ่มการทดลองอื่น ๆ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณบริษัท อีเอส วิจัยและพัฒนา จำกัด ที่ได้ให้การสนับสนุนทุนการวิจัยและร่วมวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณคณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร สำหรับการเอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

แก้วตา ลิ้มเฮง. 2558. การศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับโรคขี้ขาวในฟาร์มเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในพื้นที่จังหวัดเพชรบุรี. แก่นเกษตร 43 ฉบับพิเศษ 1: 581–587.

ชลอ ลิ้มสุวรรณ, พรเลิศ จันทร์รัชกูล. 2547. อุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงกุ้งในประเทศไทย. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. บริษัทเมจิค พับบลิเคชั่น จำกัด. กรุงเทพฯ.

ชัยวุฒิ สุดทองคง. 2555. โรค EMS (Early Mortality Syndrome) ในกุ้งขาวแวนนาไม. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่งสมุทรสาคร.

ธนิต เบี้ยแก้ว, วราห์ เทพาหุดี, เรืองวิชญ์ ยุ้นพันธ์, นิติ ชูเชิด. 2559. ความสัมพันธ์ระหว่างแบคทีเรียวิบริโอ พาราฮีโมไลติคัสต่อคุณภาพน้ำ และตะกอนดินในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*) ร่วมกับปลานิล (*Orechromis niloticus*) ในระบบความเค็มต่ำ. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 54. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. หน้า 628–636.

นุชนาถ ล่องมัจฉา. 2558. การใช้ยีสต์เสริมอาหารสำหรับอนุบาลลูกปลานิลแปลงเพศ. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่.

ประกานต์ ฤดีกุลธารง, จารุณี ควรพิบูลย์. 2555. พรีไบโอติก: อาหารเสริมสุขภาพ. ธรรมศาสตร์เวชสาร. 12: 362–369.

สาวิตรี ลิ่มทอง. 2549. ความหลากหลายและเทคโนโลยีชีวภาพ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

Boyd, C.E. 1982. Water Quality Management for Pond Fish Culture. Elsevier, Amsterdam, UK.

Chomwong, S., Charoensapsri, W., Amparyup, P., Tassanakajon, A. 2018. Two host gut-derived lactic acid bacteria activate the proPO system andincrease resistance to an AHPND-causing strain of Vibrio parahaemolyticus in the shrimp Litopenaeus vanname. Dev. Comp. Immunol. 89: 54–65.

Kathy, F.J., EunHan, T.J. Aranguern, F. White-Noble, B. Schmidt, M.M. Piamsomboon, Risdiana, P., Hanggono, E.B. 2016. Dense populations of the microsporidian *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) in feces of Penaeus vannamei exhibiting white feces syndrome and pathways of their transmission to healthy shrimp. J. Invertebr. Pathol. 140: 1–7

Wangman, P., Longyant, S., Taengchaiyaphum, S., Senapon, S., Sithigorngul, P., Chaivisuthangkura, P. 2018. PirA & B toxins discovered in archived shrimp pathogenic *Vibrio campbellii* isolated long before EMS/AHPND outbreaks. Aquac. 497: 494–502.

Yamine, M., Bray, F., Flament, S., Picavet, A., Lacroix, J., Poilpre, E., Mouly, I., Rolando, C. 2022. Raliable approach for pure yeast cell wall protein isolation from Saccharomyces cervisiae yeast cells. ACS Omega 7: 29702–29713.

การคัดเลือกแบคทีเรียสังเคราะห์แสง และการบำบัดน้ำจากการเพาะเลี้ยงปลานิลด้วย *Rhodopseudomonas palustris* PB6-2

Selective photosynthetic bacteria and water treatment from culture Nile Tilapia with *Rhodopseudomonas palustris* PB6-2

เสาวภา เขียนงาม[a,*], **แก้วตา ลิ้มเฮง**[a], **สาธิต บุญน้อม**[a], **กรกมล เครือสุวรรณ์**[a], **สมบูรณ์ ธนาศุภวัฒน์**[b]

Saowapar Khianngam[a,*], Kaewta Limhang[a], Sathit Boonnom[a], Kornkamol Krueasuwan[a], Somboon Tanasupawat[b]

[a]คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี เพชรบุรี 76120

[b]ภาควิชาชีวเคมีและจุลชีววิทยา, คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยจุฬาลงกรณ์ กรุงเทพมหานคร 10330

[a]Faculty of Animal Sciences and Agricultural Technology, Silpakorn University, Phetchaburi Information Technology Campus, Phetchaburi 76120 Thailand

[b]Department of Biochemistry and Microbiology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok 10330 Thailand

*Corresponding author. E-mail: khianngam_s@su.ac.th

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยก คัดเลือกแบคทีเรียสังเคราะห์แสง และทดสอบความสามารถในการบำบัดน้ำจากการเพาะเลี้ยงปลานิล แบคทีเรียสังเคราะห์แสงถูกคัดแยกจากตัวอย่างน้ำที่เก็บจากสระศิลป์เพชรภิรมย์ มหาวิทยาลัยศิลปากร จังหวัดเพชรบุรี โดยใช้อาหารสูตรดัดแปลงเกษตรอินทรีย์ บ่มนาน 7 วัน ภายใต้ความเข้มแสง 3,500–5,000 ลักซ์ ขวดตัวอย่างน้ำแสดงสีแดง จึงถูกนำไปคัดเลือกแบคทีเรียสังเคราะห์แสงด้วยอาหาร Rhodospirillum medium (RM) บ่มในสภาวะเดียวกัน พบ 1 ไอโซเลต คือ PB6-2 ซึ่งมีโคโลนีสีแดงตามรงควัตถุของแคโรทีนอยด์ที่พบในกลุ่มแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ไอโซเลต PB6-2 เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปร่างแท่ง เจริญได้ในสภาวะที่ไม่ใช้อากาศและมีแสง ใช้สารอินทรีย์เป็นแหล่งคาร์บอน และไนโตรเจนได้ การทดสอบความสามารถในการบำบัดน้ำจากการเพาะเลี้ยงปลานิลที่บ่มนาน 7 วันในระดับห้องปฏิบัติการ พบว่าสามารถลดปริมาณแอมโมเนีย ไนไตรท์ ฟอสเฟต และซีโอดี เท่ากับ 1.52±0.01, 0.04±0.00, 0.24±0.01 และ 2,872.00±29.72 mg/l ตามลำดับ ด้วยความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ไอโซเลตนี้ถูกระบุว่าเป็น *Rhodopseudomonas palustris* PB6-2

คำสำคัญ: คุณภาพน้ำ, แบคทีเรียสังเคราะห์แสง, ปลานิล

Abstract

This aim of this research was to screen, select photosynthetic bacteria (PSB) and assess the ability to treatment water from culture Nile Tilapia. PSB was separated from water sample obtained from Silphetpirom pond, Silapakorn University, Phetchaburi province, using a modified organic farming formula medium that was incubated for 7 days at 3,500–5,000 lux of light intensity. The water sample revealed a red color, indicating that PSB was isolated using Rhodospirillum medium (RM) under the same conditions. One isolate, designated PB6-2, displayed a red colony subsequent to the PSB's carotenoid pigment. The gram-negative, rod-shaped isolate PB6-2 grew anaerobically in the presence of light and used organic materials as sources of carbon and nitrogen. After treating the water from a culture of Nile Tilapia for seven days in the laboratory, the ammonia, nitrile, phosphate, and COD were eliminated at 1.52±0.01, 0.04±0.00, 0.24±0.01 and 2,872.00±29.72 mg/l, respectively, with significant difference at 0.05 when compared with the control. The isolated PB6-2 was identified as *Rhodopseudomonas palustris* PB6-2.

Keywords: Photosynthetic bacteria, Nile Tilapia, Water quality

คำนำ

ปลานิล (Nile tilapia) เป็นปลาน้ำจืดที่มีผลผลิตเป็นอันดับหนึ่งของประเทศไทย จากสถิติของกรมประมงในปี พ.ศ. 2564 ประเทศไทยมีฟาร์มปลานิลทั้งหมด 309,259 ฟาร์ม มีปริมาณผลผลิตทั้งหมด 218,329 ตัน โดยระบบการเลี้ยงส่วนใหญ่เป็นการเลี้ยงแบบกึ่งพัฒนา (Semi-intensive) และแบบพัฒนา (Intensive) ซึ่งเป็นการเลี้ยงที่ให้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพ (เกวลิน, 2564) การเลี้ยงด้วยวิธีดังกล่าว มีอัตราการปล่อยอย่างหนาแน่น ให้อาหารปริมาณมาก ส่งผลให้มีสารอินทรีย์ในน้ำสูงที่เกิดจากการขับถ่ายของปลา อาหารที่เหลือทิ้ง รวมไปถึงซากของสัตว์น้ำชนิดอื่นในบ่อเลี้ยง ของเสียเหล่านี้เมื่อย่อยสลายแล้วอยู่ในรูปของแอมโมเนีย ซึ่งแอมโมเนียในน้ำจะทำให้ปลาไม่สามารถขับถ่ายแอมโมเนียออกมาทางเหงือกได้ตามปกติ นอกจากนี้เมื่อแอมโมเนียเปลี่ยนรูปเป็นไนไตรท์ ไนไตรท์จะเข้าไปขัดขวางการขนส่งออกซิเจนของเลือด โดยจะเข้าไปจับกับฮีโมโกลบินทำให้เกิดโรคเลือดน้ำตาล เลือดไม่สามารถนำออกซิเจนไปใช้ได้ ส่งผลให้ตายในที่สุด (Somboontoh, 2007) และหากน้ำจากการเลี้ยงถูกปล่อยออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ ปริมาณสารอินทรีย์ในน้ำทิ้งจะถูกย่อยสลาย ทำให้มีความต้องการใช้ออกซิเจนสูงในการย่อยสารอินทรีย์โดยจุลินทรีย์ (Biochemical Oxygen Demand, BOD) และเมื่อแหล่งน้ำขาดออกซิเจน จะเกิดการสะสมของสารอินทรีย์ เกิดการย่อยแบบไร้ออกซิเจน ส่งผลให้น้ำในแหล่งน้ำมีสีดำเกิดกลิ่นเหม็นจากก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ซึ่งเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำในธรรมชาติ พืชน้ำ รวมไปถึงการทำประมงและการใช้น้ำสำหรับอุปโภคบริโภค ดังนั้นควรมีการบำบัดน้ำเบื้องต้นก่อนปล่อยน้ำออกสู่ธรรมชาติ โดยวิธีที่นิยมใช้ในปัจจุบันคือการใช้สิ่งมีชีวิตเข้ามาบำบัดน้ำเสีย (bioremediation) วิธีนี้เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ไม่ทำลายสภาวะเดิมของแหล่งน้ำ ที่ผ่านมามีการวิจัยการบำบัดน้ำเสียโดยวิธีทางชีวภาพโดยใช้แบคทีเรียสังเคราะห์แสง (Photosynthetic bacteria, PSB)

PSB เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ใช้พลังงานจากแสง เจริญเติบโตได้ในสภาวะที่หลากหลาย มีความทนทานต่อสภาวะแวดล้อมสูง สามารถกำจัดสารอาหาร โลหะหนัก และสารอินทรีย์ที่ปนเปื้อนในน้ำเสีย พบได้ทั่วไปในแหล่งน้ำธรรมชาติ โดยเฉพาะในแหล่งน้ำที่มีสารอาหารและสภาวะแวดล้อม เช่น ปริมาณคาร์บอน 500–40,000 mg/l, ไนโตรเจน 3–8,000 mg/l, ความเข้มแสง 500–5,000 ลักซ์, Dissolved oxygen (DO) 2.0–4.0 mg/l, อุณหภูมิ 26–30 °C และ pH 6–9 เป็นต้น PSB ถูกนำไปใช้ในกระบวนการบำบัดน้ำ เช่น *Rhodopseudomonas palustris* สามารถบำบัดน้ำเสียที่ผ่านจากกระบวนอาหารที่มีความเค็มสูงสามารถลด Chemical Oxygen Demand (COD) และแอมโมเนียได้ 88.70 และ 90.81% ตามลำดับ ภายใต้สภาวะ pH 7.5–8.5 และไอโซเลต PSB สามารถลดค่า COD จากน้ำที่ผ่านการผลิตเบียร์ได้ 60.3–99.1% ภายใต้อุณหภูมิ 5–32 °C, pH 6–9 และ DO 0.2–0.5 mg/l (Chen et al., 2020) ทั้งนี้มีการใช้ PSB สำหรับบำบัดน้ำจากการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำโดยไม่ส่งผลกระทบต่อสภาวะเดิมของน้ำ รวมถึงสัตว์น้ำในบ่อ เช่น *Rhodopseudomonas sphaeroides* ถูกนำไปใช้บำบัดน้ำทิ้งจากการเลี้ยงปลาไน (*Cyprinus carpio*) พบว่าสามารถปรับปรุงคุณภาพน้ำได้ นอกจากนี้ยังส่งผลต่ออัตราการรอดของปลา ปลาสามารถทนต่อโรคได้มากขึ้น ผลผลิตเพิ่มสูงขึ้น (Wu et al., 2019) และ *Rhodobacter capsulatus* สามารปรับปรุงคุณภาพน้ำได้โดยลดค่าไนเตรท แอมโมเนีย และ COD (Costa et al., 2017) จากข้อมูลจะเห็นได้ว่า PSB มีความสามารถในการบำบัดคุณภาพน้ำได้ แต่อย่างไรก็ตามการบำบัดน้ำจาก PSB เพื่อใช้ประโยชน์ในงานเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำยังคงมีน้อย ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงแสดงการคัดแยกและคัดเลือก PSB เพื่อนำไปใช้ทดสอบการบำบัดน้ำจากการเพาะเลี้ยงปลานิลในระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งน้ำจากการเลี้ยงเป็นแหล่งอินทรียสารที่กลุ่ม PSB สามารถนำไปใช้เพื่อการเจริญ และส่งผลต่อคุณภาพของน้ำได้

อุปกรณ์และวิธีการ

การเก็บตัวอย่างน้ำ

เก็บตัวอย่างน้ำจากบ่อ “ศิลป์เพชรภิรมย์” ข้างตึกคณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร เพชรบุรี โดยใช้ขวดพลาสติกใสที่สะอาดขนาด 350 ml ตวงน้ำจากผิวน้ำ ลึกลงไปประมาณ 2 นิ้ว ปริมาตร 300 ml สังเกตลักษณะสี ตะกอน บันทึกสถานที่เก็บ และวันที่ เก็บขวดตัวอย่างในกล่องโฟมที่บรรจุน้ำแข็ง แล้วนำตัวอย่างมาคัดแยก PSB ณ ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี

การคัดแยก และคัดเลือกแบคทีเรียสังเคราะห์แสง

นำขวดน้ำตัวอย่าง เติมอาหารสูตรดัดแปลงเกษตรอินทรีย์ อัตราส่วนปริมาตรอาหาร 1 ml ต่อน้ำตัวอย่าง 100 ml ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อภายใต้ความเข้มแสงที่ 3,500–5,000 ลักซ์ ณ อุณหภูมิห้อง นานประมาณ 7–14 วัน สังเกตขวดที่มีสีแดง (อดิศักดิ์, 2560) นำมาคัดแยก PSB โดยใช้วิธีเจือจาง 10 เท่า และเกลี่ยเชื้อ (spread) บนอาหาร Rhodospirillum medium (RM) บ่มในสภาวะไร้อากาศ ที่ตู้บ่มเชื้อภายใต้ความเข้มแสงที่ 3,500–5,000 ลักซ์ ณ อุณหภูมิห้อง นาน 7 วัน (Admad et al., 2019) คัดเลือกแบคทีเรียที่มีโคโลนีสีแดง หรือชมพู

การพิสูจน์เอกลักษณ์

นำ PSB มาทำการพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยลักษณะทางสัณฐานวิทยา สรีรวิทยา (Barrow *et* al., 1993) และชีวเคมีตามวิธีการดัดแปลงของ Kumar et al. (2008), Lakshmi et al. (2011, 2013), Hiraishi and Okamura (2017) และ George et al. (2020)

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ และการสร้างลำดับวิวัฒนาการ

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ 16S rRNA gene ทำการส่งวิเคราะห์ที่บริษัท Macrogen ประเทศเกาหลีใต้ จากนั้นนำผลที่ได้สร้างลำดับวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) ตามวิธีของ Felsenstein (1985); Saitou and Nei (1987); และ Thompson et al., (1997)

การศึกษาคุณภาพน้ำจากการเพาะเลี้ยงปลานิลที่ได้รับการบำบัดโดยใช้แบคทีเรียสังเคราะห์แสง

การเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียสังเคราะห์แสง และการบำบัดน้ำที่ได้จากการเพาะเลี้ยงปลานิล

เก็บตัวอย่างน้ำจากบ่อเลี้ยงปลานิลแบบหนาแน่น ทำการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเบื้องต้น จากนั้นเติมน้ำตัวอย่าง 200 ml ลงในขวดแก้วใสขนาด 250 ml นำไปฆ่าเชื้อก่อนใช้งานด้วย autoclave 121 °C นาน 15 นาที เพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีเชื้ออื่นปะปน จากนั้นนำไอโซเลต PSB มาปรับความขุ่นในน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ โดยเทียบความขุ่นเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 0.5 McFarland standard (10^8 cfu/ml) เติมหัวเชื้อปริมาตร 2% (v/v) ลงในขวดตัวอย่างน้ำจากการเลี้ยงปลานิลปริมาตร 200 ml ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว โดยทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ บ่มขวดตัวอย่างน้ำในตู้บ่มที่ระดับความเข้มแสง 3,500–5,000 ลักซ์ นาน 7 วัน โดยขวดตัวอย่างน้ำที่ไม่มีการเติมเชื้อจะใช้เป็นขวดควบคุม (Control) ทั้งนี้การเก็บตัวอย่าง

น้ำจากบ่อปลานิลได้รับการอนุมัติให้ดำเนินการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ เลขที่ 02/2565 โดยผ่านการพิจารณาจากคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์เพื่องานทางวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศิลปากร

การศึกษาคุณภาพน้ำจากการเพาะเลี้ยงปลานิลที่ได้รับการบำบัดโดยใช้แบคทีเรียสังเคราะห์แสง

ตรวจคุณภาพน้ำในขวดตัวอย่างโดยทำการวัดปริมาณแอมโมเนียรวม (Total ammonia) ไนไตรท์ (Nitrite) ไนเตรท (nitrate) และฟอสเฟต (phosphate) ตามวิธีการของ Boyd and Tucker (1992) และวิเคราะห์ COD (นิพนธ์ และคณิตา, 2555) ทำการทดลองอย่างละ 3 ซ้ำ วิเคราะห์หาค่าเฉลี่ย และใช้วิธีการทางสถิติ ทดสอบสมมติฐานทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่มที่เป็นอิสระต่อกัน โดยใช้ t-test ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การคัดแยก และคัดเลือกแบคทีเรียสังเคราะห์แสง

ตัวอย่างน้ำที่เก็บจากบ่อศิลป์เพชรภิรมย์ มหาวิทยาลัยศิลปากร จังหวัดเพชรบุรี หลังจากเติมอาหารสูตรดัดแปลงเกษตรอินทรีย์ บ่มภายใต้แสงเป็นเวลา 7 วัน น้ำมีการเปลี่ยนเป็นสีแดง ซึ่งแสดงถึงตัวอย่างน้ำมีการเจริญของ PSB เนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มนี้ผลิตสารสีที่เกิดขึ้นจากรงควัตถุแคโรทีนอยด์ และแบคเทอรีโอคลอโรฟีลล์ (Orlandi et al., 2020; Sutherland et al., 2022) นอกจากนี้ PSB ยังสามารถเจริญเติบโตได้อย่างง่ายจากสูตรดัดแปลงเกษตรอินทรีย์ โดยใช้แหล่งคาร์บอน ไนโตรเจน วิตามินจากไข่ไก่ และผงชูรส ภายใต้การบ่มที่มีแสง (กนกกร และขวัญชัย, 2563) ตัวอย่างน้ำสีแดงในขวดเมื่อนำมาคัดแยกบนอาหาร RM ในสภาวะไร้อากาศ ภายใต้ความเข้มแสงที่ 3,500–5,000 ลักซ์ นาน 7 วัน พบโคโลนีสีแดงให้รหัสเป็นไอโซเลต PB6-2

การพิสูจน์เอกลักษณ์

ไอโซเลต PB6-2 เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างแท่ง ไม่สร้างสปอร์ (Fig. 1) ลักษณะโคโลนีบนอาหาร RM มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.1-0.2 เซนติเมตร สีแดงเข้ม ขอบเรียบ (smooth) ผิวเรียบ (smooth) และมีความสูงเล็กน้อย (flat, raise) แสดงดัง Fig. 2

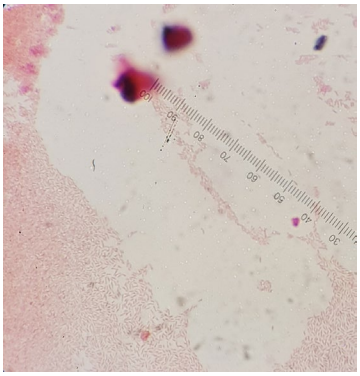


Fig. 1 Cell of PB6-2 under light microscope (100X)

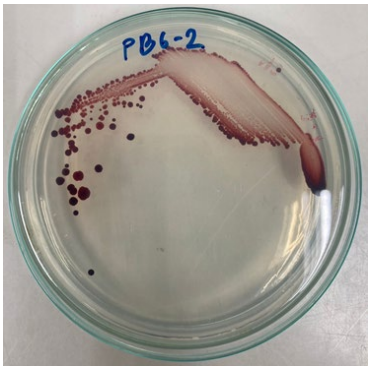


Fig. 2 Colony character of PB6-2 on RM

ไอโซเลต PB6-2 สามารถเจริญเติบโตได้ทั้งแบบ photoheterotroph, chemoheterotroph และการเจริญเติบโตในที่มืด (Dark growth) เจริญได้ที่อุณหภูมิ 8-45 °C ความเป็นกรดด่าง 6-10 ทนเกลือโซเดียมคลอไรด์ได้ 0.1-2% สามารถใช้อะราบิโนส เอทานอล ฟรุกโตส กลูโคส กลีเซอรอล มอลโทส แมนนิทอล แมนโนส เมทานอล โซเดียมอะซิเตส โซเดียมซิเตรท โซเดียมซักซิเนท ซอร์บิทอล และซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนได้ แหล่งไนโตรเจนที่สามารถใช้ได้ คือ แอมโมเนียมคลอไรด์ โพแทสเซียมไนเตรท โซเดียมไนไตรต์ อาร์จีนิน และยูเรีย และต้องการ Yeast และ B-complex เป็นแหล่งวิตามิน ในขณะที่ PB6-2 ไม่สามารถเจริญได้ในสภาวะ photoautotroph และ chemoautotroph, ไม่สามารถใช้กลูตามิกเป็นแหล่งคาร์บอน รวมถึงไม่สามารถผลิตก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) ได้

PSB แต่ละชนิดจะมีความสามารถในการเจริญเติบโตที่แตกต่างกันออกไป โดยแบคทีเรียสังเคราะห์แสงสีม่วง (Purple photosynthetic bacteria, PPB) เป็นกลุ่มที่มีความหลากหลายในธรรมชาติโดยเฉพาะในแหล่งน้ำ เจริญได้ในสภาพแวดล้อมแบบรุนแรง (extreme environments) เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรดด่าง และความเค็มที่รุนแรง เป็นต้น สามารถแบ่ง PSB ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ Purple sulfur bacteria (PSB) ซึ่งเจริญเติบโตได้ดีแบบ photoautotroph ถูกจำกัดการเจริญในแบบ photoheterotroph และในที่มืด ขณะที่ Purple non sulfur bacteria (PNSB) เจริญได้ดีแบบ photoheterotroph โตได้ในสภาวะ photoautotroph และในที่มืด (Madigan and Jung, 2009) ดังนั้น PB6-2 จึงจัดอยู่ในกลุ่ม PNSB ตัวอย่างในกลุ่มนี้ เช่น *Rhodobacter amnigenus* และ *Rh. ruber* เป็นแกรมลบ รูปร่างแท่ง โคโลนีมีสีชมพูและแดง เจริญแบบ photoheterotroph แต่ไม่โตแบบ photoautotroph (Chen et al., 2021) *Rhodopseudomonas parapalustris* เจริญได้ในแบบ photo-organoheterotroph และ photoautotroph และ chemoautotroph ในขณะที่ *R. harwoodiae* และ *R. palustris* ไม่พบการเจริญแบบ photoautotroph (Venkata Ramana et al., 2012)

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ และการสร้างลำดับวิวัฒนาการ

ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ 16s RNA gene พบว่าไอโซเลต PB6-2 (1,346 bp) มีเปอร์เซ็นต์ความใกล้เคียงกับ *Rhodopseudomonas palustris* R-1^T ที่ 99.8% (Fig. 3) จีนัส *Rhodopseudomonas* ถูกระบุว่าเป็นแบคทีเรียสังเคราะห์แสงในกลุ่ม PNSB (Sundar and Chao, 2022) *R. palustris* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างแท่ง โคโลนีสีแดงน้ำตาล (red brown) สามารถเจริญได้ที่ความเป็นกรดด่าง 6–9 อุณหภูมิ 20-40 °C เจริญเติบโตในสภาวะมืดที่มีออกซิเจน (aerobic dark growth) รวมถึงมีความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอน ไนโตรเจน และวิตามินที่หลากหลาย (Venkata Ramana et al., 2012; Vinay Kumar et al., 2013) จากข้อมูลลักษณะทางสัณฐานวิทยา ชีวเคมี และลำดับวิวัฒนาการ ไอโซเลต PB6-2 จึงถูกระบุว่าเป็น *R. palustris* PB6-2

การศึกษาคุณสมบัติของน้ำจากการเพาะเลี้ยงปลานิลที่ได้รับการบำบัดโดยใช้แบคทีเรียสังเคราะห์แสง

ผลคุณภาพน้ำจากการใช้ *R. palustris* PB6-2 เติมลงในขวดตัวอย่างน้ำที่ผ่านการเลี้ยงปลานิล บ่มเชื้อ 7 วัน ภายใต้ความเข้มแสง 3,500–5,000 ลักซ์ พบว่าแบคทีเรียมีความสามารถในการลดปริมาณแอมโมเนีย ไนไตรท์ ฟอสเฟต และ COD ได้ 1.52±0.01, 0.04±0.00, 0.24±0.01 และ 2,872.00±29.72 mg/l ตามลำดับ โดยพบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ 0.05 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่เป็นน้ำตัวอย่างจากการเลี้ยงปลา (Table 1) ดังนั้น *R. palustris* PB6-2 สามารถลดปริมาณสารต่าง ๆ รวมถึงค่า COD ได้ แต่อย่างไรก็ตามไม่พบการลดค่าไนเตรท เนื่องจากกระบวนการย่อยไนเตรทจะเกิดหลังจากการย่อยไนไตรท์ (Yang et al., 2019) ซึ่งน่าจะเป็นไปได้ว่า *R. palustris* PB6-2 อาจใช้เวลามากกว่า 7 วันในการย่อยไนไตรท นอกจากนี้จากรายงานวิจัยที่ผ่านพบว่า PNSB แต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการกำจัดสารอินทรีย์ และสารอนินทรีย์ที่แตกต่างกันออกไป เนื่องจากมีความหลากหลายของกระบวนการ metabolism PNSB สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีอากาศ (aerobic) หรือไม่มีอากาศ (anaerobic) สามารถใช้สารอินทรีย์หรือสารอนินทรีย์ตามธรรมชาติหรือของเสียในการเจริญเติบโต (Sundar and Chao, 2022) *Rhodopseudomonas faecalis* ถูกใช้กำจัดน้ำเสียจากการเลี้ยงหมู หลังบ่มนาน 330 hr ปริมาณแอมโมเนียลดลงจาก 629.7 mg/l เป็น 424.1±7.4 mg/l คิดเป็น 67.35% (Wei et al., 2015) *Rhodopseudomonas* sp. Smobiisys501 สามารถกำจัดแอมโมเนียได้สูงถึง 99.67% เมื่อบ่มในตัวอย่างน้ำเสียนาน 7 วัน (Huang et al., 2018) ในขณะที่ *R. yavorovii* IMV B-7620 สามารถใช้ไนไตรท์เพื่อเปลี่ยนเป็นไนเตรทได้ (Tarabas et al., 2019) และ Sundar and Chao (2022) ยังได้อธิบายว่า PNSB มีประโยชน์ต่อสิ่งแวดล้อม สามารถตรึงไนโตรเจน ละลายฟอสเฟต และบำบัดโลหะหนักได้ ซึ่งอย่างไรก็ตามประสิทธิภาพในการกำจัดสารขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ตัวอย่างปริมาณสารในน้ำเสีย สายพันธุ์ PSB และสภาวะที่แบคทีเรียใช้ในการเจริญเติบโต เป็นต้น (Chen et al., 2020)

Table 1 Comparison of water quality after treatment by *R. palustris* PB6-2 with the control

	Water quality (mg/l)			
	Ammonia	Nitrile	Phosphate	COD
Control	2.08±0.00	1.26±0.01	0.94±0.00	4,654.40 ± 120.31
PB6-2	1.52*±0.01	0.04*±0.00	0.24*±0.01	2,872.00* ± 29.72

* $p < 0.05$

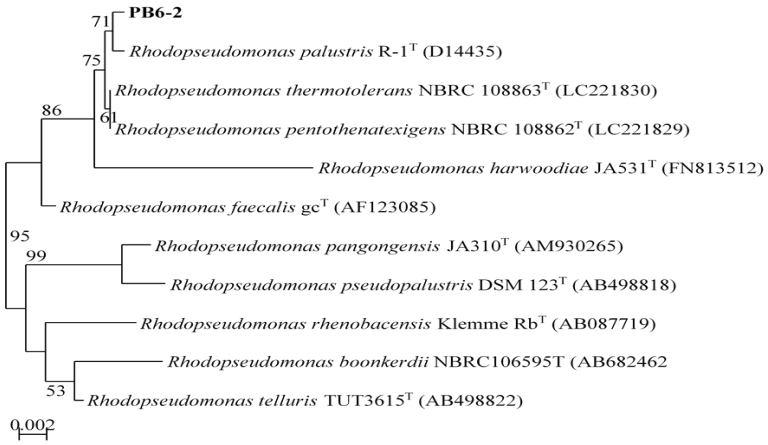


Fig. 3 Neighbour-joining tree based on 16S rRNA gene sequences showing the phylogenetic relationships between PB6-2 and known *Rhodopseudomonas.* Based on 1000 resamplings, bootstrap percentages above 50% are shown. Bar, 0.002 substitutions per nucleotide position

สรุป

R. palustris PB6-2 เป็นแบคทีเรียสังเคราะห์แสงกลุ่ม PNSB ที่มีความสามารถในการลดค่าแอมโมเนีย ไนไตรท์ ฟอสเฟต และ COD ในตัวอย่างน้ำที่ผ่านการเลี้ยงปลานิลมาแล้ว โดยสามารถใช้สารต่าง ๆ เพื่อการเจริญเติบโต จึงส่งผลต่อการกำจัดสารนั้น ๆ ในน้ำเลี้ยงปลา ดังนั้น *R. palustris* PB6-2 จึงมีคุณสมบัติที่สามารถนำไปใช้เพื่อช่วยปรับปรุงคุณภาพน้ำในการเลี้ยงปลานิลได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณงบประมาณสนับสนุนจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) กองทุนส่งเสริม วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (ววน.) ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2565

เอกสารอ้างอิง

กนกกร สินมา, ขวัญชัย คูเจริญไพศาล. 2563. ประโยชน์ทางการเกษตรของจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง. เกษตรอภิรมย์ 6: 16–19.

เกวลิน หนูฤทธิ์. 2564. สถานการณ์การผลิตและการค้าปลานิลและผลิตภัณฑ์ในช่วง 6 เดือนแรก ปี 2563. กลุ่มเศรษฐกิจการประมง กองนโยบายและแผนพัฒนาการประมง. กรุงเทพฯ

นิพนธ์ ตังคณานุรักษ์, คณิตา ตังคณานุรักษ์. 2555. หลักการการตรวจวิเคราะห์คุณภาพน้ำทางเคมี. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

อดิศักดิ์ เหล่าพงศ์. 2560. วิธีทำจุลินทรีย์สังเคราะห์แสง. แหล่งที่มา: https://www.organicfarm thailand.com, 9 เมษายน 2565.

Ahmad, M.S., Zargar, M.Y., Mir, S.A., Bhat, N.A., Baba, Z.A., Kant, R.H., Dar, Z.M., Khan, I.J., Yangchan, J. 2019. Isolation and Characterization of Photosynthetic Bacteria from Municipal Waste. Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 8: 861–865. doi.org/10.20546/ijcmas.2019.803.103

Barrow, G.I., Feltham, R.K.A. 1993. Cowan and Steel's Manual for the Identification of Medical Bacteria, 3rd ed. Cambridge University press. Cambridge, UK.

Boyd, C.E., Tucker, C.S. 1992. Water Quality and Pond Soil Analysis for Aquaculture. Agricultural Experiment Station. Alabama, AL, USA.

Chen, J, Wei, J., Ma, C., Yang, Z., Li, Z., Yang, X., Wang, M., Zhang, H., Hu, J., Zhang, C. 2020. Photosynthetic bacteria-based technology is a potential alternative to meet sustainable wastewater treatment requirement?. Environment. Inter. 137: 105417. doi.org/10.1016/j.envint.2019.105417

Chen, W.-M, Chang, T.-H., Yang, C.-C., Sheu, D.-S., Jheng, L.-C., Sheu, S.-Y. 2021. *Rhodobacter amnigenus* sp. nov. and *Rhodobacter ruber* sp. nov., isolated from freshwater habitats. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 71: 5150. doi.org/10.1099/ijsem.0.005150

Costa, S., Ganzerli, S., Rugiero, I., Pellizzari, S., Pedrini, P., Tamburini, E. 2017. Potential of *Rhodobacter capsulatus* grown in anaerobic-light or aerobic-dark conditions as bioremediation agent for biological. Water. 9: 108. doi.org/10.3390/w9020108

Felsenstein, J. 1985. Confidence limits on phylogenies: an approach using the bootstrap. Evolution. 39: 783–791. doi.org/10.2307/2408678

George, D.M., Vincent, A.S., Mackey, H.R. 2020. An overview of anoxygenic phototrophic bacteria and their applications in environmental biotechnology for sustainable resource recovery. Biotechnol. Rep (Amst). 28: e00563. doi:10.1016/j.btre.2020.e00563

HIraishi, A., Okamura, K. 2017. Proposal of Rhodoplanes tepidamans sp. nov. to accommodate the thermotolerant phototrophic bacterium previously referred to as Rhodoplanes (Rhodopseudomonas) cryptolactis. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 67: 1540–1545. doi:10.1099/ijsem.0.001752

Huang, X., Ni, J., Yang, C., Feng, M., Li, Z., Xie, D. 2018. Efficient ammonium removal by bacteria Rhodopseudomonas isolated from natural landscape water: China case study. Water. 10: 1107. doi.org/10.3390/w10081107

Kumar, P.A., Aparna, P., Srinivas, T.N.R., Sasikala, Ch., Ramana, C.V. 2008. Rhodospirillum sulfurexigens sp. nov, a phototrophic alphaproteobacterium requiring a reduced sulfur source for growth. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 58: 2917–2920. doi: 10.1099/ijs.0.65689-0

Lakshmi, K.V.N.S., Sasikala, C., Ramana, V.V., Ramaprasad, E.V.V. and Ramana, C.V. 2011. Rhodovulum phaeolacus sp. nov. a phototrophic alphaproteobacterium isolated from a brown pond. J. Gen.l Appl. Microbiol. 57: 145–151. doi:10.2323/jgam.57.145

Lakshmi, K.V.N.S., Sasikala, C., Ramaprasad, E.V.V., Ramana, C.V. 2013. Rhodospirillum oryzae sp. nov., a phototrophic bacterium isolated from rhizosphere soil of paddy. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 63: 3050–3055. doi:10.1099/ijs.0.049023-0

Madigan, M.T., Jung, D.O. 2009. An overview of purple bacteria: Systematics, physiology, and habitats. The purple Phototrophic bacteria. Part of the Advances in Photosynthesis and Respiration book series (AIPH, volume 28), pp, 1–15.

Orlandi, V.T., Martegani, E. Giaroni, C. Baj A., Bolognese, F. 2020. Bacteria pigment: a colorful palette reservoir for biotechnological applications. Biotechnol. Appl. Biochem. 69: 981–1001. doi:10.1002/bab.2170

Saitou, N., Nei, M. 1987. The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. Mol. Biol. Evol. 4: 406–425. doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454

Somboontoh, P. 2007. Feasibilty study on aquaponics for Red Tilapia (Oreochromis niloticus) and vegetable in dynamic root floating technique (DRFT). Master thesis King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang. Bangkok.

Sundar, L.S., Chao, Y.-Y. 2022. Potential of purple non-sulfur bacteria in sustainably enhancing the agronomic and physiological performances of rice. Agron. 12: 2347. doi:10.3390/agronomy12102347

Sutherland, G.A., Qian, P., Hunter, C.N., Swainsbury, D.J.K., Hitchcock, A. 2022. Engineering purple bacterial carotenoid biosynthesis to study the roles of carotenoids in light-harvesting complexes. Methods Enzymol. 674: 137–134. doi: 10.1016/bs.mie.2022.04.001

Tarabas, O.V., Hnatush, S.O., Moroz, O.M. 2019. The usage of nitrogen compounds by purple non-sulfur bacteria of the Rhodopseudomonas genus. Regul. Mech. Biosyst. 10: 83–86. doi: https://doi.org/10.15421/021913

Thompson, J.D., Gibson, T.J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., Higgins, D.G. 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nucleic. Acids. Res. 25: 4876–4882. doi:10.1093/nar/25.24.4876

Venkata Ramana, V., Kalyana Chakravarthy, S., Shalem Raj, P., Vinay Kumar, B., Shobha, E., Ramaprasad, E.V.V., Sasikala, C., Ramana, C.V. 2012. Descriptions of Rhodopseudomonas parapalustris sp. nov., Rhodopseudomonas harwoodiae sp. nov. and Rhodopseudomonas pseudopalustris sp. nov., and emended description of Rhodopseudomonas palustris. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 62: 1790–1798. doi.org/10.1099/ijs.0.026815-0

Vinay Kumar, B., Ramprasad, E.V.V., Sasikala, C., Ramana, C.V. 2013. *Rhodopseudomonas pentothenatexigens* sp. nov. and *Rhodopseudomonas thermotolerans* sp. nov., isolated from paddy soils. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 63(1): 200-207. doi:10.1099/ijs.0.038620-0

Wei, H., Okunishi, S., Yoshikawa, T., Kamei, Y., Maeda, H. 2016. Isolation and characterization of a purple non-sulfur photosynthetic bacterium *Rhodopseudomonas faecalis* strain a from swine sewage wastewater. Biocontrol. Sci. 21: 29–36. doi:10.4265/bio.21.29

Wu. P., Xie, L., Wu, X., Wang, Y., Wu, Y., Li, N., Zhang, Y., Chen, Z. 2019. Effect of *Rhodopseudomonas sphaeroides*-treated wastewater on yield, digestive enzyme, antioxidants, nonspecific immunity, and intestinal microbiota of common carp. North American J. Aqua. 81: 385–398. doi.org/10.1002/naaq.10106

Yang, A., Zhang, G., Meng, F., Zhi, R., Zhang, P., Zhu, Y. 2019. Nitrogen metabolism in photosynthetic bacteria waste treatment: A novel nitrogen transformation pathway. Bioresource. Technol. 294: 122162. doi.org/10.1016/j.biortech.219.122162

ผลของสารสกัดจากใบมังคุดสดต่อการแปลงเพศปลานิล

Effect of Crude Extraction from Mangosteen Leaves on Sex Reversal on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

อนวัช บุญญภักดี*, **คุณาดล ศิลาฤดี**, **สมฤดี ศิลาฤดี**

Anawat Boonyapakdee*, Somrudee Silarudee Kunadol Silarudee

คณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี เพชรบุรี 76120

Faculty of Animal Sciences and Agricultural Technology, Silpakorn University, Phetchaburi Information Technology Campus, Phetchaburi 76120 Thailand

*Corresponding author. E-mail address: Boonyapakdee_a@su.ac.th

บทคัดย่อ

การแปลงเพศปลานิลเป็นวิธีเพิ่มประสิทธิภาพของผลผลิตอย่างหนึ่ง เนื่องจากปลานิลเพศผู้จะมีขนาดที่ใหญ่กว่าเพศเมีย และมีการเจริญเติบโตที่คุ้มค่ากว่าเพศเมียในเชิงการเพาะเลี้ยง ดังนั้นการให้ความสำคัญต่อการศึกษาไฟโตรเอสโตรเจนที่สกัดจากใบมังคุดจึงถูกนำมาศึกษาครั้งนี้ โดยใช้สารสกัดจากเปลือกมังคุดละลายใน 50 % เมทานอล ผสมในอาหารปลานิลที่ระดับความเข้มข้น 0, 250, 500 ,1,000, 1,500 และ 2,000 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม พบว่าอาหารที่ผสมสารสกัดจากใบมังคุดสดทุกระดับมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยปลานิลในกลุ่มควบคุมมีอัตราส่วนเพศผู้ที่ 61.36 ±12.60 % ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 250, 500, 1000, 1500 และ 2000 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีอัตราส่วนเพศผู้เท่ากับ 76.35±6.50, 71.07±0.09, 86.94±3.53, 78.87±5.05 และ 77.67±4.63% ตามลำดับ และที่ระดับความเข้มข้น 1000 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีความแตกต่างกับที่ระดับความเข้มข้น 250 และ 500 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม อย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.05$) ดังนั้นจากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ระดับสารสกัดตั้งแต่ 250 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีผลกระตุ้นทำให้ปลานิลแสดงลักษณะเพศผู้ได้มากขึ้นกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($p < 0.05$) และเมื่อเพิ่มระดับความเข้มข้นถึง 1000 มิลลิกรัม สามารถให้ผลลัพธ์ต่อการแปลงเพศได้มากกว่าที่ระดับ 200–500 มิลลิกรัมถึง 13.87 เปอร์เซ็นต์

คำสำคัญ: การแปลงเพศ, ปลานิล, สารสกัดใบมังคุด

Abstract

Sex reversal of tilapia is the effective method to increase production. Likewise, male tilapia is larger than females or better grow than females in terms of aquaculture. Therefore, it is important to study phytoestrogens extracted from mangosteen leaves. This study used mangosteen peel extract. The effects of crude mangosteen leaf extracted with 50 % methanol mixed into tilapia feed at the concentrations dose of 0, 250, 500, 1,000, 1500 and 2,000 mg/kg of feed the result revealed that the feed mixed with fresh mangosteen leaf extract of each concentration dose was significantly different from the control group ($p < 0.05$). The tilapia in the control group had sex ratio male 61.36±12.60%, while at the concentrations dose of 250, 500, 100, 1,500, and 2,000 mg/kg of feed were male ratios of 76.35±6.50, 71.07±0.90, 86.94±3.53, 78.87±5.05 and 77.67±4.63 % respectively, and at the concentration dose of 1,000 mg/kg had a significant difference ($p < 0.05$). Therefore, the results of the study show that the concentration dose of 250 mg/kg of feed was able to stimulate sex reversal significantly ($p < 0.05$) to the control group while the concentration level increased to 1000 mg/kg, it was able to produce significantly ($p < 0.05$) greater male tilapia 13.87 percent than 200–500 mg/kg of feed.

Keywords: Mangosteen leaf extract, Nile tilapia, Sex Reversal

คำนำ

ปลานิล (Nile Tilapia) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Oreochromis niloticus* เป็นปลาน้ำจืดที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย เนื่องจากปลานิลเป็นปลาที่เลี้ยงง่าย กินอาหารได้แทบทุกชนิด รสชาติดี ทำให้เป็นที่นิยมของตลาด ปัจจุบันการเพาะเลี้ยงปลานิลมีการขยายการเพาะเลี้ยงไปทั่วประเทศ โดยมีเนื้อที่เลี้ยงรวมทั้งประเทศ 532,565 ไร่ ปริมาณการผลิตรวมทั้งประเทศเท่ากับ 259,498 ตัน ผลผลิตต่อไร่ รวมทั้งประเทศ 487 กิโลกรัมต่อไร่(สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2566) แม้ว่ากำลังการผลิตของปลานิลในประเทศค่อนข้างสูง แต่ก็ยังไม่สามารถผลิตได้เพียงพอต่อความต้องการของเกษตรกร การเลี้ยงปลานิลส่วนมากเป็นการเพาะเลี้ยงในบ่อดิน ปลานิลมีการผสมพันธุ์วางไข่และแพร่พันธุ์อย่างรวดเร็วทำให้มีปัญหาปลามีปริมาณหนาแน่นมากเกินไป ทำให้ปลาที่เลี้ยงไม่เจริญเติบโต ผลผลิตไม่ได้ขนาดตามต้องการ นอกจากนี้ปลานิลเพศเมียเข้าสู่วัยเจริญพันธ์เร็ว และวางไข่ได้ตลอดทั้งปี จึงโตช้ากว่าปลานิลเพศผู้ เพราะในช่วงที่ฟักไข่และอนุบาลลูกปลาในปาก ประมาณ 1 เดือน แม่ปลาไม่กินอาหาร ทำให้มีปัญหาในเรื่องขนาดของปลาไม่สม่ำเสมอ จึงมีการพัฒนาเทคนิคเพื่อผลิตปลาเพศผู้ เนื่องจากปลาเพศผู้โตเร็วกว่าเพศเมีย และไม่ต้องเสียพลังงานในการวางไข่เลี้ยงลูก การแปลงเพศ เป็นเทคนิคหนึ่งที่มีการนำมาใช้ เพื่อควบคุมการแสดงออกของปลาเพศใดเพศหนึ่ง (เรณูและนพนันท์, 2549) เนื่องจากการเพิ่มฮอร์โมนสเตียรอยด์จากภายนอก เช่น แอนโดรเจน (เพศผู้) หรือฮอร์โมนเอสโตรเจน (เพศเมีย) ในระหว่างการพัฒนาอวัยวะสืบพันธุ์ มีความสัมพันธ์กับการแสดงของเพศของตัวอ่อน (Fuentes-Silva et al., 2013) ฮอร์โมนแอนโดรเจนสังเคราะห์ที่ถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในการทำให้ปลานิลเพศเมียเปลี่ยนเป็นเพศผู้มี 2 ชนิด ได้แก่ methyltestosterone (MT) และ ethynyltestosterone โดยเฉพาะอย่างยิ่งฮอร์โมน 17-α-Methyltestosterone (MT) ซึ่งประเทศไทยใช้ในการแปลงเพศปลานิลโดยวิธีการแช่ ซึ่งได้แก่การแช่ไข่ปลา และการแช่ลูกปลาในฮอร์โมน และการให้กินโดยการผสมในอาหารสำเร็จรูปและอาหารสด แต่เนื่องจาก MT เป็นฮอร์โมนที่มีต้นทุนค่อนข้างสูง มีปัญหาในการนำเข้า และยังมีการห้ามใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ในอาหารสัตว์น้ำในหลายประเทศ ซึ่งเป็นผลมาจากปัญหาการตกค้างในสิ่งแวดล้อมและสุขภาพของผู้บริโภค (Anocha, 2014) เมื่อ MT มีการสะสมในร่างกายเป็นเวลานาน จะไปกระตุ้นการเจริญเติบโตของเนื้อเยื่อและก่อให้เกิดมะเร็งในมนุษย์ได้ (Roberts and Essenhigh, 1986) มีการศึกษาพบว่าหลังจากการแปลงเพศปลาที่เลี้ยงในบ่อดินเป็นเวลา 1 เดือน ระดับของฮอร์โมน MT ในน้ำจะลดระดับลงเป็นปกติ แต่ปริมาณฮอร์โมน MT ในบริเวณก้นบ่อยังมีปริมาณสูง แม้จะมีการหยุดใช้ไปแล้ว 8 สัปดาห์ จนถึง 3 เดือน (Contreras-Sanches et al., 2002) เนื่องจากฮอร์โมนชนิดนี้จะสลายตัวเมื่อโดนความร้อนหรือแสง ดังนั้นบริเวณพื้นบ่อที่ลึกลงไปแสงส่องไม่ถึง จึงเกิดการสะสมของ MT ได้ (Fitzpatrick et al.,1998) ดังนั้นผู้วิจัยจึงให้ความสนใจในการใช้สารสกัดจากธรรมชาติคือใบมังคุดสดเพื่อใช้ในการแปลงเพศปลาทดแทนการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์

มังคุด (*Garcinia mangostana* Linn.) อยู่ในวงศ์ Guttiferae เป็นผลไม้เมืองร้อนที่ได้รับความนิยมอย่างกว้างขวาง ในมังคุดประกอบด้วยสารพฤกษเคมี คือไฟโตเอสโตรเจน (phytoestrogen) สารนี้มีโครงสร้างและ/หรือการทำงานคล้ายกับฮอร์โมนสเตียรอยด์ซึ่งมีฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจน (Lehtinen and Tana, 2001) ที่เรียกว่าแซนโทน (Xantrone) ซึ่งสามารถพบได้ในส่วนต่างๆ เช่น แก่นไม้ น้ำยางสีเหลือง ใบ และเปลือก ของมังคุด (Vasin et al., 2022) ไฟโตเอสโตรเจน มีสูตรโครงสร้างบางส่วนคล้ายคลึงกับ Estradiol ซึ่งพบในธรรมชาติมีฤทธิ์เป็นเอสโตรเจนอย่างอ่อน ออกฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนเพศหญิง ควบคุมลักษณะและการทำงานของอวัยวะสืบพันธุ์ในเพศหญิง สามารถออกฤทธิ์ได้ทั้งเสริมและต้านเอสโตรเจน เมื่อร่างกายมีสารเอสโตรเจนในปริมาณมากเกินไป ไฟโตเอสโตรเจนจะไปจับกับเซลล์ (recepter) ของเอสโตรเจนเกิดการยับยั้งการทำงานของเอสโตรเจนได้ (แจ่มจันทร์, 2550) ซึ่งปริมาณสารที่สูงขึ้น มีผลต่อกลไกการควบคุมฮอร์โมนแบบย้อนกลับอย่างสิ้นเชิงและเป็นผลให้การออกฤทธิ์เปลี่ยนแปลงได้ (อุไรวรรณ และวัฒนา, 2544) ดังนั้นในการ

วิจัยครั้งนี้จึงวัตถุประสงค์เพื่อนำใบมังคุดสดซึ่งเป็นวัตถุดิบจากธรรมชาติมาสกัดเอาสารสกัดหยาบและนำไปผสมในอาหารให้ลูกปลากินเพื่อศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงเพศในลูกปลานิลเพื่อทดแทนการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์ ลดผลกระทบที่เกิดจากการตกค้างของฮอร์โมนในสิ่งแวดล้อมและลดผลกระทบต่อผู้บริโภค

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมสารสกัดหยาบจากใบมังคุดสด

นำใบมังคุดสดจำนวน 1 กิโลกรัม มาล้างน้ำให้สะอาด นำไปปั่นให้ละเอียด บรรจุลงในภาชนะ และเติม 50% aq. MeOH จำนวน 2,000 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิท เก็บไว้ในที่ทึบแสง หมักทิ้งไว้ 72 ชั่วโมง นำไปกรองผ่านกระดาษกรองเพื่อแยกชิ้นส่วนของใบออก แล้วนำไประเหยด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน ที่อุณหภูมิ 45–50 องศาเซลเซียส จนตัวทำละลายหนืด จะได้สารสกัดหยาบที่มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลอมเหลือง จากนั้นเก็บสารสกัดหยาบในภาชนะสีชาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาใช้ในขั้นตอนต่อไป

การเตรียมอาหารทดลอง

ทำการชั่งสารสกัดใบมังคุดสด 0, 250, 500, 1000, 1500 และ 2000 มิลลิกรัม มาละลายใน 50% aq. MeOH จำนวน 200 มิลลิลิตร นำไปผสมกับอาหารผงสำหรับลูกปลาวัยอ่อน โปรตีน 40 % ซึ่งร่อนจนละเอียด จำนวน 1 กิโลกรัม นำอาหารที่ได้ไปผึ่งลม ให้ 50% aq. MeOH ระเหย ออกจนอาหารแห้ง จึงนำไปใช้

แผนการทดลอง

การทดลองในครั้งนี้เป็นแบบสุ่มตลอด(Completely Random Desing: CRD) จำนวน 900 ตัว มาทำการสุ่มลูกปลาออกเป็น 6 ชุดการทดลอง ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ แต่ละชุดการทดลองประกอบด้วยปลานิล จำนวน 50 ตัว แบ่งชุดการทดลองออกเป็นชุดควบคุม และชุดที่ใช้อาหารผงผสมสารสกัดใบมังคุดสดที่ระดับความเข้มข้น 250, 500, 1000, 1500 และ 2000 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม(มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ตามลำดับ

วิธีการทดลอง

ทำการสุ่มลูกปลานิลที่ได้จากการเพาะจากคณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร วิทยาเขตสารสนเทศเพชรบุรี อายุ 5 วัน ลงในตู้กระจก จำนวน 18 ตู้ ตู้ละ 50 ตัว ให้อาหารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ จำนวน 30 วัน โดยในสัปดาห์แรกจะให้อาหาร 20% ของน้ำหนักตัวเฉลี่ย จำนวน 5 ครั้งต่อวัน สัปดาห์ที่ 3 ให้อาหาร 20% ของน้ำหนักตัวเฉลี่ย จำนวน 4 ครั้งต่อวัน เมื่อครบ 30 วันจึงเปลี่ยนไปให้อาหารที่ไม่ผสมสารสกัดจากใบมังคุดสด โดยให้อาหารเม็ดแทนอาหารผง และเลี้ยงต่อไปเป็นเวลา 30 วัน

การจัดการระหว่างการเลี้ยง

ระหว่างการเลี้ยงปลามีการเปลี่ยนถ่ายน้ำ 50 เปอร์เซ็นต์และดูดตะกอนสัปดาห์ละ 1 ครั้ง ทำการวัดคุณน้ำทุก 7 วัน คือ ความเป็นกรดด่าง(pH meter รุ่น AD-11) ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ(Oxygen Meter รุ่น YSI 550A) ความเป็นด่าง ปริมาณแอมโมเนีย และไนไตรต์ (Nitrite) ตามวิธีการของ Boyd and Tucker (1992)

การตรวจสอบเพศปลา

หลังจากการเลี้ยงปลาเป็นเวลา 60 วัน ทำการสลบปลาด้วยน้ำมันกานพลู 20 ppm (วิจิตรา และณัฐพล, 2018) เมื่อปลาหยุดเคลื่อนไหวทำการนับจำนวนปลาที่เหลือทั้งหมด ชั่งน้ำหนักและวัดขนาด และนำปลาจำนวน 20 ตัวต่อตู้มาทำการผ่าตัว ทำการผ่าตัดปลาโดยเปิดบริเวณช่องท้อง ตัดถุงไข่ หรือ ถุงน้ำเชื้อ วางบนสไลด์ หยดสีย้อมอะซีโตคามิน 2 หยด ปิดด้วยกระจกปิดสไลด์ กดเบา ๆ จำแนกเพศปลาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยปลาที่แสดงลักษณะเพศผู้จะสังเกตเห็นว่าถุงน้ำเชื้อของปลาลักษณะทึบ ปลาที่แสดงลักษณะเพศเมียจะสังเกตเห็นรังไข่ และลักษณะเพศที่ไม่สมบูรณ์ทำให้ไม่สามารถแยกเพศได้โดยมีลักษณะ 2 เพศในตัวเดียวกัน ดังแสดงใน Fig. 1

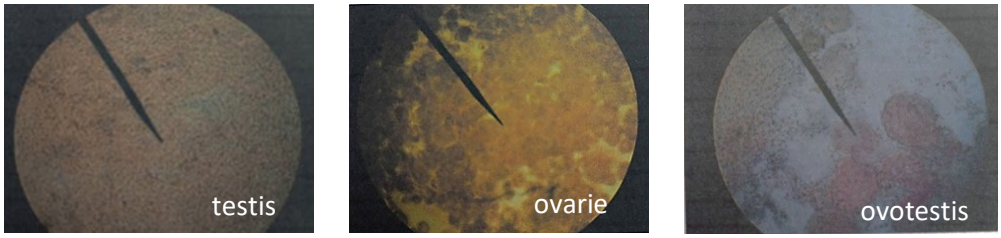


Fig.1 Sex characteristics of *O. niloticus* fed with different crude extract of *Mangosteen Leaves*

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

หลังจากสิ้นสุดการทดลอง ข้อมูลทั้งหมดจะถูกนำมาวิเคราะห์ข้อมูลโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน Analysis of variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's multiple range test ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม SPSS

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองการใช้สารสกัดจากใบมังคุดสดผสมในอาหารให้ลูกปลานิลกิน ที่ระดับความเข้มข้น 0, 250, 500, 1,000, 1,500 และ 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นเวลา 30 วันและเลี้ยงต่อด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปจนลูกปลาอายุ 60 วัน พบว่าทุกระดับความเข้มข้นสามารถทำให้ปลานิลแสดงลักษณะเพศเป็นเพศผู้ได้มากกว่ากลุ่มที่ไม่มีการใส่สารสกัดจากใบมังคุดสดอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และที่ระดับความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร ให้ผลในการแปลงเพศไม่แตกต่างทางสถิติกับที่ระดับความเข้มข้น 1,500 และ 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่สามารถเปลี่ยนเพศปลาได้มากกว่าที่ระดับ 250 และ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มากกว่าร้อยละ 13.87 (Table 1)

การเจริญเติบโตของปลานิลพบว่าหลังจากสิ้นสุดการทดลองน้ำหนักของปลานิลของทุกชุดการทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.78±0.14, 2.03±0.16, 2.16±0.35, 2.09±0.16, 1.99±0.24 และ 1.71±0.06 กรัมตามลำดับ ในขณะที่ความยาวของลูกปลาในกลุ่มควบคุมมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 3.84±0.16 เซนติเมตร ซึ่งไม่แตกต่างกับชุดการทดลองที่ใส่สารสกัดจากใบมังคุดที่ระดับ 250 และ 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) กับกลุ่มที่ใส่สารสกัดจากใบมังคุดที่ระดับ 500, 1,000 และ 1,500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Table 1)

Table 1 Effect of Crude Extraction from Mangosteen Leaves on male, total weight and total length on *Oreochromis niloticus*

Treatment	Crude Extraction from Mangosteen Leaves(mg/kg)	Male (%)	Total weight (g)	Total length (cm.)	Survival rate (%)
1	0	61.36^{c}±2.60	1.78^{a}±0.14	3.84^{cb}±0.16	84.67^{b}±3.06
2	250	76.35^{b}±6.50	2.03^{a}±0.16	4.07^{ab}±0.14	87.33^{ab}±4.16
3	500	71.07^{b}±6.90	2.16^{a}±0.35	4.26^{a}±0.33	96.00^{a}±5.92
4	1,000	86.94^{a}±3.53	2.09^{a}±0.16	4.12^{a}±0.22	95.33^{a}±4.16
5	1,500	78.87^{ab}±5.05	1.99^{a}±0.24	4.09^{a}±0.009	92.67^{ab}±2.30
6	2,000	77.67^{ab}±4.63	1.71^{a}±0.06	3.76^{c}±0.07	85.33^{b}±8.08

*Means±SD in the same column followed by different superscripts are significantly different ($p < 0.05$)

คุณภาพน้ำ

คุณภาพน้ำตลอดระยะเวลาในการทดลองพบว่า ความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วง 7.27–8.94 ออกซิเจนที่ละลายในน้ำเท่ากับ 4.12–7.7 มิลลิกรัมต่อลิตร ค่าความเป็นด่างของน้ำเท่ากับ 123.32–139.33 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณไนไตรท์ 0.0268–0.0296 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณแอมโมเนียเท่ากับ 0.0127–0.0245 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งคุณภาพน้ำในระหว่างการทดลองอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่ยอมรับในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

จากการทดลองในครั้งนี้จะเห็นว่าลูกปลานิลที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดจากใบมังคุดสดที่ระดับ 250, 500, 1,000, 1,500 และ 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม สามารถเปลี่ยนเป็นเพศผู้ได้ ทุกชุดการทดลองมีน้ำหนักไม่แตกต่างกัน แต่ที่ระดับ 5,000, 1,000 และ1,500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ลูกปลามีความยาวมากกว่ากลุ่มควบคุม การทดลองนี้มีความสอดคล้องกับการทดลองที่ผ่านมาที่พบว่าการใช้ใบมังคุดสดในอัตราส่วนที่เหมาะสมจะสามารถแปลงเพศปลาได้ เช่น การศึกษาของ อุไรวรรณและวัฒนา (2544) ซึ่งพบว่าการใช้น้ำใบมังคุดสดเลี้ยงปลากัดมีผลต่อเพศของปลาโดยที่ระดับความเข้มข้น 25 กรัมต่อน้ำ 5 ลิตร ทำให้ปลากัดเปลี่ยนเป็นเพศผู้ 76.79 % ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 70 กรัมต่อน้ำ 5 ลิตร มีผลในการเปลี่ยนเป็นเพศเมีย 76.81 % แต่การใช้น้ำหมักจากใบมังคุดแห้งที่ระดับ 25, 50, 70 และ 100 กรัมต่อน้ำ 5 ลิตร ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงเพศปลา ซึ่งอาจมาจากสารสำคัญใบมังคุดแห้งลดลงจึงไม่มีผลในการแปลงเพศปลา อย่างไรก็ตามการใช้น้ำใบมังคุดสดที่ความเข้มข้น 100 กรัมต่อน้ำ 5 ลิตร ทำให้ปลาตายทั้งหมด ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากสารสกัดที่ได้จากการหมักและใช้ในการแช่ลูกปลา มีความเข้มข้นที่สูงมากเกินไปและในน้ำหมักอาจมีสารที่ส่งผลต่ออัตราการตายของปลาและการศึกษาของสุทิพย์และคณะ (2544) พบว่าการใช้น้ำแช่ใบมังคุดสดอนุบาลลูกนิลอายุ 5 วัน ที่ระดับความเข้มข้น 2 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร เป็นเวลา 30 วัน ทำให้ปลามีเพศผู้ 73% แต่การใช้ใบมังคุดแช่ไข่ปลานิล 5 กรัมต่อลิตร 7 วัน ไข่ปลาไม่สามารถฟักเป็นตัวได้ และการอนุบาลลูกปลาอายุ 2 วัน ในน้ำที่หมัก 3 กรัมต่อลิตร 28 วัน ลูกปลาไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ ส่วนที่ระดับ 0, 1 และ 2 กรัมต่อลิตร มีอัตราการรอดตาย การเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารไม่แตกต่างกันและพบว่าที่ความเข้มข้น 2.0 กรัมต่อลิตรมีเพศผู้ 65% และการศึกษาของคุณนิธี และคณะ (2555) พบว่าการสารสกัดใบมังคุดสดที่ระดับ 1.5 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร แช่ลูกปลานิลระยะก่อนถุงไข่แดงยุบนาน 5 วัน ลูกปลามีอัตรารอดต่ำกว่าที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.5 และ 1.0 กรัมต่อน้ำ 1 ลิตร

การใช้สารสกัดจากใบมังคุดสามารถแปลงเพศปลาได้อาจเนื่องมาจากในมังคุดมีส่วนประกอบของสารพวกไฟโตรเอสโตรเจน ซึ่งมีฤทธิ์คล้ายเอสโตรเจนที่เป็นฮอร์โมนสำคัญในการควบคุมลักษณะทางเพศเมียและอวัยวะสืบพันธุ์ในสัตว์

ไฟโตเอสโตรเจนอาจมีผลเช่นเดียวกับเอสโตรเจนหรือขัดขวางผลของเอสโตรเจน (Monteiro et al., 2000) หากร่างกายมีสารเอสโตรเจนมากเกินไป ไฟโตเอสโตรเจนจะไปจับกับตัวรับเซลล์(receptor) ของเอสโตรเจน ทำให้เกิดการยับยั้งการทำงานของเอสโตรเจนได้ ในขณะที่เมื่อร่างกายเกิดการขาดฮอร์โมนเอสโตรเจน ไฟโตรเอสโตรเจนจะไปจับกับตัวรับของเซลล์เอสโตรเจน และออกฤทธิ์เหมือนฮอร์โมนเอสโตรเจน (Hopert et al., 1998) ขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของไฟโตเอสโตรเจนต่อเอสโตรเจนภายนอก ชนิดของสัตว์ ระยะเวลาที่ได้รับสัมผัสและวิธีการใช้ (Andersen et al., 2003) ในส่วนของอัตราการรอดตายในการศึกษานี้ ที่ระดับ 250, 1,500 และ 2,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ลูกปลามีอัตราการรอดตายไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ขณะที่การใช้สารสกัดจากใบมังคุดสดที่ 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ทำให้ลูกปลามีอัตราการรอดตายสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากวิธีการนำสารสกัดไปใช้ โดยในการทดลองนี้ใช้สารสกัดจากใบมังคุดในการผสมในอาหารให้ลูกปลากิน ในขณะที่การทดลองที่ผ่านมาของ อุไรวรรณ และวัฒนา (2544); สุทิพย์ และคณะ (2554); และ คุณนิธี และคณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร เลขที่ 1 หมู่ 3 ตำบลสามพระยา อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี 76120 (2555) เป็นการใช้สารสกัดจากใบมังคุดในการแช่ลูกปลา ซึ่งสารสกัดจากใบมังคุดในระดับความเข้มข้นสูงจะมีลักษณะเป็นฟองแดง และไปอุดตันเหงือกซึ่งส่งผลต่อระบบการหายใจของลูกปลา และทำให้น้ำเน่าเสีย ลูกปลาไม่สามารถปรับตัวได้จึงเกิดการตายได้ นอกจากนี้การรอดตายของลูกปลาอาจจะมีผลมาจากการที่ในสารสกัดจากใบมังคุดมีสารไฟโตเอสโตรเจนซึ่งนอกจากจะมีผลในการควบคุมการสืบพันธุ์ในปลาแล้ว ยังมีผลต่อการการต่อต้านความเครียด การส่งเสริมการเจริญเติบโต ความอยากอาหาร การกระตุ้นภูมิคุ้มกัน และยังมีคุณสมบัติในการต้านจุลชีพอีกด้วย (Chakraborty et al., 2011) แซนโทนที่แยกได้จากมังคุดพบว่ามีมากกว่า 70 ชนิด ซึ่งแซนโทนที่พบได้มากโดยเฉพาะอย่างยิ่ง **α**-mangostin มีรายงานว่าพวกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านการอักเสบ ต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านเชื้อรา ต้านมะเร็ง และต้านเนื้องอกได้ (Mirielle and Jeremy. 2022) ซึ่งจากการศึกษาของ Soosean et al., 2010 พบว่า การใช้ สารสกัดจากใบ สารสกัดจากยอด และสารสกัดจากเปลือก 0.5 % ของมังคุดผสมอาหาร 5 สัปดาห์ เลี้ยงลูกปลาดุกแอฟริกา (*Clarias gariepinus*) จำนวนเม็ดเลือดแดง (RBC) และจำนวนเม็ดเลือดขาว (WBC) สูงขึ้นอย่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยกลุ่มที่ใช้สารสกัดจากยอดอ่อนมีค่าสูงที่สุด ซึ่งการเพิ่มขึ้นของจำนวนเม็ดเลือดแดงอาจมีผลในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน เม็ดเลือดขาวมีบทบาทสำคัญในการสร้างภูมิคุ้มกันแบบไม่เฉพาะเจาะจง และสามารถบ่งชี้ถึงสุขภาพของปลาได้

ในการทดลองครั้งนี้แม้ว่าจะไม่สามารถเปลี่ยนแปลงเพศปลาได้ทั้งหมดเนื่องจากฮอร์โมนที่นำมาใช้เป็นฮอร์ที่สกัดได้จากธรรมชาติซึ่งเป็นสเตียรอยด์ที่มีประสิทธิภาพต่ำกว่าฮอร์โมนจากการสังเคราะห์ แต่ก็สามารถทำให้ปลาสามารถเปลี่ยนแปลงไปเป็นเพศผู้ได้ในปริมาณสูงและไม่มีผลกระทบต่อการตายของปลา ดังนั้นการใช้สารสกัดจากใบมังคุดนี้จึงน่าจะเป็นทางเลือกในการนำไปใช้ในการแปลงเพศปลาเพื่อลดสารตกค้างที่จะเกิดขึ้นจากการใช้ฮอร์โมนสังเคราะห์และส่งผลกระทบต่อผู้บริโภคได้ อย่างไรก็ตามในการใช้ฮอร์โมนหรือสารสกัดจากธรรมชาติในการควบคุมเพศของปลาจำเป็นต้องทดสอบความเข้มข้นที่มีความเหมาะสม รูปแบบและวิธีการใช้ อายุของสัตว์น้ำ เพื่อให้ได้เพศปลาที่ต้องการและเกิดความปลอดภัยกับปลา

สรุปผลการทดลอง

การใช้อาหารผสมสารสกัดจากใบมังคุดสดที่สกัดด้วย 50% aq. MeOH ให้ลูกปลากินเป็นอาหาร ที่ระดับความเข้มข้นมากกว่า 250 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม พบว่ามีผลทำให้อัตราส่วนเพศผู้ของปลานิลเพิ่มสูงขึ้นมากกว่า 70% โดยที่ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีอัตราส่วนเพศผู้สูงที่สุดคือ 86.94% เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และการใช้

สารสกัดจากใบมังคุดสดทุกระดับความเข้มข้นมีผลต่อการน้ำหนักไม่แตกต่างกัน แต่ที่ระดับ 500, 1,000 และ 1,500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีผลต่อความยาวของลูกปลา ในขณะที่ การใช้สารสกัดจากใบมังคุดสดที่ระดับ 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีผลต่ออัตราการรอดตายของลูกปลาสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะสัตวศาสตร์และเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่สนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

คุณนิธี ลีลารัศมี, สุทิพย์ ค้าของ, จักรพันธ์ สองสี. 2555. การแปลงเพศปลานิล(*Oreochromis niloticus*) โดยการแช่ลูกปลา ระยะก่อนถุงไข่แดงยุบในสารสกัดใบมังคุดสด. วารสารแก่นเกษตร 40 ฉบับพิเศษ: 340–345

แจ่มจันทร์ เพชรศิริ, เกษม ตั้นสุวรรณ, กฤษณะ เรืองคล้าย. 2550. ผลของสารฟลาโวนอยด์จากใบมังคุดที่มีผลต่อการแปลงเพศปลานิล. รายงานการวิจัย คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ. พัทลุง.

เรณู ว่องส่งสาร, นพนันท์ อยู่รอง. 2549. คู่มือการผลิตปลานิลแปลงเพศ. ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดอุดรธานี. จังหวัดอุดรธธานี.

สุทิพย์ ค้าของ, คุณนิธี ลีลารัศมี, อัจฉริยา สุวรรณสังข์, นิรุทธิ์ สุขเกษม. 2554. ผลของสารสกัดใบมังคุดต่อการผลิตปลานิลเพศผู้.วารสารแก่นเกษตร 39 ฉบับพิเศษ: 53–58

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2566. กระทรวงเกษตรฯ เห็นชอบผลพยากรณ์ปริมาณการผลิตสินค้าเกษตร ปีเพาะปลูก 2566/67. สืบค้นจาก https://www.moac.go.th/view-/1/รายละเอียดข่าว/ข่าวทั้งหมด/42329/TH-TH

อุไรวรรณ ไพชำนาญ, วัฒนา วัฒนกุล. 2544. ผลของสารสกัดจากใบมังคุดต่อลักษณะการเปลี่ยนเพศในปลากัด. รายงานการวิจัย. สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล. กรุงเทพฯ.

Andersen, L., Bjerregaard, P., Korsgaard, B. 2003. Vitellogenin induction and brain aromatase activity in adult male and female zebra fish exposed to endocrine disrupters. Fish Physiol. Biochem. 28: 319–321.

Anocha, K. 2014. Efficacy of Red Kwao Krua (*Butea superb* Roxb.) crude extract for all male production of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Journal of Agricultural Technology 10: 391–398

Boyd, C.E., Tucker, C.S. 1992. Water Quality and Pond Soil Analyses for Aquaculture. Alabama Agricultural Experiment Station, Auburn University. Alabama, AL, USA.

Chakraborty, S.B., Hancz, C. 2011. Application of phytochemicals as immunostimulant, antipathogenic and antistresss agents in finfish culture. Rev. Aquac. 3: 103–119.

Contreras-Sanches, W.M., Marquez-Couturier, G., Marquez, T.R.G., Lopez, L.A.D., Schreck, C.B. 2002. Masculinization of Nile tilapia fry by immersion in Trenbolone acetate: Reuse of hormone solution and effects of temerature ture. In: McElwee, K., Lewis, K., Nidiffer, M., Buitrago, P.(ed), Nineteenth Annual Technical Report. Pond Dynamics/Aquaculture CRSP, Oregon State University. Corvallis, OR, USA. pp. 35–38.

Fitzpatrick, M.S., Contreras-Sanches, W.M., Milston, R.H., Lucero, M., Feist, G.W., Schreck, C.B. 1998. Steroid immersion of masculinization of tilapia. In: Burke, D., Baker, J., Goetze, B., Clair, D., Egna, H. (ed), Fifteenth Annual Technical Report. Pond Dynamics/Aquaculture CRSP, Oregon State University, Corvallis, OR, USA. pp. 29–34

Fuentes-Silva, C., Soto-Zarazua, M.G., Torres-Pacheco, I., Flores-Rangel, A. 2013. Male tilapia production techniques: A mini review. Afr. J. Biotechnol. 12: 5496–5502

Hopert, A-C., Beyer, A., Frank, K., Strunck, E., Wunsche, W., Vollmer, G. 1998. Characterization of oestrogenicity of phytoestrogens in an endometrial- derived experimental model. Environ. Health. Perspect.
106: 581–586. doi: 10.1289/ehp.98106581

Lehtinen, K.J., Tana, J. 2001. Review of endocrine disrupting natural compounds and endocrine effects of pulp and paper mill and municipal sewage effluents. The Finnish environment: Environmental protection 447: 1–73.

Mirielle, C.N., Jeremy, J.J. 2022. The purple mangosteen (*Garcinia mangostana*): Defining the anticancer potential of selected xanthones. Pharmacol. Res. 175, 106032. doi.org/10.1016/j.phrs.2021.106032

Roberts, J.T., Essenhigh, D.M. 1986. Adenocarcinoma of prostate in 40-year old body builder.Lancer 2: 742.

Soosean, C., Marimuthu K., Sudhakaran. S., Xavier. R. 2010. Effect of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) extracts as a feed additive on growth andhematological parameters of African catfish(*Clarias gariepinus*) fingerlings. Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 14: 605–611.

Vasin, Y., Pao, S., Wiyada, K.K., Karthikeyan, V., Jittimon. W., Thanya, P., Narin. C. 2022. A review of the influence of various extraction techniques and the biological effects of the xanthones from mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) Pericarps. Molecules. 27: 8775.
doi.org/10.3390/molecules27248775

ความชุกชุมและการกระจายตัวของปูเสฉวนขาเหลือง (*Clibanarius virescens*) ภายใต้การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในช่วงวันในหาดหินบริเวณหาดอ่าวโฉลกบ้านเก่า เกาะเต่า สุราษฎร์ธานี

The influence of diurnal temperature fluctuations on the abundance and distribution of the yellow-footed hermit crab Clibanarius virescens in the rocky beach of Ao Chalok Bankao Beach, Koh Tao, Surat Thani

พันธุ์ทิพย์ วิเศษพงษ์พันธ์*, ณัฐพร ดวงศรี, ธารวิมล มักทา

Puntip Wisespongpand*, Natthaphon Duangsri, Thalvimol Maktha

ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

Department of Marine Science, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: ffisptp@ku.ac.th

บทคัดย่อ

หาดหินเป็นเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยชายฝั่งทะเลที่พบปูเสฉวนชุกชุม เมื่อน้ำลงปูเสฉวนจะต้องเผชิญกับอุณหภูมิที่สูงขึ้นและสภาวะแห้งช่วงน้ำลด ดังนั้นปูเสฉวนจึงรวมกลุ่มและเข้าไปหลบซ่อนอยู่ใต้ก้อนหิน การวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลกระทบของการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในรอบวัน ต่อความชุกชุมและรูปแบบในการกระจายตัวของปูเสฉวนขาเหลือง (*Clibanarius virescens*) ที่อาศัยในเขตน้ำขึ้นน้ำลงของหาดหินบริเวณอ่าวโฉลกบ้านเก่าใน 3 ช่วงระยะเวลาของรอบวัน ผลการศึกษาพบว่าความหนาแน่นของปูเสฉวนใต้ก้อนหินในช่วงเวลา 9.00 น. น้อยกว่าเวลา 13.00 และ 16.00 น. โดยมีค่าเท่ากับ 1,358.95, 1,530.86 และ 1,502.78 ตัวต่อตารางเมตร ตามลำดับ เนื่องจากเวลา 9.00 น. มีอุณหภูมิอากาศ บนก้อนหิน และทรายรอบ ๆ แหล่งที่อยู่อาศัยของปูเสฉวนที่ต่ำสุด และการกระจายตัวของปูเสฉวนแตกต่างกัน โดยในช่วง 9.00 น. ปูกระจายตัวอยู่ทั้งขอบด้านนอกและใต้ก้อนหิน ในขณะที่ช่วงเวลา 13.00 และ 16.00 น. ปูเสฉวนทั้งหมดจะมารวมตัวกันเป็นกลุ่มเดียวหลบซ่อนใต้ก้อนหิน เป็นที่น่าสังเกตว่าเมื่อยกก้อนหินที่มีปูเสฉวนหลบอยู่ขึ้นมา ปูจะรีบหาหินก้อนใหม่เพื่อเป็นที่หลบซ่อนใหม่ทันที การค้นพบครั้งนี้เป็นสิ่งที่ยืนยันได้ว่าการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในรอบวันมีอิทธิพลต่อพฤติกรรมการหาที่หลบซ่อนตัวของปูเสฉวนที่อาศัยอยู่ในบริเวณหาดหินอย่างมีนัยสำคัญ ยิ่งไปกว่านั้น ภายใต้สภาวะที่อุณหภูมิโลกมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มสูงขึ้นตลอดเวลา การติดตามตรวจสอบผลกระทบที่มีต่อแหล่งที่อยู่อาศัยและประชากรของปูเสฉวนอย่างต่อเนื่อง จึงมีความสำคัญเป็นอย่างมาก

คำสำคัญ : การเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศ, เกาะเต่า, ปูเสฉวน, อุณหภูมิสูง

Abstract

The rocky beach is a coastal habitat where hermit crabs are found abundantly. At low tide, hermit crabs are exposed to high temperature and desiccation. Therefore, hermit crabs gathered and took shelter under the rocks. This study investigated the impact of diurnal temperature fluctuations on the abundance and dispersion patterns of *C. virescens* within rocky beach around Ao Chalok Bankao Beach, focusing on three distinct time periods. The results showed that the density of hermit crab under the rocks at 9.00 AM was less than at 1.00 PM. and 4.00 PM This variation was attributed to lower air, rock, and sand temperatures surrounding the crabs' shelters during the early morning period. Additionally, the dispersion patterns displayed temporal variation. At 9:00 AM, crabs were observed scattered across the outer edges and beneath the rocks. Conversely, at 1:00 PM and 4:00 PM, all crabs were observed congregated and concealed under the rocks. Notably, upon removal of their shelters, crabs exhibited immediate behavior of seeking refuge back under the rocks. These findings provide strong evidence that diurnal temperature changes significantly influence the sheltering behavior of *C. virescens* within the rocky intertidal zone. Moreover, considering the ongoing and projected increases in global temperatures associated with climate change, continued monitoring of the potential impacts on crab habitats and population dynamics is of paramount importance.

Keywords: *Clibanarius virescens*, Climate change, Koh Tao, High temperature

คำนำ

หาดหินเป็นระบบนิเวศชายฝั่งที่อยู่ในเขตน้ำขึ้นน้ำลงที่มีความหลากหลายทางชีวภาพของปูสูง อันเนื่องมาจากความอุดมสมบูรณ์ของอาหารและแหล่งหลบซ่อนตัวมากมาย (ธรณ์ และพันธุ์ทิพย์, 2550) เมื่อน้ำลงปูที่อยู่ในหาดหินต้องเผชิญกับสภาวะแห้งช่วงน้ำลด (desiccation) และที่สำคัญ คือ การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิในบริเวณที่เป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของปูในหาดหิน ปูเสฉวนเป็นปูกลุ่มหนึ่งที่มักพบชุกชุมในหาดหิน ซึ่งมักอยู่รวมตัวกันหลบซ่อนใต้ก้อนหิน เพื่อหลีกเลี่ยงการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและสภาวะแห้งในช่วงน้ำลด (พันธุ์ทิพย์ และคณะ, 2556; 2558) ปูเสฉวนกินอาหารหลากหลาย โดยเฉพาะซากเน่าเปื่อย จึงช่วยทำให้เกิดการหมุนเวียนธาตุอาหาร จึงมีบทบาทสำคัญเกี่ยวข้องกับระบบนิเวศบริการในทะเล (marine environment service) (Jones and Morgan, 2002) ปูเสฉวนสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศที่ทำให้ปริมาณน้ำจืดเพิ่มขึ้นในหาดหินบริเวณชายฝั่งได้ (Dunbar et al., 2003) และปูเสฉวนยังถูกใช้เป็นต้นแบบในการศึกษาผลกระทบจากมนุษย์และการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศทั้งในระดับประชากร ประชาคม และระบบนิเวศทั้งระบบด้วย (Briffa et al., 2024)

ภายใต้สภาวะโลกร้อนซึ่งส่งผลให้มีการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศ (climate change) และทำให้อุณหภูมิของพื้นผิวโลกเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ปูที่อาศัยในหาดหินจึงมีความเสี่ยงสูงที่จะได้รับผลกระทบจากอุณหภูมิที่สูงขึ้น มีรายงานการศึกษาที่ชี้ให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศที่ทำให้เกิดอุณหภูมิสูงขึ้น ส่งผลกระทบต่อการแพร่กระจายของปูเสฉวนจากเขตร้อนไปเขตอบอุ่นมากขึ้น (Asakura, 2021) มีผลต่อพฤติกรรม (Briffa et al., 2024) และที่สำคัญ คือ ทำให้ความสามารถในการเลือกเปลือกหอยที่เหมาะสมที่ปูจะเข้าไปอาศัยอยู่ลดลง ส่งผลให้ปูเสฉวนมีความเสี่ยงต่อการถูกล่าและสภาวะแห้งช่วงน้ำลดมากขึ้น (Gilliand et al., 2021) จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาติดตามอย่างต่อเนื่องถึงผลกระทบที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศต่อปูเสฉวนในหาดหิน ทำให้เข้าใจถึงการเปลี่ยนแปลงที่อยู่อาศัยที่ส่งผลต่อการลดลงของความหลากหลายทางชีวภาพ

หาดหินบริเวณหาดอ่าวโฉลกบ้านเก่า ซึ่งอยู่ทางทิศใต้ของเกาะเต่า จังหวัดสุราษฎร์ธานี ลักษณะทางภูมิศาสตร์เป็นหาดราบ ความลาดชันต่ำ มีหินก้อนใหญ่เล็กปะปนกับซากปะการัง จึงเป็นที่อยู่อาศัยที่เหมาะสมสำหรับปูเสฉวน การศึกษานี้ได้ทำการศึกษาความหนาแน่นและการกระจายตัวของปูเสฉวนขาเหลือง (*Clinabarius virescens*) ภายใน 3 ช่วงเวลา ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิภายในรอบวัน โดยเปรียบเทียบในเขตน้ำขึ้นน้ำลง 3 เขต และก้อนหินที่ปูหลบซ่อนที่มีขนาดต่างกัน 2 ขนาด การศึกษานี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นเพื่อใช้ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่ส่งผลต่อปูเสฉวนในหาดหิน อันสามารถที่จะพัฒนาใช้ปูเสฉวนเป็นตัวบ่งชี้ผลกระทบที่เกิดจากภาวะการเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศที่มีผลต่อความหลากหลายทางชีวภาพของปูต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การกำหนดสถานีสำรวจเก็บตัวอย่าง

หาดอ่าวโฉลกบ้านเก่าอยู่ทางทิศใต้ของเกาะเต่า มีพิกัดทางภูมิศาสตร์10°04'01''N 99°49'33''E โดยมีหาดหินที่หลากหลาย โดยหาดหินที่ทำการศึกษานี้อยู่ทางด้านทิศเหนือของหาดอ่าวโฉลกบ้านเก่า มีลักษณะเป็นหาดหินราบ ความลาดชันต่ำ ประกอบด้วยก้อนหินขนาดใหญ่เล็กและปะการังหักปะปนกัน มีขนาดกว้างยาวประมาณ 20x30 เมตร ใต้ก้อนหินเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของปูเสฉวนขาเหลือง (*Clibanarius virescens*) จำนวนมาก (Fig. 1)

กำหนดสถานีทำการสำรวจและเก็บตัวอย่างปูเสฉวนที่อยู่ใต้ก้อนหิน ภายใต้เวลาในช่วงวันที่มีอุณหภูมิแตกต่างกัน 3 เวลา คือ 9.00, 13.00 และ 16.00 น. โดยมีปัจจัยเปรียบเทียบ คือ ขนาดก้อนหิน 2 ขนาด ซึ่งหินขนาดใหญ่ (B) มีขนาด

ระหว่าง 0.20–0.25 ตารางเมตร และหินขนาดเล็ก (S) มีขนาดระหว่าง 0.06–0.10 ตารางเมตร ซึ่งกระจายอยู่ในเขตน้ำขึ้นน้ำลงที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ เขตน้ำขึ้นสูงสุด (H) เขตน้ำขึ้นน้ำลง (M) และเขตน้ำลงต่ำสุด (L) แต่ละเขตเก็บตัวอย่าง 3 ซ้ำ โดยมีสถานีเก็บตัวอย่างรวม 18 สถานี (Fig. 1) ทำการศึกษาในช่วงเดือนพฤษภาคม-มิถุนายน พ.ศ.2566

การศึกษาความชุกชุมของปูเสฉวนขาเหลือง

ในแต่ละสถานีเก็บตัวอย่างจะทำการพลิกก้อนหิน แล้วสุ่มวาง quadrat ขนาด 30×30 เซนติเมตร นับจำนวนปูเสฉวนที่พื้น จากนั้นนำไปคำนวณหาค่าความหนาแน่นของปูเสฉวนต่อตารางเมตร โดยสุ่มนับที่เวลา 9.00, 13.00, และ 16.00 น.

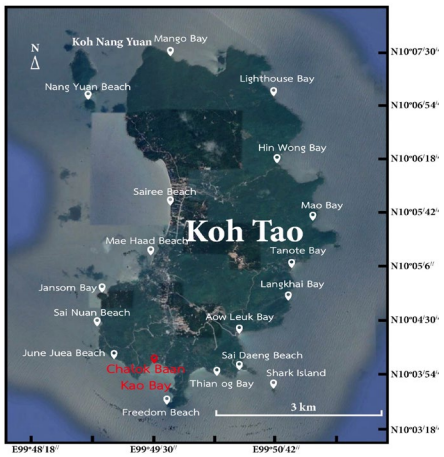
การศึกษาการตอบสนองของปูเสฉวนที่สัมผัสกับอุณหภูมิสูง

ทำการยกก้อนหินที่มีปูเสฉวนอาศัยอยู่มาวางห่างจากจุดเดิม 30 ซม. บันทึกเวลาและถ่ายวีดีโอการเคลื่อนที่ของปูเสฉวนที่คลานไปหลบซ่อนใต้ก้อนหินที่ย้ายไป โดยทำการยกก้อนหินในช่วงเวลา 13.00 น. ซึ่งมีอุณหภูมิสูงในรอบวัน

การศึกษาอุณหภูมิและคุณภาพน้ำบริเวณพื้นที่ศึกษา

ตรวจวัดคุณภาพสิ่งแวดล้อม ได้แก่ อุณหภูมิอากาศด้วยเครื่องวัดอุณหภูมิ BENETECH รุ่น GM1360 อุณหภูมิบนและใต้ก้อนหินที่ปูเสฉวนหลบซ่อนอยู่ และอุณหภูมิทรายนอกและใต้ก้อนหิน ด้วยเครื่องวัดอุณหภูมิแบบอินฟราเรด PONPE รุ่น 430IR ส่วนคุณภาพน้ำทำการตรวจวัดอุณหภูมิน้ำและ DO ด้วยเครื่องวัดของ HACH รุ่น HQ40D พร้อมหัววัดออกซิเจนละลายน้ำด้วยแสงระบบ LDO (Luminescent Dissolved Oxygen) ความเค็มตรวจวัดด้วยเครื่องวัดความเค็ม HANNA รุ่น HI98319 และค่า pH ตรวจวัดด้วยเครื่องวัด pH ของ HANNA รุ่น HI98107

(A) (B)





(C) (D)

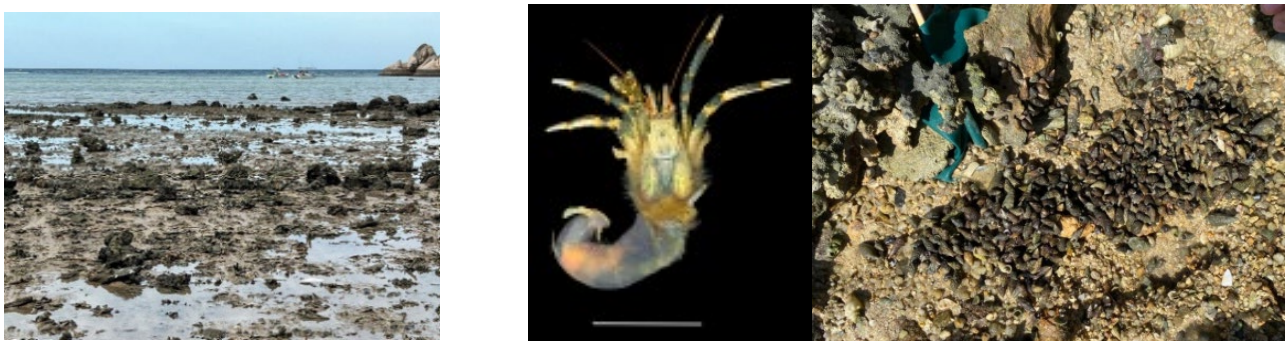


Fig. 1 The location of Ao Chalok Baan Kao Beach, Southern part of Koh Tao, Surat thani province (A); The sampling stations comparing between two rock sizes across three intertidal zones (B); The characters of rocky beach at Ao Chalok Baan Kao Beach (C); The yellow-footed hermit crab (*Clibanarius virescens*) found abundanced under rocks (D)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

หาดอ่าวโฉลกบ้านเก่าเป็นหาดเพียงหาดเดียวบนเกาะเต่าที่มีหาดหินที่มีลักษณะเป็นหาดราบ ความลาดชันต่ำ มีหินขนาดใหญ่เล็กและก้อนปะการังหักเรียงปะปนกัน ซึ่งหาดหินลักษณะนี้มักพบปูหลากชนิดกว่าโขดหินที่มีความลาดชันสูง เนื่องจากปูมีที่หลบซ่อนตามซอกหินและใต้ก้อนหินจากอุณหภูมิที่สูง สภาวะแห้งช่วงน้ำลด และคลื่นลม ซึ่งปูเสฉวนเป็นปูกลุ่มหนึ่งที่มักหลบซ่อนตัวอยู่ใต้ก้อนหินเป็นจำนวนมาก (พันธุ์ทิพย์ และคณะ, 2556; 2558) โดยปูเสฉวนที่พบชุกชุมในหาดหินอ่าวโฉลกบ้านเก่านี้ คือ ปูเสฉวนขาเหลือง (*Clibanarius virescens*) (Fig. 1) ซึ่งเป็นปูในวงศ์ Diogenidae ลักษณะสำคัญ คือ ปล้อง dactylus ของขาเดินมีสีเหลืองและไม่มีแถบเข้มตรงกลาง (McLaughlin, 2002) ปูเสฉวนขาเหลืองมีการแพร่กระจายในเขตอินโดแปซิฟิกไปจนถึงอาฟริกา โดยมีรายงานว่าปูเสฉวนขาเหลืองในประเทศญี่ปุ่นส่วนใหญ่แพร่กระจายอยู่ในแนวเขตน้ำลงต่ำสุด อาศัยอยู่ในหอยมากกว่า 33 ชนิด และเพศผู้และเพศเมียมีการเลือกใช้เปลือกหอยแตกต่างกัน (Imazu and Asakura, 1994) ในขณะที่ปูเสฉวนขาเหลืองที่พบในประเทศแอฟริกาใต้ส่วนใหญ่อาศัยในเปลือกหอยชนิด *Burnupena Lagenaria* เพศผู้มีขนาดใหญ่กว่าและใช้เปลือกหอยที่แตกต่างและขนาดใหญ่กว่าเพศเมีย และมีฤดูสืบพันธุ์ที่สัมพันธ์กับอุณหภูมิผิวน้ำทะเล (Wait and Schoeman, 2012) ทั้งนี้ปูเสฉวนขาเหลืองมีขนาดที่ใกล้เคียงกับปูเสฉวนหนวดแดง (*Clibanarius merguiensis*) ที่พบชุกชุมมากเช่นกันในหาดหินบริเวณเกาะมันนอก จังหวัดระยอง และส่วนใหญ่พบอาศัยอยู่ในเปลือกหอยสกุลเดียวกัน คือ *Clypeomorus* (พันธุ์ทิพย์ และคณะ, 2556)

ผลจากการศึกษาพบว่ามีความแตกต่างในรอบวันของความหนาแน่นของปูเสฉวนขาเหลืองที่อยู่ใต้ก้อนหิน ทั้งนี้เป็นที่น่าสังเกตุว่าใต้ก้อนหินขนาดใหญ่และเล็กที่อยู่ในเขตน้ำขึ้นน้ำลง 3 เขต พบว่าปูเสฉวนขาเหลืองที่พบในหาดหินอ่าวโฉลกบ้านเก่ามีความหนาแน่นเฉลี่ยสูงถึง 1,464.20 ตัวต่อตารางเมตร ในแต่ละช่วงเวลาพบปูเสฉวนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเวลา 9.00 น. มีความหนาแน่นของปูเสฉวนขาเหลืองใต้ก้อนหินน้อยที่สุด คือ 1,358.95±758.77 ตัวต่อตารางเมตร ในขณะที่ที่เวลา 13.00 และ 16.00 น. มีความหนาแน่นของปูเสฉวนขาเหลืองมากกว่าเวลา 9.00 น. คือ 1,530.86±863.36 และ1,502.78±797.37 ตัวต่อตารางเมตร ตามลำดับ (Table 1) ซึ่งเมื่อพิจารณาค่าอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมบริเวณก้อนหินที่ปูเสฉวนอาศัยอยู่ จะพบว่าเวลา 9.00 น. อุณหภูมิอากาศ อุณหภูมิบนและใต้ก้อนหิน และอุณหภูมิทราย

ใต้และนอกก้อนหินมีค่าต่ำกว่าเวลา 13.00 น. และ 16.00 น. และอุณหภูมิใต้ก้อนหินที่ปูเสฉวนขาเหลืองเข้าไปหลบซ่อนนั้นมีค่าต่ำกว่าสภาพแวดล้อมที่อยู่ด้านนอกก้อนหินทุกช่วงเวลา (Fig. 2) ซึ่งชี้ให้เห็นว่าอุณหภูมิที่สูงขึ้นในช่วงวันมีผลต่อความหนาแน่นของปู และยังมีผลต่อการกระจายตัวของปู โดยในช่วง 9.00 น. เมื่อน้ำลงไม่นานและอุณหภูมิยังไม่สูงมาก ปูเสฉวนขาเหลืองจะกระจายตัวอยู่ที่ขอบด้านนอกร้อยละ 40 และร้อยละ 60 เริ่มเข้าไปอยู่ใต้ก้อนหิน ในขณะที่เวลา 13.00 น. และ 16.00 น. ปูเสฉวนขาเหลืองจะรวมตัวกันอย่างหนาแน่นอยู่ภายใต้ก้อนหินทั้งหมด ซึ่งเป็นการกระจายตัวที่เกิดขึ้นเพื่อหลีกเลี่ยงอุณหภูมิที่สูงขึ้นที่ทำให้เกิดสภาวะแห้งช่วงน้ำลด และสามารถยืนยันว่าปูเสฉวนไม่สามารถอยู่ในบริเวณที่อุณหภูมิสูงได้จากผลการทดสอบเบื้องต้นที่ทำการขยับก้อนหินที่มีปูเสฉวนอาศัยอยู่แล้วห่างจากจุดเดิมประมาณ 30 เซนติเมตร ซึ่งพบว่าภายในเวลาไม่ถึง 1 นาที ปูเสฉวนทั้งหมดจะรีบคืบคลานไปหลบใต้ก้อนหินที่ขยับไปอย่างรวดเร็วเพื่อหลีกเลี่ยงอุณหภูมิที่สูงและสภาวะแห้งช่วงน้ำลด จากการตรวจสอบค่าอุณหภูมิอากาศบริเวณเกาะเต่าในช่วงปี พ.ศ. 2565 และ พ.ศ. 2566 (Fig. 3) พบว่าแนวโน้มของอุณหภูมิในปี พ.ศ. 2566 สูงกว่าปี พ.ศ. 2565 โดยเดือนมีนาคม พ.ศ. 2566 อุณหภูมิอากาศสูงขึ้นถึง 40 องศาเซลเซียส แสดงให้เห็นว่าบนเกาะเต่ามีแนวโน้มของการเพิ่มอุณหภูมิอย่างต่อเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศที่รุนแรงขึ้น หากในอนาคตอุณหภูมิยังคงมีแนวโน้มที่จะเพิ่มขึ้น คาดว่าจะส่งผลต่อปูเสฉวนที่อาศัยอยู่ใต้ก้อนหินที่จะสูญเสียที่อยู่อาศัยที่ใช้หลบซ่อนตัว ซึ่งจะใช้เป็นตัวบ่งชี้การเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศที่มีผลต่อสิ่งมีชีวิตในแนวหาดหินได้ในอนาคต

Table 1 The density of yellow-footed hermit crab (*Clibanarius virescens*) at 3 different times under 2 sizes of rocks within 3 levels of intertidal zone on Ao Chalok Bankao rocky beach

Time	Zonation	Rock size	Density (individuals/m^2)
9:00	Upper intertidal zone	Large	1,146.30±825.83
		Small	1,251.85±330.93
	Mid intertidal zone	Large	809.26±416.89
		Small	877.78±342.83
	Lower intertidal zone	Large	2,398.15±636.75
		Small	1,670.37±648.90
Average			1,358.95±758.77
13:00	Upper intertidal zone	Large	1,316.67±789.21
		Small	1,333.33±505.53
	Mid intertidal zone	Large	851.85±364.79
		Small	974.07±441.81
	Lower intertidal zone	Large	2,774.07±584.65
		Small	1,935.19±768.95
Average			1,530.86±863.36
16:00	Upper intertidal zone	Large	1,316.67±634.98
		Small	1,264.81±413.44
	Mid intertidal zone	Large	901.85±250.57
		Small	874.07±343.60
	Lower intertidal zone	Large	2,698.15±470.74
		Small	1,961.11±700.01
Average			1,502.78±797.37

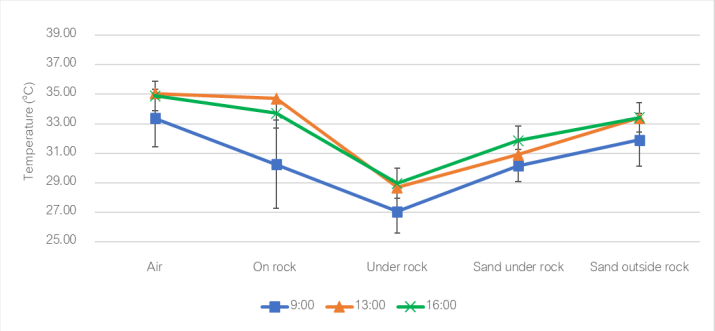


Fig. 2 The ambient temperature of yellow-footed hermit crab (*Clibanarius virescens*) habitats at Ao Chalok Bankao rocky beach under 3 different times

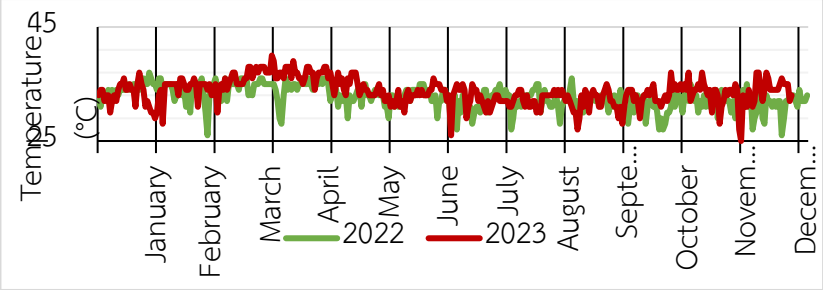


Fig. 3 The montly temperature fluctuation of Ko Toa during 2022-2023

Source: https://www.accuweather.com/th/th/ban-ko-tao/

ความหนาแน่นของปูเสฉวนขาเหลืองในเขตน้ำขึ้นน้ำลง 3 เขตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Fig. 4) โดยปูเสฉวนเลือกที่จะหลบซ่อนใต้ก้อนหินในเขตน้ำขึ้นน้ำลงน้ำลงต่ำสุด มากกว่าเขตน้ำขึ้นน้ำลง และเขตน้ำขึ้นสูงสุด โดยมีค่าความหนาแน่นเท่ากับ 2,239.51, 1,271.60 และ 881.48 ตัวต่อตารางเมตร ตามลำดับ เนื่องจากในเขตน้ำลงต่ำสุดมีอุณหภูมิและความชื้นที่ต่ำกว่าเขตอื่น ๆ เนื่องจากมีระยะเวลาผึ่งแห้งน้อยกว่าเขตอื่น ๆ และยังมีสาหร่ายสั้น ๆ เกาะบนก้อนหินซึ่งช่วยดูดซับความชื้นไว้ ส่วนความหนาแน่นของปูเสฉวนขาเหลืองที่อยู่ใต้ก้อนหินขนาดใหญ่และเล็กมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทั้งนี้ความหนาแน่นของปูเสฉวนขาเหลืองน่าจะขึ้นกับรูปร่างของก้อนหินมากกว่า โดยก้อนหินที่มีรอยแยกหรือโพรงหินภายในก้อน จะเป็นที่หลบซ่อนที่ดีของปูเสฉวน

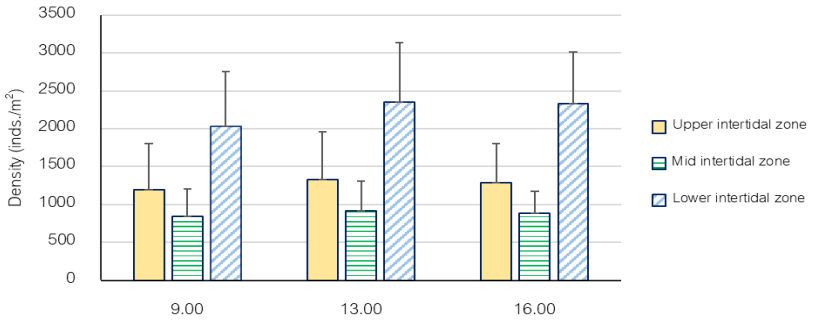


Fig. 4 The density of yellow-footed hermit crab (*Clibanarius virescens*) at 3 different levels of intertidal zone on Ao Chalok Bankao rocky beach

การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศไม่ได้ส่งผลเฉพาะการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ แต่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงปัจจัยสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ ไปพร้อมกันด้วย เช่น ความเค็ม ความเป็นกรดด่าง ออกซิเจน รวมทั้งทำให้เกิดพายุเพิ่มมากขึ้น ซึ่งส่งผลให้น้ำหลากลงสู่ทะเลมากขึ้นและทำให้ความเค็มของน้ำทะเลลดลง ซึ่งมีรายงานการศึกษาที่ชี้ให้เห็นว่าอุณหภูมิที่สูงและความเค็มที่ต่ำมีผลต่อปูเสฉวน (*Pagurus hirsutiusculus*) โดยสังเกตจากการขยับหนวดคู่ที่ 1 ของปูเสฉวน ซึ่งทำหน้าที่ตรวจสอบอาหารและผู้ล่า เมื่อความเค็มต่ำไม่ว่าจะอุณหภูมิสูงหรือต่ำ ปูเสฉวนจะตรวจสอบอาหารและผู้ล่าได้น้อยลง (Brittng, 2017) การเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศที่ทำให้อุณหภูมิสูงขึ้นและความเค็มต่ำลงยังส่งผลกระทบต่อปูเสฉวน (*Pagurus longicarpus*) ในเขตอเมริกาเหนือ โดยปูเสฉวนที่ทดลองเลี้ยงที่อุณหภูมิ 33°C และความเค็ม 40 ppt จะมีความสามารถในการเลือกเปลือกหอยที่มีคุณภาพและเหมาะสมที่ปูจะเข้าไปอาศัยอยู่น้อยกว่าปูเสฉวนที่ทดลองเลี้ยงที่อุณหภูมิ 21°C และความเค็ม 30 ppt ซึ่งทำให้ปูเสฉวนมีความเสี่ยงสูงต่อการถูกผู้ล่าจับกินและการเผชิญกับสภาวะแห้งช่วงน้ำลด (Gilliand et al., 2021)

การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศที่ส่งผลให้เกิดพายุที่รุนแรง จะทำให้เกิดการสะสมของตะกอนเพิ่มขึ้น รวมทั้งการเพิ่มของตะกอนที่เกิดจากการคุกคามของมนุษย์ ซึ่งส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงแหล่งที่อยู่อาศัยของปูในทันทีทันใด แต่การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิภายใต้การเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศจะใช้เวลายาวนานกว่าที่จะส่งผลกระทบต่อปูเสฉวนในแหล่งที่อยู่อาศัยในธรรมชาติ ทั้งนี้ถ้ามีการเพิ่มของอุณหภูมิและการเพิ่มขึ้นของตะกอนพร้อม ๆ กัน จะส่งผลต่อความเป็นอยู่ของสัตว์ในแนวน้ำขึ้นน้ำลงมากขึ้น โดยมีรายงานว่าตะกอนที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากกิจกรรมของมนุษย์และการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิอันเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงสภาพภูมิอากาศในบริเวณระบบนิเวศชายฝั่งส่งผลกระทบต่อปูเสฉวน (*Pagurus samuelis*) โดยที่อุณหภูมิ 20 °C และ 5 °C ปูเสฉวนจะมีอัตรารอดสูงกว่าที่ 30 °C และที่อุณหภูมิ 30 °C และความลึกในการฝังตัวที่เพิ่มขึ้นเป็น 6 เซนติเมตรเนื่องจากตะกอน ทำให้ปูเสฉวนมีอัตราการรอดน้อยที่สุด และปูเสฉวนกว่าร้อยละ 35 หลีกเลี่ยงที่จะฝังตัวที่บริเวณที่มีตะกอน (Valere-Rivet et al., 2017)

มีการศึกษาที่ชี้ให้เห็นว่าปูเสฉวนขาเหลืองในออสเตรเลียสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้อิทธิพลของน้ำจืดที่มีต่อความหลากหลายทางชีวภาพของปูในหาดหินบริเวณชายฝั่งได้ โดยบริเวณที่มีน้ำหลาก (run-off) น้อย ไม่มีการปนเปื้อนของน้ำจืด จะพบปูเสฉวนขาเหลืองชุกชุมมาก ดังนั้นภายใต้สภาพการเปลี่ยนแปลงอากาศที่มีพายุที่รุนแรงมากขึ้นเรื่อย ๆ ส่งผลให้ปริมาณน้ำหลากเพิ่มมากขึ้น จะส่งผลให้ปูเสฉวนขาเหลืองมีปริมาณลดลงในอนาคต (Dunbar et al., 2003) ภายใต้สภาวะโลกร้อนที่ขยายตัวจากเขตร้อนไปสู่เขตอบอุ่นในประเทศญี่ปุ่น ส่งผลให้มีการพบปูเสฉวนบกชนิด *Coenobita purpureus* และ *C. rugosus* ที่อยู่ในวัยลูกปูและขนาดเล็กมากขึ้นในช่วงฤดูร้อนในเขตอบอุ่น และปูเสฉวนบกเพศเมียที่มี

ไข่พบน้อยลงมาก จึงสามารถใช้ปูเสฉวนบกเป็นตัวบ่งชี้ผลกระทบที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศอันเนื่องจากโลกร้อน โดยการใช้แบบจำลองศึกษาการปรับตัวของปูเสฉวนจากเขตร้อนไปเขตอบอุ่นตามเวลาทางนิเวศวิทยาและวิวัฒนาการ ซึ่งจะมีความสำคัญต่อการอนุรักษ์ปูเสฉวนในอนาคต (Asakura, 2021)

ปูเสฉวนขาเหลืองในหาดอ่าวโฉลกมีความชุกชุม ซึ่งน่าจะมีบทบาทสำคัญในการให้บริการสิ่งแวดล้อมในบริเวณหาดอ่าวโฉลกและเกาะเต่า ปูเสฉวนขาเหลืองส่วนใหญ่กินสาหร่ายเป็นอาหาร รวมทั้งซากสิ่งมีชีวิตด้วย จึงมีบทบาทสำคัญในการหมุนเวียนอินทรีย์สารและพลังงานเข้าสู่ระบบนิเวศหาดหิน (Jones and Morgan, 2002) นอกจากนั้นยังมีการศึกษาที่ชี้ให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศ และผลกระทบจากมนุษย์ ไม่ว่าจะเป็นมลพิษ เสียง และแสงมีผลต่อการรับรู้ การเลือกเปลือกที่อยู่อาศัย และพฤติกรรมของปูเสฉวน ซึ่งเป็นปูที่มีการแพร่กระจายทั่วโลก ปูเสฉวนจึงน่าจะพัฒนาเป็นต้นแบบในการศึกษาผลกระทบจากมนุษย์ทั้งในระดับประชากร ประชาคม และระบบนิเวศทั้งระบบ (Briffa et al., 2024)

สรุป

ปูเสฉวนขาเหลือง (*Clibanarius virescens*) ในหาดหินอ่าวโฉลกบ้านเก่า เกาะเต่า พบหลบซ่อนอยู่ใต้ก้อนหินโดยมีความหนาแน่นสูงถึง 1,464.20±92.22 ตัวต่อตารางเมตร โดยปูเสฉวนที่พบในช่วงเวลา 9.00 น. จะพบหนาแน่นน้อยกว่าเวลา 13.00 และ 16.00 น. เนื่องจากอุณหภูมิบริเวณแหล่งที่อยู่อาศัยของปูยังไม่สูงมาก ปูเสฉวนขาเหลืองจึงกระจายตัวอยู่รอบ ๆ ก้อนหิน เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นในช่วงเวลา 13.00 และ 16.00 น. ปูเสฉวนจะไม่กระจายตัว แต่จะอยู่รวมกันเป็นกลุ่มเดียวอย่างหนาแน่นใต้ก้อนหิน เพื่อหลีกเลี่ยงอุณหภูมิที่สูงและสภาวะแห้งช่วงน้ำลด และเมื่อทำการทดลองโดยการยกก้อนหินที่ปูหลบซ่อนอยู่ไปไว้ด้านข้าง พบว่าปูเสฉวนเคลื่อนที่อย่างรวดเร็วเพื่อไปหลบซ่อนใต้ก้อนหินอีกครั้ง แสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่สูงขึ้นในช่วงวันมีผลกระทบต่อความชุกชุมและการกระจายตัวของปูเสฉวนขาเหลือง ในอนาคตภายใต้การเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศที่อุณหภูมิยังคงสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง การติดตามผลกระทบที่มีต่อปูเสฉวนจะพัฒนาใช้ปูเสฉวนเป็นตัวบ่งชี้การเปลี่ยนแปลงสภาพอากาศที่มีผลต่อความหลากหลายทางชีวภาพของปูและสัตว์ต่าง ๆ ในหาดหินต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

บทความวิจัยนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการวิจัยเรื่องความหลากหลายทางชีวภาพของปูภายใต้การเปลี่ยนแปลงแหล่งที่อยู่อาศัยและสภาพภูมิอากาศบริเวณหมู่เกาะเต่า จังหวัดสุราษฎร์ธานี ซึ่งได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ปีงบประมาณ 2566

เอกสารอ้างอิง

ธรณ์ ธำรงนาวาสวัสดิ์, พันธุ์ทิพย์ วิเศษพงษ์พันธุ์. 2550. คู่มืออันดามัน: ปูทะเลไทย. สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน). กรุงเทพฯ.

พันธุ์ทิพย์ วิเศษพงษ์พันธ์, นรินรัตน์ นิ่มประเสริฐ, ธรณ์ ธำรงนาวาสวัสดิ์, อัญชลี จันทร์คง. 2556. การกระจายและชีวประวัติเบื้องต้นของปูเสฉวนหนวดแดง (*Clibanarius merguiensis* De Man, 1888) ในหาดหินบริเวณหมู่

เกาะมัน จ.ระยอง. ใน: เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 51. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ, หน้า 357–364.

พันธุ์ทิพย์ วิเศษพงษ์พันธ์, วชิระ ใจงาม, ธรณ์ ธำรงนาวาสวัสดิ์, กนกวรรณ ขาวด่อน. 2558. ประชาคมปูในหาดหินและหาดทรายบริเวณหมู่เกาะล้าน จ.ชลบุรีและหมู่เกาะมัน จ.ระยอง. ใน: เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 53. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ, หน้า 1333–1341.

Accuweather. 2566. อุณหภูมิอากาศรายเดือน เกาะเต่า. https://www.accuweather.com/th/th/ban-ko-tao/441653/weather-forecast/441653, 29 กันยายน 2566.

Asakura, A. 2021. Crustaceans in changing climate: Global warming and invasion of tropical land hermit crabs (Crustacea: Decapoda: Anomura: Coenobitidae) into temperate area in Japan. Zoology 145. doi.org/10.1016/j.zool.2021.125893.

Briffa, M., Arnott, G., Hardege, J.D. 2024. Hermit crabs as model species for investigating the behavioural responses to pollution. Science of The Total Environment 906. doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167360.

Brittng. 2017. Are hermit crabs stressed out by climate change ?. http://biol326.wordpress.com/2017/03/10/, 5 December 2023.

Debelius, H. 1999. Crustacea: Guide of the World. IKAN-Unterwasserarchiv. Frankfurt, Germany.

Dunbar, S.G., Coates, M., Kay, A. 2003. Marine hermit crabs as indicators of freshwater inundation on tropical shores. Mem. Mus. Vic. 60: 27–34.

Gilliand, S., Pechenik, J.A., Clark, D. 2021. The effects of changes in temperature and salinity on the quality of shells selected by the hermit crab *Pagurus longicarpus*. Invertebr Biol 140. doi.org/10.1111/ivb.12345.

Imazu, M., Asakura, A. 1994. Distribution, reproduction and shell utilization patterns in three species of intertidal hermit crabs on a rocky shore on the Pacific coast of Japan. J. Exp. Mar. Biol. Ecol. 184: 41–65.

Jones, D., Morgan, G.J. 2002. A Field Guide to Crustaceans of Australian Waters, 2nd ed. Reed New Holland publication, Australia.

McLaughlin, P.A. 2002. A review of the hermit-crab (decapoda: anomura: paguridea) fauna of southern Thailand, with particular emphasis on the Andaman sea, and descriptions of three new species. Spec. Publ. Phuket Mar. Biol. Cent. 23: 385–460.

Wait, M., Schoeman, D.S. 2012. Shell Use, Population Structure, and Reproduction of the Hermit Crab, *Clibanarius virescens* (Kraus, 1843) at Cape Recife, South Africa. J. Crust. Biol. 32: 203–214.

Valere-Rivet, M.G., Juma, D., Dunbar, S.G. 2017. Thermal tolerance of the hermit crab *Pagurus samuelis* subjected to shallow burial events. Crustac. res. 46: 65–82.

การศึกษาโรคกุ้งขาวแวนนาไมในพื้นที่ตำบลลีเล็ต อำเภอพุนพิน จังหวัดสุราษฎร์ธานี

Study on the occurrence of disease in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei)* in the Lelet Sub-district, Punpin District, Surat Thani Province

วิรัญญา สวนพลอย*, ถิรวัฒน์ รายรัตน์, อรุโณทัย คีตะนนท์, พุธสุชา พันธ์สวัสดิ์, นิติ ชูเชิด

Wiranya Suanploy*, Tirawat Rairat, Arunothai Keetanon, Putsucha Phansawat, Niti Chuchird

ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

Department of Fishery Biology, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Bangkok 10900, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: wiranya.suan@ku.th

บทคัดย่อ

การศึกษาโรคสำคัญในการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในจังหวัดสุราษฎร์ธานี โดยมีการเก็บตัวอย่างและติดตามข้อมูลตลอดปีที่มีการเลี้ยง 2 รอบ พบว่ารอบการเลี้ยงที่ 1 ช่วงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2565 – พฤษภาคม พ.ศ. 2566 พบกุ้งป่วย 7 บ่อจาก 9 บ่อ และการศึกษาสาเหตุการตายของกุ้งพบกุ้งติดเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* จำนวนมากได้แก่ *Vibrio vulnificus, V. mimicus* และ *V. parahaemolyticus* ในรอบการเลี้ยงนี้ไม่พบกุ้งป่วยที่มีสาเหตุมาจากเชื้อไวรัส สำหรับรอบการเลี้ยงที่ 2 ช่วงเดือนมิถุนายนถึงพฤศจิกายน พ.ศ. 2566 จำนวน 7 บ่อ พบกุ้งป่วยจำนวน 6 บ่อ โดยพบกุ้งส่วนใหญ่ป่วยจากการติดเชื้อแบคทีเรียกลุ่มได้แก่ *V. vulnificus, V. mimicus* และในรอบการเลี้ยงนี้พบกุ้งป่วยตายจากเชื้อไวรัสดวงขาวจำนวน 1 บ่อและการศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อกุ้งป่วยจากเชื้อแบคทีเรียพบลักษณะ Spheroid ที่ต่อมน้ำเหลือง ตับและตับอ่อน (HP) พบการเกิดเซลล์หดตัว (Atrophy cell), Encapsulation และ Nodule formation ต่างจากกุ้งที่ติดเชื้อไวรัสดวงขาวพยาธิสภาพพบ Nucleus hypertrophy

คำสำคัญ: กุ้งขาวแวนนาไม, แบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ, ไวรัสดวงขาว

Abstract

A study of an important diseases of Pacific white shrimp farming in Surat Thani province was conducted by monitoring disease outbreaks and collecting samples. Throughout a year, there were two crops of cultivation. In the first crop (November 2022 to May 2023, total of 9 ponds) disease outbreaks were found in 7 ponds. As the study of the causes of shrimp death, it was found that many shrimp were infected with *Vibrio* bacteria, including *V. vulnificus*, *V. mimicus*, and *V. parahaemolyticus*. and no viral disease was found. For the second crop of cultivation (June 2023 to November 2023, total of 7 ponds) 6 ponds were found to have diseased shrimp. Most of the shrimp were infected with *Vibrio* bacteria, including *V. vulnificus* and *V. mimicus,* and white spot syndrome virus was also detected in one pond. The histopathological signs of all *Vibrio* infected shrimp indicates the presence of Spheroid in lymphocyte and hepatopancreas (HP), Atrophy cell, Encapsulation and Nodule formation, whilst the white spot syndrome virus infected shrimp indicates the presence of Nucleus hypertrophy.

Keywords: Pacific white shrimp, Vibrio bacteria, White spot syndrome virus

คำนำ

การเลี้ยงกุ้งทะเลเป็นอุตสาหกรรมที่สร้างรายได้ให้กับประเทศไทยมาตลอดกว่า 30 ปี นำมาซึ่งการเจริญเติบโตของอุตสาหกรรมอย่างอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการเลี้ยงกุ้งทะเลเช่น อุตสาหกรรมห้องเย็น อุตสาหกรรมแปรรูป อุตสาหกรรมเวชภัณฑ์และสารเคมี ฯลฯ โดยในอดีตช่วงปี พ.ศ.2554-2555 ประเทศไทยผลิตกุ้งได้ปริมาณ 593,000 ตัน/ปี นับได้ว่าประเทศไทยเคยเป็นประเทศผู้ส่งออกกุ้งเป็นอันดับหนึ่งของโลก แต่ในช่วงปี พ.ศ.2555 เกิดการระบาดของโรคตายด่วน (Acute hepatopancreatic necrosis disease; AHPND) จากเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio parahaemolyticus* ที่สามารถสร้างสารพิษชนิดรุนแรง Vp_{AHPND} (Tran et al., 2013) และสร้างความสูญเสียต่ออุตสาหกรรมกุ้งของไทยอย่างมาก ทำให้ผลผลิตกุ้งของประเทศไทยลดลงกว่าร้อยละ 50 ในปี พ.ศ. 2566 และผลของการเกิดโรคระบาดต่อเนื่องทำให้ผลผลิตกุ้งของไทยตลอดระยะเวลาเกือบ 10 ปีที่ผ่านมามีไม่ถึง 300,000 ตัน โดยโรคระบาดที่สำคัญที่สร้างความเสียหายอย่างต่อเนื่องในพื้นที่การเลี้ยงกุ้งของไทยในแต่ละปีนอกจากโรคตายด่วนแล้วยังพบการระบาดของโรคขี้ขาวซึ่งมีสาเหตุมาจากเชื้อแบคทีเรียกลุ่มวิบริโอ (*Vibrio* spp.) (Wang *et al*., 2020) และโรคไวรัสดวงขาว (White spot disease; WSD) เป็นประจำทุกปีทั่วประเทศในช่วงระหว่างเดือนพฤศจิกายน ถึง เดือนกุมพันธ์ ในปี พ.ศ. 2565 ที่ผ่านมาประเทศไทยมีปริมาณผลผลิตกุ้งรวมทั้งสิ้น 389,609 ตัน มูลค่ารวม 63,331 ล้านบาท โดยจังหวัดที่มีปริมาณผลผลิตกุ้งมากที่สุดจากการเพาะเลี้ยงในรูปแบบพัฒนาคือจังหวัดสุราษฎร์ธานี มีปริมาณผลผลิตที่ 44,639 ตัน และมีมูลค่าสูงถึง 7,892 ล้านบาท (กรมประมง, 2565)

ตั้งแต่เดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2565 เป็นต้นมา ศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ได้รับรายงานการตายอย่างต่อเนื่องของกุ้งขาวแวนนาไมเป็นจำนวนมากในเขตพื้นที่ตำบลลีเล็ต อำเภอพุนพิน จังหวัดสุราษฎร์ธานี จากการสังเกตุลักษณะภายนอกของกุ้งที่ป่วยพบว่ากุ้งในบ่อของเกษตรกรจะเริ่มทยอยเกิดอาการส่วนหัวมีสีซีดขาว หลังจากนั้นไม่นานกุ้งทั้งบ่อจะตายพร้อมกันจนหมดบ่อ ส่งผลทำให้ผลผลิตกุ้งขาวแวนนาไมในพื้นที่ดังกล่าวลดลงถึงประมาณ 2,000 ตัน คิดเป็นมูลค่ากว่า 350 ล้านบาท สำหรับการศึกษาครั้งนี้คณะผู้วิจัยได้ดำเนินการเก็บตัวอย่างกุ้งในฟาร์มที่พบกุ้งป่วยดังกล่าวอย่างต่อเนื่องจำนวน 3 ครั้ง ตั้งแต่เดือนมกราคมปี พ.ศ.2566 จนถึงเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2566 เพื่อศึกษาหาสาเหตุการตายของกุ้งขาวแวนนาไมในพื้นที่โดยผลการศึกษาที่ได้สามารถนำไปใช้เป็นแนวทางแก้ปัญหาการตายของกุ้งให้แก่เกษตรกรต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การวางแผนการทดลองและสัตว์ทดลอง

ในการศึกษาครั้งนี้คณะผู้วิจัยได้เก็บข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับปริมาณผลผลิตรวมถึงความเสียหายระหว่างการเลี้ยงและเก็บตัวอย่างกุ้งขาวแวนนาไมจากฟาร์มของเกษตรกรในพื้นที่ตำบลลีเล็ต อำเภอพุนพิน จังหวัดสุราษฎร์ธานี จำนวน 1 ฟาร์ม ประกอบด้วยบ่อเลี้ยงทั้งสิ้น 9 บ่อ โดยตลอดปีที่ผ่านมามีการเลี้ยง 2 รอบการเลี้ยง บ่อเลี้ยงในฟาร์มเป็นรูปแบบบ่อดินและมีการเลี้ยงกุ้งในระบบพัฒนา (intensive aquaculture system) บ่อเลี้ยงสัตว์น้ำมีขนาดบ่อ 5–10 ไร่ และมีคุณภาพน้ำระหว่างการเลี้ยงความเป็นกรดด่าง 7.3–8.0 ความเป็นด่าง 80–120 mg/L ตลอดการเลี้ยง โดยคณะผู้วิจัยจะเดินทางไปเก็บตัวอย่างในฟาร์มเมื่อได้รับรายงานกุ้งป่วยและทยอยตาย โดยการศึกษาสาเหตุการเกิดโรคในกุ้งขาวแวนนาไมครั้งนี้ คณะผู้วิจัยได้เก็บตัวอย่างกุ้งที่แสดงอาการป่วยในแต่ละครั้ง จำนวน 60 ตัว/บ่อ

การศึกษาปริมาณผลผลิตและความเสียหายระหว่างการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในรอบปีของพื้นที่ตำบลลีเล็ต อำเภอพุนพิน จังหวัดสุราษฎร์ธานี

การศึกษาปริมาณผลผลิตและความเสียหายระหว่างการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมในรอบปี โดยการติดตามข้อมูลปริมาณผลผลิตและอัตรารอดระหว่างการเลี้ยงในรอบปีจากการรายงานผลการเลี้ยงกุ้งของเกษตรกรในเดือนมกราคมถึงเดือนธันวาคม พ.ศ. 2566

การศึกษาสาเหตุการเกิดโรคในกุ้งขาวแวนนาไมในฟาร์มพื้นที่ ตำบลลีเล็ต อำเภอพุนพิน จังหวัด สุราษฎร์ธานี คณะผู้วิจัยนำตัวอย่างกุ้งที่ป่วยจากฟาร์มมาศึกษาเพื่อหาสาเหตุของโรคดังนี้

การศึกษาโรคไวรัสของกุ้งขาวแวนนาไม

ตัดเนื้อเยื่อบริเวณขาว่ายน้ำของกุ้งที่แสดงลักษณะอาการผิดปกติจำนวน 5 ตัวใส่ลงในแอลกอฮอล์ที่ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์แล้วนำมาวิเคราะห์ไวรัสดวงขาว (WSSV) โดยใช้เนื้อเยื่อปริมาณ 10 mg ต่อน้ำยาสกัดสารพันธุกรรม 1 mL สกัดโดยใช้ชุดสกัด IQ2000^{TM} detection kit และทำการเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยเทคนิค nested PCR (Lo et al., 1996) ไวรัสหัวเหลือง (YHV) และไวรัสกล้ามเนื้อตาย (IMNV) ใช้เนื้อเยื่อ 10 mg ต่อน้ำยาสกัดสารพันธุกรรม Trizol reagent ปริมาตร 1 mL และทำการตรวจหาเชื้อ YHV type 1-8 ด้วยเทคนิค nested RT-PCR (Wijegoonawardane et al., 2008a; 2008b) และตรวจหาเชื้อ IMNV ด้วยเทคนิค nested RT-PCR (Poulos and Lightner, 2006) จากนั้นทำการวิเคราะห์ผลด้วยเทคนิค agarose gel electrophoresis เพื่อตรวจสารพันธุกรรมของเชื้อไวรัสในกุ้งตัวอย่างที่แสดงลักษณะผิดปกติ (Kirkpatrick et al., 1991)

การตรวจโรคตายด่วน (EMS)

โรคตายด่วนสามารถวินิจฉัยได้ด้วยเทคนิค PCR ด้วยการนำเนื้อเยื่อตับและตับอ่อนของกุ้งมาใส่ลงในน้ำยาสกัดสารพันธุกรรม 500 µL lysis buffer+100 µg/mL Proteinase K และทำการตรวจเชื้อด้วยเทคนิค nested PCR (Dangtip et al., 2015) จากนั้นทำการวิเคราะห์ผลผลิต DNA ด้วยเทคนิค agarose gel electrophoresis (Kirkpatrick et al., 1991)

การศึกษาชนิดแบคทีเรียอื่นๆในกุ้งป่วย

การแยกแบคทีเรียจากน้ำเลือดของกุ้ง เริ่มจากนำเข็มขนาด 2 G × ½ นิ้วและกระบอกเข็มฉีดยา (syring) ขนาด 1 มิลลิลิตรดูดน้ำเลือดบริเวณแอ่งเลือดและใช้วิธีการกระจายเชื้อ (Spread plate) ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยวิธีการกระจายเชื้อ (spread plate) บนอาหาร thiosulfate citrate bile salt sucrose (TCBS) agar และ trypticase soy agar (TSA) + 1.5% NaCl และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

นำโคโลนีของแบคทีเรียที่พบเป็นจำนวนมากไปสกัด DNA แบคทีเรียด้วยน้ำยา DNA zol ปริมาตร 600 µL และดูดแบคทีเรียผ่านเข็มขนาด 30 G × ½ นิ้ว ขึ้นลงหลายครั้งเพื่อทำให้เซลล์แบคทีเรียแตกและนำไปเพิ่มปริมาณ DNA ด้วยเครื่อง PCR โดยใช้ไพร์เมอร์ที่เป็น universal primer คือ F27'AGAGTTTGATCMTGGCTCAG และ GGTTACCTTGTTACGACTT' R1492 (Heuer et al., 1997) และส่ง PCR product ไปยังบริษัท ยูทูไบโอ ประเทศไทยเพื่อทำการตรวจสอบลำดับนิวคลีโอไทด์หรือยีนของแบคทีเรีย (sequence) และนำลำดับยีนดังกล่าวมาทำการตรวจสอบชนิดแบคทีเรียด้วยการเทียบกับฐานข้อมูล NCBI

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพของกุ้งขาวแวนนาไม

เก็บตัวอย่างกุ้งที่แสดงอาการป่วยที่มีชีวิตจำนวนบ่อละ 20 ตัวแล้วทำการดองในน้ำยา Davidson's fixative โดยทำการฉีดน้ำยาเข้าไปยังกุ้งทั้งตัวด้วยเข็มฉีดยาจนกระทั่งเนื้อเยื่อของกุ้งมีลักษณะแข็งขึ้นและลำตัวเปลี่ยนเป็นสีส้มทั้งตัว และใช้ใบมีดตัดเนื้อเยื่อส่วนหัวออกจากตัวจากนั้นทำการผ่าตามแนวยาวของเนื้อเยื่อเพื่อให้น้ำยาสามารถแทรกซึมเข้าเนื้อเยื่อกุ้งได้อย่างมีประสิทธิภาพ แช่เนื้อเยื่อเป็นระยะเวลา 24–48 ชั่วโมงและย้ายเนื้อเยื่อไปแช่ในเอทิลแอลกอฮอล์ (ethyl alcohol) ที่ความเข้มข้น 70% จากนั้นนำตัวอย่างไปศึกษาลักษณะทางพยาธิสภาพด้วยวิธีของ (Bell and Lightner,1988)

ผลและการวิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาความเสียหายของโรคในระหว่างการเลี้ยงในช่วง 2 รอบการเลี้ยงได้ผลตาม Table 1 โดยในรอบการเลี้ยงแรก ช่วงเดือนพฤศจิกายน พ.ศ. 2565 ถึง พฤษภาคม พ.ศ. 2566 พบกุ้งป่วยจำนวน 7 บ่อ (P1-P5 และ P8-P9) ในขณะที่รอบการเลี้ยงที่สองเดือนมิถุนายน ถึง พฤศจิกายน พ.ศ. 2566 พบกุ้งป่วยจำนวน 6 บ่อ (P2-P7)

ผลการศึกษาลักษณะภายนอกของกุ้งขาวแวนนาไมที่ป่วยส่วนใหญ่แสดงอาการตับและตับอ่อนมีสีซีดขาว ซึ่งมีลักษณะใกล้เคียงกับกุ้งติดเชื้อ *V. parahaemolyticus* ที่ก่อโรคตายด่วน (Fig.1A,1B) แต่ในการศึกษาครั้งนี้พบกุ้งป่วยติดเชื้อ Vp_{AHPND} เพียง 1 บ่อ (crop 1, P4) ซึ่งเป็นกุ้งที่ปล่อยเลี้ยงในช่วงฤดูร้อน ซึ่งน้ำมีความเค็มสูงที่ 15 ppt ในขณะที่กุ้งป่วยในบ่ออื่นๆไม่พบการติดเชื้อนี้ โดยมีช่วงความเค็มของน้ำระหว่างการเลี้ยงอยู่ในช่วง 5-7 ppt ของฤดูมรสุมหรือฤดูฝนส่วนผลการศึกษาการติดเชื้อไวรัสสำคัญในกุ้งป่วย (crop1, P1-5, P8-P9 และ crop 2, P1-P6) ไม่พบการติดเชื้อไวรัสหัวเหลือง (YHV) และไวรัสกล้ามเนื้อขาวขุ่น (IMNV) แต่พบการติดเชื้อไวรัสดวงขาว (WSSV) 1 บ่อ (crop 2, P7) และแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* spp. ในเลือดกุ้งจำนวนมาก (Table 2) จากบ่อเลี้ยงที่ไม่ประสบความสำเร็จ บ่อที่มีอัตรารอดน้อยกว่า 70%, (Table 1)

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อกุ้งขาวแวนนาไมที่ป่วยในบ่อที่ P1-P4 และ P2 ของรอบการเลี้ยงที่ 1 และ 2 ตามลำดับ พบความผิดปกติในต่อมน้ำเหลือง (lymphoid organ) และตับและตับอ่อน โดยต่อมน้ำเหลืองแสดงลักษณะ spheroid คือการเรียงตัวของเซลล์ต่อมน้ำเหลืองโดยรอบท่อ (lumen) ไม่เป็นระเบียบและเซลล์มีขนาดนิวเคลียสใหญ่ขึ้นและมีการสร้าง vacuole ภายในไซโตพลาสซึมบดบังช่องว่างบริเวณท่อตรงกลาง (Fig. 2A) ในขณะที่ตับและตับอ่อนพบการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่ออย่างรุนแรงหลายลักษณะ ที่สำคัญคือพบเซลล์จำนวนมากเกิดการหดตัวหรือฝ่อ (atrophy) ทำให้การจัดเรียงเซลล์ไม่เป็นระเบียบเกิดช่องว่างระหว่างเซลล์และมีการรวมกลุ่มของเม็ดเลือดจำนวนมากบริเวณช่องว่างเซลล์ท่อตับ (Fig. 2B) เยื่อบุท่อตับไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่าง B, F, R และ E cell ได้ (Fig. 2C) นอกจากนั้นยังพบร่องรอยของการติดเชื้อแบคทีเรียเป็นบริเวณกว้างคือการเกิด encapsulation และ nodule formation ทั้งในท่อตับและตับอ่อนและช่องว่างระหว่างท่อตับ (Fig. 2D) ทำให้ท่อตับและตับอ่อนไม่สามารถทำหน้าที่ได้อย่างเต็มที่เนื่องจากเนื้อเยื่อถูกทำลาย บ่งชี้ว่าเชื้อแบคทีเรียน่าจะเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้กุ้งเหล่านี้ป่วยและทยอยตาย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของณัฏฐิณี และคณะ (2556) ที่รายงานว่าลูกกุ้งที่มีการติดเชื้อ EMS จะมีการแสดงลักษณะทางพยาธิสภาพเช่นเดียวกันนี้ อีกทั้งตัวอย่างพยาธิสภาพของกุ้ง-ขาวแวนนาไมส่วนใหญ่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพที่แสดงลักษณะของการติดเชื้อไวรัสอื่น ยกเว้นตัวอย่างกุ้งป่วยจากบ่อที่ P7 ของรอบการเลี้ยงที่สองซึ่งตรวจพบการติดเชื้อไวรัสดวงขาวซึ่งพบ inclusion ของเชื้อไวรัสในเนื้อเยื่อใต้เปลือก (Fig. 3A) และกระเพาะอาหาร (Fig. 3B) ของกุ้งกลุ่มดังกล่าว



Fig.1 Shrimp sample exhibiting characteristics of a pale hepatopancreas (A) and shrimp showing melanization on their cuticle (B)

Table 1 Yield, body weight, and survival rate of the Pacific white shrimp (The success survival rate of pond production should be above 70 percent)

Crop	Pond No.	Month	Rai	Stocking density (pcs. /rai)	Culture period (days)	Average rainfall[A] (mm)	Yield (kg/rai)	Body weigh (pcs. /kg)	Survival rate (%)
1	P1	NOV/22 - JAN/23	6	167,000	92	227.8	1,083	65	42
	P2	NOV/22 - JAN/23	6	167,000	90	227.8	1,167	60	42
	P3	DEC/22 - JAN/23	5	120,000	62	182.2	700	70	41
	P4	JAN/23 - MAR/23	5	140,000	91	53.2	600	70	30
	P5	JAN/23 - MAR/23	5	230,000	72	53.2	1,900	70	58
	P6	JAN/23 - APR/23	10	100,000	92	40.7	1,650	60	99
	P7	JAN/23 - APR/23	5	120,000	88	40.7	1,800	60	90
	P8	FEB/22 - MAY/23	10	100,000	92	46.2	980	60	59
	P9	FEB/22 - MAY/23	6	167,000	71	46.2	1,000	90	54
2	P1	JUN/23 - SEP/23	6	83,000	94	168.2	2,000	41	98
	P2	JUL/23 - AUG/23	5	100,000	68	130.8	600	75	40
	P3	JUN/23 - SEP/23	6	116,000	57	168.2	833	80	57
	P4	JUN/23 - SEP/23	10	120,000	75	168.2	1,140	63	60
	P5	AUG/23 - NOV/23	6	116,000	73	201.5	1,650	45	64
	P6	SEP/23 - NOV/23	5	120,000	80	242.6	1,560	43	56
	P7	OTC/23	6	131,000	20	173.6	0	0	0

Average rainfall [A] reference information from Hydro Informatics Institute ค.ศ. 2022-2023 (สถาบันสารสนเทศทรัพยากรน้ำและการเกษตร, 2566)

Table 2 Identities of bacteria isolated from the hemolymph of the diseased Pacific white shrimp

Crop	Pond No.	Name	Bacterial identification
1	P1	SRT.B1	*V. vulnificus*
	P2	SRT.B2	*V. mimicus*
		SRT.B3	*V. vulnificus*
	P3	SRT.B4	*V. mimicus*
		SRT.B5	*V. vulnificus*
	P4	SRT.B6	*V. parahaemolyticus*
		SRT.B7	*V. mimicus*
		SRT.B8	*V. vulnificus*
	P5	SRT.B9	*V. mimicus*
		SRT.B10	*V. vulnificus*
	P8	SRT.B11	*V. mimicus*
	P9	SRT.B12	*V. mimicus*
		SRT.B13	*V. vulnificus*
2	P2	SRT.B14	*V. mimicus*
		SRT.B15	*V. vulnificus*
	P3	SRT.B16	*V. vulnificus*
		SRT.B17	*V. mimicus*
	P4	SRT.B18	*V. vulnificus*
		SRT.B19	*V. mimicus*
	P5	SRT.B20	*V. vulnificus*
		SRT.B21	*V. mimicus*
	P6	SRT.B22	*V. mimicus*
		SRT.B23	*V. vulnificus*

จากผลการศึกษาปริมาณผลผลิตและความเสียหายระหว่างการเลี้ยง พบว่าในรอบการเลี้ยงที่ 1 มีจำนวน 2 บ่อที่มีอัตรารอดสูงถึงร้อยละ 99 และ 90 คือบ่อ P6 และ P7 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับบ่ออื่นๆ ในรอบการเลี้ยงเดียวกันที่มีปริมาณผลผลิตและอัตรารอดต่ำพบว่าสิ่งที่แตกต่างกันคือปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยของบ่อ P6-P7 เท่ากับ 40.7 mm ซึ่งน้อยกว่าบ่ออื่นที่มีช่วงของปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยที่ 46.2–227.8 mm และสำหรับรอบการเลี้ยงที่ 2 มีเพียงบ่อ P1 เท่านั้นที่ประสบความสำเร็จโดยมีอัตรารอดร้อยละ 98 ในขณะที่บ่ออื่นๆ มีอัตรารอดเพียงร้อยละ 30–59 ซึ่งปริมาณน้ำฝนเฉลี่ยอยู่ในช่วง 130.3-242.6 mm บ่งชี้ว่าปริมาณน้ำฝนที่มากขึ้นเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ทำให้ปริมาณผลผลิตและอัตราการรอดของกุ้งลดลง ซึ่งสามารถบอกได้ว่าปริมาณน้ำฝนที่มากขึ้นเป็นปัจจัยที่สำคัญที่บ่งชี้ให้ปริมาณผลผลิตและอัตราการรอดของกุ้งลดลง เนื่องจากปริมาณฝนที่มากขึ้นจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและสิ่งแวดล้อมในบ่อเลี้ยงหลายปัจจัย เช่น ปัจจัยสิ่งแวดล้อมอย่างปริมาณออกซิเจนที่ลดลง ส่งผลให้กุ้งเกิดความเครียด (Boyd et al., 2003) ความเค็มของน้ำในการเลี้ยงลดลงจะรบกวนระบบปรับสมดุลในร่างกาย (Naylor et al., 2000) และซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของธิดาพร (2562) ที่รายงานว่าลำดับของการเกิดโรคในกุ้งขาวแวนนาไมมีปัจจัยหลักๆจากสิ่งแวดล้อมเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วรวมถึงการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่สูงและต่ำกว่าระดับที่เหมาะสมจะส่งผลให้กุ้งเกิดภาวะเครียดทำให้กุ้งอ่อนแอระบบภูมิคุ้มกันลดลงและนำไปสู่การยอมรับเชื้อโรคดังกล่าว นอกจากนั้นการเลี้ยงรอบที่ 2 พบบ่อที่ติดเชื้อไวรัสดวงขาวจำนวน 1 บ่อ (P7)

ซึ่งมีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 173.6 mm นั้นอาจเป็นสาเหตุเหนี่ยวนำให้เกิดการติดเชื้อไวรัส เนื่องจากเชื้อไวรัสดวงขาวมีการเพิ่มจำนวนและสร้างความเสียหายได้ที่อุณหภูมิต่ำสอดคล้องกับรายงานที่ว่าโรคไวรัสดวงขาวจะระบาดมากในช่วงฤดูมรสุมตั้งแต่เดือนพฤศจิกายนจนถึงเดือนกุมภาพันธ์ปีถัดไป (Granja et al., 2006)

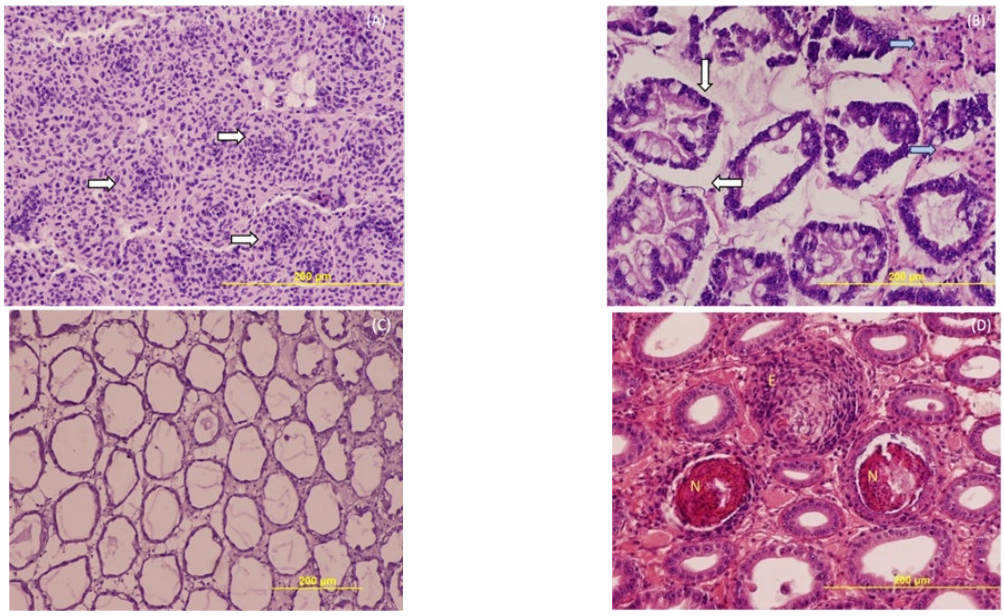


Fig. 2 Lymphoid organ of injected shrimp showing the areas of spheroid (white arrow) (A); Atrophic cells (white arrow) and hemocyte infiltration in the hepatopancreas (blue arrow) (B); Hepatopancreas showing atrophic cells and degeneration of B, F, R, and E cells (C); Encapsulation (E) and nodule formation (N) in the hepatopancreas (D)

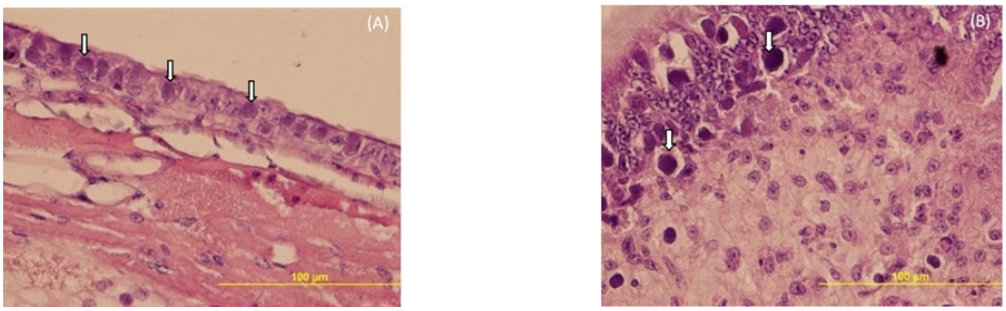


Fig. 3 A Histological section of cuticular epithelium showing nucleus hypertrophy (white arrow) (A) and stomach of WSSV-Inject shrimp (B)

สรุป

ผลการศึกษาฟาร์มเลี้ยงกุ้งขาวในพื้นที่ตำบลลีเล็ต อำเภอพุนพิน จังหวัดสุราษฎร์ธานีจำนวน 1 ฟาร์ม ประกอบด้วยบ่อเลี้ยงทั้งสิ้น 9 บ่อ โดยตลอดปีที่ผ่านมามีการเลี้ยง 2 รอบการเลี้ยง โดยมีการเลี้ยงกุ้งในรอบการเลี้ยงที่1 ในช่วงเดือนพฤศจิกายน 2022 ถึง พฤษภาคม 2023 มีปริมาณน้ำฝนเฉลี่ย 40.7-227.8 mm พบกุ้งป่วยจำนวน 7 บ่อ โดยสาเหตุของกุ้งป่วยมาจากแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* จำนวนมากได้แก่ *V. vulnificus, V. mimicus* และ *V. parahaemolyticus*

และในรอบการเลี้ยงที่ 2 ช่วงเดือนมิถุนายนถึงพฤศจิกายน มีปริมาณน้ำฝน 130.8–242.6 mm ซึ่งปัญหาที่พบมีสาเหตุมาจากแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrio* ได้แก่ *Vibrio vulnificus, Vibrio mimicus* และพบเชื้อไวรัสดวงขาว ในเดือนตุลาคมซึ่งเป็นช่วงมรสุมของภาคใต้พบเชื้อไวรัสดวงขาวจำนวน 1 บ่อ

ข้อเสนอแนะ

ปัญหาระหว่างการเลี้ยงในรอบปีสาเหตุหลักมาจากการติดเชื้อแบคทีเรียซึ่งสามารถสร้างปัญหาได้ตลอดทั้งปีโดยแนะนำให้เกษตรกรลดสารอินทรีย์ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ โดยการควบคุมปริมาณอาหารให้เหมาะสมตลอดการเลี้ยงร่วมกับติดตั้งเครื่องให้อากาศเพื่อเพิ่มปริมาณออกซิเจนให้เพียงพอร่วมกับการใช้โพรไบโอติกหรือกรดอินทรีย์อย่างสม่ำเสมอตลอดระยะเวลาการเลี้ยงและสุดท้ายเลือกใช้กุ้งสายพันธุ์ทนโรคเพื่อลดปัจจัยเสี่ยงต่อการเกิดโรค สำหรับการป้องโรคไวรัสดวงขาวนั้นอาจต้องชะลอการเลี้ยงในช่วงฤดูมรสุมหรือเลี้ยงในอัตราความหนาแน่นที่ต่ำลงกว่าช่วงฤดูร้อน พร้อมทั้งมีการตรวจสอบความปลอดเชื้อในลูกกุ้งก่อนลงบ่อเลี้ยงและทำการใช้สารเคมีเช่น คลอรีนที่ความเข้มข้น 20-30 ppm ในการฆ่าเชื้อและสัตว์พาหะและใช้ระบบป้องกันชีวภาพ (biosecurity system) ในฟาร์มเลี้ยงกุ้ง

กิตติกรรมประกาศ

การศึกษาครั้งนี้ได้รับสนับสนุนจากศูนย์วิจัยธุรกิจเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Aquaculture Business Research Center) และขอบพระคุณฟาร์มเกษตรกรในพื้นที่ตำบลลีเล็ต อำเภอพุนพิน จังหวัดสุราษฎร์ธานีที่อำนวยความสะดวกในการเก็บตัวอย่างกุ้งป่วยในฟาร์มเลี้ยง

เอกสารอ้างอิง

กรมประมง.สถิติผลผลิตการเลี้ยงกุ้งทะเลประจำปี.2565. https://www4.fisheries.go.th/local/file_document/20231103091333_new.pdf, 10 ธันวาคม 2566

ณัฏฐินี มั่นคงวงศ์ศิริ, ชะลอ ลิ้มสุวรรณ, นิติ ชูเชิด. 2556. ผลของคุณภาพลูกกุ้งต่อการเกิดโรค Ealy Mortality Syndrome in Litopenaeus vannamei culture ponds. ใน: รายงานการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 51. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ, หน้า 174–181.

ธิดาพร ฉวีภักดิ์. โรคกุ้งทะเล. 2562. https://www4.fisheries.go.th/local/file_document/20191225142503_1_file.pdf, 20 ธันวาคม 2566

สถาบันสารสนเทศทรัพยากรน้ำและการเกษตร (องค์การมหาชน).รายงานปริมาณน้ำฝนสะสมรายเดือน.2566. https://wea.hii.or.th/telemetering/agrovillage/summary_report.php, 10 ธันวาคม 2566

Bell, T.A., Lightner, D.V. 1988. A Handbook of Normal Penaeid Shrimp Histology. World Aquaculture Society, Baton Rouge. LA, USA.

Boyd, C.E. 2003. Shrimp pond aquaculture. Blackwell Publishing.

Dangtip S., Sirikharin R., Sanguanrut P., Thitamadee S., Sritunyalucksana K., Taengchaiyaphum S., Mavichak R., Proespraiwong P., Flegel T.W. 2015. AP4 method for two-tube nested PCR detection of AHPND isolates of Vibrio parahaemolyticus. Aquac. Rep. 2: 158–162. doi:10.1016/j.aqrep.2015.10.002.

Granja, C.B., Vidal, O.M., Parra, G., Salazar, M. 2006. Hyperthermia reduces viral load of white spot syndrome virus in *Penaeus vannamei*. Dis. Aquat. Org. 68: 175–180.

Heuer, H., Krsek, M., Baker, P., Smalla, K., Wellington, E.M. 1997. Analysis of actinomycete communities by specific amplification of genes encoding 16S rRNA and gel-electrophoretic separation in denaturing gradients. Appl. Environ. Microbiol. 63: 3233–3241.

Kirkpatrick, F.H. 1991. Overview of agarose gel properties. Electrophoresis of large DNA molecules: Theory and applications. pp. 9–22.

Lightner, D.V. 1996. A handbook of pathology and diagnostic Produres for diseases of Penaeid shrimp. World Aquaculture Society, Baton Rouge. Louisiana, LA, USA.

Lo, C.F., Leu., J.H., Ho., C.H., Chen., C.H., Peng, S.E., Chen, Y.T., Chou, C.M., Yeh, P.Y., Huang, C.J., Chou, H.Y., Wang, C.H., Kou, G.H. 1996. Detection of baculovirus associated with white spot syndrome (WSSV) in penaeid shrimps using polymerase chain reaction. Dis. Aquat. Org. 25: 133–141.

Naylor, R.L., Goldburg, R.J., Primavera, J.H., Kautsky, N., Beveridge, M.C., Clay, J., Mooney, M. 2000. Effect of aquaculture on world fish supplies. Nature 405: 1017–1024.

Poulos B. T., Lightner D.V. 2006. Detection of infectious myonecrosis virus (IMNV) of penaeid shrimp by reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RT-PCR). Dis. Aqua. Org. 73: 69–72.

Tran, L., Nunan, L., Redman, R.M., Mohney, L.L., Pantoja, C.R., Fitzsimmons, K., Lightner. D.V. 2013. Determination of the infectious nature of the agent of acute Hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. Dis. Aquat. Organ. 105: 45–55.

Wang, H., Wan, X., Xie, G., Dong, X., Wang, X., Huang, J. 2020. Insights into the histopathology and microbiome of Pacific white shrimp, Penaeus vannamei, suffering from white feces syndrome. Aquac. 527: 735447.

Wijegoonawardane, P.K.M., Cowley, J.A., Phan, T., Hodgson, R.A.J, Nielsen, L., Kiatpathomchai, W., Walker, P.J. 2008. Genetic diversity in the yellow head nidovirus complex. Virol. 380: 213–225.

Wijegoonawardane, P.K.M., Cowley, J.A., Walker, P.J. 2008. Consensus RT-nested PCR detection of yellow head complex genotypes in penaeid shrimp. J. Virol. Meth.153: 168–175.

สมบัติบางประการของดินตะกอนและการแพร่กระจายปูแสมในป่าชายเลนบ้านบางบ่อ จังหวัดสมุทรสงคราม

Some Characteristics of Sediments and Distribution of Mangrove Crabs at the Ban Bang Boo Mangrove Forest, Samut Songkhram Province

นฤชล ภัทราปัญญาวงศ์[a,*], **กรณ์รวี เอี่ยมสมบูรณ์**[b], **วิสัย คงแก้ว**[a]

Naruechon Pattarapanyawong[a,*], Kornrawee Aiemsomboon[b], Wisai Kongkaew[a]

[a]สถานีวิจัยเพื่อการพัฒนาชายฝั่งอันดามัน คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ระนอง 85120

[b]ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

[a]Andaman Coastal Research Station for Development, Faculty of Fisheries, Kasetsart University, Ranong 85120, Thailand

[b]Department of Marine Science, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

*Corresponding author. E-mail address: ffisncp@ku.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาสมบัติบางประการของดินตะกอนและการแพร่กระจายปูแสมในป่าชายเลนบ้านบางบ่อ จังหวัดสมุทรสงคราม ดำเนินการเก็บข้อมูลตั้งแต่มีนาคม 2559 ถึงเมษายน 2561 โดยกำหนดจุดเก็บตัวอย่างจากชายฝั่งทะเลเข้าไปในแผ่นดินจำนวน 3 สถานี ผลการศึกษาพบว่า ปริมาณอินทรีย์สารและปริมาณไนโตรเจนรวมในดิน มีค่าร้อยละ 2.42–9.79 และ 0.00–0.72 ตามลำดับ โดยมีความสัมพันธ์ในลักษณะแปรผันตามกัน ($p < 0.05$) ลักษณะเนื้อดินเป็นดินร่วนเหนียวปนทราย (sandy clay loam) และดินร่วนปนทราย (sandy loam) พบปูแสม 7 ชนิด ในวงศ์ Sesarmidae 5 ชนิด ได้แก่ *Parasesarma eumolpe, Episesarma mederi*, *E. versicolor*, *Metopograpsus latifrons, Neosarmatium smithi* และวงศ์ Varunidae 2 ชนิด คือ *Metaplax dentipes* และ *M. elegan* ความชุกชุมของปูแสมในฤดูแล้ง (มีนาคม-พฤษภาคม) จะสูงกว่าฤดูกาลอื่น ปูแสมชนิด *P. eumolpe* พบแพร่กระจายอยู่ทุกพื้นที่ศึกษาและมีความชุกชุมมากที่สุด รองลงมาคือ ปูแสมชนิด *E. mederi* (ร้อยละ 25.17) และ *M. dentipes* (ร้อยละ 10.93) ตามลำดับ อิทธิพลการขึ้นลงของน้ำทะเล ระดับความเค็มของน้ำ และอุณหภูมิในตะกอนดินมีผลต่อการแพร่กระจายของปูแสมกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าความชุกชุมของปูแสมมีความสัมพันธ์ในทิศทางแปรผันตามค่าความเค็มของน้ำในตะกอนดิน และอนุภาคดินเหนียว และปริมาณอินทรีย์สารในตะกอนดิน แต่แปรผกผันกับความเป็นกรด-เบส

คำสำคัญ: ปูแสม ดินตะกอน อินทรีย์สาร

Abstract

Some characteristics of sediments and distribution of mangrove crabs at the Ban Bang Boo mangrove forest, Samut Songkhram Province were conducted during March 2016 to April 2018. Three sampling stations were collected from the coast to inland. The results showed that the amount of organic matter and total nitrogen of sediment was ranged 2.42–9.79% and 0.00–0.72%, respectively. The content of total-nitrogen was significantly positive correlated with the organic matter ($p < 0.05$). Soil texture was sandy clay loam and sandy loam. The crabs were classified for 7 species. These were 5 species of family Sesarmidae (*Parasesarma eumolpe, Episesarma mederi, E. versicolor, Metopograpsus latifrons, Neosarmatium smithi*) and 2 species of Family Varunidae (*Metaplax dentipes* and *M. elegan*). The abundances of mangrove crabs in dry season (March-May) were higher than other seasons. *P. eumolpe* was dominant species (43.63 %), followed by *E. mederi* (25.17%) and *M. dentipes* (10.93%), respectively. The influence of tides, salinity, and temperature in the sediments had a statistically significant effected on the crab distribution ($p < 0.05$). These results indicated that the abundance of crabs was related with salinity and clay particles and organic matter content but inversely proportional to pH.

Keywords: Mangrove carb, Organic matter, Sediment

บทนำ

จังหวัดสมุทรสงครามมีพื้นที่ป่าชายเลน 18,246.85 ไร่ มีแม่น้ำแม่กลองไหลผ่านกลางพื้นที่ของจังหวัด จึงแบ่งแนวฝั่งทะเลออกเป็น 2 ส่วน คือ พื้นที่ทางทิศตะวันออกเฉียงใต้ เชื่อมต่อกับจังหวัดเพชรบุรี มีพื้นที่ป่าชายเลน ได้แก่ ผืนป่าชายเลนคลองโคน และป่าชายเลนบ้านยี่สาร ตำบลแหลมใหญ่ ตำบลคลองโคน อำเภอเมืองสมุทรสงคราม และตำบลยี่สาร อำเภออัมพวา และพื้นที่ป่าชายเลนทางด้านทิศตะวันออกเฉียงเหนือ เชื่อมต่อกับจังหวัดสมุทรสาคร ซึ่งอยู่ฝั่งซ้ายของแม่น้ำแม่กลอง ได้แก่ ป่าชายเลนบ้านบางบ่อ (โรงเรียนธรรมชาติป่าชายเลน) ตำบลบางแก้ว และป่าชายเลนสวนสมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ ตำบลบางจะเกร็ง อำเภอเมืองสมุทรสงคราม (สำนักอนุรักษ์ทรัพยากรป่าชายเลน, 2561) ป่าชายเลนบ้านบางบ่อ หมู่ 10 ตำบลบางแก้ว อำเภอเมืองฯ จังหวัดสมุทรสงคราม เชื่อมต่อกับทะเลอ่าวไทย, ดอนหอยหลอด, คลองบางบ่อ และคลองหมื่นหาญ ในอดีตพื้นที่ป่าชายเลนบ้านบางบ่อได้รับผลกระทบจากการบุกรุกแผ้วถางพื้นที่ และการกัดเซาะชายฝั่งทะเล ทำให้สูญเสียพื้นที่ชายฝั่งและป่าชายเลน ส่งผลต่อประชากรสัตว์น้ำ ประชาชนในพื้นที่ได้รับความเดือดร้อนเสียหาย ทั้งต่อทรัพย์สิน และวิถีชีวิต นับตั้งแต่ปี 2551 เริ่มเกิดมาตรการฟื้นฟูทรัพยากรป่าชายเลนโดยระบบประชารัฐ อาทิ การปักแนวไม้ไผ่เพื่อชะลอความรุนแรงของคลื่นลม การส่งเสริมกิจกรรมปลูกป่าชายเลนในพื้นที่ชายฝั่งที่มีเลนงอก การพัฒนาพื้นที่ป่าชายเลนให้เป็นศูนย์เรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลน และการกำหนดเขตอนุรักษ์ปูแสม เป็นต้น (กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง, 2563)

ปูแสมเป็นสัตว์น้ำที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจและมีอิทธิพลต่อความอุดมสมบูรณ์ของป่าชายเลน พฤติกรรมการดำรงชีวิตของปูแสม เช่น การขุดรูของปูแสมช่วยให้เกิดการหมุนเวียนธาตุอาหาร และช่วยให้ดินได้รับก๊าซออกซิเจนเพิ่มขึ้น มีผลต่อเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ย่อยสลายสารอินทรีย์ ช่วยลดความเน่าเสียของดินตะกอน การขุดรูเป็นรวมถึงการปลดปล่อยก๊าซคาร์บอนได้ออกไซด์, ก๊าซมีเทน, ไฮโดรเจนซัลไฟด์ และแอมโมเนียออกจากดิน การกัดกินใบไม้ของปูแสม มีส่วนช่วยเร่งกิจกรรมการย่อยสลายสารอินทรีย์ในป่าชายเลน จึงมีบทบาทต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของตะกอนดิน ลักษณะดินตะกอนและปริมาณอินทรีย์สารในดินเป็นปัจจัยหลักที่กำหนดความหลากหลายชนิดและความหนาแน่นของสัตว์น้ำดิน (ณัฐกิตติ์, 2564)

การศึกษาสมบัติบางประการของดินตะกอนและการแพร่กระจายปูแสมในป่าชายเลนบ้านบางบ่อ จังหวัดสมุทรสงคราม มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความอุดมสมบูรณ์ของระบบนิเวศป่าชายเลน ซึ่งจะเป็นฐานข้อมูลทรัพยากรป่าชายเลนอันจะเป็นประโยชน์สำหรับใช้ติดตามการเปลี่ยนแปลงคุณภาพสิ่งแวดล้อมในอนาคต การวางแผนจัดการอนุรักษ์ทรัพยากรท้องถิ่น การเพิ่มประชากรปูแสมและการใช้ทรัพยากรธรรมชาติในท้องถิ่นต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

พื้นที่ศึกษา คือ พื้นที่ป่าชายเลนชุมชนบ้านบางบ่อ ตำบลบางแก้ว อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสงคราม บริเวณทิศตะวันออกของปากแม่น้ำแม่กลอง กำหนดสถานีเก็บตัวอย่างจำนวน 3 สถานี (Fig. 1) ได้แก่ สถานีที่ 1 พื้นที่ป่าชายเลนขนานกับชายฝั่งทะเล (N 13°23'06", E 100°2'32") พื้นที่ประมาณ 183,000 ตารางเมตร ได้รับอิทธิพลการท่วมถึงของน้ำทะเลในช่วงน้ำขึ้น ลักษณะเนื้อดินเป็นดินโคลน มีต้นแสมขาว (*Avicennia alba* Bl.) และโกงกางใบเล็ก (*Rhizophora apiculata* Bl.) เป็นพรรณไม้ชนิดเด่น มีการดำเนินงานด้านการอนุรักษ์ฟื้นฟูอย่างต่อเนื่อง สถานีที่ 2 พื้นที่ป่าชายเลนอยู่ในเขตชุมชนบางบ่อ บริเวณจุดบรรจบคลองแพรกลึกและคลองบางบ่อ (N 13°23'58", E 100°1'57") ได้รับอิทธิพลการท่วมถึงของน้ำทะเลในช่วงน้ำขึ้น ลักษณะเนื้อดินเป็นดินร่วนปนทราย มีพรรณไม้หลากหลายชนิดขึ้นร่วมกัน ขนาดพื้นที่ประมาณ

13,500 ตารางเมตร และสถานีที่ 3 บริเวณจุดบรรจบคลองบางบ่อและคลองหมื่นหาญ (N 13°23'31", E 100°1'23") ป่าชายเลนถูกรายล้อมด้วยพื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำแบบดั้งเดิม มีพื้นที่ป่าประมาณ 19,000 ตารางเมตร ได้รับอิทธิการท่วมถึงของน้ำทะเลเฉพาะช่วงน้ำเกิด ลักษณะดินเป็นดินร่วน แห้งและแข็ง พรรณไม้ชนิดเด่น คือ แสมทะเล (*Avicennia marina* (Forsk.) Vierh.) ระยะเวลาในการดำเนินการตั้งแต่เดือนมีนาคม 2559 ถึงเดือนเมษายน 2561 โดยแบ่งการศึกษาออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงที่ 1 ระหว่างเดือนมีนาคม 2559 ถึงเดือนมกราคม 2560 และช่วงที่ 2 ระหว่างเดือนกรกฎาคม 2560 ถึงเดือนเมษายน 2561 ดำเนินการเก็บตัวอย่างครอบคลุม 3 ฤดู ตามอิทธิพลของลมมรสุมตะวันออกเฉียงเหนือและลมมรสุมตะวันตกเฉียงใต้ เพื่อให้เป็นตัวแทนของการเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมตลอดทั้งปี โดยเดือนกุมภาพันธ์-พฤษภาคม เป็นตัวแทนฤดูแล้ง, เดือนมิถุนายน-ตุลาคม เป็นตัวแทนฤดูฝน และเดือนพฤศจิกายน-มกราคม เป็นตัวแทนฤดูหนาว

เก็บตัวอย่างปูแสมทุก 2 เดือน ในช่วงเวลาน้ำลง กำหนดแปลงถาวรขนาด 10 ตารางเมตร จำนวน 3 แปลง แต่ละแปลงสุ่มเก็บตัวอย่างปูแสมกลุ่มที่หลบอาศัยอยู่ตามรากไม้บริเวณผิวหน้าดิน และในรูใต้ดินภายในตารางสี่เหลี่ยมนับตัวอย่าง (Quadrat sampling) ขนาด 50 ตารางเซนติเมตร และปูแสมกลุ่มที่สร้างรูอยู่ใต้ดินด้วยกระป๋องดักปู แล้วนำไปจำแนกชนิดตามคู่มือของ Carpenter and Niem (1998); Gillikin and Schubart (2004) และLee et al. (2015) บันทึกจำนวนตัวเพื่อคำนวณหาความหนาแน่น ดัชนีความหลากหลายทางชนิด (Diversity index) ตามสูตรคำนวณของ Shanon-Wieners Index ค่าดัชนีความมากชนิด (richness index) ใช้สูตรคำนวณของ Margalef's index และค่าดัชนีความเท่าเทียมกันของชนิด ใช้สูตรคำนวณของ Pielou's evenness index (Ludwig and Reynolds, 1986)

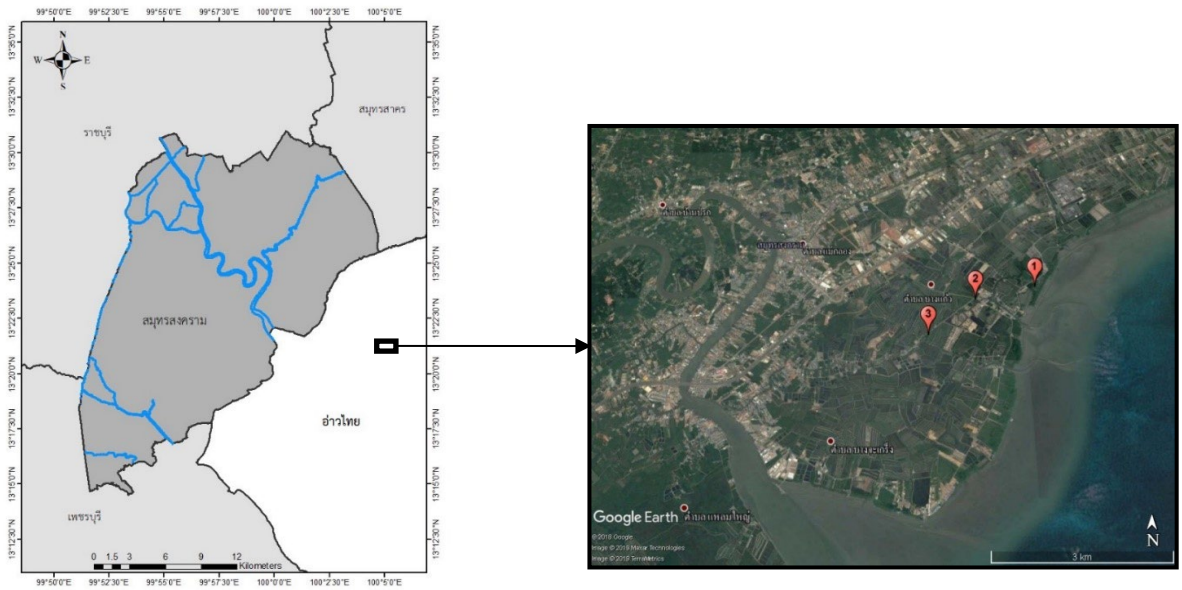


Fig. 1 Study areas and sampling stations in Ban Bang Boo Community Mangrove forest, Samut Songkhram province

ศึกษาปัจจัยสิ่งแวดล้อม โดยเก็บตัวอย่างดินภายในตารางสี่เหลี่ยมนับตัวอย่าง (Quadrat sampling) ในจุดเดียวกับการเก็บตัวอย่างปูแสมด้วยกระบอกเก็บตัวอย่างดิน (soil core) ที่ความลึก 0-5 เซนติเมตร เก็บรักษาสภาพตัวอย่างดินที่อุณหภูมิต่ำและนำกลับไปวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการ ศึกษาความเค็มในดิน, ความเป็นกรด-เบส (pH) ในดินตามวิธีการของJohn (2001) วิเคราะห์หาลักษณะตะกอนดิน (Soil texture) โดยวิธี Hydrometer method

(Bouyoucos,1962) สารอินทรีย์ในดิน (Organic matter) โดยวิธี Walkley Black modified acid-dichromate (Walkley and Black, 1947) และปริมาณไนโตรเจนรวมในดินตะกอน (Total Kjeldahl Nitrogen) โดยวิธี Micro-kjeldahl Nitrogen

ในการวิเคราะห์ทางสถิติ ใช้การวิเคราะห์ One-way Anova เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของความชุกชุมของปูแสม และค่าดัชนีทางนิเวศ วิเคราะห์ค่าสหสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson correlation coefficient, r) เพื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมกับความหนาแน่นปูแสม ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป R (R Core Team, 2021)

ผลการวิจัย

ความหลากชนิดและความชุกชุมของประชากรปูแสม บริเวณป่าชายเลนบ้านบางบ่อ

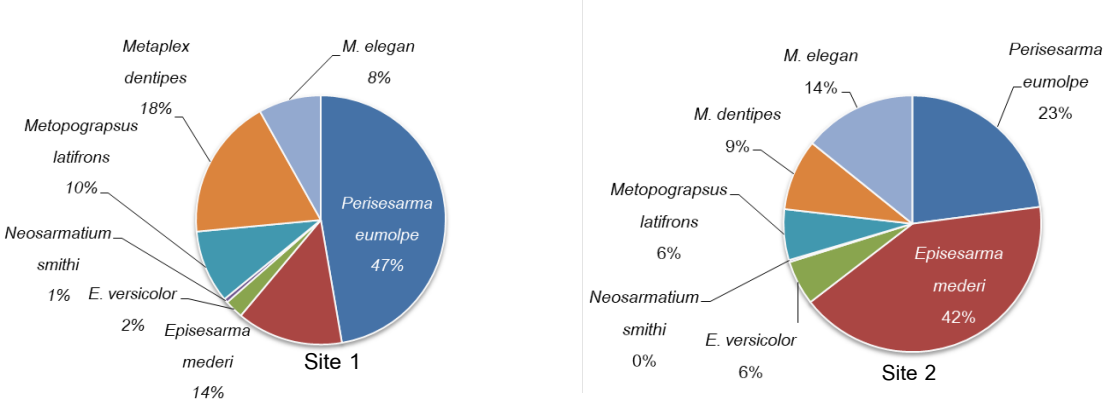
ปูแสมที่พบบริเวณป่าชายเลนบ้านบางบ่อ จังหวัดสมุทรสงคราม พบปูแสมจำนวน 7 ชนิด ในวงศ์ Sesarmidae 4 ชนิด ได้แก่ *Parasesarma eumolpe* (De Man, 1895), *Episesarma mederi* (H. Milne Edwards, 1853), *Episesarma versicolor* (Tweedie, 1940), *Metopograpsus latifrons* (White, 1847) และ*Neosarmatium smithi* (H. Milne Edwards, 1853) และวงศ์ Varunidae 1 ชนิด คือ *Metaplax dentipes* (Heller, 1865) และ*Metaplax elegans* De Man, 1888 (Fig. 2)

ปูแสมชนิด *P. eumolpe* เป็นปูแสมในกลุ่มที่หลบอาศัยอยู่ตามรากของต้นไม้ในป่าชายเลน พบแพร่กระจายอยู่ทุกสถานีเก็บตัวอย่าง และมีความชุกชุมมากที่สุด คิดเป็นร้อยละ 43.63 ของจำนวนปูแสมที่พบทั้งหมด รองลงมา คือ ปูแสมกลุ่มที่สร้างรูอยู่ใต้ดิน ได้แก่ ปูแสมชนิด *E. mederi* มักขุดรูอยู่ในบริเวณที่น้ำขึ้นน้ำลงท่วมถึง ดินโคลนปนทราย คิดเป็นร้อยละ 25.17 ปูแสมชนิด *M. dentipes*, *M. latifrons* และ *M. elegan* พบได้ร้อยละ 10.93, 8.81 และ 7.44 ตามลำดับ

บริเวณสถานีที่ 1 พบปูแสม 7 ชนิด ความชุกชุมของปูแสมเฉลี่ย 18 ตัวต่อตารางเมตร พบ *P. eumolpe* มีความชุกชุมสูงสุด ความชุกชุมเฉลี่ย 9 ตัวต่อตารางเมตร รองลงมาคือ ปูแสมชนิด *M. dentipes* และปูแสมชนิด *E. mederi* ทั้ง 2 ชนิด มีความชุกชุมเฉลี่ย 3 ตัวต่อตารางเมตร

บริเวณสถานีที่ 2 พบปูแสม 7 ชนิด มีความชุกชุมเฉลี่ย 20 ตัวต่อตารางเมตร ปูแสมชนิดเด่นคือ *E. mederi* รองลงมาคือชนิด *P. eumolpe* และ *M. elegan* ความชุกชุมเฉลี่ย 8, 4 และ 3 ตัวต่อตารางเมตร ตามลำดับ

บริเวณสถานีที่ 3 พบปูแสม 6 ชนิด มีความชุกชุมเฉลี่ย 19 ตัวต่อตารางเมตร ปูแสมชนิด *P. eumolpe* เป็นชนิดเด่น ความชุกชุมเฉลี่ย 11 ตัวต่อตารางเมตร รองลงมาคือ ชนิด *E. mederi* ความชุกชุมเฉลี่ย 4 ตัวต่อตารางเมตร และ *M. latifrons* ความชุกชุมเฉลี่ย 2 ตัวต่อตารางเมตร ไม่พบปูแสมชนิด *M. elegan* ในบริเวณสถานีที่ 3



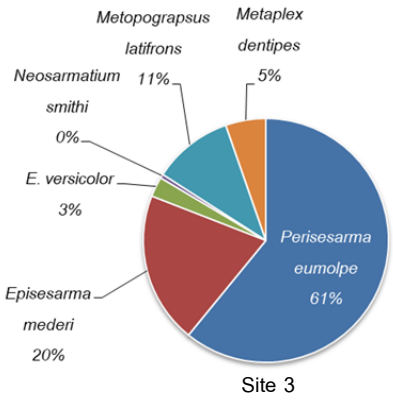


Fig. 2 Percentage of species composition

ในทั้ง 2 ช่วงของการเก็บข้อมูล พบว่า ค่าดัชนีความหลากหลายทางชนิดของปูแสมในพื้นที่ป่าชายเลนบ้านบางบ่อ จังหวัดสมุทรสงคราม บริเวณสถานีที่ 3 มีความแตกต่างกับสถานีที่ 1 และสถานีที่ 2 อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) บริเวณสถานีที่ 1 และสถานีที่ 2 ดัชนีความหลากหลายทางชนิดมีความคล้ายคลึงกัน ค่าดัชนีความหลากหลายทางชนิดของสถานีที่ 3 มีความแปรผกผันกับค่าดัชนีความมากชนิด และดัชนีความเท่าเทียมกันของชนิด ดังแสดงใน Table 1

Table 1 Mean values (± SD) and significant tests of ecological indices variation in different stations at Ban Bang Boo mangrove forest, Samut Songkhram Province, from Mar 2016-Apr 2017

Duration	March 2016 -January 2017			July - April 2017		
Site study	Station 1	Station 2	Station 3	Station 1	Station 2	Station 3
Shannon-Wiener Index of Diversity (H'):	1.34±0.24^{a}	1.32±0.18^{a}	0.88±0.35^{b}	1.30±0.09^{a}	1.29±0.18^{a}	0.93±0.13^{b}
Species Evenness (H'/ln(S)):	0.85±0.08^{a}	0.90±0.05^{a}	0.75±0.15^{b}	0.82±0.02^{a}	0.86±0.05^{a}	0.72±0.04^{b}
Species Richness (S):	1.18±0.38^{a}	0.96±0.15^{a}	0.74±0.38^{b}	1.11±0.12^{a}	1.01±0.15^{a}	0.77±0.15^{b}

Average ± SD with different superscript letters within the same row are significantly different (p<0.05).

ปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม

ความเค็มของน้ำในดินบริเวณพื้นที่ศึกษา มีค่าอยู่ระหว่าง 17–43 ส่วนในพัน โดยบริเวณป่าชายเลนติดชายฝั่งทะเล (สถานีที่ 1) มีค่าความเค็มของน้ำในดินสูงสุด เฉลี่ย 31.08±9.03 ส่วนในพัน รองลงมา คือ ป่าชายเลนบริเวณจุดตัดคลองสาขาในเขตชุมชน (สถานีที่ 2) และ ป่าชายเลนในเขตเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (สถานีที่ 3) มีค่าเท่ากับ 28.00±9.01 ส่วนในพัน และ 25.25±8.27 ส่วนในพัน ตามลำดับ โดยความเค็มของน้ำในดินสูงสุดในช่วงฤดูแล้ง และจะลดต่ำลงในช่วงฤดูฝน ความเป็นกรด-เบสของน้ำในตะกอนดิน อยู่ในช่วง 6.18–7.95 โดยมีค่าสูงสุดบริเวณป่าชายเลนสถานีที่ 3 รองลงมาคือบริเวณป่าชายเลน สถานีที่ 2 และป่าชายเลนบริเวณสถานีที่ 1 มีค่า 7.17±0.43, 6.95±0.37 และ 6.82±0.43 ตามลำดับ

องค์ประกอบของอนุภาคตะกอนดิน พบว่าดินในบริเวณป่าชายเลนบ้านบางบ่อทั้ง 3 บริเวณ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05) บริเวณป่าชายเลนสถานีที่ 1 มีลักษณะเนื้อดินเป็นดินร่วนเหนียวปนทราย (Sandy clay loam) มีทรายเป็นองค์ประกอบร้อยละ 44-66 (เฉลี่ยร้อยละ 54.78) ส่วนบริเวณป่าชายเลนสถานีที่ 2 และบริเวณป่าชายเลนสถานีที่ 3 เนื้อดินมีลักษณะเป็นดินร่วนปนทราย (Sandy loam) ในช่วงฤดูแล้ง และฤดูหนาว และมีลักษณะเนื้อดินร่วน

เหนียวปนทราย ในฤดูฝน มีทรายเป็นองค์ประกอบร้อยละ 50-71 (เฉลี่ยร้อยละ 57.95) และร้อยละ 51-73 (เฉลี่ยร้อยละ 60.42) ตามลำดับ

ปริมาณอินทรีย์สารในดินตะกอนพื้นที่ป่าชายเลนบ้านบางบ่อ จังหวัดสมุทรสงคราม อยู่ในช่วง 2.42-9.79 โดยบริเวณสถานีที่ 2 มีปริมาณอินทรีย์สารในดินสูงสุด มีค่าเฉลี่ย 6.93±1.34 รองลงมาคือ สถานีที่ 1 และสถานีที่ 3 มีค่าเฉลี่ย 6.77±2.55 และ 6.60±2.18 ตามลำดับ อินทรีย์สารในดินมีปริมาณสูงบริเวณผิวหน้าตะกอนดิน และมีแนวโน้มลดลงตามระดับความลึก มีปริมาณดินเฉลี่ยสูงสุดในช่วงฤดูหนาว และมีปริมาณเฉลี่ยต่ำสุดในช่วงฤดูแล้ง ผลการศึกษาช่วงที่ 2 เดือนกรกฎาคม 2560 ถึงเดือนเมษายน 2561 ปริมาณอินทรีย์สารมีแนวโน้มลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาช่วงที่ 1 เดือนมีนาคม 2559 ถึงเดือนมกราคม 2560 (Fig. 3) อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

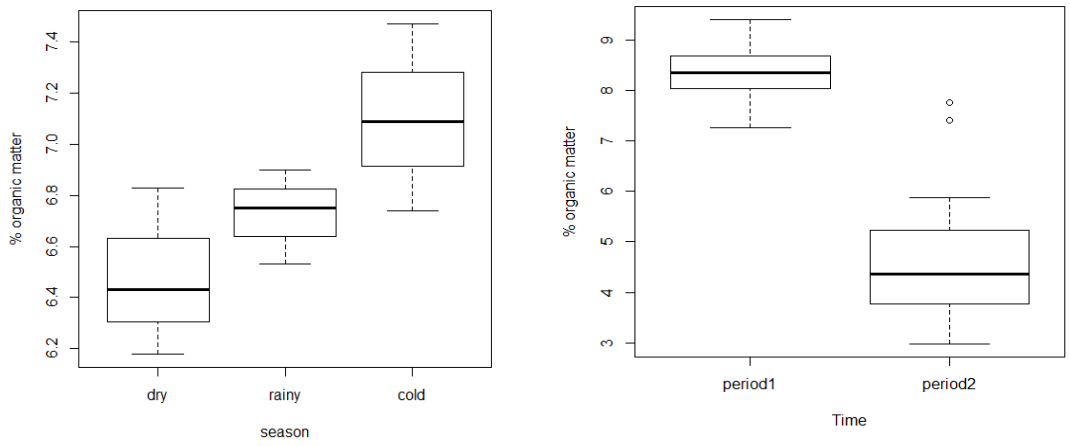


Fig. 3 Organic matter content (%) in soil at Ban Bang Boo mangrove forest, Samut Songkhram Province during March 2016-April 2017

ปริมาณไนโตรเจนรวมในดิน ระหว่างเดือนกรกฎาคม 2560 ถึงเดือนเมษายน 2561 พบว่า ปริมาณไนโตรเจนรวมในดินทั้ง 3 สถานี ไม่มีความแตกต่างกัน และแปรผันตามปริมาณอินทรีย์สารในดิน ปริมาณไนโตรเจนรวมในดินสูงสุดในบริเวณสถานีที่ 2 มีปริมาณไนโตรเจนรวมในดินร้อยละ 0.00–1.36 (เฉลี่ย 0.33±0.29) รองลงมาคือ สถานีที่ 1 ปริมาณไนโตรเจนรวมในดินร้อยละ 0.00–0.64 (เฉลี่ย 0.33±0.29) และสถานีที่ 3 ปริมาณไนโตรเจนรวมในดินร้อยละ 0.00–0.72 (เฉลี่ย 0.22±0.30) ตามลำดับ ปริมาณไนโตรเจนรวมในดินมีค่าเฉลี่ยสูงสุดในช่วงฤดูหนาว และมีค่าเฉลี่ยต่ำสุดในช่วงฤดูฝน (Fig. 4)

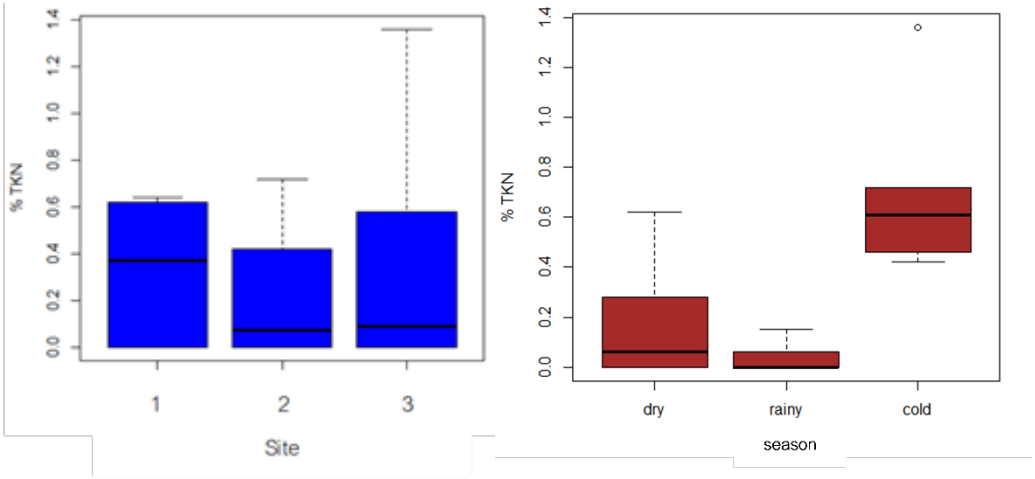


Fig. 4 Total Nitrogen concentration in soil at the sampling stations in three seasons in Ban Bang Boo Mangrove Forest, Samut Songkhram Province during March 2016-April 2017

ความสัมพันธ์ระหว่างความชุกชุมปูแสมกับปัจจัยทางสิ่งแวดล้อม

ค่าสหสัมพันธ์ (Correlation coefficient ; r) ระหว่างความชุกชุมปูแสมที่พบในพื้นที่ศึกษากับปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมในบริเวณป่าชายเลนบ้านบางบ่อ พบว่า ความชุกชุมของปูแสมมีความสัมพันธ์ในทิศทางแปรผันตามค่าความเค็มของน้ำในตะกอนดิน และอนุภาคดินเหนียว และอนุภาคทรายแป้ง และปริมาณอินทรีย์สารในตะกอนดิน แต่มีความสัมพันธ์ที่แปรผกผันกับความเป็นกรด-เบสของน้ำในตะกอนดินอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (Table 2)

Table 2 Results of the Pearson correlation coefficient analysis for environmental factors and crab density

	Salinity	pH	% Sand	% Clay	% Silt	% Organic matter	% TKN
P. eumolpe	-0.13	-0.95	0.52	-0.29	-0.41	-0.13	-0.75
E. mederi	1.00*	0.38	0.82	-0.94	-0.88	1.00*	0.70
E. versicolor	1.00*	0.46	0.76	-0.90	-0.84	-0.88	0.77
M. dentipes	-0.38	-1.00*	0.29	-0.04	-0.17	0.52	-0.17
M. elegan	0.52	-0.54	0.94	-0.83	-0.89	1.00**	-0.75
M. latifrons	-0.85	-0.84	-0.33	0.56	0.45	-0.37	-0.89
N. smithi	-0.877	0.05	-0.98	1.00*	1.00*	-0.85	-0.35

* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

วิจารณ์ผลการวิจัย

การศึกษาชนิดและความชุกชุมของปูแสมในพื้นที่ป่าชายเลนบ้านบางบ่อ จังหวัดสมุทรสงคราม พบปูแสม 7 ชนิด ในวงศ์ Sesarmidae 5 ชนิด ได้แก่ *Parasesarma eumolpe, Episesarma mederi, E. versicolor*, *Metopograpsus latifrons* และ*Neosarmatium smithi* วงศ์ Varunidae 2 ชนิด คือ *Metaplax dentipes* และ *M. elegan* สามารถแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่หลบอาศัยอยู่ตามรากของต้นไม้ในป่าชายเลน ได้แก่ *P. eumolpe* และ *Metopograpsus latifrons* กลุ่มที่มักขุดรูอยู่ในบริเวณที่น้ำขึ้นน้ำลงท่วมถึง ดินโคลนปนทราย ได้แก่ *E. mederi*, *E. versicolor, N. smithi*,

M. dentipes และ *M. elegan* ซึ่งในฤดูแล้ง (ประมาณกลางเดือนกุมภาพันธ์ถึงเดือนพฤษภาคม) ความชุกชุมของปูแสมจะสูงกว่าฤดูฝน (ประมาณเดือนมิถุนายนถึงเดือนตุลาคม) และฤดูหนาว (ประมาณเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนมกราคม) ปูแสมเพศเมียชนิด *E. mederi* พบว่ามีไข่นอกกระดองในช่วงเดือนกันยายนถึงเดือนธันวาคม

ปูแสมชนิด *P. eumolpe* พบแพร่กระจายอยู่ทุกพื้นที่ศึกษา และมีความชุกชุมมากที่สุด รองลงมา คือ *E. mederi* และ *M. dentipes* การแพร่กระจายของปูแสมชนิด *E. mederi* พบว่ามีความชุกชุมสูงสุดในเขตชุมชน แต่มีแนวโน้มลดลงเนื่องจากการใช้ประโยชน์ทรัพยากร และกิจกรรมในชุมชนซึ่งส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพสิ่งแวดล้อม และพื้นที่ป่าชายเลน พบว่า ปูแสมชนิด *E. mederi* และ *E. versicolor* ซึ่งเป็นชนิดที่นิยมจับไปบริโภค จะมีไข่นอกกระดองในช่วงเดือนกันยายน ถึงเดือนพฤศจิกายน

บริเวณป่าชายเลนสถานีที่ 1 และสถานีที่ 2 มีค่าดัชนีความหลากหลายทางชนิดของปูแสมคล้ายคลึงกัน และมีค่าต่ำกว่าบริเวณสถานีที่ 3 เนื่องจากสถานีที่ 1 เป็นพื้นที่ชายฝั่งทะเล และสถานีที่ 2 เป็นที่ลุ่มต่ำได้รับอิทธิพลการท่วมถึงของน้ำทะเลในรอบวันตลอดทั้งปี โดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงเดือนตุลาคมถึงมกราคม จะเป็นช่วงที่น้ำทะเลหนุนสูง ทำให้พบปูแสมมีความหลากหลายทางชนิดต่ำ

บริเวณที่ได้รับอิทธิพลของการขึ้นลงของน้ำทะเลมากจะพบความชุกชุมของปูแสมค่อนข้างต่ำกว่าบริเวณป่าชายเลนที่อยู่ลึกเข้าไปในแผ่นดิน เนื่องอิทธิพลการขึ้นลงของน้ำทะเล ระดับความเค็มของน้ำ และอุณหภูมิในตะกอนดิน มีผลทำให้โครงสร้างของปูแสมในแต่ละบริเวณมีความแตกต่างกัน (ศิริพร และอรัญญา, 2557) ในฤดูหนาว มีปริมาณอินทรีย์สาร และปริมาณไนโตรเจนรวมในดินสะสมสูงกว่าในช่วงฤดูแล้ง และฤดูฝน ความชุกชุมของปูแสมมีความสัมพันธ์ในทิศทางแปรผันตามค่าความเค็มของน้ำในตะกอนดิน และอนุภาคดินเหนียว แต่แปรผกผันกับความเป็นกรด-เบสของน้ำในตะกอนดิน และปริมาณอินทรีย์สาร ในตะกอนดิน โดยมักพบปูแสมชนิด *P. eumolpe* เป็นชนิดเด่นในบริเวณพื้นที่ชายฝั่งทะเล ความชุกชุมของปูแสมมีความสัมพันธ์แปรผันกับอนุภาคดินเหนียว และทราย แต่แปรผกผันกับอนุภาคดินทรายแป้ง และปริมาณอินทรีย์สาร ในตะกอนดิน สอดคล้องกับการศึกษาของศิริพร และอนัญญา (2557) รายงานว่าความหนาแน่นของปูแสมมีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้ามกับอนุภาคดินทรายแป้ง และแปรผันตรงอนุภาคดินทรายและค่าความเค็มในตะกอนดิน ความหนาแน่นของปูแสมมีความสัมพันธ์แปรผกผันกับปริมาณอินทรีย์สารในตะกอนดิน

ปริมาณอินทรีย์สารในดินตะกอนพื้นที่ป่าชายเลนบ้านบางบ่อ จังหวัดสมุทรสงคราม อยู่ในช่วงร้อยละ 2.42–9.79 (เฉลี่ยร้อยละ 6.77±2.07) จัดอยู่ในระดับสูงมาก สอดคล้องกับผลการศึกษาสมบัติของดินในแปลงปลูกป่าชายเลนตำบลคลองโคน จังหวัดสมุทรสงครามของกฤติกา และคณะ (2559); นิตรา (2561) ปริมาณอินทรีย์วัตถุมีค่าร้อยละ 4.59±0.53 นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับรายงานปริมาณอินทรีย์สารในตะกอนดินป่าชายเลนในพื้นที่อื่น เช่น ป่าชายเลนในจังหวัดชลบุรีมีปริมาณอินทรีย์สารร้อยละ 3.27–14.62 (กนกเรขา, 2554), ป่าชายเลนคลองหงาว จังหวัดระนอง มีปริมาณอินทรีย์สารร้อยละ 5.23–8.53 (ธัชชา และคณะ, 2545) ปริมาณสารอินทรีย์รวมในดินตะกอนป่าชายเลนในอำเภอขนอม จังหวัดนครศรีธรรมราชเท่ากับร้อยละ 3.26–4.21 (กนกพร และโชคชัย, 2547) และดินตะกอนบริเวณปากแม่น้ำบางปะกงมีปริมาณอินทรีย์สารร้อยละ 2.33–10.76 (กรมทรัพยากรทางทะเล และชายฝั่ง, 2548)

เมื่อพิจารณาลักษณะการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารอินทรีย์ในดินตามฤดูกาล พบว่า ในช่วงฤดูหนาวและฤดูฝนตะกอนดินในพื้นที่ป่าชายเลนบ้านบางบ่อ จังหวัดสมุทรสงคราม มีปริมาณอินทรีย์สารสะสมสูงกว่าในช่วงฤดูแล้ง เนื่องจากในช่วงฤดูหนาวมีการร่วงหล่นของใบไม้สูงสุดในรอบปี และการร่วงหล่นของใบไม้มีปริมาณต่ำสุดในช่วงฤดูแล้ง จึงกล่าวได้ว่า อิทธิพลของฤดูกาลมีผลต่อความผันแปรของคุณภาพดินตะกอน (กนกเรขา, 2554) สำหรับพื้นที่ป่าชายเลนบ้านบางบ่อ นอกจากปัจจัยการร่วงหล่นของใบไม้แล้ว ปริมาณสารอินทรีย์ในพื้นที่อาจมีผลมาจากการชะล้างตะกอนดิน

และธาตุอาหารจากแผ่นดิน โดยน้ำฝนหรือน้ำท่า และการขึ้นลงของระดับน้ำทะเล ลงมาสะสมบริเวณปากแม่น้ำแม่กลอง และพัดพากลับเข้าไปสะสมในคลอง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในฤดูหนาว ซึ่งระดับน้ำทะเลมีการขึ้นสูงกว่าฤดูกาลอื่น ๆ ประมาณ 20–30 เซนติเมตร จนหนุนเข้าท่วมพื้นที่ป่าชายเลน พื้นที่เกษตรกรรม และชุมชนบ้านบางบ่อเป็นประจำทุกปี

สรุปผลการวิจัย

พื้นที่ป่าชายเลนบ้านบางบ่อ จังหวัดสมุทรสงคราม พบปูแสม *P. eumolpe* เป็นชนิดเด่นในบริเวณพื้นที่ชายฝั่งทะเล พบแพร่กระจายอยู่ทุกพื้นที่ศึกษา ซึ่งจะมีความสัมพันธ์แปรผันความเค็มของน้ำในตะกอนดิน และอนุภาคดินเหนียว แต่แปรผกผันกับความเป็นกรด-เบส และปริมาณอินทรีย์สารในตะกอนดิน ปูแสมชนิด *E. mederi* และ *E. versicolor* ซึ่งมีมูลค่าทางเศรษฐกิจ พบในพื้นที่ป่าชายเลนในเขตชุมชนหนาแน่นกว่าในบริเวณป่าชายเลนรอยต่อชายฝั่งทะเล ทั้งนี้ ความแตกต่างของปัจจัยสิ่งแวดล้อม และความอุดมสมบูรณ์ของพันธุ์ไม้ป่าชายเลนจะทำให้โครงสร้างของปูแสมในแต่ละบริเวณมีความแตกต่างกัน ควรส่งเสริมและสนับสนุนให้มีการเพิ่มพื้นที่ป่าชายเลน และดูแลรักษาทรัพยากรชายฝั่งให้มีสภาพที่อุดมสมบูรณ์เช่นเดิมต่อไป จะเป็นการเพิ่มแหล่งที่อยู่อาศัยให้กับปูแสม สัตว์หน้าดิน และการเพิ่มจำนวนของสัตว์น้ำวัยอ่อน ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการหมุนเวียนธาตุอาหารในป่าชายเลน และเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ของทรัพยากรสัตว์น้ำที่ก่อให้เกิดรายได้ให้กับคนในชุมชนโดยรอบพื้นที่ป่าชายเลน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นผลผลิตภายใต้โครงการวิจัยการศึกษาความชุกชุมของปูแสมและการผลิตลูกปูแสมเพื่อปล่อยเสริมในพื้นที่ป่าชายเลนคลองบางบ่อ จังหวัดสมุทรสงคราม รหัสโครงการ พ-ท(ด) 8.59 ปีงบประมาณ 2559 และโครงการติดตามการเปลี่ยนแปลงประชาคมปูแสม และคุณภาพสิ่งแวดล้อมภายใต้มาตรการอนุรักษ์ในพื้นที่ป่าชาย เลนบ้านบางบ่อ จังหวัดสมุทรสงคราม รหัสโครงการ พ-ฐ(พท) 8.60 ปีงบประมาณ 2560 ซึ่งได้รับทุนสนับสนุนจากสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ในการนี้ ขอขอบพระคุณ คุณวิสูตร นวมศิริ และกลุ่มอนุรักษ์พัฒนาป่าชายเลนและเครือข่ายชุมชนในการบริหารจัดการชายฝั่งตำบลบางแก้วที่มีส่วนสำคัญทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้

เอกสารอ้างอิง

กนกพร บุญส่ง, โชคชัย ยะชูศรี. 2547. สมบัติของดินตะกอนและน้ำในดินบริเวณป่าชายเลนปลูกบนพื้นที่นากุ้งร้าง อำเภอขนอม จังหวัดนครศรีธรรมราช. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย. กรุงเทพฯ.

กนกเรขา สังข์จันทร์. 2554. การเปลี่ยนแปลงของสารอินทรีย์และธาตุอาหารในดินตะกอนป่าชายเลนที่มีแสมขาวเป็นพันธุ์ไม้เด่น. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 19: 28–39.

กฤติกา ทองอยู่, วิพักตร์ จินตนา, รัชนี โพธิแท่น. 2559. ผลสัมฤทธิ์ของโครงการฟื้นฟูป่าชายเลนบนพื้นที่หาดเลนงอกชายฝั่งทะเล ตำบลคลองโคน อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสงคราม. วารสารการจัดการป่าไม้ 10: 25–38.

ณัฐกิตติ์ โตอ่อน. 2564. สัตว์หน้าดิน: นิเวศวิทยาและการใช้ประโยชน์. คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ, พระนครศรีอยุธยา.

ณิฏฐารัตน์ ปภาวสิทธิ์, ศิริวรรณ ศิริบุญ, จิราวรรณ ใจเพิ่ม และพัฒนวรรณ หมู่คุ่ย. 2558. แหลมใหญ่...สมุทรสงคราม... แหล่งเรียนรู้ระบบนิเวศป่าชายเลน. บริษัท ปตท.จำกัด (มหาชน) : คณะวิทยาศาสตร์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

ธัชชา รัมมะศักดิ์, สิรินทรเทพ เต้าประยูร, Vladimir Bashkin. 2545. สมบัติทางเคมีของตะกอนป่าชายเลนที่สัมพันธ์กับการแปรเปลี่ยนของกำมะถัน. การสัมมนาระบบนิเวศป่าชายเลนแห่งชาติ ครั้งที่ 12: สร้างเสริม ประยุกต์ความรู้สู่ชุมชน. (ส่วนที่ I–3:หน้า 1–14). สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ.

นิตรา ต่อมคำ. 2561. สังคมชีวิตพืชป่าชายเลนและการเก็บกักคาร์บอน กรณีศึกษาตำบลคลองโคน อำเภอเมือง จังหวัดสมุทรสงคราม. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยศิลปากร. กรุงเทพฯ.

วุฒิพงษ์ วงศ์อินทร์, นงนุช ศิลปะสาร, พัชราภรณ์ เยาวสุต, ไพรินทร์ เพ็ญประไพ, วัลภา ทองดียิ่ง, วินัย เสาวฤทธิ์. 2551. ชนิดและการแพร่กระจายของปูบริเวณป่าชายเลนปากแม่น้ำท่าจีน จังหวัดสมุทรสาคร. วารสารวิจัยเทคโนโลยีการประมง 2: 115–124.

ศิริพร ประคุณวีรวัฒน์, อนัญญา เจริญพรนิพัทธ. 2557. การแพร่กระจายและความชุกชุมของปูแสมในวงศ์ Sesarmidea บริเวณป่าชายเลนคลองไชยา จังหวัดสุราษฎร์ธานี. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 32: 40–49.

ศูนย์วิจัยทรัพยากรทางทะเลแลชายฝั่งอ่าวไทยตอนบน. 2548. ระบบนิเวศน้ำกร่อยแม่น้ำบางปะกง. กรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง. กรุงเทพฯ.

Bouyoucos, G.J. 1962. Hydrometer method improved for making partile size analysis of soils. Agron. J. 54: 464–465.

Carpenter, K.E., Niem, V.H. 1998. The living Marine Resources of the Western Central Pacific Volume 2: Cephalopods, Crustaceans, Holothurians and Sharks. Rome: FAO. 1138–1146.

Frusher, S.D., Giddins, R.L., Smith, T.J. 1994. Distribution and abundance of grapsid crabs (Sesarmidae) in a mangrove estuary: Effects of sediment characteristics, salinity. Estuaries 17: 647–854.

Gillikin, D.P., Schubart, C.D. 2004. Ecology and systematics of mangrove crabs of the genus *Perisesarma* (Crustacea: Brachyura: Sesarmidae) from East Africa. Zool. J. Linn. Soc. 141:435–445.

Jones, J.B. 2001. Laboratory Guide for Conducting Soil Tests and Plant Analysis. CRC Press LLC, N.W. Corporate Blvd. Boca Raton, FL, USA.

Ludwig, A.J., Reynolds, J.F. 1986. Statistical Ecology. John Wiley and Sons Inc. New York, NY, USA.

Lee, B.Y., Ng, N., Ng, P. 2015. The taxonomy of five species of *Episesarma* De Man, 1895, in Singapore (Crustacea: Decapoda: Brachyura: Sesarmidae). The Raffles bulletin of zoology, Supplement 31: 199–215.

Walkley, A., Black. I.A. 1947. Chromic acid titration method for determination of soil organic matter. Soil. Sci. Amer. Proc. 63: 257.

รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิ

สาขาพืช: ผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

1. ผศ.ดร.จรีรัตน์ ฉันทวุฒิพร	ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร
2. ผศ.ดร.เจนจิรา ชุมภูคำ	ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร
3. ผศ.ดร.เจนจิรา ดวงจิต	ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร
4. ผศ.ดร.เฉอมาลย์ วงศ์ชาวจันท์	ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร
5. ผศ.ดร.ทัศไนย จารุวัฒนพันธ์	ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร
6. ผศ.ดร.เบญญา มะโนชัย	ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร
7. ผศ.ดร.ปริยานุช จุลกะ	ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร
8. ผศ.ดร.พิจิตรา แก้วสอน	ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร
9. ผศ.ดร.อารยา อาจเจริญ เทียนหอม	ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร
10. ผศ.ดร.ปิยะณัฏฐ์ ผกามาศ	ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน
11. ผศ.ดร.สุรพงษ์ ดำรงกิตติกุล	ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน
12. ผศ.ดร.อัญมณี อาวุชานนท์	ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร กำแพงแสน
13. ผศ.ดร.จำเนียร ชมภู	ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร กำแพงแสน
14. ผศ.ดร.ดำรงวุฒิ อ่อนวิมล	ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร
15. ผศ.ดร.ธนพล ไชยแสน	ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร
16. รศ.ดร.ภัศจี คงศีล	ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร
17. ดร.ภารดี ธรรมาภิชัย	ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร
18. ดร.อรุณี วงษ์แก้ว	ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร
19. ผศ.ดร.เฉลิมชาติ วงศ์ลี้เจริญ	ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร
20. ผศ.ดร.เพชรดา ปินใจ	ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร
21. รศ.ดร.วรชาติ วิศวพิพัฒน์	ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร
22. รศ.สมชัย อนุสนธิ์พรเพิ่ม	ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร
23. รศ.ดร.เสาวนุช ถาวรพฤกษ์	ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร
24. ผศ.ดร.ติยากร ฉัตรนภารัตน์	ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร
25. รศ.ดร.ธิดา เดชฮวบ	ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร
26. รศ.ดร.เนตรนภิส เขียวขำ	ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร
27. ดร.รวิชย์ หลงสวาสดิ์	ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร
28. ผศ.ดร.วีระณีย์ ทองศรี	ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร
29. ดร.ศรีหรรษา มลิจารย์	ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร
30. ผศ.ดร.สุพจน์ กาเซ็ม	ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร
31. ผศ.ดร.อนงค์นุช สาสนรักกิจ	ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร

32. ผศ.ดร.อุดมศักดิ์ เลิศสุชาตวนิช ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร
33. ผศ.ดร.รักศักดิ์ เสริมศักดิ์ ภาควิชาเกษตรกลวิธาน คณะเกษตร

สาขาพืช: ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก

1. ศ.ดร.นิพนธ์ ทวีชัย ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
2. รศ.ดร.สมศิริ แสงโชติ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
3. รศ.ดร.อำไพวรรณ ภราดร์นุวัฒน์ ภาควิชาโรคพืช คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
4. รศ.ดร.ยิ่งยง ไพสุขศานติวัฒนา ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
5. รศ.ดร.สุเทวี ศุขปราการ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
6. รศ.ดร.สุรวิช วรรณไกรโรจน์ ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
7. ผศ.ดร.ปริชาติ ดิษฐกิจ สาขาเกษตรศาสตร์และสหกรณ์ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช
8. ผศ.ดร.สุเทพ ทองแพ ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
9. ผศ.ดร.วัชระ จินตโกวิท สำนักวิชาสหวิทยาการ วิทยาเขตกาญจนบุรี มหาวิทยาลัยมหิดล
10. ผศ.ดร.ภาณุมาศ ฤทธิไชย สาขาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

Editorial Board

Subject: Plants (Internal)

1. Asst.Prof.Dr.Jareerat Chunthawodtiporn
2. Asst.Prof.Dr.Jenjira Chumpookam
3. Asst.Prof.Dr.Janejira Duangjit
4. Asst.Prof.Dr.Shermarl Wongchaochant
5. Asst.Prof.Dr.Tassanai Jaruwattanaphan
6. Asst.Prof.Dr.Benya Manochai
7. Asst.Prof.Dr.Pariyanuj Chulaka
8. Asst.Prof.Dr.Pichittra Kaewsorn
9. Asst.Prof.Dr.Araya Arjcharoen Theanhom
10. Asst.Prof.Dr.Piyanath Phagamas
11. Asst.Prof.Dr.Surapong Dumrongkittikule
12. Asst.Prof.Dr.Anyamanee Auvuchanon
13. Asst.Prof.Dr.Jamnian Chompoo
14. Asst.Prof.Dr.Damrongvudhi Onwimol
15. Asst.Prof.Dr.Tanapon Chaisan
16. Assoc.Prof.Dr.Pasajee Kongsila
17. Dr.Paradee Thammapichai
18. Dr.Arunee Wongkaew
19. Asst.Prof.Dr.Chalermchart Wongleecharoen
20. Asst.Prof.Dr.Pechlada Pinjai
21. Assoc.Prof.Dr.Worachart Wisawapipat
22. Assoc.Prof.Dr.Somchai Anusontpornperm
23. Assoc.Prof.Dr.Saowanuch Tawornpruek
24. Asst.Prof.Dr.Tiyakhon Chatnaparat
25. Assoc.Prof.Dr.Tida Dethoup
26. Assoc.Prof.Dr.Netnapis Khewkhom
27. Dr.Rawit Longsaward
28. Asst.Prof.Dr.Veeranee Tongsri
29. Dr.Srihunsa Malichan
30. Asst.Prof.Dr.Supot Kasem

31. Asst.Prof.Dr.Anongnuch Sasnarukkit
32. Asst.Prof.Dr.Udomsak Lertsuchatavanic
33. Asst.Prof.Dr.Raksak Sermsak

Subject: Plants (External)

1. Prof.Dr.Niphon Thaveechai
2. Assoc.Prof.Dr.Somsiri Sangchote
3. Assoc.Prof.Dr.Ampaiwan Paradornuwat
4. Assoc.Prof.Dr.Yingyong Paisooksantiwatana
5. Assoc.Prof.Dr.Sutevee Sukprakarn
6. Assoc.Prof.Dr.Surawit Wannakrairoj
7. Asst.Prof.Dr.Parichat Dittakit
8. Asst.Prof.Dr.Suthep Thongpae
9. Asst.Prof.Dr.Watcharra Chintakovid
10. Asst.Prof.Dr.Panumart Rithichai

รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิ

สาขาสัตว์: ผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

1. รศ.ดร.ธีรวิทย์ เปี่ยคำภา	ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร
2. รศ.ดร.ศกร คุณวุฒิฤทธิรณ	ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร
3. ผศ.ดร.อัจฉรา ขยัน	ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร
4. อ.ดร. ก ทีปลักษณ์ ระงับเหตุ	ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร
5. อ.ดร.ดนัย จัตวา	ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร
6. อ.ดร.ทวี เหล่าดิ้ม	ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน
7. รศ.ดร.ยุวเรศ เรืองพานิช	ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน
8. ผศ.ดร.ศศิธร นาคทอง	ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน
9. ผศ.ดร.รุ่งอรุณ ทิศกระโทก	ภาควิชากีฏวิทยา คณะเกษตร
10. ผศ.ดร.สุจิตตา เรืองรัศมี	ภาควิชาคหกรรมศาสตร์ คณะเกษตร
11. รศ.น.สพ.ดร.อรรถวิทย์ โกวิทวที	ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์
12. ดร.พิพัฒน์พงษ์ จันทร์แดง	ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์
13. ผศ.ดร.กรอร วงษ์กำแหง	ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
14. รศ.ดร.อุทัยวรรณ โกวิทวที	ภาควิชาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
15. รศ.ดร.อุไรวรรณ อรัญวาสน์	ภาควิชาพันธุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์
16. ผศ.ดร.พีรวัฒน์ วัฒนพงศ์	ภาควิชาวิศวกรรมคอมพิวเตอร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์
17. ผศ.ดร.สาทิต ฉัตรชัยพันธ์	ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง
18. ผศ.ส.พญ.ดร.สุปภาดา คณานับ	ภาควิชาสัตวแพทยสาธารณสุขศาสตร์ คณะสัตวแพทยศาสตร์

สาขาสัตว์: ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก

1. รศ.น.สพ.ดร.กฤษ อังคนาพร	ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
2. รศ.ดร.ฉลอง วชิราภากร	ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

3. ผศ.ดร.เสาวลักษณ์ แย้มหมื่นอาจ	ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
4. ผศ.ดร.อุมาพร แพทย์ศาสตร์	โครงการจัดตั้งคณะนวัตกรรมการเกษตรและประมง มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
5. อ.ดร.มัทนียา สารกุล	คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยนครพนม

Editorial Board

Subject: Animal (Internal)

1. Assoc.Prof.Dr.Theerawit Poeikhampha	2. Assoc.Prof.Dr.Skorn Koonawootrittriron
3. Asst.Prof.Dr.Autchara Kayan	4. Dr.K Teepalak Rangubhet
5. Dr.Danai Jattawa	6. Dr.Thawee Laodim
7. Assoc.Prof.Dr.Yuwares Ruangpanit	8. Asst.Prof.Dr.Sasitorn Nakthong
9. Asst.Prof.Dr.Rungarun Tisgratog	10. Asst.Prof.Dr.Sujitta Raungrusmee
11. Assoc.Prof.Dr.Attawit Kovitvadhi	12. Dr.Pipatpong Chundang
13. Asst.Prof.Dr.Koraon Wongkamhaeng	14. Assoc.Prof.Dr.Uthaiwan Kovitvadhi
15. Assoc.Prof.Dr.Uraiwan Arunyawat	16. Asst.Prof.Dr.Pirawat Watanapongse
17. Asst.Prof.Dr.Satid Chatchaiphan	18. Asst.Prof.Dr.Suppada Kananub

Subject: Animal (External)

1. Assoc.Prof.Dr.Kris Angkanaporn	2. Assoc.Prof.Dr.Chalong Wachirapakorn
3. Asst.Prof.Dr.Saowaluck Yammuen-art	4. Asst.Prof.Dr.Umaporn Pastsart
5. Dr.Mattaneeya Sarakul	

รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิ

สาขาสัตวแพทยศาสตร์: ผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

1. รศ.น.สพ.ดร.อรรถวิทย์ โกวิทวที	ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์
2. อ.สพ.ญ.พรสุชา พละเสวีนันท์	ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์
3. อ.น.สพ.ดร.ณัฐพงศ์ อัครินมาจิรโชติ	ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์
4. ผศ.ดร.ปรีดา เลิศวัชระสารกุล	ภาควิชาพยาธิวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์
5. น.สพ.ดร.ศุภชาติ ปานเนียม	โรงพยาบาลสัตว์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ทิพย์พิมาน
6. อ.น.สพ.อนวัช แสงมาลี	ภาควิชาเวชศาสตร์คลินิกสัตว์ใหญ่และสัตว์ป่า
7. อ.สพ.ญ.ดร.พัชรพร กรมขันธ์	ภาควิชาสรีรวิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์

Editorial Board

Subject: Veterinary Medicine (Internal)

1. Assoc.Prof.Dr.Attawit Kovitvadhi
2. Miss.Pornsucha Palaseweenun
3. Dr.Nattaphong Akrimajiracoote
4. Asst.Prof.Dr.Preeda Lertwatcharasarakul
5. Dr.Supachart Pannium
6. Mr.Anawat Sangmalee
7. Dr.Pudcharaporn Kromkhun

รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิ

สาขาประมง: ผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

1. ผศ.ดร.เมธี แก้วเนิน	ภาควิชาการจัดการประมง คณะประมง
2. ผศ.ดร.ศันสนีย์ หวังวรลักษณ์	ภาควิชาการจัดการประมง คณะประมง
3. รศ.ชัชรี แก้วสุรลิขิต	ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง
4. รศ.ดร.จารุมาศ เมฆสัมพันธ์	ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง
5. ผศ.ดร.ไพลิน จิตรชุ่ม	ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง
6. ผศ.สมหมาย เจนกิจการ	ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง
7. ผศ.ดร.เกรียงไกร สถาพรวานิชย์	ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง
8. ผศ.ดร.สันติ พ่วงเจริญ	ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง
9. ผศ.ดร.จันทนา ไพรบูรณ์	ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง
10. ผศ.ดร.พัชรี ครูขยัน	ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง
11. ผศ.ดร.ถิรวัฒน์ รายรัตน์	ภาควิชาชีววิทยาประมง คณะประมง
12. รศ.ดร.กังสดาลย์ บุญปราบ	ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง
13. ผศ.ดร.จีรภา หินซุย	ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง
14. ผศ.ดร.ภาสกร กิ่งวัชระพงศ์	ภาควิชาผลิตภัณฑ์ประมง คณะประมง
15. รศ.ดร.วราห์ เทพาหุดี	ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง
16. รศ.ดร.ประพันธ์ศักดิ์ ศีรษะภูมิ	ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง
17. นายสรณัฏฐ์ ศิริสวย	ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง
18. ผศ.ดร.อิสริยา วุฒิสินธุ์	ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง
19. ผศ.ดร.พงศ์เชฏฐ์ พิชิตกุล	ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง
20. ผศ.ดร.สุขกฤช นิมิตรกุล	ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง
21. ผศ.ดร.สาทิต ฉัตรชัยพันธ์	ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง
22. ผศ.ดร.รุ่งพฤทธิ์ จงเจริญสุข	ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง
23. ดร.จักร อรัณยกานนท์	ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง
24. ดร.พูนสิน กันทา	ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง
25. ผศ.ดร.ธีระพงศ์ ด้วงดี	ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง

26. ผศ.ดร.ปริญญา ลิมป์วิริยะกุล	ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง
27. ผศ.ดร.สุชาย วรชนะนันท์	ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง
28. ผศ.ดร.จิตราภรณ์ ฟักโสภา	ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง
29. ผศ.ดร.ธนัสพงษ์ โภควนิช	ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง
30. ดร.วชิระ ใจงาม	ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะประมง
31. นายณัฐพงษ์ ปานขาว	ศูนย์บริหารงานวิจัยและสนับสนุนวิชาการ คณะประมง
32. รศ.ดร.รัฐชา ชัยชนะ	ภาควิชาเทคโนโลยีและการจัดการสิ่งแวดล้อม คณะสิ่งแวดล้อม
33. ผศ.ดร.สมปรารถนา ฤทธิ์พริ้ง	ภาควิชาวิศวกรรมทรัพยากรน้ำ คณะวิศวกรรมศาสตร์
34. ผศ.ดร.สุชีลา พลเรือง	ภาควิชาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม คณะวิศวกรรมศาสตร์
35. รศ.ดร.แตงอ่อน พรหมมิ	ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน

สาขาประมง: ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก

1. รศ.ดร.อรพร หมื่นพล	ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะประมง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
2. รศ.ดร.สุธี วงศ์มณีประทีป	สาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
3. ผศ.ดร.ปัทมา วิริยพัฒนทรัพย์	สาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
4. ดร.วาสนา ไพรสิงห์ขรณ์	สาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Editorial Board

Subject: Fisheries (Internal)

1. Asst.Prof.Dr Sansanee Wangvoralak	2. Asst.Prof.Dr Methee Kaewnern
3. Assoc.Prof.Chatcharee Kaewsuralikhit	4. Assoc.Prof.Dr.Charumas Meksumpun
5. Asst.Prof.Dr.Pailin Jitchum	6. Asst.Prof.Sommai Janekitkarn
7. Asst.Prof.Dr.Kriengkrai Satapornvanit	8. Asst.Prof.Dr.Santi Poungcharean
9. Asst.Prof.Dr.Jantana Praiboon	10. Asst.Prof.Dr.Patcharee Khrukhayan
11. Asst.Prof.Dr.Tirawat Rairat	12. Assoc.Prof.Dr.Kangsadan Boonprab
13. Asst.Prof.Dr.Jirapa Hinsui	14. Asst.Prof.Dr.Passakorn Kingwascharapong
15. Assoc.Prof.Dr.Wara Taparhudee	16. Assoc.Prof.Dr.Prapansak Srisapoome
17. Mr.Soranuth Sirisuay	18. Asst.Prof.Dr.Idsariya Wudtisin
19. Asst.Prof.Dr.Phongchate Pichitkul	20. Asst.Prof.Dr.Sukkrit Nimitkul
21. Asst.Prof.Dr.Satid Chatchaiphan	22. Asst.Prof.Dr.Roongparit Jongjaraunsuk
23. Dr.Chak Aranyakanont	24. Dr.Phunsin Kantha
25. Asst.Prof.Dr.Teerapong Duangdee	26. Asst.Prof.Dr.Parinya Limviriyakul

27. Asst.Prof.Dr.Suchai Worachananant
28. Asst.Prof.Dr.Jitraporn Phaksopa
29. Asst.Prof.Dr.Tanuspong Pokavanich
30. Dr.Wachirah Jaingam
31. Mr.Natthapong Paankhao
32. Assoc.Prof.Dr.Ratcha Chaichana
33. Asst.Prof.Dr.Sompratana Ritphring
34. Asst.Prof.Dr.Sucheela Polruang
35. Assoc.Prof.Dr.Taeng On Prommi

Subject: Fisheries (External)

1. Assoc.Prof.Dr.Oraporn Meunpol
2. Assoc.Prof.Dr.Sutee Wongmaneeprateep
3. Asst.Prof.Dr.Pattama Wiriyapattanasub
4. Dr.Wassana Prisingkorn

รายชื่อผู้ทรงคุณวุฒิ

สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์: ผู้ทรงคุณวุฒิภายใน

1. รศ.ดร.พิชัย ทองดีเลิศ	ภาควิชาส่งเสริมและนิเทศศาสตร์เกษตร คณะเกษตร
2. รศ.ดร.พัชราวดี ศรีบุญเรือง	ภาควิชาส่งเสริมและนิเทศศาสตร์เกษตร คณะเกษตร
3. ผศ.ดร.สุพัตรา ศรีสุวรรณ	ภาควิชาส่งเสริมและนิเทศศาสตร์เกษตร คณะเกษตร
4. ผศ.ดร.พนามาศ ตรีวรรณกุล	ภาควิชาส่งเสริมและนิเทศศาสตร์เกษตร คณะเกษตร
5. ผศ.ดร.ชลาธร จูเจริญ	ภาควิชาส่งเสริมและนิเทศศาสตร์เกษตร คณะเกษตร
6. ผศ.ดร.เมตตา เร่งขวนขวาย	ภาควิชาส่งเสริมและนิเทศศาสตร์เกษตร คณะเกษตร

สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์: ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก

1. รศ.ดร.สมศักดิ์ คูหาสวรรค์เวช	คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
2. ผศ.ดร.ดวงกมล ปานรศทิพ ธรรมาธิวัฒน์	คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
3. รศ.ดร.ยศ บริสุทธิ์	คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Editorial Board

Subject: Agricultural Extension and Home Economics (Internal)

1. Assoc.Prof.Dr.Pichai Tongdeelert	Department of Agricultural Extension and Communication, Faculty of Agriculture
2. Assoc.Prof.Dr.Patcharavadee Sriboonruang	Department of Agricultural Extension and Communication, Faculty of Agriculture
3. Asst.Prof.Dr.Supattra Srisuwan	Department of Agricultural Extension and Communication, Faculty of Agriculture

ประกาศมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เรื่อง แต่งตั้งคณะกรรมการจัดการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ ๖๒ ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ด้วยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ร่วมกับกระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม กระทรวงดิจิทัล เพื่อเศรษฐกิจและสังคม กระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม กระทรวงศึกษาธิการ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ มหาวิทยาลัยกลุ่มเครือข่ายวิจัยประชาชื่น สำนักงานการวิจัยแห่งชาติ และสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม จัดให้มีการประชุมทางวิชาการครั้งที่ ๖๒ ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในปีพุทธศักราช ๒๕๖๗ มีวัตถุประสงค์เพื่อนำเสนอผลงานวิจัย แลกเปลี่ยนความรู้ความคิดเห็น ประสบการณ์ และเพื่อเผยแพร่ผลงานวิจัยสาขาต่างๆ สู่สาธารณชน

เพื่อให้การประชุมทางวิชาการครั้งที่ ๖๒ ดำเนินไปด้วยความเรียบร้อยและบรรลุผลสำเร็จตามวัตถุประสงค์ที่วางไว้ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์จึงแต่งตั้งคณะกรรมการจัดการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ ๖๒ ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ดังต่อไปนี้

คณะกรรมการอำนวยการจัดการประชุมทางวิชาการ

๑.	นายกสภามหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	ที่ปรึกษา
๒.	ปลัดกระทรวงการอุดมศึกษา วิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม	ที่ปรึกษา
๓.	ปลัดกระทรวงดิจิทัลเพื่อเศรษฐกิจและสังคม	ที่ปรึกษา
๔.	ปลัดกระทรวงทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม	ที่ปรึกษา
๕.	ปลัดกระทรวงศึกษาธิการ	ที่ปรึกษา
๖.	ปลัดกระทรวงเกษตรและสหกรณ์	ที่ปรึกษา
๗.	ผู้อำนวยการสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์วิจัยและนวัตกรรม	ที่ปรึกษา
๘.	ผู้อำนวยการสำนักงานการวิจัยแห่งชาติ	ที่ปรึกษา
๙.	ประธานกลุ่มมหาวิทยาลัยเครือข่ายวิจัยประชาชื่น	ที่ปรึกษา
๑๐.	อธิบดีกรมการข้าว	ที่ปรึกษา
๑๑.	อธิบดีกรมชลประทาน	ที่ปรึกษา
๑๒.	อธิบดีกรมประมง	ที่ปรึกษา
๑๓.	อธิบดีกรมพัฒนาที่ดิน	ที่ปรึกษา
๑๔.	อธิบดีกรมส่งเสริมการเกษตร	ที่ปรึกษา

๑๕.	อธิบดีกรมวิชาการเกษตร	ที่ปรึกษา
๑๖.	อธิบดีกรมป่าไม้	ที่ปรึกษา
๑๗.	อธิบดีกรมควบคุมมลพิษ	ที่ปรึกษา
๑๘.	อธิบดีกรมทรัพยากรธรณี	ที่ปรึกษา
๑๙.	อธิบดีกรมทรัพยากรทางทะเลและชายฝั่ง	ที่ปรึกษา
๒๐.	อธิบดีกรมส่งเสริมคุณภาพสิ่งแวดล้อม	ที่ปรึกษา
๒๑.	ผู้อำนวยการสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ	ที่ปรึกษา
๒๒.	นายกสมาคมนิสิตเก่ามหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ในพระบรมราชูปถัมภ์	ที่ปรึกษา
๒๓.	ผู้อำนวยการสถาบันสุขภาพสัตว์แห่งชาติ กรมปศุสัตว์	ที่ปรึกษา
๒๔.	ผู้เชี่ยวชาญด้านการพัฒนาธุรกิจสหกรณ์ กรมส่งเสริมสหกรณ์	ที่ปรึกษา
๒๕.	รักษาการในตำแหน่งผู้เชี่ยวชาญเฉพาะด้านวิจัยการอนุรักษ์ป่าไม้ กรมอุทยานแห่งชาติ สัตว์ป่า และพันธุ์พืช	ที่ปรึกษา
๒๖.	อธิการบดีมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	ประธานกรรมการ
๒๗.	รองอธิการบดีฝ่ายวิจัยและสร้างสรรค์	รองประธานกรรมการ
๒๘.	รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ	รองประธานกรรมการ
๒๙.	รองอธิการบดีฝ่ายบริหาร	กรรมการ
๓๐.	รองอธิการบดีฝ่ายเทคโนโลยีดิจิทัล	กรรมการ
๓๑.	รองอธิการบดีฝ่ายนวัตกรรมและกิจการเพื่อสังคม	กรรมการ
๓๒.	รองอธิการบดีฝ่ายกิจการนิสิตและพัฒนาอย่างยั่งยืน	กรรมการ
๓๓.	รองอธิการบดีฝ่ายพัฒนาคุณภาพ	กรรมการ
๓๔.	รองอธิการบดีฝ่ายการเงินและทรัพย์สิน	กรรมการ
๓๕.	รองอธิการบดีฝ่ายวิเทศสัมพันธ์	กรรมการ
๓๖.	รองอธิการบดีฝ่ายกิจการสภามหาวิทยาลัยและพัฒนาทรัพยากรมนุษย์	กรรมการ
๓๗.	รองอธิการบดีฝ่ายพัฒนาบัณฑิตขั้นสูงและโครงการจัดตั้งวิทยาเขตสุพรรณบุรี	กรรมการ
๓๘.	รองอธิการบดีวิทยาเขตกำแพงแสน	กรรมการ
๓๙.	รองอธิการบดีวิทยาเขตศรีราชา	กรรมการ
๔๐.	รองอธิการบดีวิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดสกลนคร	กรรมการ
๔๑.	คณบดีคณะเกษตร	กรรมการ
๔๒.	คณบดีคณะประมง	กรรมการ
๔๓.	คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์	กรรมการ

๔๔.	คณบดีคณะเทคนิคการสัตวแพทย์	กรรมการ
๔๕.	คณบดีคณะวิทยาศาสตร์	กรรมการ
๔๖.	คณบดีคณะสิ่งแวดล้อม	กรรมการ
๔๗.	คณบดีคณะวนศาสตร์	กรรมการ
๔๘.	คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์	กรรมการ
๔๙.	คณบดีคณะสถาปัตยกรรมศาสตร์	กรรมการ
๕๐.	คณบดีคณะอุตสาหกรรมเกษตร	กรรมการ
๕๑.	คณบดีคณะเศรษฐศาสตร์	กรรมการ
๕๒.	คณบดีคณะบริหารธุรกิจ	กรรมการ
๕๓.	คณบดีคณะศึกษาศาสตร์	กรรมการ
๕๔.	คณบดีคณะสังคมศาสตร์	กรรมการ
๕๕.	คณบดีคณะมนุษยศาสตร์	กรรมการ
๕๖.	คณบดีคณะแพทยศาสตร์	กรรมการ
๕๗.	คณบดีคณะพยาบาลศาสตร์	กรรมการ
๕๘.	คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย	กรรมการ
๕๙.	ผู้อำนวยการสำนักหอสมุด	กรรมการ
๖๐.	ผู้อำนวยการสำนักพัฒนาการเรียนรู้ตลอดชีวิต	กรรมการ
๖๑.	ผู้อำนวยการสำนักบริการคอมพิวเตอร์	กรรมการ
๖๒.	นายกสมาคมเมล็ดพันธุ์แห่งประเทศไทย	กรรมการ
๖๓.	นายกสมาคมนักวิชาการอ้อยและน้ำตาลแห่งประเทศไทย	กรรมการ
๖๔.	นายกสมาคมวิทยาศาสตร์เกษตรในพระบรมราชูปถัมภ์	กรรมการ
๖๕.	นายกสมาคมดินและปุ๋ยแห่งประเทศไทย	กรรมการ
๖๖.	นายกสมาคมนักโรคพืชแห่งประเทศไทย	กรรมการ
๖๗.	นายกสมาคมสภาวิชาการอุตสาหกรรมเกษตร	กรรมการ
๖๘.	นายกสมาคมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทางอาหารแห่งประเทศไทย	กรรมการ
๖๙.	นายกสัตวแพทยสภา	กรรมการ
๗๐.	นายกสัตวแพทยสมาคมแห่งประเทศไทย ในพระบรมราชูปถัมภ์	กรรมการ
๗๑.	ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	กรรมการและเลขานุการ
๗๒.	รองผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ฝ่ายบริหาร	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๗๓.	หัวหน้าสำนักงานเลขานุการ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๗๔.	นางสาวพิชชาอรฐ์ สิริชีวเกษร	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

โดยให้คณะกรรมการชุดนี้มีหน้าที่ ให้ข้อคิดเห็นและอำนวยการให้การจัดการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ ๖๒ ดำเนินไปด้วยความเรียบร้อย

คณะกรรมการฝ่ายวิชาการ

๑. รองอธิการบดีฝ่ายวิจัยและสร้างสรรค์	ที่ปรึกษา
๒. รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ	ที่ปรึกษา
๓. ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	ที่ปรึกษา
๔. รองผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ฝ่ายบริหาร	ประธานกรรมการ
๕. นายปิยวัตน์ ดิลกสัมพันธ์	รองประธานกรรมการ
๖. นางสาวพิชชาอรฐ์ สิริชีวเกษร	กรรมการและเลขานุการ
๗. นางสาวกัญญารัตน์ สุวรรณทีป	ผู้ช่วยเลขานุการ
๘. นางสาวพัชราภา รัตนวิญญูภิรมย์	ผู้ช่วยเลขานุการ

๙. กรรมการหมวดวิชาการเกษตรศาสตร์

๙.๑ สาขาพืช

๑. คณบดีคณะเกษตร	ที่ปรึกษา
๒. รองศาสตราจารย์พัชรียา บุญกอแก้ว	ประธานกรรมการ
๓. ผู้ช่วยศาสตราจารย์พิจิตรา แก้วสอน	รองประธานกรรมการ
๔. รองศาสตราจารย์เฉลิมพล ภูมิไชย์	กรรมการ
๕. รองศาสตราจารย์ชูศักดิ์ จอมพุก	กรรมการ
๖. รองศาสตราจารย์ธิดา เดชฮวบ	กรรมการ
๗. รองศาสตราจารย์เนตรนภิส เขียวขำ	กรรมการ
๘. รองศาสตราจารย์ปิติพงษ์ โตบันลือภพ	กรรมการ
๙. รองศาสตราจารย์วรชาติ วิศวพิพัฒน์	กรรมการ
๑๐. รองศาสตราจารย์ศุภธิดา อับดุลลากาซิม	กรรมการ
๑๑. รองศาสตราจารย์สุตเขตต์ นาคะเสถียร	กรรมการ
๑๒. รองศาสตราจารย์อรอุมา เพียซ้าย	กรรมการ
๑๓. รองศาสตราจารย์เสาวนุช ถาวรพฤกษ์	กรรมการ
๑๔. รองศาสตราจารย์อัศเลข รัตนวรรณี	กรรมการ
๑๕. รองศาสตราจารย์เอกพันธ์ ไกรจักร์	กรรมการ
๑๖. ผู้ช่วยศาสตราจารย์กาญจนา บุญเรือง	กรรมการ
๑๗. ผู้ช่วยศาสตราจารย์จรีรัตน์ ฉันทวุฒิพร	กรรมการ
๑๘. ผู้ช่วยศาสตราจารย์จุฑามาศ ร่มแก้ว	กรรมการ

๑๙. ผู้ช่วยศาสตราจารย์จุติภรณ์ ทัสสกุลพนิช กรรมการ
๒๐. ผู้ช่วยศาสตราจารย์เจนจิรา ชุมภูคำ กรรมการ
๒๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์เฉลิมชาติ วงศ์ลี้เจริญ กรรมการ
๒๒. ผู้ช่วยศาสตราจารย์เฌอมาลย์ วงศ์ชาวจันท์ กรรมการ
๒๓. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ดำรงวุฒิ อ่อนวิมล กรรมการ
๒๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ทรงยศ โชติชุติมา กรรมการ
๒๕. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ทัศไนย จารุวัฒนพันธ์ กรรมการ
๒๖. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนพล ไชยแสน กรรมการ
๒๗. ผู้ช่วยศาสตราจารย์นพ ตัณมุขยกุล กรรมการ
๒๘. ผู้ช่วยศาสตราจารย์เบญญา มะโนชัย กรรมการ
๒๙. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปริยานุช จุลกะ กรรมการ
๓๐. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปาริชาติ พรมโชติ กรรมการ
๓๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปวีณา ชื่นวาริน กรรมการ
๓๒. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปิยะ กิตติภาดากุล กรรมการ
๓๓. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปิยะณัฏฐ์ ผกามาศ กรรมการ
๓๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์เพชรดา ปินใจ กรรมการ
๓๕. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ภัศจี คงศีล กรรมการ
๓๖. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ภัสสร วรรณพินิจ กรรมการ
๓๗. ผู้ช่วยศาสตราจารย์รักศักดิ์ เสริมศักดิ์ กรรมการ
๓๘. ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัชฎาวรรณ เงินกลั่น กรรมการ
๓๙. ผู้ช่วยศาสตราจารย์วีรชัย มัธยัสถ์ถาวร กรรมการ
๔๐. ผู้ช่วยศาสตราจารย์สมชัย อนุสนธิ์พรเพิ่ม กรรมการ
๔๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์สราวุธ รุ่งเมฆารัตน์ กรรมการ
๔๒. ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุจินต์ เจนวีรววัฒน์ กรรมการ
๔๓. ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุพจน์ กาเซ็ม กรรมการ
๔๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุรพงษ์ ดำรงกิตติกุล กรรมการ
๔๕. ผู้ช่วยศาสตราจารย์อนงค์นุช สาสนรักกิจ กรรมการ
๔๖. ผู้ช่วยศาสตราจารย์อัญมณี อาวุชานนท์ กรรมการ
๔๗. ผู้ช่วยศาสตราจารย์อัณณ์ชญาน์ มงคลชัยพฤกษ์ กรรมการ
๔๘. ผู้ช่วยศาสตราจารย์อารยา อาจเจริญ เทียนหอม กรรมการ
๔๙. ผู้ช่วยศาสตราจารย์อุดมศักดิ์ เลิศสุชาตวนิช กรรมการ
๕๐. ผู้ช่วยศาสตราจารย์วรรณสิริ วรรณรัตน์ กรรมการ
๕๑. นายเจตษฎา อุตรพันธ์ กรรมการ

๕๒. นางสาวนิตยา ชูเกาะ กรรมการ
๕๓. นางสาวอรุณี วงษ์แก้ว กรรมการ
๕๔. นางสาวภารดี ธรรมาภิชัย กรรมการ
๕๕. นายอภิเดช รักษ์เป็นไทย กรรมการ
๕๖. นางสาวสรัญญา จันทรวิวัฒน์ กรรมการและเลขานุการ
๕๗. นางสมจิตต์ สองบาง กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

๙.๒ สาขาสัตว์

๑. คณบดีคณะเกษตร ที่ปรึกษา
๒. นายกสมาคมสัตวบาลแห่งประเทศไทย ในพระราชูปถัมภ์ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี ที่ปรึกษา
๓. รองศาสตราจารย์พรรณวดี โสพรรณรัตน์ ประธานกรรมการ
๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนาทิพย์ สุวรรณโสภี รองประธานกรรมการ
๕. ศาสตราจารย์ชัยภูมิ บัญชาศักดิ์ กรรมการ
๖. รองศาสตราจารย์ศกร คุณวุฒิฤทธิรณ กรรมการ
๗. รองศาสตราจารย์วิริยา ลุ้งใหญ่ กรรมการ
๘. รองศาสตราจารย์ธีรวิทย์ เป่ยคำภา กรรมการ
๙. รองศาสตราจารย์ชาญวิทย์ แก้วตาปี กรรมการ
๑๐. ผู้ช่วยศาสตราจารย์อัจฉรา ขยัน กรรมการ
๑๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์กนกพร พ่วงพงษ์ กรรมการ
๑๒. ผู้ช่วยศาสตราจารย์เชาว์วิทย์ ระฆังทอง กรรมการ
๑๓. ผู้ช่วยศาสตราจารย์พงศ์ธร คงมั่น กรรมการ
๑๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ สโรช แก้วมณี กรรมการ
๑๕. สัตวแพทย์หญิง มัธย์ฤน โล่ทอง กรรมการ
๑๖. นายสัตวแพทย์ เสวก เกียรติสมภพ กรรมการ
๑๗. นายดนัย จัตวา กรรมการ
๑๘. นายสมบัติ ประสงค์สุข กรรมการ
๑๙. นางสาวอัญชลี บวดขุนทด กรรมการ
๒๐. นางสาวนิภารัตน์ โคตะนนท์ กรรมการ
๒๑. นางสาวทิพย์มนต์ ใยเกษ กรรมการ
๒๒. นายพัลลภ ตั้งตระกูลทรัพย์ กรรมการ
๒๓. นางสาวพนัดดา บึงศรีสวัสดิ์ กรรมการและเลขานุการ
๒๔. นางสาว ก. ทีปลักษณ์ ระงับเหตุ กรรมการและเลขานุการ

๒๕. นางสาววัชราภรณ์ ศรีพลน้อย	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๒๖. นางสาวสุภาพร ย้อนโคกสูง	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๒๗. นางสาวพิจิตรา เปียธัญญา	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

๙.๓ สาขาประมง

๑. คณบดีคณะประมง	ที่ปรึกษา
๒. ศาสตราจารย์อุทัยรัตน์ ณ นคร	ที่ปรึกษา
๓. ศาสตราจารย์สุภาวดี พุ่มพวง	ที่ปรึกษา
๔. ศาสตราจารย์เชษฐพงษ์ เมฆสัมพันธ์	ที่ปรึกษา
๕. รองศาสตราจารย์วันชัย วรวัฒนเมธีกุล	ประธานกรรมการ
๖. หัวหน้าศูนย์บริหารงานวิจัยและสนับสนุนวิชาการ	กรรมการ
๗. รองศาสตราจารย์อรพินท์ จินตสถาพร	กรรมการ
๘. รองศาสตราจารย์วราห์ เทพาหุดี	กรรมการ
๙. รองศาสตราจารย์ประพันธ์ศักดิ์ ศิรษะภูมิ	กรรมการ
๑๐. รองศาสตราจารย์กังสดาลย์ บุญปราบ	กรรมการ
๑๑. รองศาสตราจารย์จินตนา สและน้อย	กรรมการ
๑๒. ผู้ช่วยศาสตราจารย์เมธี แก้วเนิน	กรรมการ
๑๓. ผู้ช่วยศาสตราจารย์พัชรี ครูขยัน	กรรมการ
๑๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์สันติ พ่วงเจริญ	กรรมการ
๑๕. ผู้ช่วยศาสตราจารย์สาทิต ฉัตรชัยพันธ์	กรรมการ
๑๖. ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุชาย วรชนะนันท์	กรรมการ
๑๗. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ถิรวัฒน์ รายรัตน์	กรรมการ
๑๘. นางสาวณัฏฐิกาฑ์ เหมภัทรสุวรรณ	กรรมการ
๑๙. นายวชิระ ใจงาม	กรรมการ
๒๐. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนัสพงษ์ โภควนิช	กรรมการและเลขานุการ
๒๑. นางสาวกาญจนา ทองเครือ	ผู้ช่วยเลขานุการ
๒๒. นางสาวสุมิตตรา สุพรรณ์นอก	ผู้ช่วยเลขานุการ

๙.๔ สาขาสัตวแพทยศาสตร์

๑. คณบดีคณะสัตวแพทยศาสตร์	ที่ปรึกษา
๒. รองคณบดีฝ่ายวิจัย คณะสัตวแพทยศาสตร์	ที่ปรึกษา
๓. รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ อรรถวิทย์ โกวิทวที	ประธานกรรมการ
๔. สัตวแพทย์หญิงพรสุชา พละเสวีนันท์	กรรมการ

๕.	นายสัตวแพทย์ณัฐพงศ์ อัครินาจิรโชติ	กรรมการ
๖.	นายวงศ์วิศว์ เจริญผล	กรรมการและเลขานุการ
๗.	นางสาวญาดา หาญปัญญาพิชิต	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๘.	นางสาววริศรา มารยาท	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

๙.๕ สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์

๑.	คณบดีคณะเกษตร	ที่ปรึกษา
๒.	รองศาสตราจารย์สาวิตรี รังสิภัทร์	ที่ปรึกษา
๓.	รองศาสตราจารย์จำนงรักษ์ อุดมเศรษฐ์	ที่ปรึกษา
๔.	รองศาสตราจารย์พัฒนา สุขประเสริฐ	ที่ปรึกษา
๕.	รองศาสตราจารย์ทัศนีย์ ลิ้มสุวรรณ	ที่ปรึกษา
๖.	รองศาสตราจารย์สิริพันธุ์ จุลกรังคะ	ที่ปรึกษา
๗.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุภาภรณ์ เลิศศิริ	ที่ปรึกษา
๘.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์อัญชนีย์ อุทัยพัฒนาชีพ	ที่ปรึกษา
๙.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ขจีจรัส ภิรมย์ธรรมศิริ	ที่ปรึกษา
๑๐.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ทวีศักดิ์ เตชะเกรียงไกร	ที่ปรึกษา
๑๑.	นางสาวศรันยา เผือกผ่อง	ที่ปรึกษา
๑๒.	นางสาวนริศรา อินทะสิริ	ประธานกรรมการ
๑๓.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์กานต์สุดา วันจันทึก	รองประธานกรรมการ
๑๔.	รองศาสตราจารย์พิชัย ทองดีเลิศ	กรรมการ
๑๕.	รองศาสตราจารย์พัชราวดี ศรีบุญเรือง	กรรมการ
๑๖.	รองศาสตราจารย์สุธีลักษณ์ ไกรสุวรรณ	กรรมการ
๑๗.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์พนามาศ ตรีวรรณกุล	กรรมการ
๑๘.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุพัตรา ศรีสุวรรณ	กรรมการ
๑๙.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธานินทร์ คงศิลา	กรรมการ
๒๐.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ชลาธร จูเจริญ	กรรมการ
๒๑.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์เมตตา เร่งขวนขวาย	กรรมการ
๒๒.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปพิชญา จินตพิทักษ์สกุล	กรรมการ
๒๓.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปรีดา สามงามยา	กรรมการ
๒๔.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์น้องนุช ศิริวงศ์	กรรมการ
๒๕.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ศิริพร เรียบร้อย คิม	กรรมการ
๒๖.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปาริสุทธิ์ เฉลิมชัยวัฒน์	กรรมการ
๒๗.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุจิตตา เรืองรัศมี	กรรมการ

๒๘. ผู้ช่วยศาสตราจารย์อำพร แจ่มผล กรรมการ
๒๙. ผู้ช่วยศาสตราจารย์รุ่งทิพย์ ลุยเลา กรรมการ
๓๐. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ชุติมา ชวลิตมณเฑียร กรรมการ
๓๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์วัลภา แต้มทอง กรรมการ
๓๒. ผู้ช่วยศาสตราจารย์พีรานุช เลิศวัฒนารักษ์ กรรมการ
๓๓. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ศศิประภา รัตนดิลก ณ ภูเก็ต กรรมการ
๓๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ทิพวรรณ ดวงปัญญา กรรมการ
๓๕. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ฤทัย เรืองธรรมสิงห์ กรรมการ
๓๖. ผู้ช่วยศาสตราจารย์สาวิตรี พังงา กรรมการ
๓๗. นางสาวนิโลบล วงศ์ภัทรนันท์ กรรมการ
๓๘. นางทิพากร ม่วงถึก กรรมการ
๓๙. นางกรกฎ แพทย์หลักฟ้า กรรมการ
๔๐. นายวิภูษณะ ศุภนคร กรรมการ
๔๑. นางสาววสพร นิชรัตน์ กรรมการ
๔๒. นางสุขกมล ปัญญาจันทร์ กรรมการ
๔๓. นางศรัญญา ศรีโยธิน กรรมการ
๔๔. นางสาวพิมพ์อร สุขแล้ว กรรมการ
๔๕. นางสาวทิวาพร มณีรัตนศุภร กรรมการ
๔๖. รองศาสตราจารย์พัชราวดี ศรีบุญเรือง กรรมการและเลขานุการ
๔๗. นายเสถียร แสงแถวทิม กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๔๘. นางภิญญาพัชญ์ โทนหงส์ษา กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๔๙. นางสาวปัณฑารีย์ ศิริชัย กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๕๐. นางสาวสุภิญญา ขาวผ่อง กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๕๑. นางสาวมณินทร เดชแห้ว กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๕๒. นางสาวกรรณิกา พุ่มสาหร่าย กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๕๓. นายภูคิษฐ์คมณ์ แสงตรีเพชรกล้า กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๕๔. นางสาวสวรรญา แย้มวันเพ็ง กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๕๕. นายสหภาพ ศรีโท กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

๑๐.กรรมการหมวดวิชาการวิทยาศาสตร์ เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อม

๑๐.๑ สาขาวิทยาศาสตร์

๑. คณบดีคณะวิทยาศาสตร์ ที่ปรึกษา
๒. ศาสตราจารย์อรินทิพย์ ธรรมชัยพิเนต ประธานกรรมการ

๓.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ณัฐสมน เพชรแสง	รองประธานกรรมการ
๔.	รองศาสตราจารย์ปกรณ์ วรรธนะอมร	กรรมการ
๕.	รองศาสตราจารย์โชติกา หยกทองวัฒนา	กรรมการ
๖.	รองศาสตราจารย์ฉัตรชัย เงินแสงสรวย	กรรมการ
๗.	รองศาสตราจารย์อัญชณี คูเบอร่า	กรรมการ
๘.	รองศาสตราจารย์ศิริกาญจนา ทองมี	กรรมการ
๙.	รองศาสตราจารย์มีนา เลา	กรรมการ
๑๐.	รองศาสตราจารย์วชิรญาณ์ ธงอาสา	กรรมการ
๑๑.	รองศาสตราจารย์พงศ์เทพ ประจงทัศน์	กรรมการ
๑๒.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์แคทลียา ดาวสุด	กรรมการ
๑๓.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์จุรีภรณ์ เชื้อดวงผุย	กรรมการ
๑๔.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์มานิตย์ จิตรภักดี	กรรมการ
๑๕.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ลัดดา แต่งวัฒนานุกูล	กรรมการ
๑๖.	นางสาวสุนทรี คุ้มไพโรจน์	กรรมการ
๑๗.	นายรัฐพันธ์ ตรงวิวัฒน์	กรรมการ
๑๘.	นางสาวพรทิพย์ บุญมหามงคล	กรรมการและเลขานุการ
๑๙.	นายสาธิต ประเสริฐมานะกิจ	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๒๐.	นายวรพงศ์ สิงห์ชาติ	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๒๑.	นางสาวแพรวไพลิน กังวานสุระ	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๒๒.	นางสาวภัสรา นวะบุศย์	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๒๓.	นางสาวจิระประภา ขันสุข	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๒๔.	นางสาววริศษา นรินทร	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๒๕.	นางสาวรอยพิมพ์ ธนานุศักดิ์	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

๑๐.๒ สาขาวิศวกรรมศาสตร์และสถาปัตยกรรมศาสตร์

๑.	คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์	ที่ปรึกษา
๒.	คณบดีคณะสถาปัตยกรรมศาสตร์	ที่ปรึกษา
๓.	รองศาสตราจารย์สิริพล อนันตวรสกุล	ประธานกรรมการ
๔.	รองศาสตราจารย์นวลวรรณ ทวยเจริญ	รองประธานกรรมการ
๕.	ศาสตราจารย์ธงไทย วิฑูรย์	กรรมการ
๖.	รองศาสตราจารย์พงศ์ศักดิ์ หนูพันธ์	กรรมการ
๗.	รองศาสตราจารย์วรดร วัฒนพานิช	กรรมการ
๘.	รองศาสตราจารย์อภินิติ โชติสังกาศ	กรรมการ

๙. รองศาสตราจารย์จักรพันธ์ อร่ามพงษ์พันธ์	กรรมการ
๑๐. รองศาสตราจารย์อรทัย จงประทีป	กรรมการ
๑๑. รองศาสตราจารย์จันทร์ศิริ สิงห์เถื่อน	กรรมการ
๑๒. รองศาสตราจารย์กฤษณะ ไวยมัย	กรรมการ
๑๓. รองศาสตราจารย์ชินธันย์ อารีประเสริฐ	กรรมการ
๑๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์กษิดิศ พนมสุวรรณ	กรรมการ
๑๕. ผู้ช่วยศาสตราจารย์สิตางศุ์ พิลัยหล้า	กรรมการ
๑๖. นางสาวศุภัชชา ชัยเมธานันท์	กรรมการ
๑๗. นางสาวสุทัตตา พาหุมันโต	กรรมการและเลขานุการ
๑๘. นางสาวสหพร แบบประดับ	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๑๙. นางสาวพัชรียา บุบผาชาติ	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๒๐. นางสาวขวัญกมล บุญโปร่ง	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

๑๐.๓ สาขาอุตสาหกรรมเกษตร

๑. รองศาสตราจารย์อุลัยวรรณ์ วิทยเกียรติ	ประธานกรรมการ
๒. รองศาสตราจารย์สุดสาย ตรีวานิช	รองประธานกรรมการ
๓. รองศาสตราจารย์วราภรณ์ บุญทรัพย์ทิพย์	กรรมการ
๔. รองศาสตราจารย์นันทวัน เทอดไทย	กรรมการ
๕. รองศาสตราจารย์วรรณสวัสดิ์ รัฐพิทักษ์สันติ	กรรมการ
๖. รองศาสตราจารย์ประกิต สุขใย	กรรมการ
๗. รองศาสตราจารย์กิติญา วงษ์คำจันทร์ โอราน	กรรมการ
๘. ผู้ช่วยศาสตราจารย์อภิชญา ลีลาวณิชกุล	กรรมการ
๙. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปิยะวณี จริยะสกุลโรจน์	กรรมการ
๑๐. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ณัฐทินี บำบัดสรรพโรค	กรรมการ
๑๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ขนิษฐา วัชราภรณ์	กรรมการ
๑๒. นางสาวพรรณภัทร พรหมเพ็ญ	กรรมการ
๑๓. นางสาวฐิตาภรณ์ ตัมพานุวัตร	กรรมการ
๑๔. นายธีระ ธุระกิจ	กรรมการ
๑๕. นางสาวสุพนิดา วินิจฉัย	กรรมการ
๑๖. นางสาวจารุพร รักใหม่	กรรมการ
๑๗. ผู้ช่วยศาสตราจารย์จุมพล วรสายัณห์	กรรมการและเลขานุการ
๑๘. นางดวงสมร นามกระโทก	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๑๙. นางสาวอัญชนา ชมภูแก้ว	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

๑๐.๔ สาขาทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม

๑. คณบดีคณะวนศาสตร์	ที่ปรึกษา
๒. คณบดีคณะสิ่งแวดล้อม	ที่ปรึกษา
๓. ผู้ช่วยศาสตราจารย์สาพิศ ดิลกสัมพันธ์	ประธานกรรมการ
๔. นายณัฐวัฒน์ คลังทรัพย์	รองประธานกรรมการ
๕. รองศาสตราจารย์นพรัตน์ คัคคุริวาระ	กรรมการ
๖. รองศาสตราจารย์พรเทพ เหมือนพงษ์	กรรมการ
๗. รองศาสตราจารย์แสงสรรค์ ภูมิสถาน	กรรมการ
๘. รองศาสตราจารย์สุรัตน์ บัวเลิศ	กรรมการ
๙. ผู้ช่วยศาสตราจารย์นิตยา เมี้ยนมิตร	กรรมการ
๑๐. ผู้ช่วยศาสตราจารย์กฤษฎาพันธุ์ ผลากิจ	กรรมการ
๑๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์พฤทธิ์ ราชรักษ์	กรรมการ
๑๒. ผู้ช่วยศาสตราจารย์สาวิตรี พิสุทธิ์พิเชฎฐ์	กรรมการ
๑๓. ผู้ช่วยศาสตราจารย์วิวัฒน์ หาญวงศ์จิรวัฒน์	กรรมการ
๑๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์วาทินี สวนผกา	กรรมการ
๑๕. ผู้ช่วยศาสตราจารย์จิราภรณ์ เทียมพันธ์พงศ์	กรรมการ
๑๖. ผู้ช่วยศาสตราจารย์อรอนงค์ ผิวนิล	กรรมการ
๑๗. ผู้ช่วยศาสตราจารย์นพวรรณ เสมวิมล	กรรมการ
๑๘. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนิศร์ ปัทมพิฑูร	กรรมการ
๑๙. ผู้ช่วยศาสตราจารย์วัชรพงษ์ วาระรัมย์	กรรมการ
๒๐. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ภาคภูมิ ชูมณี	กรรมการ
๒๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปวีร์ คล่องเวสสะ	กรรมการ
๒๒. นายยุทธพงษ์ คีรีมังคละ	กรรมการ
๒๓. นายฉัตรพรรษ พงษ์เจริญ	กรรมการ
๒๔. นายสุธี จรรยาสุทธิวงศ์	กรรมการ
๒๕. นางปิยาภรณ์ สมสมัคร	กรรมการ
๒๖. นางสาวแอน กำภู ณ อยุธยา	กรรมการ
๒๗. นางสาวมณีกาญจน์ อยู่เอี่ยม	กรรมการ
๒๘. นางวราภรณ์ ลำใย	กรรมการและเลขานุการ
๒๙. นางสาวละอองดาว เถาว์พิมาย	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๓๐. นางสาวจินตลา กลิ่นหวล	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๓๑. นางสาวศิรภัสสร ชมเชย	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

๓๒. นางณิชชา ประจันตะเสน กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

๓๓. นางสาวเสาวลักษณ์ บัวจันทร์ กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

๑๑.กรรมการหมวดวิชาการมนุษยศาสตร์ สังคมศาสตร์และศึกษาศาสตร์

๑๑.๑ สาขาเศรษฐศาสตร์และบริหารธุรกิจ

๑. คณบดีคณะเศรษฐศาสตร์ ที่ปรึกษา

๒. คณบดีคณะบริหารธุรกิจ ที่ปรึกษา

๓. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนาภรณ์ อธิปัญญากุล ประธานกรรมการ

๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์พลวัฒน์ เลิศกุลวัฒน์ รองประธานกรรมการ

๕. รองศาสตราจารย์ดุษณี เกศวยุธ กรรมการ

๖. รองศาสตราจารย์กัมปนาท วิจิตรศรีกมล กรรมการ

๗. รองศาสตราจารย์วรัญพงศ์ บุญศิริธรรมชัย กรรมการ

๘. รองศาสตราจารย์วุฒิไกร งามศิริจิตต์ กรรมการ

๙. ผู้ช่วยศาสตราจารย์อุชุก ด้วงบุตรศรี กรรมการ

๑๐. ผู้ช่วยศาสตราจารย์พัฒน์ พิสิษฐเกษม กรรมการ

๑๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ณัฐวุฒิ คูวัฒนเธียรชัย กรรมการ

๑๒. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธงชัย ศรีวรรธนะ กรรมการ

๑๓. หม่อมหลวงกุณฑลรัตน์ ทวีวงศ์ กรรมการ

๑๔. นางสาวณิธิชา ธรรมธนากูล กรรมการ

๑๕. นายห้องศิลป์ ศรีเกตุ กรรมการ

๑๖. นางสาวณัฏฐณิชา ฉายรัศมี กรรมการ

๑๗. นางสาวธิดารัตน์ คุ้มกิจ กรรมการ

๑๘. นางลลิตา จันทรวงศ์ไพศาล หงุ่ยตระกูล กรรมการ

๑๙. นางสาวกรรณิกา มิตรปล้อง กรรมการ

๒๐. นางเบญจมาศ แย้มพลอย กรรมการและเลขานุการ

๒๑. นางสาวปรารถนา ประสงค์สิน กรรมการและเลขานุการ

๒๒. นายภคพงศ์ พวงศรี กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

๒๓. นางสาวภีรตา รัตนสิงหกุล กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

๒๔. นางขวัญเมือง สุจริต กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

๒๕. นางสาวรัตติยา สาระโท กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

๒๖. นางสาวรุจาภา แว่นแก้ว กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

๒๗. นางสาวสมพิศ ทิมเทศ กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

๒๘. นางสาวจินตนา บุญสุวรรณ กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

๒๙. นางสาววรรณนิภา ชาวนา	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๓๐. นายสมชาย ตามบุญ	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๓๑. นายสัญชัย ทองขาว	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๓๒. นางสาวเพชรรัตน์ พิลาชัย	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๓๓. นางสาวธัญลักษณ์ เกษแก้ว	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๓๔. นางสาวพวงผกา โชคชัยสมบัติ	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๓๕. นางสาวธิติพันธ์ ละอองเทพ	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๓๖. นางสุวรรณี ศิริวัฒนสาธร	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๓๗. นายปิติศักดิ์ อุปสุข	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๓๘. นางสาวชุดติมา อุบลบาน	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๓๙. นางสาวเพ็ญเพชร สนั่นเมือง	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๔๐. นางสาวธัญลักษณ์ เพ็งพินิจ	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๔๑. นางสาวอรการณ์ วีระชยาภรณ์	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๔๒. นายทองปาน ขันตีกรม	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๔๓. นายฉัตรชัย พ่วงพลับ	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๔๔. นางสาวอารีย์ สี่แสงมุข	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๔๕. นางสาวพรสุดา แตงจาด	กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

๑๑.๒ สาขาศึกษาศาสตร์

๑. คณบดีคณะศึกษาศาสตร์	ที่ปรึกษา
๒. ผู้ช่วยศาสตราจารย์พิกุล เอกวรางกูร	ประธานกรรมการ
๓. รองศาสตราจารย์วรรณดี สุทธินรากร	รองประธานกรรมการ
๔. รองศาสตราจารย์ชาตรี ฝ่ายคำตา	รองประธานกรรมการ
๕. รองศาสตราจารย์ชานนท์ จันทรา	กรรมการ
๖. รองศาสตราจารย์ภัทรวรรธน์ จีรพัฒน์ธนธร	กรรมการ
๗. รองศาสตราจารย์กรกฎา นักคิ้ม	กรรมการ
๘. รองศาสตราจารย์ชลาธิป สมาหิโต	กรรมการ
๙. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ทรงชัย อักษรคิด	กรรมการ
๑๐. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ชูศักดิ์ เอื้องโชคชัย	กรรมการ
๑๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์วัตสาตรี ดิถียนต์	กรรมการ
๑๒. ผู้ช่วยศาสตราจารย์บุญเลิศ อุทยานิก	กรรมการ
๑๓. ผู้ช่วยศาสตราจารย์วารุณี ลัภนโชคดี	กรรมการ
๑๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ฉัตรศิริ ปิยะพิมลสิทธิ์	กรรมการ

๑๕. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธนนันท์ ธนารัชตะภูมิ กรรมการ
๑๖. ผู้ช่วยศาสตราจารย์สรียา โชติธรรม กรรมการ
๑๗. นางสาวเขมวดี พงศานนท์ กรรมการ
๑๘. นายวรัญญู ฉายาบรรณ์ กรรมการ
๑๙. นางสาวฐาปณีย์ แสงสว่าง กรรมการ
๒๐. นางสาวสุวรรณ ปรมาพจน์ กรรมการและเลขานุการ
๒๑. นายณรงค์ศักดิ์ หวังรัตนปราณี กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๒๒. นายธีระภัณฑ์ ศิริสุวรรณ กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

๑๑.๓ สาขามนุษยศาสตร์และสังคมศาสตร์

๑. คณบดีคณะมนุษยศาสตร์ ที่ปรึกษา
๒. คณบดีคณะสังคมศาสตร์ ที่ปรึกษา
๓. รองศาสตราจารย์นัทธนัย ประสานนาม ประธานกรรมการ
๔. ผู้ช่วยศาสตราจารย์เฉลิมขวัญ สิงห์วี รองประธานกรรมการ
๕. ผู้ช่วยศาสตราจารย์อภิชา ชุติพงศ์พิสิฏฐ์ รองประธานกรรมการ
๖. รองศาสตราจารย์กังสดาล เชาว์วัฒนกุล กรรมการ
๗. ผู้ช่วยศาสตราจารย์พณิตา กุลสิริสวัสดิ์ กรรมการ
๘. นางสาวจริยา สุพรรณ กรรมการ
๙. นางสาวดารารัตน์ ซิ้มพัฒนวงษ์ กรรมการ
๑๐. นางสาวนันทนุช อุดมละมุล กรรมการ
๑๑. นางสาวผาณิตา ชัยดิเรก กรรมการ
๑๒. นางสาวสายทิพย์ เหล่าทองมีสกุล กรรมการ
๑๓. นางสาวศรีวรรณ บุญประเสริฐ กรรมการและเลขานุการ
๑๔. นางสาวพิทชญา สารภิรมย์ กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ
๑๕. นางสาวรสิตา กลางประพันธ์ กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

๒๑. คณะกรรมการโดยสมาคมวิชาการ วิชาชีพ

๑. รองศาสตราจารย์ศกร คุณวุฒิฤทธิรณ กรรมการ
๒. รองศาสตราจารย์มนตรี แย้มกสิกร กรรมการ
๓. รองศาสตราจารย์สายวรุฬ ชัยวานิชศิริ กรรมการ
๔. รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ จิตรกมล ธนศักดิ์ กรรมการ
๕. รองศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ กัมพล แก้วเกษ กรรมการ
๖. รองศาสตราจารย์เสาวนุช ถาวรพฤกษ์ กรรมการ

๗.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ นายสัตวแพทย์ ปริวรรต พูลเพิ่ม	กรรมการ
๘.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์สราวุธ รุ่งเมฆารัตน์	กรรมการ
๙.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์โสภณ อุไรชื่น	กรรมการ
๑๐.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์พลรพี ทุมมาพันธ์	กรรมการ
๑๑.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุเชษฐ์ สมุหเสนีโต	กรรมการ
๑๒.	ผู้ช่วยศาสตราจารย์สิติมา จิตตินันท์	กรรมการ
๑๓.	สัตวแพทย์หญิง คชาภรณ์ เต็มยอด	กรรมการ
๑๔.	นางสาวศุภกาญจน์ ล้วนมณี	กรรมการ
๑๕.	นางสาวชวนพิศ อรุณรังสิกุล	กรรมการ
๑๖.	นายนิพนธ์ เอี่ยมสุภาษิต	กรรมการ
๑๗.	นางสาวพยัตติกา พลสระคู	กรรมการ
๑๘.	นางอมรา ชินภูติ	กรรมการ
๑๙.	นางพรพิมล อธิปัญญาคม	กรรมการ

โดยให้คณะกรรมการชุดนี้มีหน้าที่ จัดการเสนอผลงานในการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ ๖๒ ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำหนดหน้าที่รับผิดชอบ กำหนดแนวทางการคัดเลือกผลงานที่นำมาเสนอ และรับนโยบายจากคณะกรรมการอำนวยการ มาปฏิบัติให้บรรลุตามวัตถุประสงค์

คณะกรรมการฝ่ายบริหารจัดการประชุมทางวิชาการ

๑.	รองอธิการบดีฝ่ายวิจัยและสร้างสรรค์	ที่ปรึกษา
๒.	ผู้อำนวยการสำนักบริหารการศึกษา	ที่ปรึกษา
๓.	ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	ประธานกรรมการ
๔.	ผู้อำนวยการสำนักบริการคอมพิวเตอร์	ประธานกรรมการร่วม
๕.	ผู้อำนวยการสำนักพัฒนาการเรียนรู้ตลอดชีวิต	ประธานกรรมการร่วม
๖.	รองผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ฝ่ายบริหาร	รองประธานกรรมการ
๗.	ประธานฝ่ายเลขานุการ (นางอัจฉราวรรณ คล้องช้าง)	กรรมการ
๘.	ประธานฝ่ายสารสนเทศ (ผู้อำนวยการสำนักบริการคอมพิวเตอร์)	กรรมการ
๙.	ประธานฝ่ายสถานที่ (ผู้อำนวยการสำนักบริการคอมพิวเตอร์)	กรรมการ

๑๐. ประธานฝ่ายประชาสัมพันธ์ กรรมการ
(นางผกามาศ ธนพัฒนพงศ์)
๑๑. ประธานฝ่ายโสตทัศนูปกรณ์ กรรมการ
(นายวิเชียร คดพิมพ์)
๑๒. ประธานฝ่ายจัดการจราจรและรักษาความปลอดภัย กรรมการ
(นายตั๋น นิลมาติ)
๑๓. ประธานฝ่ายผลิตสื่อวิชาการ กรรมการ
(รักษาการแทนรองผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัย
เกษตรศาสตร์ ฝ่ายเผยแพร่งานวิจัย)
๑๔. ประธานฝ่ายการเงิน กรรมการ
(ผู้อำนวยการกองคลัง)
๑๕. ประธานร่วมฝ่ายการเงิน กรรมการ
(นางสาววรรณวิมล ราชอุปนันท์)
๑๖. ประธานฝ่ายประเมินผล กรรมการ
(นายปฏิภักดิ์ ปัญญาพูนตระกูล)
๑๗. ประธานฝ่ายพิธีการ กรรมการ
(นางสาวพิชชาอรฐ์ สิริชีวเกษร)
๑๘. ประธานฝ่ายจัดการฐานข้อมูล กรรมการ
(ผู้อำนวยการสำนักหอสมุด)
๑๙. นายปฏิภักดิ์ ปัญญาพูนตระกูล กรรมการและเลขานุการ
๒๐. นายพลากร คำแก้ว กรรมการและผู้ช่วยเลขานุการ

โดยให้คณะกรรมการชุดนี้มีหน้าที่ ประสานงาน ดำเนินการ และอำนวยความสะดวกการจัดประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ ๖๒ โดยประสานงานกับคณะกรรมการอำนวยการ และคณะกรรมการฝ่ายวิชาการเพื่อให้การดำเนินงานสำเร็จลุล่วงและเป็นไปด้วยความเรียบร้อย ซึ่งประธานแต่ละฝ่ายสามารถพิจารณาคัดเลือก และแต่งตั้งกรรมการภายในฝ่ายได้เอง หากต้องการจัดทำเป็นคำสั่งเพิ่มเติม ให้แต่งตั้งเป็นคำสั่งของส่วนงานในสังกัด

ทั้งนี้ ตั้งแต่บัดนี้เป็นต้นไปโดยมีวาระ ๑ ปี

ประกาศ ณ วันที่ ๒๔ พฤศจิกายน พ.ศ. ๒๕๖๖

(นายดำรงค์ ศรีพระราม)
รองอธิการบดีฝ่ายบริหาร
รักษาการแทนอธิการบดีมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประกาศมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เรื่อง แต่งตั้งคณะกรรมการจัดการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ ๖๒ ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (เพิ่มเติม)

อนุสนธิประกาศมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เรื่อง แต่งตั้งคณะกรรมการจัดการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ ๖๒ ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ลงวันที่ ๒๔ พฤศจิกายน พ.ศ. ๒๕๖๖ นั้น

เพื่อให้การจัดการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ ๖๒ ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ดำเนินไปด้วยความเรียบร้อย และบรรลุตามวัตถุประสงค์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์จึงขอแต่งตั้งคณะกรรมการจัดการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ ๖๒ ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (เพิ่มเติม) ดังนี้

คณะกรรมการอำนวยการจัดการประชุมทางวิชาการ

๑. นายกสมาคมจิตวิทยาแห่งประเทศไทย กรรมการ

คณะกรรมการฝ่ายวิชาการ

๑๒. คณะกรรมการโดยสมาคมวิชาการ วิชาชีพ

๑. ผู้ช่วยศาสตราจารย์นันท์ชัตสัณห์ สกุลพงศ์ กรรมการ

๒. นางลินดา สุวรรณดี กรรมการ

โดยให้คณะกรรมการมีหน้าที่ ตามประกาศมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เรื่อง แต่งตั้งคณะกรรมการจัดการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ ๖๒ ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ลงวันที่ ๒๔ พฤศจิกายน พ.ศ. ๒๕๖๖

ทั้งนี้ ตั้งแต่บัดนี้เป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๑๙ ธันวาคม พ.ศ. ๒๕๖๖

(นายดำรงค์ ศรีพระราม)

รองอธิการบดีฝ่ายบริหาร

รักษาการแทนอธิการบดีมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ประกาศสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
เรื่อง แต่งตั้งคณะทำงานฝ่ายผลิตสื่อวิชาการ การจัดการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ ๖๒
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อให้การจัดการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ ๖๒ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ดำเนินไปด้วยความเรียบร้อยและบรรลุตามวัตถุประสงค์ สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จึงให้แต่งตั้งคณะทำงานฝ่ายผลิตสื่อวิชาการ ดังรายนามต่อไปนี้

๑. ผู้รักษาการแทนรองผู้อำนวยการฝ่ายเผยแพร่งานวิจัย สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	ประธานคณะทำงาน
๒. ผู้ช่วยศาสตราจารย์ศรัณย์ธร ศศิธนากรแก้ว	คณะทำงาน
๓. ผู้ช่วยศาสตราจารย์กิตตินาถ เรขาลิลิต	คณะทำงาน
๔. นางสาวทักษยา วัชรสารทรัพย์	คณะทำงาน
๕. นางสาวดลฤทัย เจียรกุล	คณะทำงาน
๖. นายภานนท์ คุ้มสุภา	คณะทำงาน
๗. นางสาวทิสยา ทิศเสถียร	คณะทำงาน
๘. นางสาวรติกร สมิตไมตรี	คณะทำงาน
๙. นางสาววนิดา รัตตมณี	คณะทำงาน
๑๐. นายวิทวัส ยุทธโกศา	คณะทำงาน
๑๑. นายวิโรตม์ เอี๊ยะตะกูล	คณะทำงาน
๑๒. นายสิงห์อำพล จันทร์วิเศษ	คณะทำงาน
๑๓. นางสาวมณฑา ปานทิม	คณะทำงาน
๑๔. นางสาวพิชชาอรฐ์ สิริชีวเกษร	คณะทำงานและเลขานุการ
๑๕. นางสาวกัญญารัตน์ สุวรรณทีป	คณะทำงานและผู้ช่วยเลขานุการ
๑๖. นางสาวพัชราภา รัตนวิญญูภิรมย์	คณะทำงานและผู้ช่วยเลขานุการ

โดยให้คณะทำงานชุดนี้ มีหน้าที่ ดำเนินการผลิตสื่อวิชาการ อาทิ สื่อประชาสัมพันธ์งานประชุมวิชาการ สื่อข้อกำหนดต่างๆ จัดทำกำหนดการ หนังสือสูจิบัตร หนังสือรวบรวมบทคัดย่อ (Book of Abstracts) หนังสือตีพิมพ์ผลงานวิจัยเรื่องเต็ม (E-Proceedings) การประสานงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ รวมไปถึงการผลิตสื่อมัลติมีเดียและการถ่ายทอดสดงานประชุม โดยประสานงานกับฝ่ายวิชาการและฝ่ายต่างๆ ให้ดำเนินงานไปด้วยความเรียบร้อยและมีประสิทธิภาพ

ทั้งนี้ ตั้งแต่บัดนี้เป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๒๙ กันยายน พ.ศ. ๒๕๖๖

(รองศาสตราจารย์วราภา มหากาญจนกุล)
ผู้อำนวยการสถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ปรัชญา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เป็นสถาบันที่มีปณิธานมุ่งมั่นในการสั่งสมเสาะแสวงหา และพัฒนาความรู้
ให้เกิดความเจริญงอกงามทางภูมิปัญญาที่เพียบพร้อมด้วย
วิชาการ จริยธรรม และคุณธรรม ตลอดจนเป็นผู้ชี้นำทิศทางสืบทอด
เจตนารมณ์ที่ดีของสังคมเพื่อความคงอยู่ ความเจริญ
และความเป็นอารยะของชาติ



kuannualconf@gmail.com
http://annualconference.ku.ac.th
http://www.rdi.ku.ac.th