



วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร

สำหรับวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร

มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ปีที่ 36 ฉบับที่ 2 พฤษภาคม – สิงหาคม 2562

E-ISSN 2630-0206

การคัดเลือกวัชพืชเพื่อใช้ในการฟื้นฟูดินที่ปนเปื้อนฟลูออแรนทีน

วรารณณ์ ญญา และชนิษฐา สมตระกูล.....1-10

บทบาทของแบคทีเรียกลุ่มสนับสนุนการเจริญของพืชต่อการเจริญของต้นกล้าไม้ประดับ
ที่ปลูกในดินปนเปื้อนแอนทราซีน

ชนิษฐา สมตระกูล อภิเดช แสงดี และวรารณณ์ ญญา.....11-21

ความแปรปรวนของความรุนแรงและความก้าวร้าวของเชื้อรา *Phytophthora infestans*
ที่เกิดรวบรวมจากแปลงปลูกมันฝรั่งในประเทศไทย

พิภัทร เจียมพิริยะกุล.....22-32

การเปลี่ยนแปลงไนโตรเจนที่เกิดจากกระบวนการมิเนอรัไลเซชันและอินทรีย์วัตถุ
ที่ปรับปรุงดินด้วยปุ๋ยคอก

สุทธิเดชา ขุนทอง ชัยสิทธิ์ วัฒนาวังจสุข และสุรเชษฐ์ นารากัทร.....33-44

ผลของการใช้ฟักทองหมักร่วมกับรำข้าวในอาหารต่อประสิทธิภาพการผลิต
และคุณภาพเนื้อของไก่พื้นเมือง

ชัยวัฒน์ สิงห์ชัย ชัยณรงค์ วงศ์สรศรี สมชาติ ธนะ โชค โสรัจกุล และขรรค์ชัย ดันเมฆ.....45-57

การเปรียบเทียบปริมาณคอเลสเตอรอล และปริมาณคอลลาเจนต่อค่าแรงตัดผ่าน
ในเนื้อไก่ไข่ที่อายุ 85 และ 90 สัปดาห์ ที่เลี้ยงแบบปล่อยพื้น

อังสุมา แก้วคต โซเฟียน ตีอราแม ฉันทกรณ์ ขอบคำ สุดา ชูถิ่น และอัจฉรา ขยัน.....58-69

ผลของความร้อนต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์เยื่อบุผิวท่อนำไข่และเซลล์ไข่สุกร

สุพัฒน์ เชื้อนวัง และพญงค์ศักดิ์ อินตะวิชา.....70-79

การพัฒนาปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์สำหรับการตรวจเชื้อ
Ehrlichia canis, *Hepatozoon canis* และ *Babesia canis* จากเลือดสุนัข

ชมัยพร นิธิกาจณพานิช เพ็ญนภา ตาคำ และวศิน เจริญต้นธนกกุล.....80-90

การศึกษาการทำเครื่องประดับจากปีกแมลงทับและแนวทางการอนุรักษ์แมลงทับ
ในอำเภอกุฉินารายณ์ จังหวัดสุรินทร์

อนุรักษ์ เครือคำ รัตติยาภรณ์ บุญทวีไพศาล และพุดิสสรค์ เครือคำ.....91-100

การศึกษากระบวนการผลิตเมล็ดกาแฟอาราบิก้าของวิสาหกิจชุมชนบ้านผาหมี่
ตำบลเวียงพางคำ อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย

ปิยะ พละปัญญา และณัฐธาดา ปินทุภาค.....101-105

ปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับเทคโนโลยีการปลูกข้าวภายใต้ระบบเกษตรที่เหมาะสม
ของเกษตรกรอำเภอจำปอน จังหวัดสทวันนเขต สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว

Inta Chanthavong พุดิสสรค์ เครือคำ พหล ศักดิ์คะทัศน์ และนเรศ รังควัด.....106-117

ปัจจัยที่มีผลต่อความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ
ของชุมชนบ้านดงห้วยเย็น ตำบลบ้านไธสง อำเภอบ้านไธสง จังหวัดลำพูน

ศิริลักษณ์ สายกับ นนเรศ รังควัด พุดิสสรค์ เครือคำ และสายสกุล ฟองมูล.....118-129

ASIAN
EXTREME
SEASIDE
AROUND
OCEAN

วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร

JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH AND EXTENSION

ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จำเนียร ยศราช
ผู้ช่วยศาสตราจารย์พาวิณ มะโนชัย

บรรณาธิการอำนวยการ รองศาสตราจารย์ ดร. ยงยุทธ ข้ามสี่ รองศาสตราจารย์ ดร. จำเนียร บุญมาก
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. จีราภรณ์ อินทสาร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรีย์วัลย์ เมฆกมล
บรรณาธิการ รองศาสตราจารย์ ดร. เกรียงศักดิ์ ศรีเงินยวง

กองบรรณาธิการ ศาสตราจารย์เฉลิมพล แชมเพชร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร. อนุรักษ์ ปัญญาวัฒน์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศาสตราจารย์ ดร. ทนงเกียรติ เกียรติศิริโรจน์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศาสตราจารย์ ดร. สัญชัย จตุรสิทธา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ศาสตราจารย์ ดร. ไพศาล สิทธิกรกุล มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
ศาสตราจารย์ ดร. ประพนธ์ จันทโรนัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น
ศาสตราจารย์ ดร. อุทัยรัตน์ ณ นคร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ศาสตราจารย์ ดร. สิริวัฒน์ วงษ์ศิริ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
รองศาสตราจารย์ ดร. วรทัศน์ อินทร์คัมพร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
รองศาสตราจารย์ ดร. วันดี วัฒนชัยยิ่งเจริญ มหาวิทยาลัยนเรศวร
รองศาสตราจารย์ ดร. อุบลลักษณ์ รัตนศักดิ์ มหาวิทยาลัยบูรพา
รองศาสตราจารย์ ดร. ปราโมช ศีตะโกเศศ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
รองศาสตราจารย์ ดร. ประเสริฐ จรรยาสุภาพ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
รองศาสตราจารย์ ดร. นพมณี โทปัญญานันท์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
รองศาสตราจารย์อ้อมทิพย์ เมฆรักษานิซ แคมป์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
รองศาสตราจารย์ประวิตร พุทธานนท์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ธีระพงษ์ สว่างปัญญางกูร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

คณะกรรมการดำเนินงาน นางสาววารี ระหงษ์ นางธัญรัศม์ ธวัชมงคลศักดิ์
นางสาวรังสิมา อัมพวัน นางทิพย์สุดา ปุกมณี
นายสมยศ มีสุข นางสาวอัมภา สันทราย
นางจิรนนท์ เสนานาย นางสาวรัชนี ขยัน

ฝ่ายประชาสัมพันธ์และเผยแพร่ นายปริญญา เพ็ชรอุตสาห์ นายประสิทธิ์ ใจคำ
นางประไพศรี ทองแจ้ง

จัดทำโดย ฝ่ายนวัตกรรมและถ่ายทอดเทคโนโลยี สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร
มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อำเภอสันทราย จังหวัดเชียงใหม่ 50290
โทรศัพท์ 0-5387-3411 โทรสาร 0-5387-3418
E-mail: res_journal@mju.ac.th
Web site: www.jare.mju.ac.th

วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร เป็นวารสารทางวิชาการของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อเผยแพร่งานวิจัยและบทความทางวิชาการด้านการเกษตร เป็นวารสารราย 4 เดือน กำหนดออกปีละ 3 ฉบับ โดยมีการเผยแพร่ออนไลน์ (Journal Online) ในรูปวารสารทางอิเล็กทรอนิกส์ (E-ISSN 2630-0206) สำหรับหน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาการเกษตร

บทบรรณาธิการ

วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร ปีที่ 36 ฉบับที่ 2 เดือน พฤษภาคม-สิงหาคม 2562 ฉบับนี้ยังคงสาระเรื่องงานวิจัยที่เป็นประโยชน์ต่อการนำไปประยุกต์ใช้โดยตรงต่อเกษตรกรและกลุ่มเกษตรกร อาทิเช่น การคัดเลือกพืชเพื่อใช้ในการฟื้นฟูที่ปนเปื้อนสารฟลูออแรนทีน ผลของการใช้ฟักทองหมักร่วมกับรำข้าวในอาหารต่อประสิทธิภาพการผลิตเนื้อไก่พื้นเมือง การทำเครื่องประดับจากปีกแมลงทับและแนวทางการอนุรักษ์แมลงทับ การผลิตกาแฟอบาภิ๋ของชุมชนบ้านผาหมี่ จังหวัดเชียงราย เป็นต้น

นอกจากนี้ในเล่มยังมีงานวิจัยที่หลากหลาย น่าสนใจ สำหรับนักวิจัยที่จะนำไปใช้เพื่องานวิจัยต่อยอด หรือนำไปประยุกต์ใช้ต่อไป

เชิญทุกท่านเลือกอ่านงานวิจัยที่มีคุณภาพ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ได้ตามอัธยาศัย แล้วพบกันใหม่ฉบับหน้าครับ

ด้วยรักและเคารพ



รองศาสตราจารย์ ดร.เกรียงศักดิ์ ศรีเงินยวง

บรรณาธิการวารสารวิจัยฯ

การคัดเลือกวัชพืชเพื่อใช้ในการฟื้นฟูดินที่ปนเปื้อนฟลูออแรนทีน

Weed Selection for Phytoremediation of Fluoranthene

วราภรณ์ ฉุยฉาย^{1*} และชนิษฐา สมตระกูล²

Waraporn Chouychai^{1*} and Khanitta Somtrakoon²

¹สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ นครสวรรค์ 60000

²ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม มหาสารคาม 44150

¹Biology Programe, Faculty of Science and Technology, Nakhonsawan Rajabhat University, Nakhonsawan, Thailand 60000

²Department of Biology, Faculty of Science, Mahasarakham University, Mahasarakham, Thailand 44150

*Corresponding author: waraporn.c@nsru.ac.th

Received: November 2, 2018

Revised: January 15, 2019

Accepted: February 8, 2019

Abstract

Using food crop in phytoremediation increased concern about pollutant biomagnification along food chain. The efficiency of weed to be used in fluoranthene phytoremediation was studied. Three weeds, *Cyperus rotundus*, *Phyllanthus niruri* and *Gomphrena celosioides*, were planted in 200 mg/kg fluoranthene-contaminated soil for 30 days, growth and fluoranthene remaining in soil were compared. The results showed that fluoranthene was not toxic to shoot growth of 3 weeds but decrease root fresh weight and dry weight of *C. rotundus* and *G. celosioides* 58-67 and 61%, respectively, when compared with plant growing in non-contaminated soil. Fluoranthene did not affected to chlorophyll content of *C. rotundus* and *G. celosioides* but decreased chlorophyll B and total chlorophyll of *P. niruri* 34.8 and 20.2%, respectively, when compared with plant growing in non-contaminated soil. However, only *C. rotundus* could decrease fluoranthene content in soil more than non-planted soil after 30 days. The fluoranthene remaining in *C. rotundus*-planted soil was 58.2% while fluoranthene remaining in non-planted soil was 62.6% but they were not different significantly. Fluoranthene was toxic to chlorophyll content of *P. niruri* but was toxic to root fresh weight and dry weight of *C. rotundus* and *G. celosioides*. The selection of weeds which were better tolerant to fluoranthene than these 3 plants should be done in the future.

Keywords: phytoremediation, polycyclic aromatic hydrocarbons, weed

บทคัดย่อ

การใช้พืชอาหารในการฟื้นฟูสภาพแวดล้อมด้วยพืชก่อให้เกิดความกังวลเกี่ยวกับการถ่ายทอดเข้าสู่ห่วงโซ่อาหารของสารมลพิษ ดังนั้นจึงศึกษาประสิทธิภาพของการใช้วัชพืชเพื่อบำบัดดินที่ปนเปื้อนฟลูออแรนทีน โดยนำวัชพืช 3 ชนิดคือ แห้วหมู ลูกใต้ใบ และบานไม่รู้โรยไปมาปลูกในดินที่ปนเปื้อนฟลูออแรนทีน 200 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม เป็นเวลา 30 วัน เปรียบเทียบการเจริญเติบโตและปริมาณฟลูออแรนทีนที่ยังคงเหลืออยู่ในดิน โดยพบว่าฟลูออแรนทีนไม่เป็นพิษต่อการเจริญเติบโตของยอดวัชพืชทั้ง 3 ชนิด แต่ส่งผลต่อน้ำหนักของรากแห้วหมูและบานไม่รู้โรยป่า โดยทำให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของรากพืชทั้งสองชนิดลดลง 58-67 และ 61% ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่เจริญเติบโตในดินไม่ปนเปื้อนฟลูออแรนทีน ไม่ส่งผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบแห้วหมูและบานไม่รู้โรยป่า แต่ทำให้คลอโรฟิลล์บีและคลอโรฟิลล์ทั้งหมดของลูกใต้ใบลดลง 34.8 และ 20.2% ตามลำดับเมื่อเปรียบเทียบกับต้นที่เจริญเติบโตในดินไม่ปนเปื้อน อย่างไรก็ตามมีเพียงแห้วหมูเท่านั้นที่สามารถลดปริมาณฟลูออแรนทีนในดินได้มากกว่าดินที่ไม่ปลูกพืชเมื่อเวลาผ่านไป 30 วัน โดยมีปริมาณฟลูออแรนทีนที่เหลืออยู่ร้อยละ 58.2 ในขณะที่ดินไม่ปลูกพืชเหลือฟลูออแรนทีนอยู่ร้อยละ 62.6 แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ฟลูออแรนทีนเป็นพิษต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ของลูกใต้ใบและมีผลกระทบต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของแห้วหมูและบานไม่รู้โรยป่า จึงควรคัดเลือกวัชพืชทนทานต่อความเป็นพิษของฟลูออแรนทีนได้ดีกว่าพืชทั้งสามชนิดนี้

คำสำคัญ: การฟื้นฟูสภาพแวดล้อมด้วยพืช

โพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน วัชพืช

คำนำ

โพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนหรือพีเอเอช (Polycyclic Aromatic Hydrocarbons; PAHs) เป็นสารประกอบที่ถูกผลิตขึ้นจากการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ของสารอินทรีย์ รวมทั้งพบเป็นองค์ประกอบของเชื้อเพลิงถ่านหินปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน และน้ำยารักษาสภาพเนื้อไม้ แหล่งที่มาของพีเอเอชที่ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมมีที่มาจากหลายแหล่ง ได้แก่ อุตสาหกรรม ที่อยู่อาศัย (Nadal *et al.*, 2004) บริเวณถนนที่มีการจราจรคับคั่ง (Oanh *et al.*, 2000) และการเผาวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร (Gadde *et al.*, 2009) โดยพีเอเอชจำนวน 16 ชนิด ได้ถูกกำหนดให้เป็นสารพิษอันตรายที่ต้องรีบกำจัดออกจากสิ่งแวดล้อมเนื่องจากเป็นสารมลพิษที่มีความคงตัวในสิ่งแวดล้อมสูงสามารถสะสมในสิ่งมีชีวิตได้ง่าย มีฤทธิ์เป็นสารก่อกลายพันธุ์และสารก่อมะเร็ง (Chouychai, 2011)

การปนเปื้อนพีเอเอชในดินทางการเกษตรสามารถเกิดขึ้นได้เนื่องจากเกษตรกรมีการใช้น้ำมันเชื้อเพลิงกับเครื่องจักรกลทางการเกษตร รวมทั้งมีการเผาเศษวัสดุทางการเกษตรหลังฤดูกาลเก็บเกี่ยว การปนเปื้อนของพีเอเอชในดินจะส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตของพืช เช่น เพิ่มระดับความเครียดออกซิเดชันในพืช ทำให้ระดับคลอโรฟิลล์ในใบลดลง รบกวนการทำงานของรากทำให้ความยาวรากสั้นลง ชีวมวลลดลง พีเอเอชยังสามารถสะสมในพืชและมีโอกาสถ่ายทอดผ่านห่วงโซ่อาหารได้ เช่น ในเตียนจินทางภาคเหนือของจีน พบพีเอเอชรวมกัน 16 ชนิด ในดินทางการเกษตรปริมาณ 1.08-6.25 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม และพบพีเอเอชสะสมในส่วนเหนือดินของพืชที่ปลูกในบริเวณนั้นปริมาณ 0.48-0.98 ไมโครกรัมต่อกิโลกรัม โดยที่กะหล่ำดอกเป็นพืชที่สะสมได้มากที่สุด (Tao *et al.*, 2004) เป็นต้น ปริมาณของฟลูออแรนทีนที่

เป็นพืชต่อพืชนั้นมีรายงานว่า ความเข้มข้นของฟลูออแรนทีนที่ส่งผลกระทบ 20% (EC20) ต่อน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของต้นกล้าหญ้าไรน์ *Trifolium pretense* และ *Sinapsis alba* เท่ากับ 140-650 mg/kg (Sverdrup *et al.*, 2003)

การฟื้นฟูสภาพแวดล้อมที่ปนเปื้อนด้วยฟิเอเอซสามารถทำได้หลายวิธี การใช้พืชเพื่อฟื้นฟูสภาพแวดล้อม (Phytoremediation) จัดเป็นวิธีการที่สามารถปรับใช้กับการปนเปื้อนฟิเอเอซในดินที่มีการทำเกษตรกรรมได้เป็นอย่างดี เนื่องจากการปลูกพืชเพื่อบำบัดสารมลพิษมีต้นทุนในการบำบัดต่ำกว่าการใช้วิธีการทางกายภาพและเคมีไม่ทำให้เกิดการทำลายโครงสร้างทางกายภาพของดิน รวมทั้งยังลดการใช้สารเคมีอันตราย ซึ่งจะทำให้เกิดการปนเปื้อนซ้ำซ้อนของสารเคมีในดินที่มีการทำเกษตรกรรมอีกด้วย การปลูกพืชสามารถส่งเสริมการย่อยสลายฟิเอเอซในดินได้โดยเกิดจากปฏิสัมพันธ์ระหว่างดิน ไรโซสเฟียร์ จุลินทรีย์ และพืช ซึ่งประสิทธิภาพของปฏิสัมพันธ์นี้ขึ้นกับปัจจัยต่างๆ เช่น ความชื้น อุณหภูมิ ระยะเวลาการเจริญเติบโตของพืชและจุลินทรีย์ (Siciliano and Germida, 1998) พืชที่มีรายงานว่าสามารถกำจัดฟิเอเอซในดินได้ดีและพบได้ในประเทศไทยมักเป็นพืชเศรษฐกิจและเป็นพืชอาหาร เช่น ข้าวโพด (Chouychai *et al.*, 2009) ถั่วพู (Somtrakoon *et al.*, 2014a) ถั่วฝักยาว (Somtrakoon *et al.*, 2012) กระจับปี่ (Somtrakoon *et al.*, 2015) ถั่วอัลฟalfa (Wei and Pan, 2010) บวบเหลี่ยม (Somtrakoon *et al.*, 2014b) และพริกชี้ฟ้า (Liste and Alexander, 2000) หรือพืชเสฟติด เช่น กัญชา (Liste and Prutz, 2006) การใช้พืชเศรษฐกิจที่เป็นพืชอาหารแม้จะมีข้อดีในด้านที่ดูแลและหาเมล็ดพันธุ์ได้ง่าย มีชีวมวลมาก และเจริญเติบโตได้เร็ว แต่ในอีกด้านหนึ่งก็ทำให้เกิดความกังวลในด้านความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ดังนั้นการเลือกใช้พืชที่พบได้ง่าย เจริญเติบโตได้ดีในสภาพอากาศของประเทศไทย และไม่ได้เป็นพืชอาหารจึงมีความน่าสนใจมากกว่า

ในกลุ่มของพืชที่ไม่ได้ใช้เป็นพืชอาหารในประเทศไทย พบว่าวัชพืชที่กระจายพันธุ์ตามปกติในประเทศไทยเป็นกลุ่มที่น่าสนใจกลุ่มหนึ่ง โดยมีรายงานมาก่อนหน้านี้ว่าวัชพืชหลายชนิดซึ่งพบในบริเวณที่เกิดการปนเปื้อนสามารถปรับตัวให้ทนทานและสามารถกำจัดสารมลพิษนั้นๆ ได้ เช่น พืชที่พบในบริเวณที่ปนเปื้อนน้ำมัน ได้แก่ ไมยราบ คอนสวรรค์ และ *Gazania ripens* สามารถส่งเสริมการย่อยสลายปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนในดินได้ โดย *G. ripens* เป็นพืชที่ทนทานต่อความเป็นพิษของปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนมากที่สุด (Ikeura *et al.*, 2016) แม้ว่าปัญหาของพืชกลุ่มนี้ คือ ปัญหาการขยายพันธุ์และความคงตัวของสายพันธุ์ รวมทั้งมีโอกาสแพร่กระจายเป็นวัชพืชในพื้นที่ที่นำเข้าไปใช้บำบัดได้ แต่ถ้าหากวัชพืชที่พบโดยทั่วไปในท้องถิ่นสามารถทนทานต่อฟิเอเอซ และมีประสิทธิภาพในการสนับสนุนการย่อยสลายฟิเอเอซย่อมมีประโยชน์ในการใช้บำบัดฟิเอเอซดีกว่าการใช้พืชเศรษฐกิจที่เป็นพืชอาหารหรือใช้พืชต่างถิ่น

ในจังหวัดนครสวรรค์ เป็นพื้นที่ที่มีความหลากหลายทางชีวภาพ มีการแพร่กระจายพันธุ์ของวัชพืชหลายชนิด จึงคัดเลือกวัชพืชที่พบได้บ่อยจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ แห้วหมู (*Cyperus rotundus*) ลูกใต้ใบ (*Phyllanthus niruri*) และบานไม่รู้โรยป่า (*Gomphrena celosioides*) มาทดสอบความสามารถในการบำบัดฟลูออแรนทีน ซึ่งจัดเป็นโพลีไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนน้ำหนักโมเลกุลสูงโดยใช้การทดลองระดับกระถางทดลอง เพื่อเป็นองค์ความรู้ใหม่ในการใช้พืชพื้นปฐดินในประเทศไทยต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมดินที่ปนเปื้อนฟลูออแรนทีน

ดินที่ใช้ในการทดลองเก็บจากสถานีเกษตรเขาแรด คณะเทคโนโลยีทางการเกษตรและเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ นำดินที่เก็บมาตั้งทิ้งไว้ให้แห้งที่อุณหภูมิห้องจนมีน้ำหนักแห้งคงที่

จากนั้นนำดินมาทำให้ปนเปื้อนฟลูออแรนทินโดยละลายฟลูออแรนทิน (Sigma-Aldrich, สหรัฐอเมริกา ความบริสุทธิ์ร้อยละ 98) 200 มก. ในไดคลอโรมีเทนปริมาตร 50 มล. จากนั้นเทลงในดิน 200 กรัม ผสมให้เข้ากับดินอย่างทั่วถึง และใช้ไดคลอโรมีเทนล้างพีเอเอชที่ติดอยู่ที่บีกเกอร์ จำนวน 2 ครั้ง โดยเทสารละลายพีเอเอชที่ได้จากการล้างบีกเกอร์ลงในดินอีกครั้งแล้วผสมให้เข้ากัน จากนั้นตั้งดินไว้ในตู้ดูดควันเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อให้ไดคลอโรมีเทนระเหยไป ระหว่างที่ตั้งทิ้งไว้ให้ผสมดินอย่างสม่ำเสมอ ต่อมานำดินที่เตรียมไว้มาผสมกับดินที่ไม่ปนเปื้อนอีก 800 กรัม ผสมให้เข้ากัน บรรจุดินลงในถุงพลาสติกทนร้อนก่อนบรรจุลงในกระถางเพื่อลดการรั่วไหลของน้ำขณะปลูกพืช

การเตรียมวัชพืช

คัดเลือกต้นแห้วหมู ลูกใต้ใบ และบานไม่รู้โรยป่า ที่มีขนาดความสูงใกล้เคียงกันในมหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ โดยขุดดินบริเวณที่วัชพืชแต่ละชนิดเจริญเติบโตและขุดขึ้นมาทั้งราก ระวังกิ่งอย่าให้รากเสียหาย แล้วจึงนำวัชพืชแต่ละชนิดมาปลูกเลี้ยงในเรือนเพาะชำเป็นเวลา 2 สัปดาห์ คัดเลือกต้นที่แข็งแรงและความสูงไม่แตกต่างกันไปใช้ในการทดลองต่อไป

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยย้ายวัชพืชที่คัดเลือกไว้ปลูกลงในกระถางที่บรรจุดินปนเปื้อนฟลูออแรนทินปริมาณ 1 กิโลกรัม ลงในกระถางที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 7 นิ้ว โดยปลูก 1 ต้น ต่อ 1 กระถาง สำหรับศึกษาการเจริญเติบโตของพืชนั้น แบ่งชุดการทดลองออกเป็น 2 กรรมวิธี คือ ดินที่ไม่ปนเปื้อนฟลูออแรนทินเป็นชุดควบคุม และดินที่ปนเปื้อนฟลูออแรนทิน 200 มก./กก. แต่ละกรรมวิธีมี 5 ซ้ำ สำหรับการวัดปริมาณฟลูออแรนทินที่เหลืออยู่ในดินนั้น แบ่งชุดทดลองออกเป็น 4 กรรมวิธี คือ ไม่ปลูกพืช ปลูกแห้วหมู ลูกใต้ใบ หรือบานไม่รู้โรยป่า แต่ละกรรมวิธีมี 5 ซ้ำเช่นเดียวกัน รดน้ำทุกวัน วันละ 10 มล. ต่อกระถาง ตลอดระยะเวลา 30 วัน

ของการทดลองเพื่อรักษาความชื้นของดิน และสลับกระถางทดลองทุกสัปดาห์เพื่อลดความแตกต่างจากการได้รับแสงธรรมชาติ เก็บผลการทดลองโดยเก็บดินในวันเริ่มต้นและวันที่ 30 ของการทดลองเพื่อนำมาวิเคราะห์ปริมาณเริ่มต้นของฟลูออแรนทิน วิเคราะห์การเจริญเติบโตของพืช ได้แก่ ความสูง น้ำหนักสด น้ำหนักแห้งของทั้งยอดและราก รวมทั้งวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์ทั้งหมดในใบของพืชตามวิธีของ Huang *et al.* (2004)

การสกัดและวิเคราะห์ปริมาณฟลูออแรนทินในดิน

การสกัดฟลูออแรนทินที่เหลือในดินทำตามวิธีของ Somtrakoon *et al.* (2014b) โดยนำตัวอย่างดินแห้ง 1 กรัม บดผสมกับ Na_2SO_4 ที่ปราศจากน้ำในอัตราส่วน 1:1 จากนั้นละลายฟลูออแรนทิน (Sigma-Aldrich, สหรัฐอเมริกา ความบริสุทธิ์ร้อยละ 98) ความเข้มข้น 100 มก./ล. ในไดคลอโรมีเทนและเติมลงในดินตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตร เพื่อใช้เป็น Internal standard แล้วจึงนำตัวอย่างดินมาสกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน (บริษัท Fisher Scientific Loughborough Leicestershire ประเทศอังกฤษ) ด้วยเครื่องชอกท์เลทเป็นเวลา 8 ชั่วโมง และปรับอุณหภูมิบนเตาให้ตัวทำละลายหมุนเวียนในหลอดบรรจุสารตัวอย่างให้ได้ 6 รอบต่อชั่วโมง ต่อมานำสารละลายที่สกัดได้มาระเหยแห้งด้วยเครื่องกลั่นสารระเหยแบบหมุน (Rotary evaporator)

การวิเคราะห์ปริมาณฟลูออแรนทินใช้เครื่อง GC-FID (บริษัท Shimadzu รุ่น GC-2014AFSC) สภาวะในการแยกสารใช้คะปิลาริคอลัมน์ชนิด Rtx®-5MS (บริษัท Restek) (30 เมตร x 25 มิลลิเมตร x 0.25 ไมโครเมตร) โดยฉีดสารแบบ Split ใช้อัตราส่วนในการ Split เป็น 13.4 อัตราการไหลของแก๊สฮีเลียม 1.13 มิลลิเมตรต่อนาที อุณหภูมิของคอลัมน์เริ่มต้น 150°C. โดยคงไว้ที่อุณหภูมินี้เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิขึ้นด้วยอัตรา 12°C. ต่อนาที จนอุณหภูมิคอลัมน์สูงถึง 280°C. และอุณหภูมิของดีเทกเตอร์เป็น 320°C ปริมาตรในการฉีดสารเท่ากับ 1 ไมโครลิตร

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การเจริญเติบโตของยอดและราก และปริมาณคลอโรฟิลล์แสดงด้วยค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าคลาดเคลื่อนมาตรฐาน และใช้ T-test ในการทดสอบความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธีของพืชแต่ละชนิด สำหรับปริมาณฟลูออแรนทีนที่เหลือในดิน ใช้ One-way ANOVA และ LSD's test ในการทดสอบความแตกต่างทางสถิติระหว่างกรรมวิธี

ผลการวิจัย

พืชทั้งสามชนิดที่ย้ายมาปลูกในดินที่ปนเปื้อนฟลูออแรนทีนสามารถเจริญเติบโตได้จนครบ 30 วัน โดยมีลักษณะภายนอกไม่แตกต่างกับต้นที่เจริญเติบโตในดินไม่ปนเปื้อน มีเพียงใบของลูกไ้ใบที่ปลูกในดินปนเปื้อน

ฟลูออแรนทีนที่มีสีเหลืองกว่าต้นที่เจริญเติบโตในดินที่ไม่ปนเปื้อน (Figure 1) เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของยอดและรากระหว่างต้นที่เจริญเติบโตในดินปนเปื้อนและดินไม่ปนเปื้อนฟลูออแรนทีนพบว่า ความยาวยอด น้ำหนักสดของยอด และน้ำหนักแห้งของยอดของพืชทั้งสามชนิดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ในขณะที่ฟลูออแรนทีนมีผลต่อการเจริญเติบโตของรากโดยน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของรากแห้งเหี่ยวและบานไม่รู้โรยป่าที่เจริญเติบโตในดินปนเปื้อนฟลูออแรนทีนน้อยกว่าต้นที่เจริญเติบโตในดินไม่ปนเปื้อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในขณะที่น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของรากลูกไ้ใบและความยาวรากของพืชทั้งสามชนิดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) (Table 1)



Figure 1 Growth of *C. rotundus* (left), *P. niruri* (central) and *G. celosioides* (right) in non-contaminated and 200 mg/kg fluoranthene contaminated soil for 30 days

Abbreviation: C = non-contaminated soil, F= 200 mg/kg fluoranthene contaminated soil

Table 1 Growth of 3 weeds in non-contaminated and 200 mg/kg fluoranthene contaminated soil for 30 days

Plant	Shoot			Root		
	Length (cm)	Fresh weight (g)	Dry weight (g)	Length (cm)	Fresh weight (g)	Dry weight (g)
<i>C. rotundus</i>						
C	7.3±0.2	1.4±0.1	0.34±0.03	17.1±1.3	0.9±0.2a	0.26±0.05a
F	7.5±0.4	1.4±0.2	0.34±0.06	14.0±1.2	0.3±0.0b	0.10±0.02b
<i>P. niruri</i>						
C	24.5±2.7	1.7±0.3	0.50±0.09	8.5±1.1	0.9±0.3	0.23±0.08
F	24.6±2.2	2.7±0.8	0.68±0.21	9.2±0.6	0.8±0.1	0.20±0.04
<i>G. celosioides</i>						
C	30.1±2.0	9.3±1.9	2.71±0.72	12.3±2.3	3.1±0.5a	0.99±0.21a
F	25.1±2.3	5.5±1.4	1.37±0.29	7.7±1.1	1.3±0.3b	0.38±0.08b

*Different lower case letter shown significant difference ($P<0.05$) between non-contaminated and 200 mg/kg fluoranthene contaminated soil. Abbreviation: C = non-contaminated soil, F= 200 mg/kg fluoranthene contaminated soil

Table 2 Chlorophyll content of 3 weeds in non-contaminated and 200 mg/kg fluoranthene contaminated soil for 30 days

Plant	Chlorophyll a (mg/ml)	Chlorophyll b (mg/ml)	Total chlorophyll (mg/ml)
<i>C. rotundus</i>			
C	29.2±0.4	25.8±5.1	55.0±5.2
F	29.5±0.4	15.1±0.6	44.6±0.8
<i>P. niruri</i>			
C	27.8±0.1b	52.5±0.9a	80.3±0.9a
F	29.9±0.3a	34.2±2.6b	64.1±2.3b
<i>G. celosioides</i>			
C	29.6±0.5	35.2±4.1	64.8±3.7
F	30.5±0.2	24.6±3.0	55.1±3.1

*Different lower case letter shown significant difference ($P<0.05$) between non-contaminated and 200 mg/kg fluoranthene contaminated soil. Abbreviation: C = non-contaminated soil, F= 200 mg/kg fluoranthene contaminated soil

Table 3 Percentage of fluoranthene remaining in 200 mg/kg fluoranthene contaminated soil planted with each weed for 30 days

Plant	%Remaining of fluoranthene
Non-plant	62.6±13.8
<i>C. rotundus</i>	58.2±8.5
<i>P. niruri</i>	63.6±4.8
<i>G. celosioides</i>	70.4±5.2

เมื่อพิจารณาจากปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบของพืชทั้งสามชนิด พบว่าในใบเหี่ยวและใบบานไม่รู้โรยป่ามีปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์ทั้งหมดในดินที่ปนเปื้อนและไม่ปนเปื้อนไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) ในขณะที่ปริมาณคลอโรฟิลล์เอในใบของลูกใต้ใบที่เจริญเติบโตในดินที่ปนเปื้อนฟลูออแรนทีนมากกว่าต้นที่เจริญเติบโตในดินไม่ปนเปื้อน แต่มีปริมาณคลอโรฟิลล์บี และคลอโรฟิลล์ทั้งหมดน้อยกว่าต้นที่เจริญเติบโตในดินที่ไม่ปนเปื้อนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 2)

อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการเพิ่มการย่อยสลายทางชีวภาพของฟลูออแรนทีนในดินพบว่า การปลูกพืชและไม่ปลูกพืชไม่มีผลต่อปริมาณฟลูออแรนทีนในดิน โดยมีปริมาณฟลูออแรนทีนที่เหลืออยู่อยู่ระหว่าง 58.2-70.4% ของปริมาณเริ่มต้น ภายในระยะเวลา 30 วัน

วิจารณ์และสรุปผลการวิจัย

เมื่อเปรียบเทียบการย่อยสลายฟลูออแรนทีนในดินชุดที่ปลูกพืชนั้น เฉพาะการปลูกเหี่ยวเท่านั้นที่สามารถเพิ่มการย่อยสลายฟลูออแรนทีนในดินได้ โดยเกิดการย่อยสลายได้ 61.8% ภายในเวลา 30 วัน หรือคิดเป็น 93% ของดินที่ไม่ปลูกพืช ประสิทธิภาพของการปลูกเหี่ยวนี้ขึ้นอยู่กับระดับเดียวกับการปลูก *Lolium perenne*

เป็นเวลา 365 วัน ที่สามารถลดปริมาณฟลูออแรนทีนได้คิดเป็น 98.2% ของดินที่ไม่ปลูกพืช (Rezek *et al.*, 2008) แต่จัดว่ามีประสิทธิภาพน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับ การปลูกข้าวโพดข้าวเหนียว กระเจียวเขียว ถั่วฝักยาว และบวบเหลี่ยมที่สามารถลดปริมาณฟลูออแรนทีนได้คิดเป็น 21.6, 23.4, 10.4 และ 4.2% ของดินที่ไม่ปลูกพืชตามลำดับ (Somtrakoon *et al.*, 2014b; 2015) นอกจากนี้ฟลูออแรนทีนยังแสดงความเป็นพิษต่อวัชพืชทั้ง 3 ชนิด โดยลูกใต้ใบนั้นใบแสดงอาการคลอโรซิส (Chlorosis) และปริมาณคลอโรฟิลล์บีในใบลดลงอย่างชัดเจน ซึ่งมีโอกาสที่จะส่งผลต่อการเจริญเติบโตและการสังเคราะห์ด้วยแสงในระยะยาว ส่วนบานไม่รู้โรยป่ากับเหี่ยวนั้นปริมาณคลอโรฟิลล์ในใบไม่ได้รับผลกระทบจากฟลูออแรนทีนแต่น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของรากลดลงอย่างชัดเจน ซึ่งส่วนของรากเป็นส่วนที่สัมผัสกับสารมลพิษโดยตรงและมีบทบาทสำคัญทั้งในการดูดน้ำและธาตุอาหารจากดิน และหลังสารที่จำเป็นลงสู่ดินด้วย

หากพิจารณาในด้านการลดปริมาณฟลูออแรนทีนในดินแล้ว การปลูกลูกใต้ใบและบานไม่รู้โรยป่าไม่เพิ่มการย่อยสลายฟลูออแรนทีนในดินเลย และมีแนวโน้มการย่อยสลายลดลง อย่างไรก็ตาม ยังมีพืชอีกหลายชนิดที่มีรายงานว่าปลูกแล้วมีแนวโน้มลดการย่อยสลายฟลูออแรนทีนในดิน ได้แก่ การปลูก *Melilotus officinalis* เป็นเวลา 180 วัน (Parrish *et al.*, 2005) แต่ทั้งลูกใต้ใบและบานไม่รู้โรยป่า

ยังมีผลยับยั้งการย่อยสลายฟลูออแรนทีนน้อยกว่าการปลูก *Festuca arundinacea* เป็นเวลา 180 วัน ซึ่งมีการย่อยสลายฟลูออแรนทีน 22.6% จากความเข้มข้นเริ่มต้น 16.78 มก./กก. ในขณะที่ดินไม่ปลูกพืชมีการย่อยสลายเกิดขึ้น 33.5% ที่ระยะเวลาเท่ากัน (Parrish *et al.*, 2005)

อย่างไรก็ตาม ในชุดควบคุมของการทดลองนี้ ซึ่งเป็นชุดที่ไม่ปลูกพืช การย่อยสลายฟลูออแรนทีนค่อนข้างสูงและเกิดขึ้นได้เร็ว โดยย่อยสลายได้ถึง 37.4% ภายในระยะเวลา 30 วัน จากความเข้มข้นเริ่มต้น 200 มก./กก. ซึ่งน้อยกว่างานวิจัยอื่นๆ ที่การย่อยสลายฟลูออแรนทีนในดินที่ไม่ปลูกพืชถึง 68.4% ภายในระยะเวลา 1 ปี จากความเข้มข้นเริ่มต้น 103.5 มก./กก. (Rezek *et al.*, 2008) และ 76% ภายในระยะเวลา 84 วัน จากความเข้มข้นเริ่มต้น 3.3 มก./กก. (Hultgren *et al.*, 2010) แต่มากกว่าการย่อยสลายฟลูออแรนทีนในดินที่ไม่ปลูกพืชของงานวิจัยส่วนหนึ่งที่มีการย่อยสลายเกิดขึ้นได้ 1.6-26.2% ภายในระยะเวลา 30 วัน จากความเข้มข้นเริ่มต้น 100 มก./กก. (Somtrakoon *et al.*, 2014b; 2015) และ 50% ภายในระยะเวลา 1 ปี จากความเข้มข้นเริ่มต้น 103.5 มก./กก. (Rezek *et al.*, 2009) ทำให้การกระตุ้นการย่อยสลายด้วยการปลูกพืชไม่มีความจำเป็นในการส่งเสริมการบำบัดฟลูออแรนทีนในดินชุดนี้มากนัก และเป็นไปได้ที่ทำให้เห็นประสิทธิภาพของพืชที่ทดสอบไม่ชัดเจนพอ

แม้ว่าประสิทธิภาพในการเพิ่มการย่อยสลายทางชีวภาพของฟลูออแรนทีนในดินที่ปลูกวัชพืชทั้งสามชนิดไม่แตกต่างกัน แต่เนื่องจากการใช้วัชพืชนั้นยังมีข้อดีมากกว่าการใช้พืชอาหารหรือพืชสมุนไพรในการบำบัดดินที่ปนเปื้อนสารมลพิษ จึงควรศึกษาเพิ่มเติมกับวัชพืชชนิดอื่นหรือเลือกวัชพืชจากพื้นที่ที่เคยเกิดการปนเปื้อนมาก่อน รวมทั้งศึกษาเพิ่มประสิทธิภาพในการฟื้นฟูดินที่ปนเปื้อนพีเอเอชในระยะการทดลองที่ยาวขึ้น หรือปลูกพืชในดินที่มีจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายพีเอเอชตามธรรมชาติได้น้อยต่อไป ทั้งนี้เพราะการปลูกพืชสามารถส่งเสริมการ

ย่อยสลายพีเอเอชของจุลินทรีย์ได้ทั้งโดยการกระตุ้นผ่านวิธีเมทาบอลิซึมร่วม หรือการส่งเสริมการเจริญและการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ในดิน เป็นต้น

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ ที่ได้สนับสนุนทุนวิจัย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561

เอกสารอ้างอิง

- Chouychai, W., A. Tongkukiatkul, S. Upatham, H. Lee, P. Pokethitiyook and M. Kruatrachue. 2009. Plant-enhanced phenanthrene and pyrene biodegradation in acidic soil. *J. Environ. Biol.* 30: 139-144.
- Chouychai, W. 2011. Distribution and phytotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons. *RMUTP Research J.* 5(1): 140-152. [in Thai]
- Gadde, B., S. Bonnet, C. Menke and S. Garivait. 2009. Air pollutant emissions from rice straw open field burning in India, Thailand, and the Philippines. *Environ. Pollut.* 157: 1554-1558.
- Huang, X.D., Y. El Alawi, D.M. Penrose, B.R. Glick and B.M. Greenberg. 2004. Response of three grass species to creosote during phytoremediation. *Environ. Pollut.* 130: 453-463.

- Hultgren, J., L. Pizzul, M.P. Castillo, and U. Granhall. 2010. Degradation of PAH in a creosote-contaminated soil. A comparison between the effects of willows (*Salix viminalis*), wheat straw and a nonionic surfactant. **Int. J. Phytoremediat.** 12: 54-66.
- Ikeura, H., Y. Kawasaki, E. Kaimi, J. Nishiwaki, K. Noborio and M. Tamaki. 2016. Screening of plants for phytoremediation of oil-contaminated soil. **Int. J. Phytoremediat.** 18: 460-466.
- Liste, H. and M. Alexander. 2000. Plant-promoted pyrene degradation in soil. **Chemosphere** 40: 7-10.
- Liste, H. and I. Prutz. 2006. Plant performance, dioxygenase-expressing rhizosphere bacteria, and biodegradation of weathered hydrocarbons in contaminated soil. **Chemosphere** 62: 1411-1420.
- Nadal, M., M. Schuhmacher and J.L. Domingo. 2004. Levels of PAHs in soil and vegetation samples from Tarragona County, Spain. **Environ. Pollut.** 132: 1-11.
- Oanh, N.T.K., L.B. Reutergardh, Tr. Dung, N. Yu, W.X. Yao and H.X. Co. 2000. Polycyclic aromatic hydrocarbons in the airborne particulate matter at a location 40 km north of Bangkok, Thailand. **Atmospher. Environ.** 34: 4557-4563.
- Parrish, Z.D., M.K. Banks and A.P. Schwab. 2005. Effect of root death and decay on dissipation of polycyclic aromatic hydrocarbons in the rhizosphere of yellow sweet clover and tall fescue. **J. Environ. Qual.** 34: 207-216.
- Rezek, J., C. Wiesche, M. Mackova, F. Zadrazil and T. Macek. 2008. The effect of ryegrass (*Lolium perenne*) on decrease of PAH content in long term contaminated soil. **Chemosphere** 70: 1603-1608.
- Rezek, J., C. in der Wiesche, M. Mackova, F. Zadrazil and T. Macek. 2009. Biodegradation of PAHs in long-term contaminated soil cultivated with European white birch (*Betula pendula*) and red mulberry (*Morus rubra*) tree. **Int. J. Phytoremediat.** 11: 65-80.
- Siciliano, S.D. and J.J. Germida. 1998. Mechanisms of Phytoremediation: biochemical and ecological interactions between plants and bacteria. **Environ. Rev.** 6: 65-79.
- Somtrakoon, K., W. Wongsomsri, J. Wannarat and W. Chouychai. 2012. Phytoremediation of anthracene-contaminated soil by yard long bean and sweet corn. **Sci. Technol. Ubonratchthanee University J.** 14(4): 1-12. [in Thai]

Somtrakoon, K., W. Chouychai and H. Lee.

2014a. Comparing anthracene and fluorine degradation in anthracene and fluorene-contaminated soil by single and mixed plant cultivation.

Int. J. Phytoremediat. 16: 415-428.

_____. 2014b. Phytoremediation of anthracene and fluoranthene-contaminated soil by *Luffa acutangula*. **Maejo Inter. J. Sci. Technol.** 8: 221-231.

_____. 2015. Removal of anthracene and fluoranthene by waxy corn, longbean and okra in lead-contaminated soil. **Bull. Environ. Contam. Toxicol.** 95: 407-413.

Sverdrup, L.E., P.H. Krogh, T. Nielsen, C. Kjaer

and J. Stenessen. 2003. Toxicity of eight polycyclic aromatic hydrocarbons to red clover (*Trifolium pretense*) ryegrass (*Lolium perenne*) and mustard (*Sinapsis alba*). **Chemosphere** 53: 993-1003.

Tao, S., Y.H. Cui, F.L. Xu, B.G. Li, J. Cao, W.X. Liu, G. Schmitt, X.J. Wang, W.R. Shen, B.P. Qing and R. Sun. 2004. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in agricultural soil and vegetables from Tianjin. **Sci. total Environ.** 320: 11-24.

Wei, S. and S. Pan. 2010. Phytoremediation for soils contaminated by phenanthrene and pyrene with multiple plant species. **J. Soil Sediments.** 10: 886-894.

บทบาทของแบคทีเรียกลุ่มสนับสนุนการเจริญของพืชต่อการเจริญของต้นกล้าไม้ประดับ
ที่ปลูกในดินปนเปื้อนแอนทราซีน

Roles of Plant Growth Promoting Bacteria on Growth of Ornamental Plants
Grown in Anthracene-spiked Soil

ขนิษฐา สมตระกูล^{1*} อภิเดช แสงดี¹ และวราภรณ์ ฉุยฉาย²

Khanitta Somtrakoon^{1*}, Aphidech Sangdee¹ and Waraporn Chouychai²

¹ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม มหาสารคาม 44150

²สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ นครสวรรค์ 60000

¹Department of Biology, Faculty of Science, Mahasarakham University, Mahasarakham, Thailand 44150

²Biology Program, Faculty of Science and Technology, Nakhonsawan Rajabhat University, Nakhonsawan, Thailand 60000

*Corresponding author: khanitta.s@msu.ac.th

Received: November 2, 2018

Revised: January 30, 2019

Accepted: February 8, 2019

Abstract

This study was performed to determine the ability of plant growth promoting bacteria (*Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁, *Streptomyces* sp. SRF1, *Streptomyces* sp. St1 and *Streptomyces* sp. St8) to stimulate growth of ornamental plants namely *Impatiens balsamina* L., *Tagetes erecta* L. and *Crotalaria juncea* L. grown in 200 mg/kg of anthracene-spiked soils. The results manifested that in the absence of bacterial inoculum, *I. balsamina* L., *T. erecta* L. and *C. juncea* L. grown normally in unspiked soil and anthracene-spiked soil. Using the inoculum of all bacterial strains did not stimulate shoot growth and root growth of *I. balsamina* L., *T. erecta* L. and *C. juncea* L. grown in unspiked soil and anthracene-spiked soil. Applications of bacterial inoculum exert different adverse effect on growth of the plants. For example, *Streptomyces* sp. SRF1 decreased shoot length and shoot weight of *I. balsamina* L. grown in unspiked soil and seed of *I. balsamina* L. did not germinate in anthracene-spiked soil. *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ caused shoot length, shoot fresh weight, root length and root fresh weight of *C. juncea* L. grown in anthracene-spiked soil was lower than that grown without receiving any bacterial inoculum. *Streptomyces* sp. St1 and *Streptomyces* sp. St8 caused shoot length of *T. erecta* L. grown in anthracene-spiked soil were lower than that without receiving any bacterial inoculum.

Keywords: plant growth promoting bacteria, ornamental plant, anthracene

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบความสามารถของแบคทีเรียกลุ่มสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืช *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁, *Streptomyces* sp. SRF1, *Streptomyces* sp. St1 และ *Streptomyces* sp. St8 ต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของไม้ประดับ ได้แก่ เทียนดอก (*I. balsamina* L.) ดาวเรือง (*T. erecta* L.) และปอเทือง (*C. juncea* L.) ซึ่งปลูกในดินที่ปนเปื้อนแอนทราซินที่ระดับความเข้มข้น 200 มก./กก. ผลการศึกษาพบว่าเทียนดอก ดาวเรือง และปอเทืองเจริญเติบโตได้ตามปกติในสภาวะที่ไม่ได้รับหัวเชื้อแบคทีเรียทั้งในดินที่ไม่ปนเปื้อนและปนเปื้อนแอนทราซิน การใช้หัวเชื้อแบคทีเรียทั้งสี่ชนิดไม่กระตุ้นการเจริญเติบโตของยอดและรากของเทียนดอก ดาวเรือง และปอเทือง ไม่ว่าจะปลูกในดินที่ไม่ปนเปื้อนหรือปนเปื้อนก็ตาม การใช้หัวเชื้อแบคทีเรียกลับมีแนวโน้มส่งผลเสียที่แตกต่างกันต่อการเจริญเติบโตของพืช เช่น *Streptomyces* sp. SRF1 ทำให้ความยาวยอดและน้ำหนักรากของยอดเทียนดอกที่ปลูกในดินที่ไม่ปนเปื้อนลดลง และทำให้เมล็ดเทียนดอกไม่งอกเมื่อปลูกในดินที่ปนเปื้อนแอนทราซิน *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ ทำให้ความยาวยอดและน้ำหนักรากของยอด ความยาวรากและน้ำหนักรากของรากปอเทืองที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนแอนทราซินต่ำกว่าปอเทืองที่ปลูกในสภาวะที่ไม่ได้รับหัวเชื้อแบคทีเรีย ส่วน *Streptomyces* sp. St1 และ *Streptomyces* sp. St8 ทำให้ความยาวยอดของดาวเรืองที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนแอนทราซินสั้นกว่าดาวเรืองที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนแต่ไม่ได้รับหัวเชื้อแบคทีเรีย

คำสำคัญ: แบคทีเรียกลุ่มสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืช ไม้ประดับ แอนทราซิน

คำนำ

พอลิไซคลิกอะโรมาติกไฮโดรคาร์บอนหรือพีเอเอช (Polycyclic aromatic hydrocarbons; PAHs) ปนเปื้อนในสิ่งแวดล้อมได้จากหลายสาเหตุ เช่น การเผาไหม้เชื้อเพลิงของยานพาหนะ การเผาไหม้เชื้อเพลิงในบ้านเรือนหรือการปลดปล่อยจากแหล่งอุตสาหกรรม (Cristaldi *et al.*, 2017) สารในกลุ่มพีเอเอชมีโครงสร้างหลักประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติกตั้งแต่สองวงขึ้นไปมาเชื่อมต่อกัน แอนทราซินจัดเป็นพีเอเอชชนิดหนึ่งซึ่งโครงสร้างประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติกสามวง (Rengarajan *et al.*, 2015) และถูกเลือกใช้เป็นชนิดของพีเอเอชต้นแบบในการศึกษานี้ การฟื้นฟูสภาพดินที่ปนเปื้อนโดยการปลูกพืชเป็นที่นิยมในการบำบัดดินที่ปนเปื้อนพีเอเอช (Cristaldi *et al.*, 2017) โดยลักษณะของพืชที่เหมาะสมต่อการปลูกเพื่อบำบัดบริเวณที่ปนเปื้อนด้วยสารมลพิษควรทนทานต่อการปนเปื้อนของสารมลพิษได้ในระดับความเข้มข้นสูงและทนทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น ความเป็นกรดด่าง สภาวะที่มีเกลือเข้มข้นสูง และสภาวะแห้งแล้งได้ดี นอกจากนี้พืชที่นำมาใช้ควรมีชีวมวลสูงและเจริญเติบโตได้รวดเร็วในบริเวณที่ปนเปื้อน (Wang *et al.*, 2017) อย่างไรก็ตามการปลูกพืชในดินที่ปนเปื้อนพีเอเอชจะส่งผลเสียต่อพืชในลักษณะต่างๆ กัน เช่น การงอกของข้าวโพดข้าวเหนียว ข้าวโพดหวาน และข้าวเจ้า ช้าลงเมื่อเพาะในดินที่ปนเปื้อนแอนทราซิน ฟลูออแรนทีน ฟลูออรีน และฟิแนนทรีน (Somtrakoon *et al.*, 2013) รากต้นมะเขือเทศที่สัมผัสกับฟิแนนทรีนและไพรีนทำให้ความยาวยอด ความยาวราก ปริมาณคลอโรฟิลล์เอ คลอโรฟิลล์บี และแคโรทีนอยด์ ลดลง (Ahmed *et al.*, 2012) เป็นต้น

การใช้แบคทีเรียกลุ่มสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืชเป็นทางเลือกที่ดีในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนสารในกลุ่มปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอนและพีเอเอช (Chen *et al.*, 2017; Hou *et al.*, 2015) แบคทีเรียกลุ่มนี้กระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชได้แตกต่างกัน เช่น การผลิตเอนไซม์เอซีซีดีอะมิเนส

(ACC deaminase) ช่วยลดระดับเอทิลีนในพืช การผลิตกรดอินโดล-3-แอซิดิกที่ช่วยกระตุ้นการพัฒนาของราก การผลิตไซโตโรพอร์ช่วยให้พืชนำธาตุเหล็กไปใช้ได้มากขึ้น และการละลายฟอสเฟตช่วยให้ฟอสเฟตอยู่ในรูปที่พืชนำไปใช้ได้ เป็นต้น (Gobelak *et al.*, 2015) รายงานการวิจัยที่ประสบความสำเร็จในการนำแบคทีเรียกลุ่มสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืชมาใช้กระตุ้นการเจริญเติบโตของพืชที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนสารมลพิษ เช่น แบคทีเรียที่คัดแยกได้จากดินบริเวณรอบรากของต้น *Scirpus triqueter* ซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์เอซิดิอะมิเนส ไซโตโรพอร์ กรดอินโดล-3-แอซิดิก และละลายฟอสเฟต สามารถส่งเสริมให้พืชที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนร่วมกันระหว่างนิกเกิลและไพรีนทันทานต่อสารมลพิษทั้งสองได้ดีขึ้น (Chen *et al.*, 2017) และแบคทีเรีย *Klebsiella* sp. D5A กระตุ้นให้ชีวมวลของรากหญ้าเฟสคิว (*Testuca arundinacea*) สูงขึ้น เมื่อปลูกในดินที่ปนเปื้อนปิโตรเลียมไฮโดรคาร์บอน (Hou *et al.*, 2015) สำหรับวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ คือ ทดสอบประสิทธิภาพของแบคทีเรียกลุ่มสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืชในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของไม้ประดับ ได้แก่ เทียนดอก ดาวเรือง และปอเทือง ซึ่งปลูกในดินที่ปนเปื้อนแอนทราซีน โดยแบคทีเรียกลุ่มสนับสนุนการเจริญของพืชที่ใช้ ได้แก่ *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ (คล้ายกับ *P. polymyxa* 97%) *Streptomyces* sp. SRF1 (คล้ายกับ *S. hygroscopicus* 99%) *Streptomyces* sp. St1 (คล้ายกับ *S. niveoruber* 97%) และ *Streptomyces* sp. St8 (คล้ายกับ *S. misionensis* 99%) โดยใช้ข้อมูลจากลำดับเบสบน 16s rDNA ผลการศึกษาที่ได้จะเป็นประโยชน์ต่อการนำไปคัดเลือกแบคทีเรียและชนิดของพืชที่เหมาะสมต่อการฟื้นฟูสภาพดินที่ปนเปื้อนด้วยสารในกลุ่มพีเอเอชต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

เตรียมดินที่ปนเปื้อนแอนทราซีน

ผึ่งดินให้แห้งที่อุณหภูมิห้องแล้วร่อนด้วยตะแกรงที่มีขนาดรูพรุน 2 มิลลิเมตร นำดินไปผ่านการฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121°C. เป็นเวลา 15 นาที จำนวน 1 ครั้ง ตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง จำลองดินให้ปนเปื้อนโดยการละลายแอนทราซีนในไดคลอโรมีเทนแล้วเติมลงในดินแห้งที่ทราบน้ำหนักแน่นอน ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายในดินเป็น 200 มก./กก. น้ำหนักแห้งของดิน จากนั้นผึ่งดินให้ตัวทำละลายระเหยไป การทดลองในชุดควบคุมเตรียมดินเช่นเดียวกัน แต่เติมไดคลอโรมีเทนซึ่งเป็นตัวทำละลายลงไปเพียงอย่างเดียวในปริมาณที่เท่ากัน เมื่อดินแห้งจนมีน้ำหนักคงที่แล้วจึงบรรจุดินปริมาณ 50 กรัม ลงในกระถางสำหรับเพาะเมล็ดซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 8 ซม.

เตรียมหัวเชื้อแบคทีเรีย

เพาะเลี้ยง *Streptomyces* sp. SRF1, *Streptomyces* sp. St1 และ *Streptomyces* sp. St8 ในอาหาร Potato Dextrose Agar ครึ่งสูตร เป็นเวลา 7 วัน โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37°C. 2 วัน แล้วจึงย้ายมาบ่มที่อุณหภูมิห้องอีก 5 วัน จากนั้นเติมสารละลายโซเดียม คลอไรด์ความเข้มข้น 0.85% ลงบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วใช้เข็มเขี่ยปลายห่วงชุดเซลล์และสปอร์ที่อยู่บนผิวหน้าอาหารเพื่อเตรียมเป็นสารแขวนลอยแบคทีเรีย โดยปริมาณ *Streptomyces* แต่ละสายพันธุ์ที่นับได้บนอาหาร Potato Dextrose Agar ครึ่งสูตรเท่ากับ 10⁸ cfu/มล. ในขณะที่แบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ เตรียมโดยเพาะเลี้ยงในอาหาร Nutrient broth ปริมาตร 50 มล. บ่มเชื้อในเครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 100 รอบ/นาที ควบคุมอุณหภูมิเป็น 30°C. เป็นเวลา 24 ชม. เก็บเกี่ยวเซลล์โดยนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเซ็นตริฟิวจ์ จากนั้นเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียให้ได้ปริมาณแบคทีเรียเริ่มต้น 10⁸ cfu/มล.

ทดสอบความสามารถในการผลิตกรดอินโดล-3-แอซิดิก และความสามารถในการละลายฟอสเฟต

นำหัวเชื้อแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด มาทดสอบการผลิตกรดอินโดล-3-แอซิดิก โดยเฉพาะเลี้ยงแบคทีเรียในอาหารที่ผสมทริปโตเฟน 0.1 มก./ลิตร และวิเคราะห์ปริมาณการผลิตตามวิธีการของ Ahmad *et al.* (2008) ส่วนความสามารถในการละลายฟอสเฟตทำโดยเพาะเลี้ยงแบคทีเรียบนอาหาร Pikovskaya's agar แล้วสังเกตบริเวณใสรอบโคโลนีตามวิธีการของ Naik *et al.* (2008)

ทดสอบความสามารถของแบคทีเรียในการกระตุ้น การเจริญเติบโตของไม้ประดับ

การทดสอบความสามารถของแบคทีเรียในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของไม้ประดับ วางแผนการทดลองแบบ Factorial in CRD (2x5) ปัจจัยแรก คือ ชนิดของดิน (ดินที่ไม่ปนเปื้อนและดินที่ปนเปื้อนแอนทราซีน) ปัจจัยที่สอง คือ ชนิดของแบคทีเรีย (ไม่เติมแบคทีเรียและเติมแบคทีเรียอย่างใดอย่างหนึ่ง ได้แก่ *Streptomyces* sp. St1, *Streptomyces* sp. St8, *Streptomyces* sp. SRF1 หรือ *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁) แต่ละกรรมวิธีการทดลองทำทั้งหมด 5 ซ้ำ การเติมหัวเชื้อแบคทีเรียลงสู่ดินใช้วิธีเทราดสารแขวนลอยของ *Streptomyces* แต่ละสายพันธุ์หรือสารละลายเซลล์ของ *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ ลงสู่กระถางเพาะเมล็ดของพืชแต่ละชนิดให้ชุ่มพอดีในวันแรกของการเพาะเมล็ดพันธุ์ (10 มล.) โดยคำนวณให้ได้ความเข้มข้นเริ่มต้นของหัวเชื้อในดินเป็น 10^6 cfu/กรัม น้ำหนักแห้งของดิน (หลังจากเติมเชื้อนั้นปริมาณแบคทีเรียแต่ละชนิดในดินได้ดังนี้ *Streptomyces* sp. St1 เป็น 10^5 cfu/กรัม น้ำหนักแห้งของดิน *Streptomyces* sp. St8 เป็น 10^7 cfu/กรัม น้ำหนักแห้งของดิน *Streptomyces* sp. SRF1 เป็น 10^5 cfu/กรัม น้ำหนักแห้งของดิน และ *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ เป็น 10^6 cfu/กรัม น้ำหนักแห้งของดิน) การทดลองในชุดควบคุมทำเช่นเดียวกันเพียงแต่เติมน้ำกลั่นลงในกระถางทดลองแทนสารแขวนลอยของ *Streptomyces* หรือสารละลายเซลล์

ทำความสะอาดเมล็ดพันธุ์พืชที่พื้นผิวโดยแช่เมล็ดในสารละลายไฮโปคลอไรต์ความเข้มข้น 0.6% และเติมน้ำ 20 ลงไป 2-3 หยด เขย่าเป็นครั้งคราว 5 นาที จากนั้นถ่ายเมล็ดพันธุ์พืชลงในน้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อเพื่อล้างไฮโปคลอไรต์ออกจากเมล็ดพันธุ์จำนวน 3 ครั้ง แต่ละครั้งให้เขย่าครั้งละ 1 นาที นำเมล็ดพันธุ์มาเพาะลงในดินที่ไม่ปนเปื้อนและดินที่ปนเปื้อนแอนทราซีน ซึ่งเตรียมไว้ข้างต้น โดยทำการเพาะกระถางละ 10 เมล็ด นำกระถางบรรจุดินที่เพาะเมล็ดแล้วไปตั้งไว้ในบริเวณที่ได้รับแสงธรรมชาติและสลัปดาห์หนึ่งของกระถางทุกวันเพื่อลดความลำเอียงจากการได้รับแสงธรรมชาติ รดด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อทุกวันเพื่อรักษาความชื้นในดินให้เพียงพอเมื่อต้นกล้ามีอายุ 10 วัน ให้เก็บต้นกล้ามาวิเคราะห์การเจริญเติบโต ได้แก่ ความยาวราก ความยาวยอด น้ำหนักของราก และน้ำหนักของยอด

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของกรดอินโดล-3-แอซิดิก ที่ผลิตโดย *Streptomyces* 3 สายพันธุ์ วิเคราะห์ด้วย One-way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างรายคู่ด้วย Least Square Difference (LSD) ส่วนการทดสอบชนิดแบคทีเรียที่ส่งผลกระทบต่อ การเจริญเติบโตของไม้ประดับวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วย Two-way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างรายคู่ด้วย Least Square Difference (LSD)

ผลการวิจัย

แบคทีเรียที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ *Streptomyces* sp. St1, *Streptomyces* sp. St8, *Streptomyces* sp. SRF1 และ *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ มีความสามารถในการผลิตกรดอินโดล-3-แอซิดิกได้ ส่วนความสามารถในการละลายฟอสเฟตพบใน *Streptomyces* sp. St1 และ *Streptomyces* sp. St8 เท่านั้น ความสามารถในการผลิตกรดอินโดล-3-แอซิดิก

ของแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptomyces* ยกเว้น *Streptomyces* sp. SRF1 เกิดขึ้นได้ดีในวันที่ 20 ของการทดลอง โดยเชื้อ *Streptomyces* sp. St1 ผลิตกรดอินโดล-3-แอซิกได้ดีที่สุด ส่วนความสามารถในการผลิตกรดอินโดล-3-แอซิกของ *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ เกิดขึ้นได้ดีที่เวลา 48 ชั่วโมง (Table 1) โดยแบคทีเรียทั้งสี่ชนิดมีแนวโน้มไม่ส่งเสริมการเจริญเติบโตในระยะต้นกล้าของเทียนดอกดาวเรือง และปอเทือง ซึ่งปลูกในดินที่ไม่ปนเปื้อนหรือปนเปื้อนแอนทราซีนที่ระดับความเข้มข้น 200 มก./กก. การเติมหัวเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* sp. St1, *Streptomyces* sp. St8 และ *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ ไม่ทำให้การเจริญเติบโตของยอดและรากเทียนดอกดีกว่า

การไม่เติมแบคทีเรียทั้งในดินที่ไม่ปนเปื้อนและดินที่ปนเปื้อนแอนทราซีน ในขณะที่การเติมแบคทีเรีย *Streptomyces* sp. SRF1 กลับทำให้ความยาวยอด น้ำหนักสดของยอด และน้ำหนักแห้งของยอดเทียนดอกที่ปลูกในดินที่ไม่ปนเปื้อนแอนทราซีนมีค่าเพียง 0.6 ซม. 24.7 มก. และ 1.6 มก. ตามลำดับ ส่วนความยาวยอด น้ำหนักสดของยอด และน้ำหนักแห้งของยอดเทียนดอกในกรรมวิธีทดลองอื่นๆ มีค่าระหว่าง 3.5-4.8 ซม. 110.7-186.6 มก. และ 6.9-12.4 มก. ตามลำดับ นอกจากนี้เมล็ดเทียนดอกไม่งอกในดินที่ปนเปื้อนแอนทราซีนและเติมหัวเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* sp. SRF1 (Table 2)

Table 1 Phosphate solubilization activity and indole-3-acetic acid production by each plant growth promoting bacteria

Bacteria	Phosphate solubilization	Indole-3-acetic acid (mg/l)	
		10 days (24 hrs for <i>Paenibacillus</i> sp. BSR ₁₋₁)	20 days (48 hrs for <i>Paenibacillus</i> sp. BSR ₁₋₁)
<i>Streptomyces</i> sp. SRF1	-	0.71±0.10a	N.D.
<i>Streptomyces</i> sp. St1	+	1.68±0.32a	15.72±0.11a*
<i>Streptomyces</i> sp. St8	+	1.12±0.41a	8.81±2.12b*
<i>Paenibacillus</i> sp. BSR ₁₋₁	-	1.87±0.27	5.66±1.19

Different lower-case letter denoted significant difference ($P < 0.05$) between the different strain of *Streptomyces* in the same day. The result of BSR₁₋₁ was not compared because the growth time was different. * denote significant difference ($P < 0.05$) of the same strain between the different day, N.D. = not detected, + = can solubilize phosphate and - = cannot solubilize phosphate

Table 2 Growth of *Impatiens balsamina* L. in unspiked soil and anthracene-spiked soil with or without receiving each plant growth promoting bacteria

Treatment	Shoot growth			Root growth		
	Length	Fresh weight	Dry weight	Length	Fresh weight	Dry weight
	(cm)	(mg)	(mg)	(cm)	(mg)	(mg)
Unspiked soil						
Distilled water	4.8±0.54a	110.7±20.0a	7.4±1.3a	2.7±0.46a	14.2±3.1a	1.3±0.29a
SRF1	0.6±0.12b	24.7±3.7b	1.6±0.2b	1.7±0.94a	4.5±0.8a	0.4±0.08a
St1	3.8±3.75a	186.6±3.7a	12.4±0.2a	3.6±0.85a	8.8±1.8a	0.9±0.18a
St8	3.5±1.05a	103.2±29.7a	6.9±2.0a	2.2±1.12a	11.9±7.0a	1.2±0.70a
BSR ₁₋₁	4.4±1.65a	136.6±54.9a	9.1±3.6a	1.9±0.66a	19.6±13.8a	2.0±1.38a
Anthracene						
Distilled water	4.4±0.58a	108.4±17.4a	7.2±1.2a	3.5±0.41a	12.4±2.2a	1.1±0.19a
SRF1	N.G.	N.G.	N.G.	N.G.	N.G.	N.G.
St1	2.0±1.15a	60.9±50.8a	4.1±3.4a	1.6±1.55a	6.0±0.1a	0.5±0.01a
St8	2.0±0.85a	41.0±15.8a	2.7±1.0a	0.2±0.10a	2.6±0.1a	0.2±0.01a
BRS ₁₋₁	4.4±0.05a	141.4±1.4a	9.4±0.1a	1.8±0.05a	11.8±0.2a	1.0±0.02a
PAH	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Bacteria	**	*	*	ns	ns	ns
PAH x Bacteria	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Different lower-case letter denoted significant difference ($P<0.05$) between the different bacterial inoculum in the same soil.

*denote significant difference ($P<0.05$) of the same soil between the same bacterial inoculation, N.G. = not germinated

ผลการทดลองใน Table 3 แสดงให้เห็นว่าการเติมหัวเชื้อแบคทีเรียทั้งสี่ชนิดไม่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของรากดาวเรืองทั้งที่ปลูกในดินที่ไม่ปนเปื้อนและดินที่ปนเปื้อนแอนทราซีนเช่นกัน โดยความยาวราก น้ำหนักสด และน้ำหนักแห้งของรากต้นกล้าดาวเรืองที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนและไม่ปนเปื้อนแอนทราซีนไม่แตกต่างกัน ในขณะที่การเจริญเติบโตของยอดดาวเรืองที่ปลูกในดินที่ไม่ปนเปื้อนและไม่ได้รับหัวเชื้อแบคทีเรียหรือได้รับหัวเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* sp. SRF1 มีค่ามากกว่าความยาวยอด น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของยอด

ดาวเรืองที่ปลูกในดินที่ไม่ปนเปื้อนแต่ได้รับแบคทีเรีย *Streptomyces* sp. St1, *Streptomyces* sp. St8 และ *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ ส่วนดาวเรืองที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนแอนทราซีน พบว่าน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของยอดดาวเรืองที่ปลูกในดินปนเปื้อนแอนทราซีนและไม่ได้รับหัวเชื้อแบคทีเรีย มีค่าไม่แตกต่างจากน้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของยอดดาวเรืองที่ปลูกในดินปนเปื้อนและได้รับหัวเชื้อแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามความยาวยอดของดาวเรืองที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนและได้รับหัวเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* sp. St1 และ *Streptomyces*

sp. St8 มีค่าเพียง 2.83 และ 2.60 ซม. ตามลำดับ ซึ่งเป็นค่าที่ต่ำกว่าความยาวยอดของดาวเรืองที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนแอนทราซีนและไม่ได้รับหัวเชื้อแบคทีเรียซึ่งมีค่า 4.46 ซม.

Table 3 Growth of *Tagetes erecta* L. in unspiked soil and anthracene-spiked soil with or without receiving each plant growth promoting bacteria

Treatment	Shoot growth			Root growth		
	Length (cm)	Fresh weight (mg)	Dry weight (mg)	Length (cm)	Fresh weight (mg)	Dry weight (mg)
Unspiked soil						
Distilled water	4.84±0.36a	33.8±3.7a	3.4±0.4a	4.1±0.40a	5.2±0.6a	0.5±0.06a
SRF1	4.88±0.81a	27.8±4.3a	2.8±0.4a	4.0±0.41a	3.9±0.5a	0.4±0.05a
St1	2.78±0.44b	22.9±1.9b	2.3±0.2b	2.5±0.50a	4.2±1.1a	0.4±0.11a
St8	2.38±0.28b	23.0±3.6b	2.3±0.4b	2.6±0.40a	4.6±1.5a	0.6±0.16a
BSR ₁₋₁	2.85±0.05b	17.6±0.1b	1.9±0.1b	2.4±0.05a	2.8±0.2a	0.3±0.02a
Anthracene						
Distilled water	4.46±0.36a	24.0±2.6a	2.4±0.2a	2.6±0.34a	3.8±0.5a	0.3±0.06a
SRF1	3.48±0.94ab	19.8±3.6a	2.0±0.3a	2.7±0.67a	4.4±1.6a	0.5±0.17a
St1	2.83±0.25b	16.8±2.3a	1.7±0.2a	2.2±0.59a	2.6±0.7a	0.3±0.07a
St8	2.60±0.85b	17.0±5.4a	1.7±0.5a	2.0±1.18a	3.8±0.5a	0.4±0.11a
BSR ₁₋₁	3.39±0.37ab	22.0±3.8a	2.1±0.4a	1.9±0.59a	3.6±0.7a	0.4±0.07a
PAH	ns	ns	ns	ns	ns	ns
Bacteria	**	*	*	ns	ns	ns
PAH x Bacteria	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Different lower-case letter denoted significant difference ($P < 0.05$) between the different bacterial inoculum in the same soil.

*denote significant difference ($P < 0.05$) of the same soil between the same bacterial inoculation

ผลการทดลองใน Table 4 แสดงให้เห็นว่าต้นกล้าปอเทืองเจริญเติบโตได้ตามปกติทั้งในดินที่ไม่ปนเปื้อนและปนเปื้อนแอนทราซีน การเติมหัวเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* sp. St1, *Streptomyces* sp. St8 และ *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ กลับมีแนวโน้มทำให้น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของรากปอเทืองที่ปลูกในดินที่ไม่ปนเปื้อนรวมทั้งความยาวราก น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของราก

ปอเทือง ที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนต่ำกว่ารากของปอเทืองที่ไม่ได้รับหัวเชื้อแบคทีเรียอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของรากต้นกล้าปอเทืองที่เจริญเติบโตในสถานะที่ไม่ได้รับหัวเชื้อแบคทีเรีย มีค่าเท่ากับ 63.9 มก. และ 6.4 มก. ตามลำดับ ในขณะที่น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งของรากปอเทืองที่เจริญเติบโตในดินที่ไม่ปนเปื้อนและได้รับหัวเชื้อแบคทีเรียมีค่าระหว่าง 17.3-38.4

และ 1.8-3.8 มก. ตามลำดับ สำหรับความยาวราก น้ำหนักสดของราก และน้ำหนักแห้งของรากปอเทืองที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนและได้รับหัวเชื้อแบคทีเรีย มีค่าระหว่าง 1.8-2.5 ซม. 16.5-25.6 มก. และ 1.6-2.6 มก.ตามลำดับ ส่วนปอเทือง

ที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนแอนทราซีนแต่ไม่ได้รับแบคทีเรีย กลุ่มสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืชมีแนวโน้มเจริญเติบโตได้ดีกว่า โดยมีความยาวรากเท่ากับ 4.7 ซม. น้ำหนักสด 39.1 มก. และน้ำหนักแห้ง 3.9 มก.

Table 4 Growth of *Crotalaria juncea* L. in unspiked soil and anthracene-spiked soil with or without receiving each plant growth promoting bacteria

Treatment	Shoot growth			Root growth		
	Length (cm)	Fresh weight (mg)	Dry weight (mg)	Length (cm)	Fresh weight (mg)	Dry weight (mg)
Unspiked soil						
Distilled water	12.5±0.57a	245.8±10.3a	14.5±0.6a	3.9±0.45a	63.9±7.5a	6.4±0.7a
SRF1	9.7±0.88b	207.6±17.5ab	17.3±1.5a*	3.5±0.62a	38.4±5.9b	3.8±0.6b
St1	11.1±0.65ab	234.8±11.5ab	15.6±0.8a	3.7±0.66a	24.1±4.0b	2.4±0.4b
St8	12.1±0.48a	223.8±8.3ab	18.7±0.7a	2.4±0.22a	17.3±5.1b	1.8±0.5b
BSR ₁₋₁	10.4±0.79b	195.1±17.1b	16.2±1.4a	3.3±0.55a	18.1±4.1b	2.2±0.4b
Anthracene						
Distilled water	11.0±0.44a*	200.1±12.6a	13.4±0.8a	4.7±0.93a	39.1±7.1a	3.9±0.7a
SRF1	8.7±0.54b	132.9±17.5b*	13.3±1.7a*	2.5±0.39b	25.6±3.7ab	2.6±0.4ab
St1	8.2±0.37b*	133.8±13.7b*	13.4±1.4a	2.1±0.32b	19.0±4.6b	1.9±0.4b
St8	9.2±0.95ab*	151.8±25.7b	15.2±2.6a	2.2±0.49b	16.5±3.6b	1.6±0.4b
BSR ₁₋₁	8.8±0.69b	148.0±24.2b	14.8±2.4a	1.8±0.36b	21.2±10.2b	2.1±0.3b
PAH	**	**	*	ns	ns	ns
Bacteria	**	**	ns	*	**	**
PAH x Bacteria	ns	ns	ns	ns	ns	ns

Different lower-case letter denoted significant difference ($P<0.05$) between the different bacterial inoculum in the same soil.

*denote significant difference ($P<0.05$) of the same soil between the same bacterial inoculation

แบคทีเรียกลุ่มสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืช ทั้งสี่ชนิดมีแนวโน้มไม่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของยอด ปอเทียมเช่นกัน โดยน้ำหนักแห้งของยอดปอเทียมที่ปลูก ในดินที่ไม่ปนเปื้อนและปนเปื้อนแอนทราซินไม่ว่าจะได้รับ หรือไม่ได้รับหัวเชื้อแบคทีเรียมีค่าระหว่าง 14.5-18.7 และ 13.3-15.2 มก. ตามลำดับ ในขณะที่น้ำหนักสดของ ยอดปอเทียมที่เจริญเติบโตในดินที่ไม่ปนเปื้อนและได้รับ หัวเชื้อแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ มีค่าเพียง 195.1 มก. ซึ่งต่ำกว่าน้ำหนักสดของยอดปอเทียมที่ปลูกในดินที่ไม่ปนเปื้อนและไม่ได้รับหัวเชื้อชนิดใดเลย ซึ่งมีค่าถึง 245.8 มก. การเติมแบคทีเรียทั้งสี่ชนิดนี้ทำให้น้ำหนักสด ของยอดปอเทียมที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนแอนทราซินมีค่าน้อยกว่าปอเทียมที่ไม่ได้รับหัวเชื้อชนิดใดเลยเช่นกัน โดยน้ำหนักสดของปอเทียมที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนแอนทราซินแต่ไม่ได้รับหัวเชื้อแบคทีเรียมีค่าถึง 200.1 มก. ส่วนน้ำหนักสดของยอดปอเทียมที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนแอนทราซินและได้รับแบคทีเรียกลุ่มสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืชมีค่าระหว่าง 132.9-151.8 มก. การเจริญเติบโตของยอดปอเทียมที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนแอนทราซินและไม่ได้รับหัวเชื้อแบคทีเรียมีแนวโน้มมีค่าสูงที่สุด โดยมีความยาวเท่ากับ 11.0 ซม. และการเติมแบคทีเรียมีแนวโน้มทำให้ความยาวยอดของปอเทียมที่ปลูกในดินที่ปนเปื้อนลดลง ซึ่งมีค่าระหว่าง 8.2-9.2 ซม. การเจริญเติบโตของยอดปอเทียมในดินที่ไม่ปนเปื้อนแอนทราซินและไม่ได้รับหัวเชื้อแบคทีเรียมีแนวโน้มสูงกว่าความยาวยอดของปอเทียมที่ปลูกในดินที่ไม่ปนเปื้อนแต่ได้รับหัวเชื้อแบคทีเรีย *Streptomyces* sp. SRF1 และ *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ (Table 4)

วิจารณ์และสรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้สรุปได้ว่าแบคทีเรีย *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁, *Streptomyces* sp. SRF1, *Streptomyces* sp. St1 และ *Streptomyces* sp. St8 สามารถผลิตกรดอินโดล-3-แอซิดิกได้ แต่มีเพียง *Streptomyces* sp. St1

และ *Streptomyces* sp. St8 เท่านั้น ที่มีความสามารถในการละลายฟอสเฟต และแบคทีเรียทั้งสี่ชนิดไม่ส่งผลกระตุ้นการเจริญเติบโตของไม้ประดับที่ใช้ทดสอบ การใช้แบคทีเรียกลุ่มสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืชอาจส่งผลให้พืชเกิดการตอบสนองได้ทั้งกระตุ้นหรือส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตของพืชก็ได้ (Spaepen *et al.*, 2007) การศึกษานี้พบว่าการใช้แบคทีเรียที่ผลิตกรดอินโดล-3-แอซิดิก หรือละลายฟอสเฟตร่วมด้วยกลับส่งผลเสียต่อการเจริญเติบโตในระยะต้นกล้าของเทียนดอก ดาวเรือง และปอเทียม โดยการใช้แบคทีเรียกลุ่มสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืชแล้วไม่ประสบความสำเร็จในการศึกษานี้ อาจเกิดจากหลายสาเหตุ เช่น ระยะเวลาที่ใช้ในการสังเกตการเจริญเติบโตของพืชเพียง 10 วัน อาจเป็นระยะเวลาที่จุลินทรีย์ที่เติมลงไปยังไม่อยู่ในระยะที่ผลิตกรดอินโดล-3-แอซิดิก โดยแบคทีเรียกลุ่ม *Streptomyces* ที่ใช้ในการศึกษานี้สามารถผลิตกรดอินโดล-3-แอซิดิกได้ดีในวันที่ 20 ของการทดลอง เมื่อทดสอบการผลิตในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว

หากต้องการศึกษาผลในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช อาจต้องเพิ่มระยะเวลาในการศึกษาหรือศึกษาพืชในระยะที่เจริญเติบโตเต็มที่แทนระยะต้นกล้า และถึงแม้ *Paenibacillus* sp. BSR₁₋₁ จะผลิตกรดอินโดล-3-แอซิดิกได้ดีในเวลาเพียง 48 ชม. แต่ก็ไม่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของไม้ประดับในระยะต้นกล้าในการศึกษานี้เช่นกัน ดังที่มีรายงานว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ NSRU2 และ NSRU1 ซึ่งผลิตกรดอินโดล-3-แอซิดิกได้ดีในอาหารเหลวภายในเวลา 72 ชม. แต่เมื่อเติมลงในดินจะสามารถกระตุ้นความยาวยอดของถั่วเขียวในดินปนเปื้อนแอนทราซิน 100 มก./กก. ได้ในวันที่ 16 และกระตุ้นน้ำหนักแห้งของรากถั่วเขียวในดินปนเปื้อนพีแนนทรีน 100 มก./กก. ในวันที่ 30 หลังการย้ายต้นกล้า (Chouychai *et al.*, 2016) นอกจากนี้การเติมแบคทีเรียกลุ่มสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืชลงสู่ดิน อาจทำให้แบคทีเรียพบกับสภาวะเครียดในสิ่งแวดล้อม จึงเป็นไปได้ว่าการที่แบคทีเรียสัมผัสกับพีเอเอชที่ปนเปื้อนในดินอาจทำให้การผลิตกรด

อินโดล-3-แอซิดิกลดลงได้ ดังมีรายงานว่าแอนทราซีน 100 มก./ลิตร ยับยั้งการผลิตกรดอินโดล-3-แอซิดิกของ แบคทีเรียสายพันธุ์ NSRU2 และ NSRU3 ได้ในอาหาร เหลว (Chouychai *et al.*, 2016) รวมทั้งในดินยังเป็น สภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ซึ่งอาจทำให้แบคทีเรียกลุ่มสนับสนุนการเจริญเติบโตของพืชไม่อาจ รอดชีวิตและมีปฏิสัมพันธ์กระตุ้นการเจริญเติบโตของพืช ตามที่ต้องการได้ (Delshadi *et al.*, 2017)

ในการศึกษาของ Delshadi *et al.* (2017) รายงาน เช่นกันว่า การใช้แบคทีเรียกลุ่มสนับสนุนการเจริญเติบโต ของพืช *Azotobacter vinelandii* ทำให้ความยาวยอด ของ *Onobrychis sativa* L. ที่ปลูกภายใต้สภาวะแล้ง ลดลง ความล้มเหลวของการเติมหัวเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม สนับสนุนการเจริญเติบโตของพืชอธิบายได้แตกต่างกัน เช่น การใช้แบคทีเรียกลุ่มสนับสนุนการเจริญเติบโตของ พืชในกลุ่ม *Pseudomonas* ลดการเจริญเติบโตของ ข้าวบาร์เลย์ลง เนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มนี้ผลิตสารกลุ่ม ไชซานด์ซึ่งทำให้การเจริญเติบโตและการพัฒนาของพืช ลดลงได้ เป็นต้น (Cardinale *et al.*, 2015) สาเหตุอื่นๆ ที่ทำให้การเติมแบคทีเรียล้มเหลวอาจเกิดจากปริมาณ หัวเชื้อที่ใช้ไม่เหมาะสม โดยอาจทำให้พืชได้รับสารควบคุม การเจริญเติบโตจากภายนอกมากเกินไปและไปรบกวน ระดับของสารควบคุมการเจริญเติบโตที่อยู่ภายในเซลล์พืช ซึ่งทำให้พืชตอบสนองในทางลบได้ (Spaepen *et al.*, 2007) เช่น การเติมหัวเชื้อแบคทีเรีย *Pseudomonas thivervalensi*

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 ขอขอบคุณผู้ช่วยวิจัย คุณกาญจนาวรรณ คำภาพงษา คุณนราพร เสาร์สูง และคุณธิดาลักษณ์ ศรีภูงา

เอกสารอ้างอิง

- Ahmad, F., I. Ahmad and M.S. Khan. 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. **Microbiol. Res.** 163: 178-181.
- Ahammed, G.J., H.L. Yuan, J.O. Ogwen, Y.H. Zhou, X.J. Xia, W.H. Mao, K. Shi and J.Q. Yu. 2012. Brassinosteroid alleviates phenanthrene and pyrene phytotoxicity by increasing detoxification activity and photosynthesis in tomato. **Chemosphere** 86: 546-555.
- Cardinale, M., S. Ratering, C. Suarez, A.M. Zapata Montoya, R. Geissler-Plaum and S. Schnell. 2015. Paradox of plant growth promotion potential of rhizobacteria and their actual promotion effect on growth of barley (*Hordeum vulgare* L.) under salt stress. **Microbiol. Res.** 181: 22-32.
- Chen, X., X. Liu, X. Zhang, L. Cao and X. Hu. 2017. Phytoremediation effect of *Scirpus triquetra* inoculated plant-growth-promoting bacteria (PGPB) on different fractions of pyrene and Ni in co-contaminated soils. **J. Harz. Mater.** 325: 319-326.
- Chouychai, W., T. Paemsom, C. Pobsuwan, K. Somtrakoon and H. Lee. 2016. Effect of Indole-3-acetic acid producing bacteria on phytoremediation of soil contaminated with phenanthrene and anthracene by mungbean. **Environment Asia** 9(2): 128-133.

- Cristaldi, A., G.O. Conti, E.H. Jho, P. Zuccarello, A. Grasso, C. Copat and M. Ferrante. 2017. Phytoremediation of contaminated soils by heavy metals and PAHs. A brief review. **Environmental Technology and Innovation** 8: 309-326.
- Delshadi, S., M. Ebrahimi and E. Shirmohammadi. 2017. Influence of plant-growth-promoting bacteria on germination, growth and nutrients' uptake of *Onobrychis sativa* L. under drought stress. **J. Plant Interact.** 12(1): 200-208.
- Grobelak, A., A. Napora and M. Kacprzak. 2015. Using plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) to improve plant growth. **Ecol. Eng.** 84: 22-28.
- Hou, J., W. Liu, B. Wang, Q. Wang, Y. Luo and A.E. Franks. 2015. PGPR enhanced phytoremediation of petroleum contaminated soil and rhizosphere microbial community response. **Chemosphere** 138: 592-598.
- Naik, P.R., G. Raman, K.B. Narayanan and N. Sakthivel. 2008. Assessment of genetic and functional diversity of phosphate solubilizing fluorescent pseudomonads isolated from rhizospheric soil. **BMC Microbiol.** 8: 230.
- Rengarajan, T., P. Rajendran, N. Nandakumar, B. Lokeshkumar, P. Rajendran and I. Nishigaki. 2015. Exposure to polycyclic aromatic hydrocarbons with special focus on cancer. **Asian Pac. J. Trop. Med.** 5: 182-189.
- Somtrakoon, K. and W. Chouychai. 2013. Phytotoxicity of single and combined polycyclic aromatic hydrocarbons toward economic crops. **Russ. J. Plant Physiol.** 60: 139-148.
- Spaepen, S., J. Vanderleyden and R. Remans. 2007. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. **FEMS Microbiol. Rev.** 31: 425-448.
- Wang, L., B. Ji, Y. Hu, R. Liu and W. Sun. 2017. A review on in situ phytoremediation of mine tailings. **Chemosphere** 184: 594-600.

ความแปรปรวนของความรุนแรงและความก้าวร้าวของเชื้อรา *Phytophthora infestans*
ที่เก็บรวบรวมจากแปลงปลูกมันฝรั่งในประเทศไทย

Variation in the Virulence and Aggressiveness of *Phytophthora infestans* Isolates
Collected from Different Potato Fields of Thailand

พิภัทร เจียมพิริยะกุล

Pipat Chiampiriyakul

สาขาวิชาอารักขาพืช คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

Department of Plant Protection, Faculty of Agricultural Production, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

Corresponding author: pipat@mju.ac.th

Received: May 23, 2018

Revised: October 10, 2018

Accepted: October 12, 2018

Abstract

One hundred and forty isolates of *Phytophthora infestans* collected from naturally late blight infected potato plants of different regions in Chiang Mai and Tak provinces were separately assessed for their pathogenicity, virulence and aggressiveness as the objectives, on detached leaflets and tuber discs of potato (Atlantic and Spunta cultivars) and detached leaflets of tomato (Delta and Seeda cultivars). Pathogenicity, virulence and aggressiveness scored as infection frequency, disease severity assessed on 1-5 grade scale and sporulation intensity, respectively, were evaluated on leaflets of four cultivars of both hosts and on tuber discs of two cultivars of potato in a Completely Randomized Design (CRD) with 6 replications. All 140 of the collected isolates were pathogenic to both hosts, indicating that extreme host specification has not occurred. The potato isolates were more virulent on potato than tomato but less aggressive on potato than tomato. In the experiments of potato tuber disc, the results showed stronger virulence and aggressiveness on Atlantic cultivar than on Spunta cultivar. The variation in virulence of *P. infestans* observed in the study indicated that the population of *P. infestans* in Thailand comprises various isolates with low to high virulence potentials as measured by disease severity assessment on detached leaflets of potato Atlantic cultivar and tomato Seeda cultivar.

Keywords: *Phytophthora infestans*, late blight, virulence, aggressiveness, pathogenicity

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อประเมินความสามารถในการก่อโรค ความรุนแรง และความก้าวร้าวของเชื้อรา *Phytophthora infestans* จำนวน 140 ไอโซเลท ที่เก็บรวบรวมจากมันฝรั่งที่แสดงอาการโรคใบไหม้ในพื้นที่แปลงปลูกในจังหวัดเชียงใหม่และตาก โดยวิธีทดสอบบนชิ้นมันฝรั่งและใบย่อยที่ปลิดจากต้นของมันฝรั่งจำนวนสองพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แอตแลนติกและพันธุ์สปุนต้า และใบย่อยที่ปลิดจากต้นของมะเขือเทศจำนวนสองพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์เดลต้าและพันธุ์ลีดา ในระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งการวิจัยนี้ออกแบบและวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) จำนวน 6 ซ้ำ ซึ่งประเมินได้โดยการให้คะแนนความถี่ของการติดเชื้อ ความรุนแรงของอาการบนพืชทดสอบ (ระดับ 1-5) และความหนาแน่นของการสร้างสปอร์บนพื้นที่ที่แสดงอาการโรคตามลำดับ เชื้อรา *P. infestans* ทุกไอโซเลท สามารถก่อโรคได้ทั้งบนมันฝรั่งและมะเขือเทศ ซึ่งให้เห็นว่าเชื้อรา *P. infestans* ไม่ได้มีความจำเพาะต่อมันฝรั่งพืชอาศัยเท่านั้น เชื้อรา *P. infestans* ซึ่งเก็บรวบรวมจากมันฝรั่งให้ลักษณะรุนแรงของอาการบนมันฝรั่งสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับอาการบนมะเขือเทศ แต่แสดงลักษณะความก้าวร้าวบนมันฝรั่งในระดับที่ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับที่แสดงบนมะเขือเทศ การทดลองบนชิ้นมันฝรั่งประชากรเชื้อรา *P. infestans* แสดงลักษณะความรุนแรงและความก้าวร้าวเฉลี่ยบนพันธุ์แอตแลนติกสูงกว่าบนพันธุ์สปุนต้า ผลการประเมินความแปรปรวนในลักษณะความรุนแรงของประชากรเชื้อรา *P. infestans* จากการศึกษาชี้ให้เห็นว่าประชากรเชื้อรา *P. infestans* ที่เก็บรวบรวมจากมันฝรั่งที่แสดงอาการโรคใบไหม้ในพื้นที่แปลงปลูกในประเทศไทย ประกอบด้วยไอโซเลทที่แตกต่างกันในศักยภาพของลักษณะความรุนแรงที่มีระดับสูง-ต่ำ ดังผลการประเมินความรุนแรงของอาการบนใบมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติก และมะเขือเทศพันธุ์ลีดา

คำสำคัญ: ไฟทอปทอรา โรคใบไหม้ ความรุนแรง ความก้าวร้าว ความสามารถในการก่อโรค

คำนำ

โรคใบไหม้ (Late blight) มีสาเหตุจากการติดเชื้อรา *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary เป็นโรคที่สำคัญซึ่งก่อให้เกิดความเสียหายกับผลผลิตมันฝรั่ง (*Solanum tuberosum* L.) และมะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill) ทั่วโลก และเป็นเชื้อราสาเหตุโรคที่สำคัญในมันฝรั่งและมะเขือเทศในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย โดยเฉพาะจังหวัดตากและเชียงใหม่มีพื้นที่ปลูกมันฝรั่ง 13,100 และ 11,159 ไร่ ตามลำดับ (Office of Agricultural Economics, 2018) ซึ่งมีพื้นที่ปลูกมันฝรั่งคิดเป็นร้อยละ 64 ของพื้นที่ปลูกมันฝรั่งรวมทั้งประเทศ

กว่าทศวรรษที่ผ่านมา มีการรายงานข้อมูลที่เกี่ยวข้องกับการเพิ่มสูงขึ้นของความแปรปรวนทางพันธุกรรมและความสามารถในการก่อโรค (Pathogenicity) ของเชื้อรา *P. Infestans* เมื่อทำการศึกษาและสำรวจในหลายพื้นที่ที่มีลักษณะทางภูมิศาสตร์แตกต่างกัน ซึ่งมีการสันนิษฐานในเบื้องต้นว่าอาจมีมูลเหตุมาจากการอพยพย้ายถิ่นฐานของเชื้อราสาเหตุโรค (Fry, 2008) คุณลักษณะที่สำคัญที่มีความผันแปรของเชื้อรานี้ คือ ความแปรปรวนในความสามารถในการก่อโรค (Pathogenicity) ความรุนแรง (Virulence) และความก้าวร้าว (Aggressiveness) ซึ่งเป็นคุณลักษณะในความสามารถโดยรวมของเชื้อรา *P. Infestans* สาเหตุโรคในการติดเชื้อก่อโรคเข้าทำลายพืชอาศัย และเป็นเครื่องมือที่สำคัญในการประเมินหรือตรวจหาการเปลี่ยนแปลงในโครงสร้างประชากรของเชื้อราสาเหตุโรคพืชที่สนใจ ซึ่งการประเมินคุณลักษณะเชิงปริมาณของเชื้อรา *P. infestans* นิยมปฏิบัติการโดยวิธี Detached-Leaf หรือ Leaflet (Cohen 2002; Knapova and Gisi, 2002) จึงนับเป็นวิธีที่เป็นประโยชน์ เนื่องจาก

ไม่ยุ่งยากซับซ้อนในปฏิบัติการทดสอบประเมินความรุนแรงและความก้าวร้าวของไอโซเลทเชื้อราบนมันฝรั่งและมะเขือเทศในระยะสั้นอย่างรวดเร็ว (Klarfeld *et al.*, 2009; Blandon-Diaz *et al.*, 2012; Harbaoui *et al.*, 2013)

ข้อมูลทางวิชาการของความแปรปรวนของความสามารถในการก่อโรค ความรุนแรง และความก้าวร้าวของเชื้อรา *P. Infestans* มีความสำคัญอย่างยิ่งในการพัฒนาการจัดการโรคใบไหม้ในพื้นที่ภาคเหนือของประเทศไทย การวิจัยนี้จึงทำการประเมินความแปรปรวนของความสามารถในการก่อโรค ความรุนแรง และความก้าวร้าวของประชากรเชื้อรา *P. Infestans* ที่รวบรวมในจังหวัดเชียงใหม่และตาก ซึ่งเป็นพื้นที่ปลูกมันฝรั่งในภาคเหนือของประเทศไทย

อุปกรณ์และวิธีการ

การรวบรวม การเก็บรักษา และการเตรียมสปอแรงเจียแขวนลอย ของเชื้อรา *P. infestans*

แยกเชื้อรา *P. infestans* จากใบมันฝรั่งที่แสดงอาการโรคใบไหม้ซึ่งเก็บรวบรวมตัวอย่างใบมันฝรั่งจากพื้นที่ปลูกในเขตภาคเหนือระหว่างปี พ.ศ. 2558–2559 และ พ.ศ. 2559–2560 จำนวน 93 และ 47 ไอโซเลท ตามลำดับ โดยจำแนกเป็นเชื้อราจากพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ใน 3 อำเภอ ได้แก่ ฝาง (ตำบลสันทราย) พร้าวก (ตำบลโหล่งขอด) และสันทราย (ตำบลเจดีย์แม่ครัว แม่แฝกใหม่ และหนองหาร) และจากพื้นที่จังหวัดตาก อำเภอพบพระ ตำบลรวมไทยพัฒนา รวมทั้งสิ้น 6 ตำบล โดยมีจำนวน 4, 5, 38, 13, 50 และ 20 ไอโซเลทในแต่ละตำบล ตามลำดับ ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *P. infestans* บริสุทธิ์แต่ละไอโซเลทจำนวน 140 ไอโซเลท บนอาหารวุ้นเพาะเลี้ยง Corn A บ่มที่อุณหภูมิ 18°C. เป็นเวลา 14 วัน ในตู้บ่มเชื้อที่ปราศจากแสง ก่อนการนำมาเตรียมสปอแรงเจียแขวนลอยในน้ำ (Sporangial suspensions) ความหนาแน่น 1.0×10^4 สปอร์/มล. ทำการเก็บบ่มสปอแรงเจียแขวนลอยที่อุณหภูมิ 4°C.

เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อชักนำให้เกิดการปลดปล่อยซุสปอร์ (Zoospore liberation) เพื่อใช้ในการศึกษาคุณลักษณะของเชื้อราในความสามารถในการก่อโรค ความรุนแรง และความก้าวร้าวของเชื้อราต่อไป

พืชที่ใช้ในการทดสอบ

มันฝรั่งจำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์แอตแลนติก (Atlantic) และพันธุ์สปุนต้า (Spunta) โดยทำการเก็บรวบรวมใบมันฝรั่งที่มีขนาดใกล้เคียงกัน ในตำแหน่งที่ 3-5 นับจากยอด จากต้นมันฝรั่งอายุ 6-8 สัปดาห์ ที่มีการเจริญเติบโตปกติและปราศจากโรค ขึ้นมันฝรั่งที่ได้จากการตัดตามขวางจากหัวมันฝรั่งทั้งสองพันธุ์ให้เป็นแผ่นขนาดความหนา 0.5-0.8 ซม. และมะเขือเทศจำนวน 2 พันธุ์ ได้แก่ พันธุ์เดลต้า (Delta) และพันธุ์ซีดา (Seeda) โดยทำการเก็บรวบรวมใบมะเขือเทศที่มีขนาดใกล้เคียงกัน ในตำแหน่งที่ 3-5 นับจากยอด จากต้นมะเขือเทศอายุ 6-8 สัปดาห์ ที่มีการเจริญเติบโตปกติและปราศจากโรค ล้างทำความสะอาดใบพืชทั้งสองชนิด (4 พันธุ์) ด้วยน้ำสะอาด และพ่นสเปรย์น้ำกลั่นหนึ่งขวดเชื้อที่ปลายก้านใบย่อยเพื่อลดการเหี่ยวจากการขาดน้ำของใบย่อยก่อนนำไปใช้ในปฏิบัติการต่อไป

การปลูกเชื้อรา *P. infestans* บนใบย่อยของมันฝรั่งและมะเขือเทศที่ปลิดใบจากต้นและขึ้นมันฝรั่ง

การปลูกเชื้อ (plant inoculation) บนใบย่อยพืชตัวอย่างซึ่งวางในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ ด้วยสปอแรงเจียแขวนลอยที่มีความหนาแน่น 1×10^4 สปอร์/มล. ปริมาตร 10 ไมโครลิตร โดยหยดลงบนด้านท้องใบ บริเวณเส้นกลางใบ (Midrib) ภายหลังการปลูกเชื้อทำการบ่มใบพืชที่ทำการปลูกเชื้อภายในภาชนะที่รักษาความชื้นที่อุณหภูมิ 18°C. เป็นเวลา 7 วัน โดยทำการปลูกเชื้อแต่ละไอโซเลทลงบนใบ จำนวน 6 ซ้ำ (ใบ) ต่อพันธุ์พืช การทดสอบบนขึ้นมันฝรั่งทั้งสองพันธุ์ ปฏิบัติการในลักษณะเดียวกัน จำนวน 6 ซ้ำ (ขึ้นมันฝรั่ง) ต่อพันธุ์มันฝรั่ง

การประเมินความสามารถในการเป็นเชื้อสาเหตุโรคของ ไอโซเลทเชื้อรา *P. infestans*

การประเมินความสามารถในการก่อโรค ความรุนแรง และความก้าวร้าวของเชื้อรา *P. infestans* ในระดับห้องปฏิบัติการ โดยปลูกเชื้อรา *P. infestans* บนใบย่อยของมันฝรั่งและมะเขือเทศ ที่ผลิตไปมาจากต้นและบนชิ้นมันฝรั่ง ซึ่งการวิจัยนี้วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ มีจำนวน 6 ซ้ำ โดยมีเชื้อรา *P. infestans* จำนวน 140 ไอโซเลท พืชที่ใช้ในการทดสอบจำนวน 2 ชนิด แต่ละชนิดพืชมีจำนวน 2 พันธุ์ กรรมวิธีควบคุมปฏิบัติการเช่นเดียวกับการปลูกเชื้อ แต่ใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อเพียงอย่างเดียว แทนสไปรแรงเจียแขวนลอย เพื่อแสดงให้เห็นว่าปราศจากการปนเปื้อนจากเชื้อโรคภายนอกการควบคุมให้ค่าเป็นศูนย์สำหรับการติดเชื้อ และไม่รวมอยู่ในการวิเคราะห์

ความสามารถในการก่อโรค (Pathogenicity) ของเชื้อรา *P. infestans* ประเมินจากความถี่ในการติดเชื้อ (Infection frequency) โดยการตรวจนับจำนวนใบพืชทดสอบหรือชิ้นมันฝรั่งที่แสดงอาการโรค และคำนวณร้อยละของสัดส่วนของจำนวนใบหรือชิ้นมันฝรั่งที่แสดงลักษณะอาการโรคต่อจำนวนซ้ำของตัวอย่างที่ใช้ในการศึกษา ภายหลังจากการปลูกเชื้อลงบนพืชตัวอย่าง 7 วัน ซึ่งมีวิธีการคำนวณแสดงเป็นสมการดังนี้

$$\text{ความถี่ในการติดเชื้อ (\%)} = (A/B) \times 100$$

โดยที่ A = จำนวนใบหรือจำนวนชิ้นมันฝรั่ง
ที่แสดงลักษณะอาการโรค
B = จำนวนใบหรือจำนวนชิ้นมันฝรั่ง
ที่ใช้ในการทดลอง

ความรุนแรง (Virulence) ของเชื้อรา *P. infestans* ประเมินโดยวัดขนาดพื้นที่ของอาการแผลที่ปรากฏบนผิวใบหรือชิ้นมันฝรั่งในตำแหน่งที่ทำการหยดสไปรแรงเจียแขวนลอยของเชื้อรา ภายหลังจากการปลูกเชื้อลงบนใบพืชทดสอบหรือชิ้นมันฝรั่งที่เกิดโรค 7 วัน และคำนวณเป็นร้อยละของสัดส่วนของพื้นที่ใบหรือชิ้นมันฝรั่งที่

แสดงลักษณะอาการโรคต่อพื้นที่ทั้งหมดของพืชที่ใช้ในการศึกษา (Lesion area coverage) ซึ่งมีวิธีการคำนวณแสดงเป็นสมการดังนี้

ร้อยละของสัดส่วนของพื้นที่ใบที่แสดงลักษณะ
อาการของโรค (%) = $(A/B) \times 100$

โดยที่ A = ขนาดพื้นที่ของอาการแผลที่ปรากฏบนผิวใบ
หรือชิ้นมันฝรั่งที่แสดงอาการโรค

B = ขนาดพื้นที่ของใบพืชหรือชิ้นมันฝรั่ง
ที่ใช้ในการทดลอง

ความรุนแรงของอาการบนใบพืชทดสอบ แบ่งได้เป็น 5 ระดับความรุนแรง ได้แก่ ระดับที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 โดยมีค่าสัดส่วนของพื้นที่ใบที่แสดงอาการของโรคต่อพื้นที่ทั้งหมดของใบคิดเป็นร้อยละ 0-20, 21-40, 41-60, 61-80 และ 81-100 ตามลำดับ

ความก้าวร้าว (Aggressiveness) ของเชื้อรา *P. infestans* ประเมินโดยการตรวจนับจำนวนสไปรแรงเจียที่เชื้อราสร้างบนใบพืชทดสอบหรือชิ้นมันฝรั่งที่เกิดโรค ภายหลังจากการปลูกเชื้อ 7 วัน และคำนวณความหนาแน่นของสไปรแรงเจียบนพื้นที่ของอาการแผล (Sporulation intensity) ที่ปรากฏบนผิวใบในตำแหน่งที่ทำการหยดสไปรแรงเจียของเชื้อรา (จำนวนสไปรแรงเจียต่อตร.ซม. ของพื้นที่แผล) ซึ่งมีวิธีการคำนวณแสดงเป็นสมการดังนี้

ความหนาแน่นของสไปรแรงเจียบนพื้นที่ของ
อาการแผล (สปอร์ต่อตร.ซม.) = A/B

โดยที่ A = ปริมาณสปอร์ที่ตรวจนับและคำนวณได้จาก
Haemocytometer
B = พื้นที่ของอาการแผล (Lesion area)
ที่ปรากฏบนผิวใบ (ตร.ซม.)

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม R และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการวิจัย

ผลการประเมินความสามารถในการเป็นเชื้อสาเหตุโรคของเชื้อรา *P. infestans* จำนวน 140 ไอโซเลท ซึ่งเก็บรวบรวมจาก 6 ตำบลพื้นที่ปลูกมันฝรั่งในจังหวัดเชียงใหม่และตาก บนใบย่อยพืชทดสอบของมันฝรั่ง (พันธุ์แอตแลนติกและพันธุ์สปุนต้า) และมะเขือเทศ (พันธุ์เดลต้าและพันธุ์ซีดา) ที่ปลูกไปมาจากต้น แสดงให้เห็นว่า เชื้อรา *P. infestans* ทุกไอโซเลทสามารถติดเชื้อก่อโรคบนพืชทดสอบทั้งสองชนิด (จำนวน 4 พันธุ์พืช) โดยมีความถี่เฉลี่ยสูงในการติดเชื้อบนพืชทุกพันธุ์ระหว่างร้อยละ 82.38-98.02 ในขณะที่ความรุนแรงของอาการบนพืชทดสอบ ซึ่งคำนวณเป็นร้อยละของสัดส่วนของพื้นที่

ใบที่แสดงอาการของโรคต่อพื้นที่ทั้งหมดของใบ ให้ค่าเฉลี่ยที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชนิดและพันธุ์พืช (ร้อยละ 17.61-87.67) ส่วนผลการประเมินความหนาแน่นของสปอแรงเจียนบนพื้นที่ของอาการแผลซึ่งแสดงถึงความก้าวหน้าของเชื้อรา *P. infestans* ให้ค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชนิดและพันธุ์พืช โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 338.32, 267.55, 636.02 และ 514.96 สปอร์ต่อ ตร.ซม. ของพื้นที่แผลบนใบของมันฝรั่ง (พันธุ์แอตแลนติกและพันธุ์สปุนต้า) และมะเขือเทศ (พันธุ์เดลต้าและพันธุ์ซีดา) ตามลำดับ แต่สามารถประเมินได้จากบางไอโซเลทของเชื้อราซึ่งคิดเป็นจำนวนร้อยละ 30.36 ของเชื้อราทั้งหมดเท่านั้น เนื่องจากไอโซเลทส่วนใหญ่สร้างสปอร์ในปริมาณที่ต่ำเกินกว่าจะสามารถประเมินได้ด้วย Haemocytometer (Table 1)

Table 1 Comparison on pathogenicity, virulence and aggressiveness of 140 isolates of *Phytophthora infestans* on potato and tomato leaflets after 7 days inoculation

Plant tissue	Cultivar	Pathogenicity, virulence and aggressiveness parameter ^a		
		Infection frequency (%)	Lesion area coverage (%)	Sporulation intensity (spores/cm ²)
Potato leaflet	Atlantic	93.32b	87.67a	338.32c
	Spunta	82.38c	76.44b	267.55d
Tomato leaflet	Delta	98.02a	44.54c	636.02a
	Seeda	92.99b	17.61d	514.96b

^a Within a data column, values followed the same letter are not significantly different ($P \geq 0.05$) according to Duncan's multiple range test (DMRT). Values are means of six replications.

ผลการประเมินความสามารถในการเป็นเชื้อสาเหตุโรคของเชื้อรา *P. infestans* จำนวน 140 ไอโซเลทบนชิ้นมันฝรั่ง แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการติดเชื้อก่อโรคของเชื้อรา โดยมีความถี่เฉลี่ยร้อยละ 100 มีค่าเฉลี่ยร้อยละความรุนแรงของอาการซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างพันธุ์แอตแลนติก (ร้อยละ 41.30) และ

พันธุ์สปุนต้า (ร้อยละ 36.52) และมีความก้าวหน้าของเชื้อรา *P. infestans* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างพันธุ์แอตแลนติกและพันธุ์สปุนต้า ที่ความหนาแน่นของสปอแรงเจียนบนพื้นที่ของอาการแผลเท่ากับ 2,155.26 และ 1,870.79 สปอร์ต่อตร.ซม.) ดังแสดงใน Table 2

ผลการประเมินความรุนแรงของเชื้อรา *P. infestans* จำนวน 140 ไอโซเลต แสดงให้เห็นว่าประชากรของเชื้อรา *P. infestans* มีการกระจายตัวอยู่ในสี่ระดับความรุนแรง เมื่อปลูกเชื้อราบนใบมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติก ได้แก่ ระดับที่ 2, 3, 4 และ 5 โดยมีเชื้อราในแต่ละระดับ จำนวน 3, 5 34 และ 98 ไอโซเลต ตามลำดับ และระดับความรุนแรงของอาการบนใบมะเขือเทศพันธุ์สีดา แสดงให้เห็นถึงการกระจายตัวของเชื้อรา *P. infestans* ในความรุนแรงระดับที่ 1, 2, 3 และ 4 โดยมีเชื้อราในแต่ละระดับ จำนวน 91

42, 5 และ 2 ไอโซเลต ตามลำดับ ดังแสดงใน Figure 1 นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อรา *P. infestans* จำนวน 49 ไอโซเลต ซึ่งติดเชื้อมาก่อนโรคนใบมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติกและสปู่น้ำในความรุนแรงของอาการระดับที่ 5 (ร้อยละ 81-100) มีการกระจายตัวในแต่ละระดับความรุนแรงในระดับที่ 1 2, 3 และ 4 จำนวน 29, 18, 1 และ 1 ไอโซเลต หรือคิดเป็นเท่ากับร้อยละ 59.18, 36.73, 2.04 และ 2.04 ของเชื้อราจำนวน 49 ไอโซเลต ตามลำดับ เมื่อปลูกเชื้อราบนใบมะเขือเทศพันธุ์สีดา (ไม่ได้แสดงข้อมูลผลการทดสอบ)

Table 2 Comparison on pathogenicity, virulence and aggressiveness of 140 isolates of *Phytophthora infestans* on potato tuber discs after 7 days inoculation

Plant tissue	Cultivar	Pathogenicity, virulence and aggressiveness parameter ^a		
		Infection frequency (%)	Lesion area coverage (%)	Sporulation intensity (spores/cm ²)
Potato disc	Atlantic	100a	41.30a	2,155.26a
	Spunta	100a	36.52b	1,870.79b

^a Within a data column, values followed the same letter are not significantly different ($P \geq 0.05$) according to Duncan's multiple range test (DMRT). Values are means of six replications.

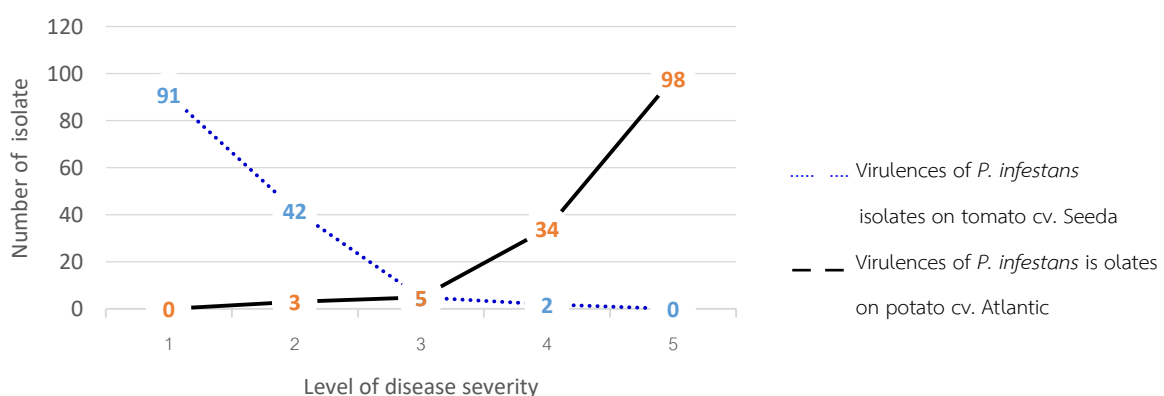


Figure 1 Comparison of disease severity of inoculated potato cv. Atlanta and inoculated tomato cv. Seeda leaflets under laboratory conditions by sporangia suspensions of 140 isolates of *Phytophthora infestans*

เมื่อพิจารณาความรุนแรงของอาการบนพืชทั้งสองชนิด จำนวน 4 พันธุ์ จำแนกตามตำบลพื้นที่ปลูกมันฝรั่งซึ่งทำการเก็บรวบรวมเชื้อรา *P. infestans* จำนวน 140 ไอโซเลท พบว่าสัดส่วนของพื้นที่ใบที่แสดงอาการของโรคต่อพื้นที่ทั้งหมดของใบพืชทดสอบ พันธุ์แอตแลนติก พันธุ์สปุนต้า พันธุ์เดลต้า และพันธุ์ซีดา มีค่าเฉลี่ยร้อยละ

73.40-91.13, 71.04-88.75, 35.40-62.00 และ 9.00-27.40 ตามลำดับ (Table 3) โดยเชื้อรา *P. infestans* ที่เก็บจากตำบลโหล่งขอด มีค่าเฉลี่ยของความรุนแรงของอาการบนมะเขือเทศพันธุ์เดลต้าและซีดาสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับอาการบนมะเขือเทศพันธุ์เดียวกัน

Table 3 Comparison on virulence (lesion area coverage) of *Phytophthora infestans* (140 isolates) collected from different regions in Chiang Mai and Tak provinces on potato and tomato leaflets and potato tuber discs after 7 days inoculation

Location ^a	Average of lesion area coverage ^b (%)					
	Potato leaflet		Tomato leaflet		Potato tuber disc	
	Atlantic	Spunta	Delta	Seeda	Atlantic	Spunta
CM-Fa-1	86.00c	88.75a	39.25c	9.00d	37.75d	42.25a
CM-Ph-2	73.40d	86.40b	62.00a	27.40a	56.40a	39.00b
CM-SS-3	88.53b	75.92d	50.34b	15.84c	42.50bc	35.16c
CM-SS-4	91.13a	71.04e	51.22b	18.83b	43.65b	35.96c
CM-SS-5	87.40bc	76.42d	39.40c	18.60b	41.14c	40.04b
TK-PP-6	86.65c	78.75c	35.40d	16.35c	33.65e	29.20d

^a Source of *P. infestans* isolates: Province CM = Chiang Mai and TK = Tak; District Fa = Fang, Ph = Phrao, SS = San Sai and PP = Phob Phra; Sub-district 1 = San Sai, 2 = Long Khot, 3 = Chedee Mae Krua, 4 = Mae Faek Mai, 5 = Nong Han and 6 = Ruam Thai Pattana

^b Within a data column, values followed the same letter are not significantly different ($P = 0.05$) according to Duncan's multiple range test (DMRT). Values are means of six replications.

การจัดกลุ่มเชื้อรา *P. infestans* โดยอาศัยระดับความรุนแรงของอาการบนใบมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติกและบนใบมะเขือเทศพันธุ์ซีดา จำแนกประชากรเชื้อราได้จำนวน 12 กลุ่ม (Cluster) ผลการประเมินไม่พบไอโซเลทของเชื้อราที่สามารถก่อให้เกิดความรุนแรงของอาการบนมะเขือเทศได้ในระดับที่สูงกว่าบนมันฝรั่งของเชื้อไอโซเลทนั้นๆ (Table 4) การกระจายตัวของประชากรเชื้อราในแต่ละกลุ่ม แสดงให้เห็นได้ว่าเชื้อรา *P. infestans* ที่ให้ความรุนแรงของอาการบนใบมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติกที่ระดับ 4 (กลุ่มที่ 5-8) และ

ระดับ 5 (กลุ่มที่ 9-12) มีจำนวน 34 ไอโซเลท (ร้อยละ 24.29) และ 98 ไอโซเลท (ร้อยละ 70.00) ตามลำดับ ซึ่งเชื้อรา *P. infestans* ที่ให้ความรุนแรงของอาการบนใบมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติกที่ระดับ 4 และ 5 คิดเป็นร้อยละ 94.29 ของประชากรเชื้อราทั้งหมด ให้ความรุนแรงของอาการบนใบมะเขือเทศพันธุ์ซีดา ระดับ 1, 2, 3, และ 4 จำนวน 85, 40, 5 และ 2 ไอโซเลท ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 60.71, 28.57, 3.57 และ 1.43 ของประชากรเชื้อราทั้งหมด ตามลำดับ

เชื้อรา *P. infestans* จำนวน 49 ไอโซเลท ให้ความรุนแรงของอาการบนใบมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติกและพันธุ์สปุนต้าที่ระดับ 5 มีการกระจายตัวให้ความรุนแรงของอาการบนใบมะเขือเทศพันธุ์สีดา ระดับ 1, 2, 3 และ 4 จำนวน 29, 18, 1 และ 1 ไอโซเลท ตามลำดับ ในขณะที่เชื้อรา *P. infestans* จำนวน 3 ไอโซเลท ซึ่งเก็บได้ใน

อำเภอสนทราย จังหวัดเชียงใหม่ ได้แก่ ไอโซเลท 42 และ 43 (ตำบลเจดีย์แม่ครัว) และ 106 (ตำบลหนองหาร) ให้ความรุนแรงของอาการบนใบมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติกและพันธุ์สปุนต้าค่อนข้างต่ำ (ระดับ 2-3) ให้ความรุนแรงของอาการบนใบมะเขือเทศพันธุ์สีดาระดับ 1 (ไม่ได้แสดงข้อมูลผลการทดสอบ)

Table 4 Clusters of 140 collected isolates of *Phytophthora infestans* classified by virulence (lesion area coverage) parameter on potato leaflets cv. Atlantic and tomato leaflets cv. Seeda

Cluster	Lesion area coverage ^a		Number	Percentage	Isolate of <i>P. infestans</i> accession number
	Potato	Tomato			
	Atlantic	Seeda			
1	2	1	2	1.43	43, 108
2	2	2	1	0.71	73
3	3	1	4	2.86	4, 39, 42, 106
4	3	2	1	0.71	8
5	4	1	27	19.29	5, 28, 41, 45, 47, 50, 70, 72, 78, 101, 103, 104, 105, 107, 109, 110, 111, 112, 113, 114, 116, 117, 130, 133, 134, 135, 136
6	4	2	4	2.86	7, 49, 58, 118
7	4	3	2	1.43	82, 138
8	4	4	1	0.71	9
9	5	1	58	41.43	1, 2, 3, 6, 10, 11, 12, 15, 17, 18, 19, 21, 22, 29, 30, 32, 35, 36, 37, 38, 40, 44, 46, 51, 52, 53, 54, 57, 59, 60, 66, 67, 68, 69, 76, 79, 80, 84, 86, 87, 95, 96, 97, 98, 99, 100, 102, 115, 122, 123, 124, 125, 126, 127, 128, 131, 137, 139
10	5	2	36	25.71	13, 14, 16, 20, 23, 24, 25, 26, 27, 31, 33, 34, 48, 55, 56, 61, 62, 63, 64, 65, 71, 74, 75, 77, 81, 85, 89, 92, 93, 94, 119, 120, 121, 129, 132, 140
11	5	3	3	2.14	88, 90, 91
12	5	4	1	0.71	83
Total			140	100.0	

^a group of lesion area coverage; 1 = 0-20%, 2 = 21-40%, 3 = 41-60%, 4 = 61-80% and 5 = 81-100%

วิจารณ์ผลการวิจัย

เชื้อรา *P. infestans* ซึ่งเก็บรวบรวมจาก 6 ตำบล พื้นที่ปลูกมันฝรั่งในจังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดตาก ทุกไอโซเลทสามารถก่อโรคบนพืชทดสอบทั้งสองชนิด (4 พันธุ์) แสดงให้เห็นว่าเชื้อราทั้ง 140 ไอโซเลท ไม่จำเพาะเจาะจงต่อมันฝรั่งซึ่งเป็นพืชอาศัยเริ่มต้นของเชื้อราจากการเก็บรวบรวมและแยกเชื้อเท่านั้น แต่ยังสามารถก่อโรคบนมะเขือเทศทั้งสองพันธุ์ด้วย ซึ่งให้ผลการศึกษาในลักษณะเดียวกันกับรายงานก่อนหน้านี้ (Fontem *et al.*, 2005) และเชื้อรา *P. infestans* มีความก้าวร้าวบนมะเขือเทศสูงกว่าบนมันฝรั่ง โดยให้ผลประเมินที่มีความแตกต่างกันทางสถิติในจำนวนสปอร์ต่อพื้นที่อาการบนใบมันฝรั่งและมะเขือเทศ สอดคล้องกับรายงานความก้าวร้าวของเชื้อรา *P. infestans* ในประเทศนิการากัว (Blandon-Diaz *et al.*, 2012) ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่ามันฝรั่งและมะเขือเทศที่ติดเชื้อรา *P. infestans* สามารถเป็นแหล่งของเชื้อสาเหตุโรคใบไหม้ในการระบาดของโรคในมันฝรั่งและมะเขือเทศ ในลักษณะของการมีความสามารถในการติดเชื้อข้าม (Cross-infectivity) ในขณะที่ Michlska *et al.* (2016) รายงานผลการวิจัยในประเทศโปแลนด์ว่าเชื้อรา *P. infestans* ที่แยกจากมันฝรั่งให้จำนวนสปอร์ต่อพื้นที่อาการบนใบมันฝรั่งสูงกว่าบนใบมะเขือเทศ

การปลูกเชื้อรา *P. infestans* บนใบพืชทดสอบเปรียบเทียบกับระหว่างมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติกกับมะเขือเทศพันธุ์สิดา ให้ค่าเฉลี่ยของสัดส่วนพื้นที่ใบที่แสดงอาการของโรคต่อพื้นที่ทั้งหมดของใบที่ร้อยละ 87.67 และ 17.61 โดยมีความรุนแรงของอาการโรคที่ระดับ 4.62 และ 1.41 ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานวิจัยในประเทศคาเมอรูน (Fontem *et al.*, 2005) แสดงให้เห็นว่า เชื้อรา *P. infestans* ที่แยกเชื้อจากมันฝรั่งให้ระดับความรุนแรงของอาการโรคที่ต่ำกว่าเมื่อปลูกเชื้อบนมะเขือเทศ และไม่พบเชื้อไอโซเลทใดที่มีระดับความ

รุนแรงของโรคบนมะเขือเทศพันธุ์สิดาสูงกว่าความรุนแรงบนมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติก ในขณะที่เชื้อรา *P. infestans* แสดงความก้าวร้าวบนใบมะเขือเทศสูงกว่าที่แสดงความก้าวร้าวบนมันฝรั่ง โดยประเมินจากความหนาแน่นของสปอร์แรงเจียที่เชื้อราสร้างบนใบพืชทดสอบ ทั้งนี้ เชื้อรา *P. infestans* มีความถี่เฉลี่ยในการติดเชื้อก่อโรคบนชิ้นมันฝรั่งทั้งสองพันธุ์คิดเป็นร้อยละ 100 โดยแสดง ความรุนแรงและความก้าวร้าวบนพันธุ์แอตแลนติกสูงกว่าบนพันธุ์สปุนต้า ชี้ให้เห็นว่ามันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติกมีความอ่อนแอต่อโรคใบไหม้สูงกว่าพันธุ์สปุนต้า นอกจากนี้ยังพบว่า ไอโซเลทที่เก็บจากตำบลโหล่งขอด มีความรุนแรงสูงในการก่อให้เกิดโรคบนมะเขือเทศพันธุ์เดลต้าและสิดา

การกระจายตัวของการจัดกลุ่มประชากรเชื้อรา *P. infestans* โดยอาศัยระดับความรุนแรงของอาการบนใบมันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติกและบนใบมะเขือเทศพันธุ์สิดา แสดงให้เห็นว่า เชื้อรา *P. infestans* จำนวน 98 ไอโซเลท (ร้อยละ 70) ให้ความรุนแรงของอาการที่ระดับ 5 ซึ่งมีสัดส่วนของพื้นที่แสดงอาการโรคบนใบมากกว่าร้อยละ 80 มันฝรั่งพันธุ์แอตแลนติก ในขณะที่ประชากรเชื้อราทำให้ใบมะเขือเทศพันธุ์สิดาแสดง ความรุนแรงของอาการที่ระดับ 1, 2, 3 และ 4 จำนวน 91, 42, 5 และ 2 ไอโซเลท หรือคิดเป็นร้อยละ 65.04, 30.00, 3.57 และ 1.43 ของประชากรเชื้อราทั้งหมด แต่ไม่พบเชื้อราไอโซเลทใดสามารถทำให้ใบมะเขือเทศพันธุ์สิดาแสดง ความรุนแรงของอาการที่ระดับ 5 โดยพบเพียงสองไอโซเลท ได้แก่ ไอโซเลท 9 และ 83 ซึ่งเป็นเชื้อราที่เก็บในจังหวัดเชียงใหม่จากตำบลโหล่งขอด อำเภอพัว และตำบลหนองหาร อำเภอสันทราย ตามลำดับ ที่สามารถทำให้เกิดโรครุนแรงสูงสุดที่ระดับ 4 เท่านั้น การกระจายตัวของประชากรเชื้อรา *P. infestans* นี้ ชี้ให้เห็นถึงลักษณะความแปรปรวนของความรุนแรงในการเกิดโรคบนมะเขือเทศโดยเชื้อรา *P. infestans* ที่เก็บรวบรวมจากแปลงปลูกมันฝรั่งในประเทศไทย

สรุปผลการวิจัย

ผลการประเมินคุณลักษณะของประชากรเชื้อรา *P. Infestans* จำนวน 140 ไอโซเลท ซึ่งเก็บรวบรวมจาก 6 ตำบล พื้นที่ปลูกมันฝรั่งในจังหวัดเชียงใหม่และจังหวัดตาก แสดงให้เห็นว่าทุกไอโซเลทมีความสามารถในการก่อโรค (Pathogenicity) บนมันฝรั่งและมะเขือเทศทุกพันธุ์ ในขณะที่เชื้อรา *P. Infestans* แสดงลักษณะความก้าวร้าว (Aggressiveness) บนใบมะเขือเทศสูงกว่าบนใบมันฝรั่ง เมื่อศึกษาเปรียบเทียบความหนาแน่นของสปอร์แรงเจียบน พื้นที่ของอาการแผลบนใบพืชทดสอบทั้งสองชนิด การศึกษาความรุนแรง (Virulence) ของประชากรเชื้อรา *P. Infestans* แสดงให้เห็นถึงความแปรปรวนในลักษณะ ความรุนแรงของอาการบนใบพืชทดสอบ (Disease severity) ของประชากรเชื้อรา *P. infestans* จำนวน 140 ไอโซเลท โดยการปลูกเชื้อราสาเหตุโรคบนมันฝรั่ง และมะเขือเทศซึ่งแสดงความรุนแรงของอาการโรคเฉลี่ย ที่ระดับ 4.62 และ 1.41 ตามลำดับ โดยพบว่ามีประชากร เชื้อราร้อยละ 89 ของเชื้อราทั้งหมด ให้ความรุนแรงสูงที่ ระดับ 4-5 บนมันฝรั่ง และให้ความรุนแรงต่ำที่ระดับ 1-2 บนมะเขือเทศ ยิ่งไปกว่านั้นในการวิจัยนี้ยังพบอีกว่ามี เพียง 2 ไอโซเลทเท่านั้น ที่สามารถทำให้เกิดความรุนแรง สูงสุดที่ระดับ 4 บนมะเขือเทศ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนดำเนินการวิจัย ส่วนหนึ่งจากศูนย์วิจัยควบคุมศัตรูพืชโดยชีวินทรีย์แห่งชาติ ภาคเหนือตอนบน ในโครงการวิจัยและพัฒนาจุลินทรีย์ ปฏิบัติเพื่อใช้ในการควบคุมโรคและแมลงศัตรูพืช ที่สำคัญในภาคเหนือตอนบน ซึ่งได้รับทุนอุดหนุนการวิจัย เพื่อพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมด้วยวิทยาศาสตร์ และเทคโนโลยี งบประมาณประจำปี พ.ศ. 2558-2560 จากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.)

เอกสารอ้างอิง

- Blandon-Diaz, J.U., A.K. Widmark, A. Hannukkala, B. Andersson, N. Hogberg and J.E. Yuen. 2012. Phenotypic variation within a clonal lineage of *Phytophthora infestans* infecting both tomato and potato in Nicaragua. **Phytopathology** 102(3): 323-330.
- Cohen, Y. 2002. Populations of *Phytophthora infestans* in Israel underwent three major genetic changes during 1983 to 2000. **Phytopathology** 92(3): 300-307.
- Fontem, D.A., O.M. Olanya, G.R. Tsombeng and M.A.P. Owona. 2005. Pathogenicity and metalaxyl sensitivity of *Phytophthora infestans* isolates obtained from garden huckleberry, potato and tomato in Cameroon. **Crop Protection** 24(5): 449-456.
- Fry, W. 2008. *Phytophthora infestans*: the plant (and R gene) destroyer. **Molecular Plant Pathology** 9(3): 385-402.
- Harbaoui, K, T. van der Lee, V.G.A.A. Vleeshouwers, N. Khammassy, M. Harrabi and W. Hamada. 2013. Characterization of *Phytophthora infestans* isolates collected from potato and tomato crops in Tunisia during 2006-2008. **Potato Research** 56(1): 11-29.
- Klarfeld, S., A.E. Rubin and Y. Cohen. 2009. Pathogenic fitness of oosporic progeny isolates of *Phytophthora infestans* on late-blight-resistant tomato lines. **Plant Disease** 93(9): 947-953.

Knapova, G. and U. Gisi. 2002. Phenotypic and genotypic structure of *Phytophthora infestans* population on potato and tomato in France and Switzerland.

Plant Pathology 51(5): 641-653.

Michalska, A.M., S. Sobkowiak, B. Flis and E. Zimnoch-Guzowska. 2016. Virulence and aggressiveness of *Phytophthora infestans* isolates collected in Poland from potato and tomato plants identified no strong specificity.

Eur. J. Plant Pathol. 144(2): 325-336.

Office of Agricultural Economics (OAE). 2018.

Information of Agricultural

Production: Potato. 2017.

[Online]. Available <http://>

<http://www.oae.go.th/assets/portals/1/files/production/มันฝรั่ง%2060.pdf>

(8 October 2018). [in Thai]

การเปลี่ยนแปลงไนโตรเจนที่เกิดจากกระบวนการมิเนอรัลไลเซชัน
และอินทรีย์วัตถุที่ปรับปรุงดินด้วยปอเทือง
Mineralized Nitrogen and Organic Matter Changer in Soil Amended
with *Crotalaria juncea* L. Residues

สุทธิเตชา ขุนทอง* ชัยสิทธิ์ วัฒนาวังจสุข และสุรเชษฐ์ นาราภักดิ์

Sutdacha Khunthong*, Chaiyasit Wattanawangjongsuk and Surachet Narabhat

สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน กรมพัฒนาที่ดิน กรุงเทพฯ 10900

Office of Science for Land Development, Land Development Department, Bangkok, Thailand 10900

*Corresponding author: sutdacha@hotmail.com

Received: November 2, 2018

Revised: January 30, 2019

Accepted: February 8, 2019

Abstract

This research aims to study the nitrogen mineralization from different parts of *Crotalaria juncea* L. on changed soil organic matter and mineral nitrogen in different duration. The study was Complete Randomized Design (CRD) with four replicates. Incubation experiment included six treatments as follow; (T1) control and 5 residues i.e. the roots (T2), stems (T3), leaves (T4), flowers (T5) and below and above-ground biomass, roots + stems + leaves + flowers (T6) of *Crotalaria juncea* L. A 100 g soil sample was placed in the container with 1.6 g of plant residues (5,000 g plant residue per rai). A laboratory incubation experiment was conducted for 10, 20, 40, 60, 80, 100 and 120 days under controlled conditions (25°C and 50 percent moisture of soil weight). The results showed that at 60 days, flowers, leaves and roots + stems + leaves + flowers of *Crotalaria juncea* L. displayed continuous mineralization by releasing a maximum of 167.13, 79.13 and 66.89 mg kg⁻¹, respectively. At 80 days, maximum nitrogen mineralization of roots 44.12 mg kg⁻¹ and stems 42.00 mg kg⁻¹ were not statistically significant. Based on nitrogen mineralization of *Crotalaria juncea* L. at 60 days, release nitrogen content of plant residues equals to urea fertilizer around 45.37 kg. Using *Crotalaria juncea* L. as green manure crop can increase the maximum organic matter content about 1,382.37 kg per rai. However, total carbon and organic matter always changed, in contrast to nitrogen mineralization.

Keywords: nitrogen, mineralization, *Crotalaria juncea* L., Lampang soil series

บทคัดย่อ

ศึกษากระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชันจากชิ้นส่วนปอเทืองต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณอินทรีย์วัตถุ และอนินทรีย์ไนโตรเจนในดินแต่ละช่วงเวลา วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 4 ซ้ำ มี 6 สิ่งทดลอง ได้แก่ การบ่มดินดำรับควบคุม (T1) การใช้ส่วนราก (T2), ลำต้น (T3), ใบ (T4), ดอก (T5) และส่วนราก+ลำต้น+ใบ+ดอก (T6) ของปอเทืองสด จำนวน 1.6 กรัม บ่มในภาชนะที่บรรจุดิน 100 กรัม (อัตรา 5,000 กก./ไร่) ที่ระยะเวลาการบ่ม 10, 20, 40, 60, 80, 100 และ 120 วัน ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการอุณหภูมิเฉลี่ย 25°C และรักษาความชื้นของดินที่ระดับ 50 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก ตลอดระยะเวลาการทดลอง พบว่าส่วนของดอกมีกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชันสูงที่สุด รองลงมา คือ ส่วนของใบ และส่วนราก+ลำต้น+ใบ+ดอก พบปริมาณสูงสุดที่ระยะเวลา 60 วัน มีกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชัน 167.13, 79.13 และ 66.89 มก./กก. ตามลำดับ ถัดมา คือ ส่วนของราก และลำต้น พบปริมาณสูงสุดที่ระยะเวลา 80 วัน แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกัน มีกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชัน 44.12 และ 42.00 มก./กก. ตามลำดับ เมื่อพิจารณาในภาพรวมกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชันจากต้นปอเทืองในพื้นที่ 1 ไร่ ที่ระยะเวลา 60 วัน เทียบเท่าการใช้ปุ๋ยยูเรีย 45.37 กก. การใช้ปอเทืองสามารถเพิ่มปริมาณอินทรีย์วัตถุได้สูงสุด 1,382.37 กก./ไร่ อย่างไรก็ตามปริมาณคาร์บอนและปริมาณอินทรีย์วัตถุมีความผันแปรตามระยะเวลา ผกผันกับกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชัน

คำสำคัญ: ไนโตรเจน มิเนอรัลไลเซชัน ปอเทือง
ชุดดินลำปาง

คำนำ

การใช้ปอเทือง (*Crotalaria juncea* L.) เป็นปุ๋ยพืชสดเป็นวิธีการหนึ่งที่กรมพัฒนาที่ดินส่งเสริมให้เกษตรกรปลูก เพื่อเพิ่มปริมาณอินทรีย์วัตถุและไนโตรเจนในดิน ภายใต้แนวคิดการใช้ประโยชน์ และการอนุรักษ์เสริมสร้างฟื้นฟูทรัพยากรดินอย่างยั่งยืน โดยใช้วิธีไถกลบต้นปอเทืองในระยะออกดอก เมื่อต้นปอเทืองสลวยตัวจะปลดปล่อยไนโตรเจนออกมาในรูปของอนินทรีย์ไนโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนียม (NH_4^+) และไนเตรท (NO_3^-) ผ่านกระบวนการมิเนอรัลไลเซชัน (Mineralization) ซึ่งเป็นรูปที่พืชดูดไปใช้ได้ การศึกษาการปลดปล่อยไนโตรเจนของปุ๋ยพืชสดส่วนใหญ่จะวิเคราะห์หาไนโตรเจนในรูปไนโตรเจนทั้งหมด แต่ปริมาณไนโตรเจนส่วนใหญ่ที่หาได้อยู่ในรูปของอินทรีย์ไนโตรเจน แต่มีไนโตรเจนเพียง 10 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น อยู่ในรูปอนินทรีย์ไนโตรเจนที่พืชสามารถนำไปใช้ได้ทันที (Abbasi *et al.*, 2015) การศึกษาการปลดปล่อยไนโตรเจนในรูปแบบของอัตรามิเนอรัลไลเซชัน จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะให้ข้อมูลเชิงลึกของอัตราปลดปล่อยอินทรีย์ไนโตรเจน สำหรับนำข้อมูลไปจัดการไนโตรเจนในดินแบบแม่นยำ อย่างไรก็ตามไนโตรเจนในรูปอินทรีย์ไนโตรเจนจะค่อยๆ ปลดปล่อยออกมาจากวัสดุอินทรีย์อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืช ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่ ระยะเวลาที่อยู่ในดิน องค์ประกอบจากส่วนต่างๆ ของพืช องค์ประกอบทางชีวเคมี อุณหภูมิดิน ปริมาณออกซิเจน ตลอดจนสมบัติดินและชนิดของเศษวัสดุพืช (Vahdat *et al.*, 2011; Abera *et al.*, 2012) โดยเฉพาะระยะเวลาเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชันของวัสดุอินทรีย์แต่ละชนิด เนื่องจากความแตกต่างขององค์ประกอบทางชีวเคมีของวัสดุอินทรีย์ เช่น ลิกนิน และ C/N มีความสัมพันธ์เชิงลบกับกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชัน หรือสภาพแวดล้อมมักส่งผลให้ใช้ระยะเวลาในการย่อยสลายและปลดปล่อยไนโตรเจนออกมาแตกต่างกัน (Abbasi *et al.*, 2015)

Masunga *et al.*, (2016) ศึกษากระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชันของวัสดุอินทรีย์ 4 ชนิด ได้แก่ มูลโคนม ต้นโคลเวอร์ ปุ๋ยหมักจากเศษอาหาร และปุ๋ยหมักจากใบต้นพอลาร์ นำวัสดุแต่ละชนิดมาบ่มกับดินในอัตราไนโตรเจน 126 กก./เฮกตาร์ ใช้ระยะเวลาในการศึกษา 97 วัน พบว่าวัสดุอินทรีย์ทุกชนิด มีแนวโน้มเกิดกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชันเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น และมีกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชันสูงสุดที่ระยะเวลา 97 วัน ยกเว้นปุ๋ยหมักจากเศษอาหาร มีกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชันสูงสุดที่ระยะเวลา 68 วัน แต่กลับลดลงที่ระยะเวลา 97 วัน Delve *et al.* (2001) ศึกษากระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชันของวัสดุอินทรีย์ 3 ชนิด ได้แก่ ใบของต้นพุ่มพุ่มมูลไก่ และฟางข้าว นำวัสดุแต่ละชนิดมาบ่มกับดินในอัตรา 9.6 กก./กก. ใช้ระยะเวลาในการศึกษา 28 สัปดาห์ พบว่าใบต้นพุ่มพุ่มมีกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชันเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น ในทางกลับกันในช่วงระยะเวลา 28 สัปดาห์ มูลไก่และฟางข้าวไม่ได้เกิดกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชัน แต่เกิดกระบวนการอิมโมบิไลเซชัน (Immobilization) แทน อย่างไรก็ตามในกรณีของมูลไก่เริ่มเกิดกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชันหลังจาก 24 สัปดาห์ นอกจากนี้ Abbasi *et al.* (2015) พบว่าเศษซากชิ้นส่วนใบ ลำต้น และกิ่งก้านของวัสดุพืชมีองค์ประกอบทางชีวเคมีต่างกัน ได้แก่ ปริมาณไนโตรเจน ลิกนิน และโพลีฟีนอล ส่งผลให้การปลดปล่อยไนโตรเจนจากกระบวนการมิเนอรัลไลเซชันในช่วงระยะเวลาต่างๆ แตกต่างกัน

จากข้อมูลทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าการเปลี่ยนแปลงกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชันจากวัสดุพืชแต่ละชนิดในแต่ละช่วงเวลามีความแตกต่างกัน สำหรับกรณีของต้นปอเทือง ซึ่งเป็นพืชที่กรมพัฒนาที่ดินส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกเพื่อเพิ่มปริมาณอินทรีย์วัตถุและไนโตรเจนในดิน ปัจจุบันยังไม่มีข้อมูลรายงานการเปลี่ยนแปลงปริมาณไนโตรเจนที่เกิดจากกระบวนการมิเนอรัลไลเซชันในแต่ละช่วงเวลาหลังการ ไถกลบ

การศึกษาครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษากระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชันจากชิ้นส่วนปอเทือง ที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณอินทรีย์วัตถุ และอินทรีย์ไนโตรเจนในแต่ละช่วงเวลา

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างดินและพืชที่ใช้ในการศึกษา

เก็บตัวอย่างดินตัวแทน ชุดดินลำปาง (Lampang series: Lp) พิกัด Q47 540531E, 2014626N ที่ระดับความลึก 0-15 ซม. เนื้อดินเป็นดินร่วนปนทรายแป้ง (Silt loam) มีอนุภาคขนาดทราย (Sand) ทรายแป้ง (Silt) และอนุภาคดินเหนียว (Clay) 490, 340 และ 170 กก./กก. ตามลำดับ มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 4.5 มีปริมาณอินทรีย์คาร์บอน (Organic carbon) และอินทรีย์วัตถุ (Organic matter) 3.71 และ 6.40 กก./กก. ตามลำดับ มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 0.37 กก./กก. ค่า C/N เท่ากับ 10 มีปริมาณอินทรีย์ไนโตรเจน (Mineral nitrogen) ($\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$) และอินทรีย์ไนโตรเจน (Organic nitrogen) 71.44 และ 298.56 กก./กก. ตามลำดับ มีปริมาณฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์ (Available phosphorus) 3 กก./กก. โพแทสเซียม แคลเซียม และแมกนีเซียมที่สกัดได้ (Extractable potassium, calcium and magnesium) 40, 273 และ 37 กก./กก. ตามลำดับ

สำหรับต้นปอเทืองที่ใช้ศึกษามีอายุ 45 วัน แยกต้นปอเทืองออกเป็นส่วนต่างๆ ได้แก่ ส่วนราก ใบ ลำต้น และดอก แบ่งแต่ละส่วนออกเป็น 2 กลุ่ม 1) แยกบดแต่ละส่วนของต้นปอเทืองสด ร่อนผ่านตะแกรงช่องเปิดขนาด 1 มม. สำหรับใช้บ่มกับตัวอย่างดิน 2) นำไปอบที่อุณหภูมิ 65°C. เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาบดและร่อนผ่านตะแกรงช่องเปิดขนาด 1 มม. เพื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางชีวเคมี ได้แก่ ลิกนิน (Van Soest *et al.*, 1991) โพลีฟีนอล (Folin and Denis, 1915) คาร์บอน และไนโตรเจนทั้งหมด (ISO 10694, 1995; ISO 13878, 1998)

วิธีดำเนินการ

ทำการทดลองในห้องปฏิบัติการกลุ่มวิเคราะห์ วิจัยพืช ปุ๋ย และสิ่งปรับปรุงดิน สำนักวิทยาศาสตร์เพื่อการพัฒนาที่ดิน วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 4 ซ้ำ มี 6 สิ่งทดลอง ได้แก่ การบ่มดินดำรับควบคุม (T1) การใช้ส่วนราก (T2) ลำต้น (T3) ใบ (T4) ดอก (T5) และส่วนราก+ลำต้น+ใบ+ดอก ในสัดส่วนที่เท่ากัน (T6) ของปอเทืองสด บ่มในดินที่ผ่านตะแกรงร่อน ขนาดช่องเปิด 2 มม. ในสัดส่วน 1.6 กรัม ต่อดิน 100 กรัม (อัตรา 5,000 กก./ไร่) ในสภาวะอุณหภูมิห้องเฉลี่ย 25°C. ดินมีความชื้น 50 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ตามระดับความชื้นแนะนำของกองปุ๋ยหมัก (Land Development Department, 2010) ทำการบ่มที่ระยะเวลา 10, 20, 40, 60, 80, 100 และ 120 วัน เมื่อครบกำหนดในแต่ละช่วงเวลา นำตัวอย่างดินหาปริมาณอินทรีย์ไนโตรเจน ($\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^-$) (Bremner and Keeney, 1966) และคำนวณหาไนโตรเจนที่เกิดจากกระบวนการมิเนอรัไลเซชัน (Nitrogen mineralization: N_m) (Mohanty *et al.*, 2011) (สมการที่ 1)

$$\text{N}_m (\text{มก./กก.}) = (\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^- \text{ จากสิ่งทดลองที่ศึกษา}) - (\text{NH}_4^+ + \text{NO}_3^- \text{ จากสิ่งทดลอง.....(1) = ควบคุม})$$

หาปริมาณคาร์บอนทั้งหมดโดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ธาตุองค์ประกอบหลัก จากการเผาแห้ง (Dry combustion) ด้วยเครื่องวิเคราะห์ไนโตรเจน คาร์บอน และกำมะถันอัตโนมัติ (NCS Analyzer รุ่น Flash 2000) และเนื่องจากดินที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง น้อยกว่า 6.5 คาร์บอนทั้งหมดแสดงถึงปริมาณอินทรีย์คาร์บอน จึง

สามารถนำผลวิเคราะห์ปริมาณคาร์บอนที่ได้มาหาปริมาณอินทรีย์วัตถุ จากการอาศัยหลักการที่อินทรีย์วัตถุมีอินทรีย์คาร์บอนเป็นองค์ประกอบ 58 เปอร์เซ็นต์ (ISO 10694, 1995) นำข้อมูลที่ได้วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA; Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Tukey's Honest Significant Difference (HSD)

ผลการวิจัยและวิจารณ์

องค์ประกอบทางชีวเคมีจากชิ้นส่วนต้นปอเทือง

จากการวิเคราะห์สมบัติทางชีวเคมีจากชิ้นส่วนต้นปอเทืองพบว่า แต่ละส่วนมีองค์ประกอบทางชีวเคมีแตกต่างกัน (Table 1) ส่วนของดอกมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสูงสุด 61.61 ก./กก. เนื่องจากในระยะออกดอกธาตุอาหารจะถูกลำเลียงไปยังส่วนของดอกสำหรับเตรียมความพร้อมในการสร้างเมล็ด ส่วนใบ ราก+ลำต้น+ใบ+ ดอก ราก และส่วนของต้น มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด 28.66, 22.54, 9.93 และ 9.17 ก./กก. ตามลำดับ ซึ่งให้เห็นว่าแหล่งของไนโตรเจนหลังการไถกลบต้นปอเทือง ส่วนใหญ่มาจากส่วนของดอกและใบ ในขณะที่ปริมาณคาร์บอนทั้งหมดพบค่าสูงที่สุดในส่วนของราก 982 ก./กก. เนื่องจากเป็นส่วนที่ช่วยยึดค้ำจุนลำต้นไม่ให้ล้ม จึงเป็นส่วนที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบซึ่งแสดงถึงความแข็งแรงของโครงสร้างสูงกว่าส่วนอื่น และค่าที่พบสูงกว่าในราก โสนอัฟริกัน ซึ่งมีรายงานปริมาณคาร์บอน เท่ากับ 384.76 ก./กก. (Tulaphitak *et al.*, 2015)

Table 1 Biochemical composition of different parts of *Crotalaria juncea* L.

Parts of <i>Crotalaria juncea</i> L.	N (g kg ⁻¹)	C (g kg ⁻¹)	LG (g kg ⁻¹)	PP (mg kg ⁻¹)	C/N	LG/N
Roots	9.93d	982.60a	242.25a	24.26e	99a	24a
Stems	9.17e	514.02b	173.75b	33.87d	56b	19b
Leaves	28.66b	453.39d	73.50d	83.15a	16d	3d
Flowers	61.61a	472.28c	65.25e	50.22c	8e	1e
Roots + stems + leaves + flowers	22.54c	427.10e	103.00c	55.15b	19c	5c
F-test	*	*	*	*	*	*
C.V. (%)	1.40	0.20	3.15	4.06	0.31	3.69

N = total nitrogen, C = total carbon, LG = lignin, PP = polyphenol

* Means with different letters in the same column indicate significant difference at $P < 0.05$, HSD.

ส่วนลำต้น ดอก ใบ และส่วน ราก+ลำต้น+ใบ+ดอก มีปริมาณคาร์บอนทั้งหมด 514.02, 472.28, 453.39 และ 427.10 ก./กก. ตามลำดับ ปริมาณลิกนินพบค่าสูงสุดในส่วนของราก 242 ก./กก. เช่นเดียวกับปริมาณคาร์บอน เนื่องจากเป็นส่วนที่ช่วยยึดลำต้นไม่ให้ล้ม จึงมีลิกนินและคาร์บอนเป็นองค์ประกอบหลักซึ่งแสดงถึงความแข็งแรงของโครงสร้างสูงกว่าส่วนอื่น ปริมาณลิกนินที่พบสูงกว่าในรากโสนอัฟริกัน ซึ่งมีรายงานปริมาณลิกนิน 80.60 ก./กก. (Tulaphitak *et al.*, 2015) ชี้ให้เห็นว่ารากปอเพียงอาจต้องใช้ระยะเวลาย่อยสลายมากกว่ารากโสนอัฟริกัน อย่างไรก็ตามมีค่าใกล้เคียงกับปริมาณลิกนินในพืชตระกูลถั่วและพืชตระกูลถั่วมีรายงานปริมาณลิกนินอยู่ในช่วง 171-252 ก./กก. (Vahdat *et al.*, 2011) ส่วนปริมาณลิกนินในลำต้น ราก+ลำต้น+ใบ+ดอก ใบ และดอก มีปริมาณ 173.75, 103.00, 73.50 และ 62.25 ก./กก. ตามลำดับ ปริมาณโพลีฟีนอล พบค่าสูงสุดในส่วนของใบ 83.15 มก./กก. อาจเนื่องจากสารโพลีฟีนอลถูกสร้างขึ้นมาเพื่อต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากกระบวนการสังเคราะห์แสงที่เกิดขึ้นบริเวณใบพืช ค่าที่พบน้อยกว่าปริมาณโพลีฟีนอลที่มีรายงานในถั่วแระ

(Mafongoya *et al.*, 1998) และแคฝรั่ง (Abbasi *et al.*, 2015) ส่วนราก+ลำต้น+ใบ+ดอก ดอก ลำต้น และราก มีปริมาณโพลีฟีนอล 55.15, 50.22, 33.87 และ 24.26 มก./กก. ตามลำดับ ค่า C/N พบค่าสูงสุดในส่วนของราก เท่ากับ 99 สูงกว่าในรากโสนอัฟริกัน ซึ่งมีค่า C/N เท่ากับ 23 (Tulaphitak *et al.*, 2015) แต่น้อยกว่าในรากข้าวโพด มีรายงานค่า C/N เท่ากับ 121 (Abbasi *et al.*, 2015) ชี้ให้เห็นว่ารากปอเพียงอาจใช้ระยะเวลาย่อยสลายเร็วกว่ารากข้าวโพด ส่วนลำต้น ราก+ลำต้น+ใบ+ดอก ใบ และดอก มี C/N เท่ากับ 56, 19, 16 และ 8 ตามลำดับ ส่วนค่า LG/N พบอัตราส่วนสูงสุดในส่วนของราก เท่ากับ 24 ใกล้เคียงกับค่า LG/N ของข้าวบาร์เลย์ มีรายงานค่า LG/N เท่ากับ 21 (Vahdat *et al.*, 2011) ส่วนลำต้น ราก+ลำต้น+ใบ+ดอก ใบ และดอก มีอัตราส่วนเท่ากับ 19, 5, 3 และ 1 ตามลำดับ จากผลวิเคราะห์องค์ประกอบทางชีวเคมีของชิ้นส่วนปอเพียง ชี้ให้เห็นว่าส่วนของรากและลำต้นเป็นชิ้นส่วนสำคัญที่ควบคุมกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัไลเซชันเนื่องจากมีระดับ C/N และ LG/N สูงกว่าชิ้นส่วนอื่น ซึ่งระดับ C/N และ LG/N มีความสัมพันธ์เชิงลบกับกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัไลเซชัน (Abbasi *et al.*, 2015)

การเปลี่ยนแปลงอนินทรีย์ไนโตรเจนในดินจากการใช้ ชิ้นส่วนของต้นปอเทืองบ่มในดินเป็นระยะเวลา 120 วัน

หลังการใช้ชิ้นส่วนปอเทืองบ่มในดินปริมาณอนินทรีย์ไนโตรเจนในดินมีการเปลี่ยนแปลงผันแปรตามระยะเวลาการบ่ม ที่ระยะเวลา 10 วัน ดินที่บ่มชิ้นส่วนปอเทืองทุกสิ่งทดลอง เมื่อเปรียบเทียบกับการบ่มดินดำรับควบคุม มีปริมาณอนินทรีย์ไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียมและไนเตรทเพิ่มขึ้น (Figure 1) จากการเปลี่ยนรูปของอินทรีย์ไนโตรเจนมาอยู่ในรูปอนินทรีย์ไนโตรเจนจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ดิน เพื่อใช้อินทรีย์สารเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานผ่านกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัไลเซชัน โดยเฉพาะส่วนของ ราก+ลำต้น+ใบ+ดอก มีกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัไลเซชันสูงที่สุด (Figure 2) แต่หลังจากระยะเวลา 10 วัน ทุกชิ้นส่วนของปอเทืองเมื่อเปรียบเทียบกับการบ่มดินดำรับควบคุม ยกเว้นส่วนของดอก มีปริมาณอนินทรีย์ไนโตรเจนลดลง ทั้งนี้เนื่องจากภายในดินอาจมีปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงแรก จึงจำเป็นต้องใช้ปริมาณคาร์บอนเพื่อเป็นองค์ประกอบ

ของเซลล์ และเป็นแหล่งพลังงานเพิ่มตามปริมาณจุลินทรีย์ดิน แต่การนำปริมาณคาร์บอนมาใช้ในกระบวนการจำเป็นต้องใช้ไนโตรเจน โดยทั่วไปเซลล์ของจุลินทรีย์มีสัดส่วน C/N อยู่ในช่วง 4/1 ถึง 9/1 เฉลี่ยเซลล์ของจุลินทรีย์จึงมีค่า C/N ประมาณ 7/1 หมายความว่าประกอบด้วยปริมาณของคาร์บอน 7 ส่วนต่อไนโตรเจน 1 ส่วน เนื่องจากเซลล์จุลินทรีย์ใช้สารประกอบคาร์บอนที่ได้จากการย่อยสลายในการสร้างเป็นองค์ประกอบของเซลล์เพียง 1/3 ของทั้งหมด ปริมาณคาร์บอนอีก 2/3 จะถูกย่อยสลายเป็นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ในกระบวนการหายใจ ดังนั้นอาหารที่จุลินทรีย์ใช้จึงควรมี C/N สูงสุดไม่ควรเกิน 21/1 แต่หากมีค่าสูงกว่านี้ ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากในดินมีปริมาณคาร์บอนเพิ่มขึ้น หรือมีปริมาณไนโตรเจนลดลง จุลินทรีย์ดินจะดึงเอาอนินทรีย์ไนโตรเจนในรูปไนเตรทและแอมโมเนียมมาใช้เป็นองค์ประกอบของเซลล์ และเปลี่ยนมาอยู่ในรูปอนินทรีย์ไนโตรเจนผ่านกระบวนการอิมโมบิไลเซชัน (Brady, 1984) ส่งผลให้ในช่วงเวลาดังกล่าวดินมีปริมาณอนินทรีย์ไนโตรเจนลดลง

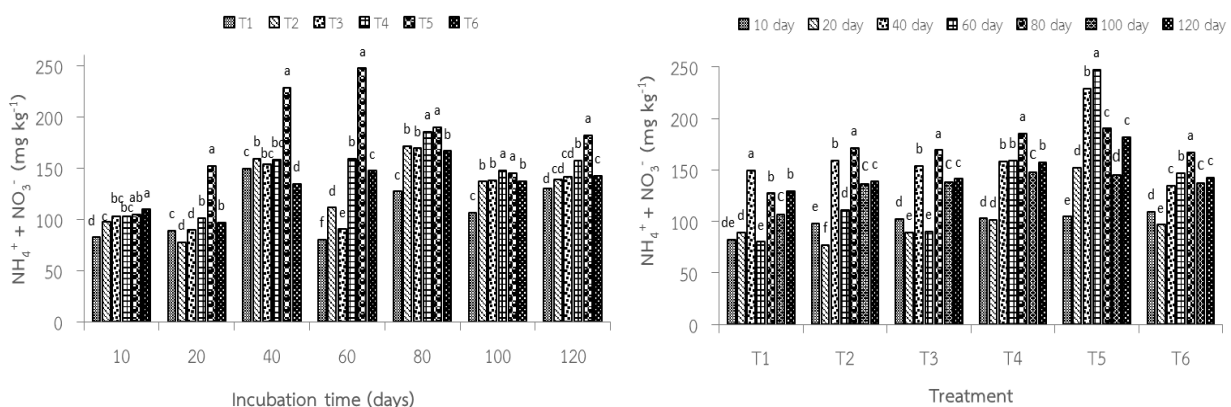


Figure 1 The mineral nitrogen contents from different parts of *Crotalaria juncea* L. during 120 day, T1 = control, T2 = soil + roots, T3 = soil + stems, T4 = soil + leaves, T5 = soil + flowers, T6 = soil + roots + stems + leaves + flowers, different letters indicate significant difference at $P < 0.05$, HSD.

อย่างไรก็ตามในช่วง 10-20 วันแรก ดินที่บ่มด้วยดอกปอเทืองยังคงเกิดกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัไลเซชันต่อเนื่อง เนื่องจากส่วนของดอกมีปริมาณไนโตรเจนสูง แต่มีปริมาณคาร์บอนต่ำเมื่อเทียบกับชิ้นส่วนอื่น (Table 1) จึงยังคงสัดส่วน C/N อยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อความต้องการของจุลินทรีย์ แต่หลังจากระยะเวลา 40 วัน ทุกชิ้นส่วนเมื่อเปรียบเทียบกับดินดำรับควบคุมมีปริมาณอินทรีย์ไนโตรเจนเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะที่ระยะเวลา 60 วัน ส่วนของดอก ใบ และส่วน ราก+ลำต้น+ใบ+ดอก มีกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัไลเซชันสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับช่วงเวลาก่อน ส่วนของรากและลำต้นมีกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัไลเซชันสูงสุดที่ระยะเวลา 80 วัน หลังจากนั้นทุกชิ้นส่วนปอเทืองมีกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัไลเซชันลดลง ตามลำดับ (Figure 2) จากการศึกษาชี้ให้เห็นว่าชิ้นส่วนพืชที่ต่างกันมีผลต่อปริมาณ และระยะเวลาการเกิดกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัไลเซชัน สอดคล้องกับการศึกษาอัตรา

ไนโตรเจนมิเนอรัไลเซชันจากการบ่มใบของต้นสมิ และ กระถินในดินอัตรา 10 ต้น/เฮกตาร์ ใช้ระยะเวลาในการศึกษา 8 สัปดาห์ พบว่าใบของต้นสมิ เกิดกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัไลเซชันสูงที่สุดในสัปดาห์ที่ 8 และยังมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ขณะที่ใบกระถินเกิดกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัไลเซชันสูงที่สุดในสัปดาห์ที่ 6 หลังจากนั้นกลับมีแนวโน้มลดลง (Mafongoya *et al.*, 1998) และจากการศึกษาอัตราไนโตรเจนมิเนอรัไลเซชันของวัสดุพืช 3 ชนิด ได้แก่ หมามุ่ย ถั่วแปบ และปอเทือง นำวัสดุพืชแต่ละชนิดมาบ่มกับดิน ในอัตรา 10 ก./กก. ใช้ระยะเวลาในการศึกษา 16 สัปดาห์ พบว่าวัสดุพืชทั้ง 3 ชนิด มีอัตราไนโตรเจนมิเนอรัไลเซชันเพิ่มขึ้นตามระยะเวลา โดยในสัปดาห์ที่ 16 ปอเทือง ถั่วแปบ และหมามุ่ย มีกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัไลเซชัน เท่ากับ 170, 130 และ 121 มก./กก. ตามลำดับ (Odhiambo, 2010)

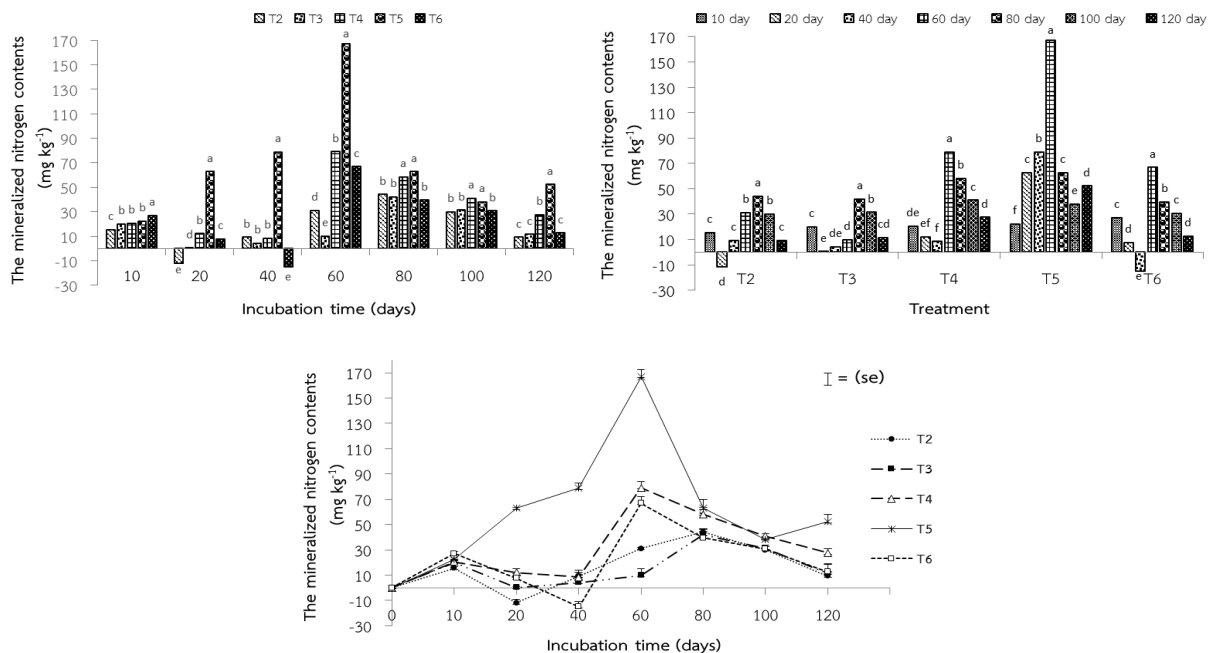


Figure 2 The mineralized nitrogen contents from different parts of *Crotalaria juncea* L. during 120 day, T2 = soil + roots, T3 = soil + stems, T4 = soil + leaves, T5 = soil + flowers, T6 = soil + roots + stems + leaves + flowers, se = standard errors
Different letters indicate significant difference at P<0.05, HSD.

เมื่อพิจารณาในแต่ละชั้นส่วนของปอเทือง (Figure 2) ยังแสดงให้เห็นว่าการใช้ปอเทืองปรับปรุงดิน หากได้น้ำหนักสดของปอเทือง 5,000 กก./ไร่ ในสภาวะที่ดินมีความชื้น 50 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 25°C. ส่วนของดอกมีกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชันสูงที่สุด รองลงมา คือ ส่วนของใบ และส่วนราก+ลำต้น+ใบ+ดอก พบปริมาณสูงสุดที่ระยะเวลา 60 วัน มีกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชัน 167.13, 79.13 และ 66.89 กก./กก. ตามลำดับ ถัดมา คือ ส่วนของรากและลำต้น พบปริมาณสูงสุดที่ระยะเวลา 80 วัน มีกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชัน 44.12 และ 42.00 กก./กก. ตามลำดับ หรือหากมองในภาพรวมพิจารณาจากส่วน ราก+ลำต้น+ใบ+ดอก ซึ่งเป็นตัวแทนของชั้นส่วนปอเทืองทั้งหมด แสดงให้เห็นว่ากระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชันจากปอเทืองเกิดขึ้นสูงที่สุด 66.89 กก./กก. ที่ระยะเวลา 60 วัน หากดิน 1 ไร่ ที่ระดับความลึก 15 ซม. มีน้ำหนัก 312,000 กก. การใช้ปอเทืองเป็นปุ๋ยพืชสด หลังการไถกลบที่ระยะเวลา 60 วัน ในพื้นที่ 1 ไร่ สามารถปลดปล่อยอนินทรีย์ไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียม และไนเตรท จากกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชัน 20.87 กก. หรือเทียบเท่าการใช้ปุ๋ยยูเรีย (46-0-0) 45.37 กก./ไร่ ปัจจุบันพื้นที่ประเทศไทยมีพื้นที่ดินทราย 11.6 ล้านไร่ (Land Development Department, 2015) ซึ่งเป็นดินที่มีปริมาณไนโตรเจนต่ำ หากปุ๋ยยูเรียมีราคา 12 บาท/กก. และมีการใช้ปอเทืองปรับปรุงดินในพื้นที่ดินทรายทั้งหมด ปีละครั้ง จะได้ปริมาณอนินทรีย์ไนโตรเจนเทียบเท่าการใช้ปุ๋ยยูเรียคิดเป็นมูลค่า 6.3 พันล้านบาทต่อปี อย่างไรก็ตาม ข้อมูลข้างต้นมาจากการทดลองในห้องปฏิบัติการ ดังนั้น อาจมีความคลาดเคลื่อนกับการทดสอบในสภาพพื้นที่จริง ซึ่งมีความแปรปรวนของสภาวะแวดล้อมของแต่ละพื้นที่ มาเกี่ยวข้อง ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในภาคสนามตามสภาพแวดล้อมที่แตกต่างกัน เช่น การทดสอบตามลักษณะกลุ่มเนื้อดิน หรือกลุ่มชุดดิน ซึ่งจะช่วยให้การประเมินศักยภาพของการใช้ปอเทืองปรับปรุงดินในแต่ละบริเวณมีความถูกต้อง แม่นยำมากยิ่งขึ้น

การเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์บอนและอินทรีย์วัตถุในดินจากการใช้ชั้นส่วนของต้นปอเทืองบ่มในดินเป็นระยะเวลา 120 วัน

ปริมาณคาร์บอนทั้งหมดในดินมีความสัมพันธ์กับปริมาณอินทรีย์วัตถุ หลังการใช้ชั้นส่วนปอเทืองบ่มในดิน ปริมาณคาร์บอนทั้งหมดในดิน (Figure 3a) และปริมาณอินทรีย์วัตถุ (Figure 3b) เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับดินก่อนทดลอง แต่มีความผันแปรในบางช่วงระยะเวลาเนื่องจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ดิน และองค์ประกอบทางชีวเคมีของชั้นส่วนปอเทืองแตกต่างกัน ในช่วงระยะเวลา 20 วัน ดินที่บ่มแต่ละชั้นส่วนของปอเทืองมีแนวโน้มสะสมปริมาณคาร์บอนสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับช่วงเวลาอื่น ยกเว้นการบ่มส่วนของรากสะสมปริมาณคาร์บอนสูงสุดที่ระยะเวลา 80 วัน อาจเนื่องจากส่วนของรากมีปริมาณคาร์บอนและลิกนินสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับชั้นส่วนอื่น (Table 1) ซึ่งมีความสัมพันธ์เชิงลบกับกระบวนการย่อยสลาย (Aumtong and Pongwongkam, 2017) ส่วนในช่วงระยะเวลา 20 วัน สาเหตุที่ดินจากการบ่มทุกชั้นส่วนของปอเทืองยกเว้นราก มีแนวโน้มสะสมปริมาณคาร์บอนสูงที่สุด อาจเนื่องจากองค์ประกอบทางชีวเคมีอยู่ในช่วงที่เหมาะสมกว่าส่วนของราก ทำให้เกิดกระบวนการย่อยสลายได้ดีกว่า ประกอบกับปริมาณจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นจากกระบวนการย่อยสลาย ส่งผลให้มีความต้องการใช้คาร์บอนมากขึ้น จึงเป็นปัจจัยเร่งกระบวนการย่อยสลายสอดคล้องกับกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชันที่ลดลงในช่วงระยะเวลาดังกล่าว (Figure 2) เนื่องจากอนินทรีย์ไนโตรเจนถูกใช้ป้อนองค์ประกอบของเซลล์จุลินทรีย์ควบคู่กับปริมาณคาร์บอนที่เพิ่มขึ้น (Brady, 1984) สอดคล้องกับการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์บอนในดินหลังการใช้ส่วนราก ใบ และลำต้น ของข้าวฟ่าง ข้าว ถั่วเหลือง และข้าวสาลี บ่มในดินเป็นระยะเวลา 120 วัน พบว่าการเปลี่ยนปริมาณคาร์บอนในดินจากการบ่มวัสดุพืชทุกชนิด มีความผกผันกับกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชัน (Abiven *et al.*, 2005)

อย่างไรก็ตามจากการทดลองหลังระยะเวลา 20 วัน ดินที่บ่มแต่ละชั้นส่วนของปอเทืองมีปริมาณคาร์บอนทั้งหมดลดลง และมีความผันแปรต่อเนื่องตลอดระยะเวลาการทดลอง ทั้งนี้การที่ปริมาณคาร์บอนทั้งหมดลดลงอาจเนื่องจากโดยทั่วไปจุลินทรีย์ใช้สารประกอบคาร์บอนที่ได้จากการย่อยสลายในการสร้างเป็นองค์ประกอบของเซลล์เพียง 1/3 ของทั้งหมด ปริมาณคาร์บอนอีก 2/3 จะถูกย่อยสลายเป็นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในกระบวนการหายใจ จึงอาจสูญเสียปริมาณคาร์บอนบางส่วนจากกิจกรรมดังกล่าว แต่ตามทฤษฎีปริมาณคาร์บอนที่สูญเสียไปน่าจะมีเพียงส่วนน้อย สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์บอนในแต่ละช่วงเวลา โดยส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากดินที่ใช้ทดลองเป็นดินกรด เมื่อแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ทำปฏิกิริยา

กับไฮโดรเจนไอออน (H^+) จะแตกตัวให้คาร์บอน และน้ำอีกครั้งหนึ่ง เมื่อเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวประกอบกับปริมาณคาร์บอนที่ได้จากการย่อยสลายแต่ละชั้นส่วนของปอเทืองทำให้บางช่วงเวลามีปริมาณคาร์บอนเพิ่มขึ้น หลังจากมีปริมาณคาร์บอนลดลงในช่วงก่อนหน้า ส่งผลให้เกิดการผันแปรของปริมาณคาร์บอนในแต่ละช่วงเวลา สอดคล้องกับการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณคาร์บอนในดินจากการใช้ต้นโคลเวอร์บ่มกับดินในอัตราไนโตรเจน 126 กก./เฮกตาร์ ใช้ระยะเวลาในการศึกษา 97 วัน พบว่าปริมาณคาร์บอนในดินมีความผันแปรตามระยะเวลาที่ระยะเวลา 20 วัน ดินมีปริมาณคาร์บอนสูงสุด หลังจากนั้นปริมาณคาร์บอนในดินลดลง และมีปริมาณคาร์บอนเพิ่มขึ้นอีกครั้งหลังจากระยะเวลา 68 วัน (Masunga *et al.*, 2016)

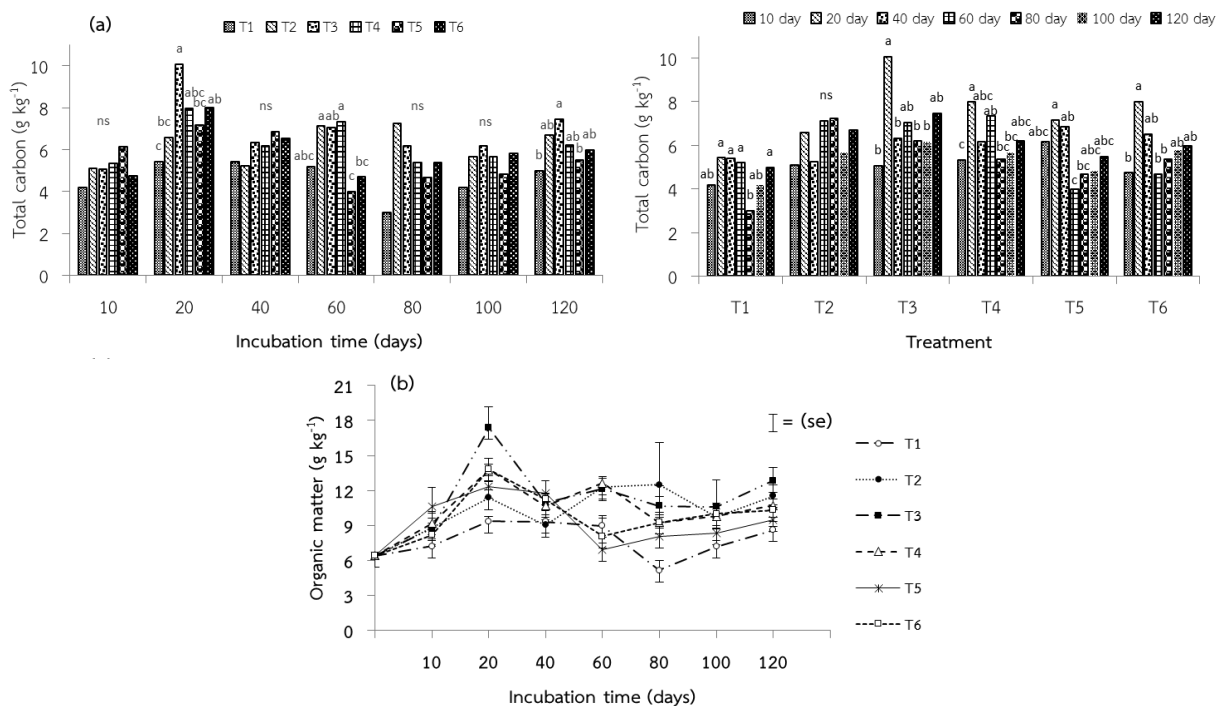


Figure 3 The total carbon (a) and organic matter (b) contents from different parts of *Crotalaria juncea* L. during 120 day, T1 = control, T2 = soil + roots, T3 = soil + stems, T4 = soil + leaves, T5 = soil + flowers, T6 = soil + roots + stems + leaves + flowers, se = standard errors. Different letters indicate significant difference and ns = not significant difference at $P > 0.05$, HSD.

จากผลการศึกษา (Figure 3a-3b) เมื่อพิจารณาในแต่ละชั้นส่วนของปอเทือง ในช่วงระยะเวลา 20 วัน ซึ่งเป็นช่วงที่มีแนวโน้มของการสะสมปริมาณคาร์บอนสูงสุด แสดงให้เห็นว่าการใช้ปอเทืองปรับปรุงดินหากได้น้ำหนักสดของปอเทือง 5,000 กก./ไร่ ในสภาวะที่ดินมีความชื้น 50 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 25°C. ส่วนของลำต้นช่วยให้ดินมีปริมาณคาร์บอนทั้งหมดสูงที่สุด 10.07 ก./กก. หรือคิดเป็นปริมาณอินทรีย์วัตถุ 17.36 ก./กก. แต่ไม่มีความแตกต่างจากส่วนราก+ลำต้น+ใบ+ดอก และส่วนของใบ ช่วยให้ดินมีปริมาณคาร์บอนทั้งหมด 8.00 และ 7.98 ก./กก. หรือคิดเป็นปริมาณอินทรีย์วัตถุ 13.80 และ 13.76 ก./กก. ตามลำดับ ส่วนของรากช่วยให้ดินมีปริมาณคาร์บอนทั้งหมด 6.59 ก./กก. หรือคิดเป็นปริมาณอินทรีย์วัตถุ 11.36 ก./กก. แต่ไม่มีความแตกต่างกับส่วนใบ และส่วนของดอกซึ่งช่วยให้ดินมีปริมาณคาร์บอนทั้งหมด 7.15 ก./กก. หรือคิดเป็นปริมาณอินทรีย์วัตถุ 12.32 ก./กก. และหากมองในภาพรวมการพิจารณาจากส่วนราก+ลำต้น+ใบ+ดอก เป็นตัวแทนของชั้นส่วนปอเทืองทั้งหมด แสดงให้เห็นว่าการใช้ปอเทืองสามารถเพิ่มปริมาณคาร์บอนทั้งหมดได้สูงที่สุดเมื่อเทียบกับการไม่ใช้ปอเทือง 2.57 ก./กก. ที่ระยะเวลา 20 วัน หรือคิดเป็นปริมาณอินทรีย์วัตถุ 4.43 ก./กก. หากดิน 1 ไร่ ที่ระดับความลึก 15 ซม. มีน้ำหนัก 312,000 กก.

การใช้ปอเทืองเป็นปุ๋ยพืชสดหลังการไถกลบ ที่ระยะเวลา 20 วัน ในพื้นที่ 1 ไร่ สามารถปลดปล่อยคาร์บอนทั้งหมด 801.84 กก. ซึ่งในดินที่ใช้ในการทดลองค่าที่ได้เทียบเท่าปริมาณอินทรีย์คาร์บอน หรือคิดเป็นปริมาณอินทรีย์วัตถุ 1,382.37 กก./ไร่ จากผลวิเคราะห์ดินที่ใช้ในการศึกษาพบว่า มีปริมาณอินทรีย์วัตถุต่ำ 1,996.80 กก./ไร่ หากต้องการยกระดับอินทรีย์วัตถุในดินตามลักษณะของดินในอุดมคติ คือ มีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 5 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นในพื้นที่ 1 ไร่ ซึ่งมีน้ำหนัก 312,000 กก. จะต้องมีปริมาณอินทรีย์วัตถุ 5 เปอร์เซ็นต์ หรือ 15,600 กก.

แต่ในดินดังกล่าวมีปริมาณอินทรีย์วัตถุอยู่ 1,996.80 กก. จึงขาดปริมาณอินทรีย์วัตถุอีก 13,603.20 กก. หากต้องการใช้ปอเทืองเพิ่มปริมาณอินทรีย์วัตถุให้ได้ตามเป้าหมายสามารถทำได้โดยหว่านปอเทืองและไถกลบประมาณ 10 ครั้งติดต่อกัน ภายใต้เงื่อนไขระหว่างดำเนินการต้องไม่มีการสูญเสียปริมาณอินทรีย์วัตถุไปจากดิน

สรุปผลการวิจัย

การใช้แต่ละชั้นส่วนปอเทืองสดบ่มในชุดดินลำปาง อัตรา 5,000 กก./ไร่ ในสภาวะที่ดินมีความชื้น 50 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 25°C. ส่วนของดอกมีกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชันสูงที่สุด รองลงมา คือ ส่วนของใบ และส่วนราก+ลำต้น+ใบ+ดอก พบปริมาณสูงสุดที่ระยะเวลา 60 วัน มีกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชัน 167.13, 79.13 และ 66.89 มก./กก. ตามลำดับ ถัดมาคือ ส่วนของรากและลำต้น พบปริมาณสูงสุดที่ระยะเวลา 80 วัน แต่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกัน โดยมีกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชัน 44.12 และ 42.00 มก./กก. ตามลำดับ เมื่อพิจารณาในภาพรวมกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชันจากปอเทืองในพื้นที่ 1 ไร่ ที่ระยะเวลา 60 วัน เทียบเท่าการใช้ปุ๋ยยูเรีย 45.37 กก. การใช้ปอเทืองสามารถเพิ่มปริมาณอินทรีย์วัตถุได้สูงสุด 1,382.37 กก./ไร่ อย่างไรก็ตามปริมาณคาร์บอนและปริมาณอินทรีย์วัตถุมีความผันแปรตามระยะเวลา ผกผันกับกระบวนการไนโตรเจนมิเนอรัลไลเซชัน

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนงบประมาณจากกรมพัฒนาที่ดิน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560

เอกสารอ้างอิง

- Abbasi, M.K., M.M. Tahir, N. Sabir and M. Khurshid. 2015. Impact of the addition of different plant residues on nitrogen mineralization-immobilization turnover and carbon content of a soil incubated under laboratory conditions. **Solid Earth** 6: 197-205.
- Abera, G., E. Wolde-meskel and L.R. Bakken. 2012. Carbon and nitrogen mineralization dynamics in different soils of the tropics amended with legume residues and contrasting soil moisture contents. **Biology and Fertility of Soils** 48: 51-66.
- Abiven, S., S. Recous, V. Reyes and R. Oliver. 2005. Mineralisation of C and N from roots, stems and leaves residues in soil and role of their biochemical quality. **Biology and Fertility of Soils** 42: 119-128.
- Aumtong, S. and P. Pongwongkam. 2017. The amount and sequestration of organic carbon fractions in paddy soils. **Journal of Agricultural Research & Extension** 34: 1-13. [in Thai]
- Brady, N.C. 1984. **The Nature and Properties of Soils**. New York: Macmillan Publishing. 750 p.
- Bremner, J.M. and D.R. Keeney. 1966. Determination and isotope-ratio analysis of different forms of nitrogen in soil: exchangeable ammonium, nitrate and nitrite by extraction distillation methods. **Soil Science Society of America Journal** 30: 577-583.
- Delve, R.J., G. Cadisch, J.C. Tanner, W. Thorpe, P.J. Thorne and K.E. Giller. 2001. Implications of livestock feeding management on soil fertility in the smallholder farming systems of sub-Saharan Africa. **Agriculture Ecosystems & Environment** 84: 227-243.
- Folin, O. and W.A. Denis. 1915. A Colorimetric method for the determination of phenols (and phenol derivatives) in urine. **Journal of Biological Chemistry** 22: 305-308.
- ISO 10694. 1995. **Soil Quality-determination of Organic and Total Carbon after Dry Combustion (Elementary Analysis)**. International Standard. 7 p.
- ISO 13878. 1998. **Soil Quality-determination of Total Nitrogen Content by Dry Combustion (Elemental Analysis)**. International Standard. 5 p.
- Land Development Department. 2010. **Land Development Guide for Soil Volunteers and Farmers**. Bangkok: Land Development Department Press. 236 p. [in Thai]
- _____. 2015. **State of Soil and Land Resources of Thailand**. Bangkok: The Agriculture Co-operative Federation of Thailand., LTD. 303 p. [in Thai]
- Mafongoya, P.L., P.K.R. Nair and B.H. Dzowela. 1998. Mineralization of nitrogen from decomposing leaves of multipurpose trees as affected by their chemical composition. **Biology and Fertility of Soils** 27: 143-148.

- Masunga, R.H., V.N. Uzokwe, P.D. Mlay, I. Odeh, A. Singh, D. Buchan and S.D. Neve. 2016. Nitrogen mineralization dynamics of different valuable organic amendments commonly use in agriculture. **Applied Soil Ecology** 101: 185-193.
- Mohanty, M., K. Sammi Reddy, M.E. Probert, R.C. Dalal, A. Subba Rao and N.W. Menzies. 2011. Modelling N mineralization from green manure and farmyard manure from a laboratory incubation study. **Ecological Modelling** 222: 719-726.
- Odhiambo, J.J.O. 2010. Decomposition and nitrogen release by green manure legume residues in different soil types. **African Journal of Agricultural Research** 5: 90-96.
- Tulaphitak, P., P. Saenjan, K. Dejbhimon and P. Torpol. 2015. Influence of chemical compositions in *Sesbania rostrata* on decomposition processes and mineralization in submerged soils. **Khon Kaen Agricultural Journal** 43: 968-975. [in Thai]
- Vahdat, E., F. Nourbakhsh and M. Basiri. 2011. Lignin content of range plant residues controls N mineralization in soil. **European Journal of Soil Biology** 47: 243-246.
- Van Soest, P.J., J.B. Robertson and B.A. Lewis. 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and non-starch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science** 74: 3584-3597.

ผลของการใช้ฟักทองหมักร่วมกับรำข้าวในอาหารต่อประสิทธิภาพการผลิต
และคุณภาพเนื้อของไก่พื้นเมือง

Effects of Fermented Pumpkin and Rice Bran Diet on Performance
and Meat Quality in Thai Native Chicken

ชัยวัฒน์ สิงห์ชัย¹ ชัยณรงค์ วงศ์สรศรี² สมชาติ ธนะ³ โชค โสรจกุล³ และขรรค์ชัย ดันเมฆ^{4*}
Chaiwat Singchai¹, Chainarong Wongsunsri², Somchart Thana³, Choke Sorachakula³
and Khanchai Danmek^{4*}

¹ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์อุทัยธานี อุทัยธานี 61150

²ศูนย์วิจัยและพัฒนาอาหารสัตว์เชียงราย เชียงราย 57100

³สาขาวิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา พะเยา 56000

⁴สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา พะเยา 56000

¹Uthaithani Livestock Research and Breeding Center, Uthaithani, Thailand 61150

²Chaingrai Animal Nutrition Research and Development Center, Chaingrai, Thailand 57100

³Program of Biotechnology, School of Agriculture and Natural Resources, University of Phayao, Phayao, Thailand 56000

⁴Program of Animal Science, School of Agriculture and Natural Resources, University of Phayao, Phayao, Thailand 56000

*Corresponding author: Khanchai.da@up.ac.th

Received: January 11, 2018

Revised: February 27, 2019

Accepted: March 26, 2019

Abstract

The objective of the present study was investigated the effects of fermented pumpkin and rice bran diet on growth performance and carcass quality in Thai native (Pradu Hang Dum) Chicken. The fermentation process was conducted by using raw material of pumpkin (solid/liquid ratio, 2:1) supplemented with 1.0% (w/v) of molasses, and 0.1 % (w/v) of ethanolic microbial consortium. The consortium is the mixture of three groups of microorganism including cellulolytic fungi (*Trichoderma* spp.), amylolytic fungi (*Rhizopus oryzae* and *Mucor* spp.) and fermented yeast of *Saccharomyces cerevisiae* then fermented for 7 days. The results showed that fermented pumpkin was composed of 18.05% of protein, 7.23% of fat, 18.92% of crude fiber and 6.19% of dry matter. Four isointrogenous (19% CP) diets were formulated to contain the mixture of fermented pumpkin and rice bran as chicken concentrate replacer as 10, 20, and 30% substitution. The diets were fed to replicate groups of 30 young chickens (14 days old and 112±11 g/bird) for 4-12 weeks. Growth performance and feed utilization in chicken including average daily gain (ADG) and feed conversion ratio (FCR) were not

significantly difference ($P>0.05$). However, total feed cost of 10, 20, and 30% of fermented pumpkin diets were decreased 25.19, 38.20 and 49.05%, respectively. In term of carcass quality of chicken breast meats, amino acid profiles in meat were not significantly differenced by a supplement of dietary fermented pumpkin. However, accumulation of oleic acid (C18:1) stearic acid (C18:0) and arachidonic acid (C20:4) in the breast meat were significantly increased with dietary fermented pumpkin.

Keywords: fermented pumpkin, microbial consortium, performance, meat quality

Thai Native Chicken Pradu Hang Dum

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการวิจัยครั้งนี้ เพื่อศึกษาถึงผลของการใช้ฟักทองหมักร่วมกับรำข้าวในอาหารต่อประสิทธิภาพการผลิต และคุณภาพเนื้อไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่ กระบวนการหมักฟักทองทำได้โดยการผสมฟักทองกับน้ำในอัตราส่วน 2:1 ร่วมกับกากน้ำตาล 1.0% (w/v) และหัวเชื้อจุลินทรีย์ในอัตราส่วน 0.1% (w/v) ซึ่งประกอบด้วยจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ได้แก่ *Trichoderma* spp. กลุ่มที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลส ได้แก่ *Rhizopus oryzae*, *Mucor* spp. และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ทำการหมักไว้ในภาชนะปิดสนิทเป็นระยะเวลา 7 วัน ผลการทดลองพบว่าฟักทองที่ผ่านการหมักมีคุณค่าทางโภชนาการ คือ โปรตีน 18.05% ไขมัน 7.23% เยื่อใย 18.92% และวัตถุแห้ง 6.19% จากการใช้ฟักทองหมักผสมรำหยาบทดแทนอาหารชั้นสำเร็จรูปโปรตีน 19% ในอัตราส่วน 10, 20 และ 30% ในการเลี้ยงไก่จำนวน 30 ตัวต่อกลุ่ม อายุเริ่มต้น 14 วัน น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 112 กรัมต่อตัว เป็นระยะเวลา 4-12 สัปดาห์ พบว่าการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการผลิตของไก่ประดู่หางดำ เช่น การเจริญเติบโตเฉลี่ย ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว ในทุกกลุ่มไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\geq 0.05$) ในขณะที่ค่าอาหารในการเลี้ยงไก่เมื่อ

มีการเสริมฟักทองหมักในอาหารชั้น 10, 20 และ 30% มีต้นทุนค่าอาหารลดลงเท่ากับ 25.19, 38.20 และ 49.05% ตามลำดับ คุณภาพซากเนื้อไก่พบว่า ปริมาณของกรดอะมิโนไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่กรดไขมันพบว่าการสะสมกรดโอเลอิก (C18:1) กรดสเตียริก (C18:0) และกรดอะราคิโดนิก (C20:4) เพิ่มขึ้นในเนื้อไก่เมื่อได้รับอาหารชั้นที่มีการเสริมฟักทองหมัก

คำสำคัญ: ฟักทองหมัก หัวเชื้อจุลินทรีย์ ประสิทธิภาพการผลิต คุณภาพเนื้อ ไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่

คำนำ

อุตสาหกรรมด้านปศุสัตว์ที่สำคัญอีกอย่างของประเทศไทย คือ อุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่เนื้อ ซึ่งผลตอบแทนที่ดีต้องอาศัยปัจจัยร่วมหลายชนิด เช่น การจัดการด้านอาหาร สภาพแวดล้อม และการดูแลป้องกันโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่งอาหารเป็นปัจจัยสำคัญในการเลี้ยงไก่ เพราะเป็นต้นทุนในการผลิตประมาณ 70-80% ของต้นทุนทั้งหมด ที่ผ่านมากเกษตรกรผู้เลี้ยงประสบปัญหาวัตถุดิบอาหารสัตว์ขาดแคลนและมีราคาแพง ดังนั้น จึงมีผู้ศึกษาวิจัยเพื่อหาวัตถุดิบทดแทนที่มีราคาถูก เศษเหลือหรือผลพลอยได้ทั้งจากภาคการเกษตรหรือโรงงานอุตสาหกรรมที่หาง่ายในท้องถิ่น มาผลิตเป็นวัตถุดิบ

อาหารสำหรับไก่ ซึ่งน่าจะเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกร (Leotaragul *et al.*, 2014)

การศึกษาข้อมูลเกษตรกรในจังหวัดพะเยาและภาคเหนือตอนบนเขตสอง (พะเยา เชียงราย แพร่ น่าน) พบว่าประชากรส่วนใหญ่ประกอบอาชีพเกษตรกรรมเป็นหลัก โดยเฉพาะการปลูกข้าว ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ และฟักทอง ในขณะที่ด้านการทำปศุสัตว์จะผลิตสัตว์เศรษฐกิจได้แก่ สุกร ไก่เนื้อ ไก่ไข่ และโคเนื้อ ซึ่งมีปัญหาหลักที่พบคือ ในการดำเนินงานยังขาดเทคโนโลยีเพื่อการลดต้นทุนการผลิต ทำให้ต้นทุนการผลิตสูงเกษตรกรสู้การแข่งขันด้านต้นทุนการผลิตไม่ได้ ทั้งๆ ที่สภาพพื้นที่กลุ่มภาคเหนือตอนบนมีพืชการเกษตรที่สามารถนำมาเป็นอาหารได้เป็นปริมาณมาก เช่น ข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ มันสำปะหลัง และฟักทอง (Danmek *et al.*, 2016) จากการลงพื้นที่ศึกษาเบื้องต้นพบว่า ในจังหวัดพะเยามีพื้นที่ปลูกฟักทองหลายพันไร่ มีราคาผันผวนเฉลี่ย 5.50 ถึง 20 บาทต่อกิโลกรัม ขึ้นอยู่กับคุณภาพของฟักทองและกลไกด้านการตลาด อย่างไรก็ตามในส่วนของฟักทองตากเกรด มีผลผลิตเฉลี่ย 600 ตันต่อปี ราคาเฉลี่ย 0.50 ถึง 2.00 บาทต่อกิโลกรัม ขึ้นอยู่กับระยะทางในการขนส่ง ซึ่งเนื้อฟักทองมีคุณค่าทางโภชนาการสูงมาก โดยเฉพาะวิตามินเอ และเบต้าแคโรทีน ซึ่งช่วยเสริมสีแดงในไข่และเนื้อไก่ โดยฟักทองสด 100 กรัม มีปริมาณเส้นใย 0.5 กรัม วิตามินเอ เท่ากับ 7,834 IU วิตามินซี 9 มิลลิกรัม วิตามินอี 1.1 มิลลิกรัม วิตามินเค 1.1 ไมโครกรัม แอลฟาแคโรทีน 515 ไมโครกรัม เบต้าแคโรทีน 3,100 ไมโครกรัม เบต้าคริปโตซานทิน 2,145 ไมโครกรัม และลูทีนซีซานทิน 1,500 ไมโครกรัม (The USDA National Nutrient Data Base for Standard Reference, 2013) นอกจากนี้ฟักทองยังเป็นแหล่งสารสีธรรมชาติ คือ การสะสม

รงควัตถุสีแดงในกลุ่มคาร์โรทีนอยด์ ที่มีคุณสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Muntean, 2005) ในการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของฟักทองเบื้องต้น พบว่าเนื้อฟักทองมีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบสูงมาก คือ 71.28% โปรตีน 3-10% และไขมัน 2.14% (Klahan *et al.*, 2014) ในขณะที่เมล็ดจะมีส่วนของไขมันและโปรตีนสะสมมากกว่า คือ ไขมัน 38% โปรตีน 27.8% และคาร์โบไฮเดรตเพียง 28% (Elinge *et al.*, 2012)

ดังนั้นถ้านำฟักทองมาประยุกต์ใช้เพื่อเพิ่มมูลค่าในด้านอื่นๆ เช่น การนำไปหมักเพื่อเป็นอาหารสัตว์ จะทำให้เกษตรกรมีรายได้เสริมจากการใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาเพิ่มมูลค่าได้ ทั้งนี้ในการหมักต้องมีการเติมสารอาหารเสริม เพื่อกระตุ้นให้เกิดกระบวนการหมักได้เร็วขึ้นและมีคุณภาพดี เช่น กากน้ำตาล ซึ่งจะช่วยเพิ่มปริมาณคาร์โบไฮเดรตสำหรับจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการหมักให้มีประสิทธิภาพดีและเพิ่มความน่ากิน แต่ปริมาณที่ใช้จะต้องมีการวิจัยเพื่อให้เหมาะสมกับพืชอาหารสัตว์แต่ละชนิดด้วย (Wilkinson, 1990) นอกจากนี้การหมักโดยอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น *Saccharomyces cerevisiae* *Lactobacillus* spp. (Obloh, 2006) *Aspergillus niger* และ *Aspergillus oryzae* (Obloh *et al.*, 2002) มีส่วนช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการและโปรตีนของอาหารหมักให้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Obloh and Elusiyen, 2007) อีกทั้งการใช้อาหารหมักในอาหารไก่เนื้อ เช่น มันสำปะหลังหมัก พบว่าสามารถใช้ได้ทีละระดับสูงถึง 16% เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้แบบสด หรือกากมันที่ใช้ได้เพียง 8 ถึง 10% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนาการ สมรรถนะการเจริญเติบโต และคุณภาพซากของไก่เนื้อ (Thongkrathok, 2010)

จากที่กล่าวมาข้างต้น การนำฟักทองซึ่งเป็นพืชที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบจึงน่าจะเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่สามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักร่วมกับจุลินทรีย์เพื่อให้มีคุณค่าทางโภชนาการของอาหารสัตว์เพิ่มขึ้นได้ การทดลองครั้งนี้จึงได้ทำการทดสอบการนำฟักทองหมักไปเสริมในอาหารไก่เนื้อ เพื่อศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร สมรรถนะการผลิต คุณภาพทางกายภาพของเนื้อไก่ องค์ประกอบของกรดไขมันและกรดอะมิโน สำหรับใช้เป็นแนวทางในการลดต้นทุนการผลิตไก่เนื้อและการนำไปใช้เลี้ยงไก่เพื่อผลิตเนื้อไก่สุภาพ อันจะนำไปสู่การเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันของประเทศในอนาคตต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมสัตว์ทดลองและสถานที่ทดลอง

การทดลองดำเนินการที่ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์พะเยา โดยใช้ไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่ อายุ 4 สัปดาห์ จำนวน 120 ตัว แบ่งไก่เป็น 4 กลุ่ม กลุ่มละ 30 ตัว เลี้ยงไก่ในคอกขนาดกว้างประมาณ 4 เมตร ยาว 5 เมตร พื้นคอกซีเมนต์ ปูพื้นคอกด้วยแกลบแห้ง มีภาชนะให้อาหารและน้ำสะอาด โดยเปลี่ยนน้ำทุกวัน วันละ 2 ครั้ง ในช่วงเช้าเวลา 08.00 น. และช่วงเย็น 16.00 น. ให้อาหารผสมที่มีการใช้ฟักทองหมักและรำข้าว ตามกลุ่มการทดลอง (Table 1) ใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงทดลอง 4-12 สัปดาห์

การเตรียมอาหารทดลอง/การเตรียมฟักทองหมัก

นำฟักทองมาสับเป็นชิ้นเล็กๆ ความหนาของชิ้นฟักทองเฉลี่ย 1 ซม. จากนั้นนำมาทำการหมักในถังหมักขนาดบรรจุ 120 ลิตร ที่มีฝาปิด โดยมีอัตราส่วนของอาหารหมักเบื้องต้น คือ ฟักทองผสมน้ำอัตราส่วน 2:1 กากน้ำตาล 1.0% หัวเชื้อจุลินทรีย์ 0.1% (หัวเชื้อจุลินทรีย์มีองค์ประกอบของจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ผลิตเอนไซม์

เซลลูเลส ได้แก่ *Trichoderma* spp. กลุ่มที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลส ได้แก่ *Rhizopus oryzae* และ *Mucor* spp. และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*) ทำการผสมให้เข้ากัน จากนั้นจึงปิดฝาให้สนิทและนำไปเก็บไว้ที่ร่มเป็นระยะเวลาประมาณ 7 วัน นำฟักทองหมักและรำข้าวมาผสมกับอาหารสำเร็จรูปสำหรับไก่เนื้อโปรตีน 19% ในปริมาณที่ต่างกัน 4 ระดับ ได้แก่ 0, 10, 20 และ 30% (น้ำหนักสด) ดังแสดงใน Table 1 โดยสูตรดังกล่าวนี้จะใช้เลี้ยงไก่ตลอดระยะเวลาการทดลอง 4-12 สัปดาห์

การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร

ตรวจสอบลักษณะทางกายภาพและคุณค่าทางโภชนาการของอาหารหมัก โดยทำการเก็บตัวอย่างที่ศึกษานำมาอบให้แห้งจนน้ำหนักคงที่ที่อุณหภูมิ 65°C. เพื่อนำมาศึกษาลักษณะต่างๆ เช่น น้ำหนักสดและน้ำหนักแห้งตามวิธีของ Akinfemi *et al.* (2010) และคุณภาพของการนำมาเป็นอาหารสัตว์ ตามวิธีของกรมปศุสัตว์ (Department of Livestock Development, 2004a; 2004b; 2004c) และการวิเคราะห์ Proximate analysis โดยในงานวิจัยนี้ใช้วิธีของ AOAC (2006) ทำการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการ 6 กลุ่มใหญ่ คือ ความชื้น (Moisture) เถ้า (Ash) โปรตีนรวม (Crude Protein; CP) ไขมัน (Crude fat หรือ Ether Extract; EE) เยื่อใย (Crude Fiber; CF) เป็นต้น

การทดสอบประสิทธิภาพการผลิต

แบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่มการทดลองเพื่อทดสอบประสิทธิภาพการเจริญเติบโต (Table 1) ภายหลังปรับสภาพให้อาหารผสมทุกๆ วัน วันละ 2 ครั้ง ในช่วงเช้า 08.00 น. และช่วงเย็น 16.00 น. ทำการบันทึกน้ำหนักของสัตว์ทดลองเมื่อเริ่มต้น และสิ้นสุดการทดลอง โดยชั่งน้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงทุกๆ 1 สัปดาห์ เพื่อคำนวณ

หาค่าต่างๆ เช่น ปริมาณการกินได้ (Feed Intake; FI) การเจริญเติบโตเฉลี่ย (Average Daily Gain; ADG) ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (Feed Conversion Ratio; FCR) และต้นทุนค่าอาหารต่อน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น 1 กิโลกรัม (Feed Cost for 1 kg of Weight Gain; FCG) เป็นต้น

การวิเคราะห์องค์ประกอบไขมันและกรดอะมิโนในเนื้ออกไก่

ทำการสกัดกรดไขมันในเนื้อไก่โดยใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างคลอโรฟอร์มและเมทานอล (Folch *et al.*, 1957) Fatty acid methyl esters จากตัวอย่างเตรียมตามวิธีของ Morrison and Smith (1964) และการศึกษาชนิดกรดอะมิโน วิเคราะห์กรดอะมิโนทั้งที่จำเป็นและไม่จำเป็นแต่ละชนิด ใช้เทคนิค High Performance Liquid Chromatography และปริมาณของกรดไขมัน

ด้วยวิธี Gas chromatography ตามวิธีของ Chaiwang *et al.* (2012) และ Jaturasitha *et al.* (2004)

สถิติที่ใช้ในงานวิจัย

การวิเคราะห์ข้อมูลเพื่อทดสอบสมมติฐานทางสถิติใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป โดยกำหนดค่าความเชื่อมั่นทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (p-value = 0.05) และวิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ค่าทางสถิติเพื่อหาค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของแต่ละกรรมวิธีการทดลองด้วย Independent sample t-test เพื่อทดสอบความแตกต่างระหว่างกลุ่มทดลอง โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ (SPSS ver.19)

Table 1 Fermented pumpkin diet for Thai native (Pradu Hang Dum) chicken production

Diet	Control	Fermented Pumpkin Diet (%)		
		10	20	30
Commercial Diet (kg)	100	80	60	40
Fermented pumpkin (kg)	0	10	20	30
Rice bran (kg)	0	10	20	30
Nutritive value (calculated)				
Protein (%)	19	17.7	16.4	15.1
Ether extract (%)	3	4.1	5.2	6.3
Crude fiber (%)	3.59	6.85	8.74	10.25
Dry matter (%)	91.12	89.25	85.12	78.31
Ash (%)	7.2	9.65	9.18	10.82
GE (Kcal/100g)	290.2	315.5	333.2	365.1
Feed cost (Baht/kg)	14	10	8.29	6.58

ผลการวิจัยและวิจารณ์

องค์ประกอบทางเคมีของฟักทองสดพบว่า มี โภชนะค่อนข้างสูง คือ วัตถุแห้ง 13.15% โปรตีน 13.10% ไขมัน 3.14% และเยื่อใย 12.31% และเมื่อนำฟักทองมา หมักร่วมกับหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่มีองค์ประกอบของ จุลินทรีย์ 3 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ได้แก่ *Trichoderma* spp. กลุ่มที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลส ได้แก่ *Rhizopus oryzae* และ *Mucor* spp. และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่ามีโภชนะโดยเฉพาะ ในส่วนของโปรตีนและไขมันเพิ่มขึ้น คือ โปรตีน 18.01% ไขมัน 5.02% เยื่อใย 15.21% และวัตถุแห้ง 9.12% ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากการกระบวนการหมักจะทำให้เกิด ความชื้น ซึ่งส่งผลให้เยื่อใยของวัตถุดิบอ่อนนุ่มลง และ คาร์โบไฮเดรตบางส่วนละลายออกมาได้ ดังนั้นปริมาณ วัตถุแห้งของวัตถุดิบจึงลดลง อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์ที่ใส่ลงไป ในการหมักจะผลิตเอนไซม์ต่างๆ ได้แก่ อะไมเลส เซลลูเลส และไซแลนเนส ที่ช่วยในการย่อยโครงสร้างหลักของ ฟักทองที่มีเซลลูโลสและแป้งเป็นองค์ประกอบโดยระหว่าง การหมัก เชื้อรา *Trichoderma* spp. และ *Rhizopus oryzae* จะย่อยส่วนที่เป็นเยื่อใยและแป้งเป็นน้ำตาล เพื่อให้ พลังงานกับจุลินทรีย์สำหรับการเจริญและเพิ่มจำนวนมาก ขึ้น จากนั้นยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* จะ เปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์และกรดไขมันที่ระเหยได้ โดยเฉพาะกรดแลคติก และกรดอะซิติก ซึ่งนอกจากจะทำให้ ฟักทองหมักมีโปรตีนและไขมันเพิ่มขึ้นจากการเจริญ ของจุลินทรีย์แล้ว จากสภาพการหมักที่มีค่า pH ต่ำ มีส่วน ช่วยในการถนอมโภชนะของวัตถุดิบให้เก็บได้นานโดยไม่บูดเน่าจากการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคชนิดต่างๆ สอดคล้องกับรายงานการศึกษาจากนักวิจัยหลายท่านที่ใช้ วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบมาหมักเพื่อ เพิ่มคุณค่าทางโภชนะก่อนที่จะนำไปเลี้ยงสัตว์ เช่น การ หมักกากมันสำปะหลังด้วยเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* (Belew and Babalola, 2009) การเพิ่มโปรตีนในมันเส้น ด้วยการหมักร่วมกับเชื้อรา *Trichoderma viride* (Ezekiel

et al., 2010) งานทดลองของ Al-maadhidi *et al.* (2010) ที่ทำการหมักซังข้าวโพด และ Adamafio *et al.* (2010) ในการหมักเพิ่มโภชนะมันสำปะหลังก่อนนำมาผสมเป็น อาหารสัตว์ เป็นต้น

เมื่อนำฟักทองหมักไปผสมเป็นสูตรอาหารเพื่อ เลี้ยงไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่เป็นระยะเวลา 4-12 สัปดาห์ โดยศึกษาประสิทธิภาพการผลิตไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่ ในชุดการทดลองควบคุมที่ไม่ใส่ฟักทองหมักและกลุ่มใช้ ฟักทองหมักร่วมกับรำข้าวทดแทน 0, 10, 20, และ 30% พบว่ามีค่าประสิทธิภาพการผลิตใกล้เคียงกันและไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) เช่น อัตราการเจริญเติบโตต่อวันเฉลี่ย (Average Daily Gain; ADG) อัตราแลกน้ำหนัก (Feed Conversion Ratio; FCR) อย่างไรก็ตามพบว่า ปริมาณอาหารที่กินของกลุ่มที่ใช้ ฟักทองหมักจะสูงขึ้นตามสัดส่วนของการใช้ฟักทองหมัก และค่าอาหารที่ให้ไปต่อน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น (Feed Cost per Gain; FCG) เป็นต้น โดยหลังเสร็จสิ้นการทดลอง พบว่าไก่มีน้ำหนักเฉลี่ย 1,179.8 ถึง 1,125.2 กรัมต่อตัว ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มระดับฟักทองหมักในอาหารทดลอง มีผลทำให้ต้นทุนในการผลิตไก่ประดู่หางดำทดลองอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (Figure 1 and Table 2)

การศึกษาผลของการเสริมฟักทองหมักร่วมกับ รำข้าวในอาหารไก่เปรียบเทียบกับอาหารกลุ่มควบคุม ต้ององค์ประกอบกรดไขมันและกรดอะมิโนในเนื้ออกไก่ ประดู่หางดำเชียงใหม่ โดยเลือกศึกษาเปรียบเทียบเฉพาะ การทดลองที่ให้อาหารผสมฟักทองหมักร่วมกับรำข้าว 30% และอาหารสำเร็จรูป พบว่าระดับกรดไขมันในกลุ่มของ กรดไขมันอิ่มตัว (Saturated Fatty Acid; SFA) กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (Monounsaturated Fatty Acid; MUFA) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated Fatty Acid; PUFA) ในเนื้ออกไก่ที่ได้รับอาหารเสริมฟักทองหมัก ร่วมกับรำข้าว มีค่าสูงกว่าและแตกต่างกับเนื้ออกไก่ ที่ได้รับอาหารกลุ่มควบคุม เช่น กรดปาล์มเมตริก (C16:0) กรดโอเลอิก (C18:1) กรดสเตียริก (C18:0) และกรด

อะราคิโดนิก (C20:4) ในขณะที่กรดลิโนเลอิก (C18:2) มีค่าลดลง (Table 3) และเมื่อพิจารณาค่ากรดอะมิโนในเนื้ออกไก่ทั้ง 16 ชนิด พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกัน อย่างไรก็ตามในเนื้ออกไก่ที่ได้รับอาหารผสมฟักทองหมักร่วมกับรำข้าว 30% มีแนวโน้มของการสะสมกรดอะมิโนชนิดต่างๆ มากกว่ากลุ่มควบคุม (Table 4) อย่างไรก็ตาม ในการศึกษาเมื่อนำฟักทองที่ผ่านการหมักมาผสมกับรำข้าวและนำไปประกอบเป็นสูตรอาหารเลี้ยงไก่เนื้อประจําทางดําเชิงใหม่ในด้านประสิทธิภาพการผลิตพบว่าสามารถใช้ได้ถึง 30% โดยไม่ส่งผลให้สมรรถภาพการผลิตในด้านต่างๆ ลดลงสอดคล้องกับการใช้วัตถุดิบอื่นๆ มาทดแทนอาหารในการเลี้ยงไก่ เช่น มันสำปะหลัง (Feng *et al.*, 2007) และซังข้าวโพด (Iheukwumere *et al.*, 2009)

การทดลองนี้อาหารผสมที่ให้ไก่เนื้อมีคุณค่าทางโภชนาการของอาหารที่ได้รับเพียงพอต่อประสิทธิภาพการผลิตดังแสดงใน Table 1 โดยน้ำหนักเริ่มต้นและน้ำหนักหลังทดลองของไก่ประจําทางดําในแต่ละกลุ่มไม่แตกต่างกัน แต่ค่า ADG และ Total Feed Cost ของกลุ่มที่ได้รับการใช้ฟักทองหมักจะมีค่าลดลงตามการเพิ่มเปอร์เซ็นต์ของการใช้ฟักทองหมัก โดยกลุ่มควบคุมจะมีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ใช้ฟักทองหมัก 10, 20 และ 30% ตามลำดับ ($p < 0.05$) และในขณะที่ Feed intake, FCR, FCG จะเพิ่มสูงขึ้นตามการเพิ่มเปอร์เซ็นต์ของการใช้ฟักทองหมัก โดยกลุ่มที่ได้รับฟักทองหมัก 30% มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับฟักทอง 20%, 10% และกลุ่มควบคุม ตามลำดับ ($p < 0.05$) (Table 2) สอดคล้องกับการศึกษาของ Hongladdaporn *et al.* (2014) พบว่าความต้องการโปรตีนของไก่พื้นเมืองขึ้นอยู่กับช่วงอายุของการเจริญเติบโต คือ อายุ 0 ถึง 4, 4 ถึง 8 และ 8 เดือนขึ้นไป มีค่าเท่ากับ 21, 17 และ 15% ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากไก่ประจําทางดําเป็นไก่เนื้อพื้นเมืองซึ่งสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะแวดล้อมของประเทศไทย และมีความต้องการอาหารที่มีโภชนาการของโปรตีนเฉลี่ย 15-17% ซึ่งเมื่อคำนวณสูตรอาหารที่ผสมแล้วพบว่า อาหารผสมที่มีฟักทองหมักผสมรำข้าวถึง 30% มีค่าโปรตีนที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ

ประจําทางดํา ดังนั้น ผลการทดลองในกลุ่มที่ให้อาหารผสมฟักทองหมักจึงให้ประสิทธิภาพการผลิตไม่แตกต่างจากกลุ่มที่ได้รับแต่อาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้จากการที่ฟักทองหมักซึ่งมีสารสีที่สำคัญในกลุ่มเบตาแคโรทีน ซึ่งมีสีส้มแดงและสะสมในไขมัน จึงส่งผลให้ไขมันช่องท้องไก่เนื้อประจําทางดําที่ให้อาหารผสมฟักทองผสมรำข้าวมีสีเหลืองเข้มขึ้นโดยมีค่าสีเฉลี่ย L^* และ a^* , b^* เท่ากับ 76.15, 6.32 และ 28.13 (เหลือง) ตามลำดับ มากกว่าไขมันช่องท้องของไก่ชุดควบคุมที่ให้กินอาหารสำเร็จรูปซึ่งไขมันมีค่าสี L^* และ a^* , b^* เท่ากับ 81.04, 3.19 และ 16.25 ตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองที่ได้นี้สามารถเป็นแนวทางในการผลิตเป็นอาหารไก่ไข่ได้ เพราะในอาหารไก่ไข่มักนิยมใส่วัตถุดิบที่มีสารดังกล่าวเพื่อเพิ่มความน่ากินของไข่แดงที่มีสีเข้มขึ้น เช่น การใช้เมล็ดข้าวโพดผสมอาหาร เนื่องจากมีแซนโทฟิลล์และลูทีนสูงถึงปริมาณ 17 และ 0.12 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (NRC, 1994) ตามลำดับ

ผลผลิตเนื้ออกไก่ประจําทางดําในอาหารที่มีการทดแทนด้วยฟักทองหมักไม่แตกต่างกัน แต่องค์ประกอบของกรดอะมิโนและกรดไขมันในเนื้ออกไก่มีแนวโน้มสูงขึ้นจากการใช้ระดับของฟักทองหมักที่เพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเป็นผลของอาหารผสมในสูตรที่มีการใช้ฟักทองหมักมีปริมาณของไขมันสูงกว่าอาหารชุดควบคุม (Table 1) โดยเฉพาะในส่วนของกรดไขมันชนิดกรดโอเลอิก (C18:1) 34.67% กรดลิโนเลอิก (C18:2) 15.63% และกรดปาล์มติก (C16:0) 28.47% (Table 3) ซึ่งสอดคล้องกับสัดส่วนของกรดไขมันที่พบในฟักทอง โดยเฉพาะในเมล็ดฟักทอง คือ กรดลิโนเลอิก (C18:2) 52.69% กรดโอเลอิก (C16:0) 18.14% และกรดปาล์มติก (C16:0) 16.41% นอกจากนี้การสะสมกรดไขมันและกรดอะมิโนบางส่วนอาจเป็นผลมาจากจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นในอาหารหมัก โดยเฉพาะ *Rhizopus oryzae* และ *Mucor spp.* เนื่องจากมีรายงานศึกษาพบว่า จุลินทรีย์กลุ่มดังกล่าวสามารถสะสมไขมัน โดยเฉพาะในกลุ่มกรดโอเลอิก (C18:1) และกรดลิโนเลอิก (C18:2) ในเซลล์ได้ เช่น *Mucor circinelloides* และ *Rhizopus spp.* (Thevenieau and Nicaud, 2013)

การทดลองนี้ (Table 3) จะพบกรดโอเลอิก (C18:1) อยู่ในเนื้ออกไก่ที่กินอาหารหมัก ประมาณ 34.67% (ชุดควบคุม 30.02%) ซึ่งสูงกว่า Aumaitre (1999) ที่รายงานว่ากรดไขมันของเนื้อไก่บ้านไทยและเนื้อไก่พื้นเมือง ซึ่งพบว่าส่วนมากเป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว ทั้ง Monounsaturated Fatty Acid (MUFA) และ Polyunsaturated Fatty Acid (PUFA) โดยมีกรดโอเลอิก (C18:1) ประมาณ 20-30% ในขณะที่เปอร์เซ็นต์ของกรดไขมันอื่นๆ เช่น กรดปาล์มเมติก (C16:0) กรดสเตียริก (C18:0) และกรดลิโนเลอิก (C18:2) มีค่าใกล้เคียงกัน (Jaturasitha *et al.* 2004) ในส่วนของกรดอะมิโนในเนื้อ

ไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่ พบว่าเนื้อไก่มีการสะสมของกรดอะมิโนที่จำเป็นและไม่จำเป็นรวม 16 ชนิด มีสัดส่วนของกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ใกล้เคียงกันกับไก่ชนิดอื่นๆ โดยมีสัดส่วนกรดอะมิโนกลูตามิกสูงที่สุด (12.83%) รองลงมา คือ กรดแอสปาทิก (8.11%) สอดคล้องกับการศึกษาคุณภาพเนื้อไก่ที่ผลิตเชิงการค้า ดังรายงานของ Chen *et al.* (2016) อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาถึงปริมาณของกรดอะมิโนที่สะสมในเนื้อไก่พบว่า ไก่ประดู่หางดำเชียงใหม่ที่ได้รับอาหารผสมฟักทองหมัก มีแนวโน้มของการสะสมกรดอะมิโนในเนื้อไ่มากกว่าชุดควบคุม

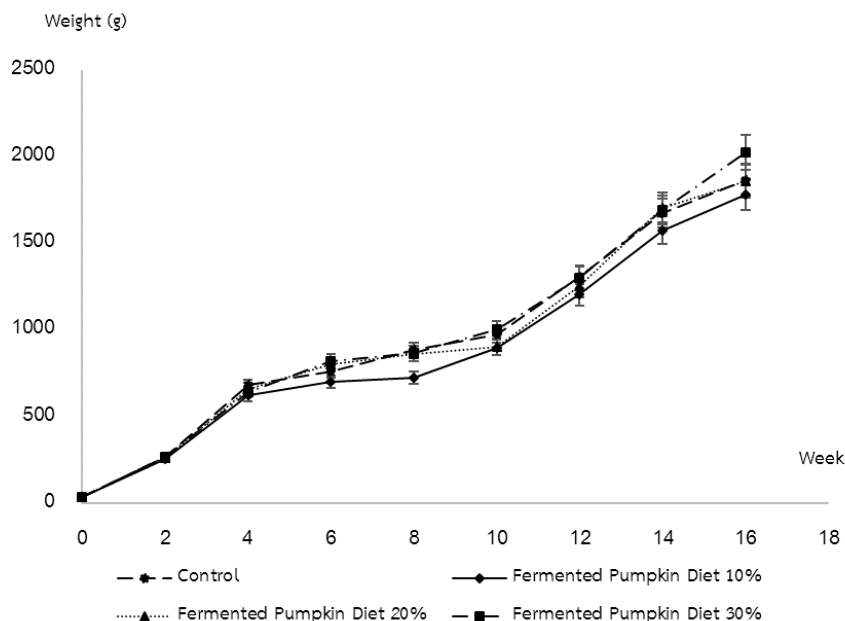


Figure 1 Weight (g) of Thai native (Pradu Hang Dum) chicken fed with fermented pumpkin diet

Table 2 Performance and carcass quality in Thai Native (Pradu Hang Dum) chicken 4-12 week

Experiments	Control	Fermented Pumpkin Diet (%)		
		10	20	30
Start weight (g)	315.58	315.37	321.41	215.37
Final weight (g)	1,184.99	1,160.78	1,113.76	1,060.78
ADG (g/day)	15.81 ^a	15.09 ^a	14.15 ^b	10.49 ^c
Feed intake (g)	2,745.63 ^c	2,875.81 ^b	2,865.31 ^b	2,975.81 ^a
FCR	3.16 ^b	3.40 ^a	3.61 ^a	3.52 ^a
Mortality rate	5.71 ^a	5.71 ^a	4.85 ^a	5.71 ^a
FCG (Baht/kg BW gain)	22.62 ^d	29.41 ^c	33.36 ^b	43.18 ^a
Total feed cost (Baht)	38.43 ^a	28.75 ^b	23.75 ^c	19.58 ^d

Table 3 Fatty acid profiles of Thai Native (Pradu Hang Dum) chicken breast meat

Type	Group	Fatty acid	Fatty acid (%oil g/100 g oil)	
			Control	Fermented
			0%	Pumpkin diet 30%
Saturated fatty acid	C14:0	Myristic acid	Nd.	Nd.
	C15:0	Pentadecanoic acid	2.70	Nd.
	C16:0	Palmitic acid	22.55 ^b	28.47 ^a
	C18:0	Stearic acid	5.74 ^b	10.21 ^a
Monounsaturated fatty acid	C16:1	Palmitoleic acid	2.04 ^a	1.18 ^b
	C18:1 n9c	Oleic acid	30.02 ^b	34.67 ^a
Polyunsaturated fatty acid	C18:2 n6c	Linoleic acid	26.38 ^a	15.63 ^b
	C18:3 n3	Linolenic acid	1.09 ^a	1.01 ^a
	C20:4	Arachidonic acid	6.67 ^b	11.03 ^a

Table 4 Amino acid of Thai Native (Pradu Hang Dum) chicken breast meat

Type	Amino acid (g/100g fresh weight)	control	Fermented pumpkin diet 30%
Essential amino acid	Arginine	5.87	5.99
	Histidine	2.45	2.79
	Isoleucine	4.58	4.69
	Leucine	4.46	4.61
	Lysine	6.88	7.03
	Methionine	1.14	1.27
	Phenylalanine	6.07	6.19
	Threonine	3.47	3.50
	Valine	2.47	2.55
Non-essential amino acid	Alanine	5.10	5.13
	Aspartic acid	7.63	8.11
	Glutamic acid	12.02	12.83
	Glycine	3.69	3.80
	Proline	4.59	4.61
	Serine	2.72	2.88
	Tyrosine	12.36	11.22

สรุปผลการวิจัย

ฟักทองที่ผ่านการหมักร่วมกับจุลินทรีย์ทั้ง 3 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ได้แก่ *Trichoderma* spp. กลุ่มที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลส ได้แก่ *Rhizopus oryzae* และ *Mucor* spp. และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* มีคุณค่าทางโภชนาการ คือ โปรตีน 18.05% ไขมัน 7.23% เยื่อใย 18.92% และวัตถุแห้ง 6.19% ตามลำดับ จากการใช้ฟักทองหมักทดแทนอาหารชั้นสำเร็จรูปโปรตีน 19% ในการเลี้ยงไก่เนื้อประดู่หางดำเชียงใหม่ พบว่าการใช้ฟักทองหมักในอาหารชั้นทำให้ค่าโปรตีนในอาหารลดลง ส่งผลทำให้อัตราการเจริญเติบโตของไก่ลดลง ทว่าการใช้

ฟักทองหมักทำให้ไก่มีปริมาณการกินอาหารสูงขึ้น ไก่จึงได้รับปริมาณของโภชนาการต่อวันใกล้เคียงกันกับกลุ่มที่ได้รับอาหารสำเร็จรูป ดังนั้น การใช้ฟักทองหมักทดแทนอาหารชั้นจึงสามารถลดต้นทุนค่าอาหารได้ และพบว่าสามารถช่วยเพิ่มการสะสมของกรดไขมันและกรดอะมิโนที่เป็นประโยชน์หลายชนิด เช่น กรดปาล์มติก (C16:0) กรดโอเลอิก (C18:1) กรดสเตียริก (C18:0) และกรดอะราคิโดนิก (C20:4) และจากการลดต้นทุนการผลิตในด้านอาหารสัตว์ ทำให้สามารถแข่งขันการตลาดทั้งด้านราคาและลักษณะของไก่เนื้อประดู่หางดำ ที่ให้ผลตอบแทนที่ดีแก่เกษตรกร ทำให้สามารถสร้างเป็นอาชีพทางเลือกแก่เกษตรกร ในการนำวัตถุดิบที่มีอยู่ในพื้นที่มาผลิตเป็นอาหารสำหรับเลี้ยงไก่ได้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ดำเนินการโดยความร่วมมือทางวิชาการระหว่างมหาวิทยาลัยพะเยา ภายใต้บันทึกความร่วมมือทางวิชาการ (Memorandum of Understanding; MOU) ระหว่างมหาวิทยาลัยพะเยาและกรมปศุสัตว์ ขอขอบคุณนายอิทธิพล เผ่าไพศาล ผู้อำนวยการสำนักพัฒนาอาหารสัตว์ สำหรับคำแนะนำในด้านโภชนาศาสตร์ สัตว์ปีก และขอขอบคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย ABCreative Center ที่ได้สนับสนุนทุนการวิจัยในครั้งนี้ (สัญญาเลขที่ ABC60A01)

เอกสารอ้างอิง

- Adamafio, N.A., M. Sakyiamah and J. Tetley. 2010. Fermentation in cassava (*Manihot esculenta* Crantz) pulp juice improves nutritive value of cassava peel. **African Journal of Biochemistry Research** 4(3): 51-56.
- Akinfemi, A., O.A. Adu and F. Doherty. 2010. Conversion of sorghum stover into animal feed with white-rot fungi: *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius*. **African Journal of Biochemistry Research** 9(11): 1706-1712.
- Al-maadhidhi, J.F., M. Al-khatib, S.R. Farhan and H. Fahim. 2010. Effect of different nitrogen sources supplement on the final crude protein yield from fermented corn cob. **Journal of Madenat Alelem College** 2(1): 26-31.
- AOAC. 2006. Chapter 4: Animal feed. *In Official Methods of Analysis*. 18th ed. Arlington: AOAC International.
- Aumaître, A. 1999. Quality and safety of animal products. **Livestock Production Science** 59: 113-124.
- Belewu, M.A. and F.T. Babalola. 2009. Nutrient enrichment of waste agricultural residues after solid state fermentation using *Rhizopus oligosporus*. **Journal of Applied Biosciences** 13: 695-699.
- Chaiwang, N., S. Jaturasitha, K. Sringarm, T. Bunmee, N. Chomchai, D. Prakotrat, K. Pugdeethai, W. Chaichum and M. Wicke. 2012. Comparison of fatty acid composition between White Lamphun and Brahman Crossbred cattle raised with fresh Pangola grass. **Chiang Mai University Journal of Natural Sciences** 11(1): 303-308.
- Chen, Y., Y. Qiao, Y. Xiao, H. Chen, L. Zhao, M. Huang and G. Zhou. 2016. Differences in physicochemical and nutritional properties of breast and thigh meat from crossbred chickens, commercial broilers, and spent hens. **Asian-Australasian Journal of Animal Sciences** 29(6): 855-864.
- Danmek, K., T. Thana, C. Sorachakula and C. Dongpaleedham. 2016. Maize husk silage: a new choice of reduced cost for beef cattle farmer. **Thaieduzine** 2(3): 45-51. [in Thai]

- Department of Livestock Development. 2004a. **Table of Nutritive Values Database of Feed Stuffs**. 26 p. *In* The guidance document. Bangkok: Department of Livestock, Ministry of Agriculture and Cooperatives. [in Thai]
- _____. 2004b. **Standard Forage Fermentation**. 23 p. *In* The guidance document. Bangkok: Department of Livestock, Ministry of Agriculture and Cooperatives. [in Thai]
- _____. 2004c. **Standard forage dry**. 22 p. *In* The Guidance Document. Bankok: Department of Livestock, Ministry of Agriculture and Cooperatives. [in Thai]
- Elinge, C.M., A. Muhammad, F.A. Atiku, A.U. Itodo, J. Penil, O.M. Sanni and A.N. Mbongo. 2012. Proximate, mineral and anti-nutrient composition of pumpkin (*Cucurbita pepo* L.) seeds extract. **International Journal of Plant Sciences** 2(5): 146-150.
- Ezekiel, O.O., O.C. Aworh, H.P. Blaschek and T.C. Ezeji. 2010. Protein enrichment of cassava peel by submerged fermentation with *Trichoderma viride* (ATCC 36316). **African Journal of Biotechnology** 9(2): 187-194.
- Feng, J., X. Liu, Z.R. Xu, Y.Y. Liu and Y.P. Lu. 2007. Effects of *Aspergillus oryzae* 3.042 fermented soybean meal on growth performance and plasma biochemical parameters in broilers. **Animal Feed Science and Technology** 134: 235-242.
- Folch, J., M. Lee and G.H.S. Stanley. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissue. **The Journal of Biological Chemistry** 226: 497-509.
- Hongladdaporn, C., S. Kullawong, S. Kruttaga, C. Jongnok, N. Hancherngchai, K. Limsawat and S. Mungsri. 2014. Effect of protein levels in diet on growth performance of Chee chickens. **Khon Kaen Agriculture Journal** 42(Suppl.1): 345-350. [in Thai]
- Iheukwumere, F., E. Ndubuisi and E. Mazi. 2009. Effect of feeding corn cob meal on growth, nutrient digestibility and organ characteristics of finisher broilers. **International Journal of Natural and Applies Sciences** 5(1): 499-511.
- Jaturasitha, S., R. Khiaosa-ard, A. Phongphaew, A. Leotaragul, S. Saitong, T. Apichatsrunkoon, V. Leangwunta and N. Longani. 2004. The effect of strain, sex, weight and muscle on fat quality of Thai native and crossbred chickens (Gai Baan Thai). pp. 127-136. *In* **Proceedings of the 42th Kasetsart University Annual Conference**. Bangkok: Kasetsart University. [in Thai]

- Klahan, R., B. Yuangsoi and J. Weeragul. 2014. Growth performance, feed utilization and edible flesh quality of hybrid cat fish (*Clarias macrocephalus* × *C. gariepinus*) fed with feed contained pumpkin. **Khon Kaen Agriculture Journal** 42(Suppl.1): 785-791. [in Thai]
- Leotaragul, A., D. Sopha and J. Kammongkun. 2014. Egg production and chick production cost of crossbred Pradu Hangdum Chiangmai–Rhode Thai chicken raised in farmer farm. **Khon Kaen Agriculture Journal** 42(Suppl.1): 285-289. [in Thai]
- Morrison, W.R. and L.M. Smith. 1964. Preparation of fatty acid methyl esters and dimethylacetals from lipids with boron fluoride-methanol. **The Journal of Lipid Research** 5: 600-608.
- Muntean, E. 2005. Quantification of carotenoids from pumpkin juice by HPLC-DAD. Scientific Researches. **Agroalimentary Processes and Technologies** XI: 123-128.
- National Research Council. 1994. **Nutrient Requirements of Poultry**. 9th ed. Washington, DC: National Academy Press. 176 p.
- Oboh, G. 2006. Nutrient enrichment of cassava peels using a mixed culture of *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus* spp. solid media fermentation techniques. **Electronic Journal of Biotechnology** 9: 46-49.
- Oboh, G., A.A. Akindahunsi and A.A. Oshodi. 2002. Nutrient and anti-nutrient contents of *Aspergillus niger*-fermented cassava products (flour and garri). **Journal of Food Composition and Analysis** 15: 617-622.
- Oboh, G. and C.A. Elusiyen. 2007. Changes in the nutrient and anti-nutrient content of micro-fungi fermented cassava flour produced from low-and medium-cyanide variety of cassava tubers. **African Journal of Biotechnology** 6(18): 2150-2157.
- The USDA National Nutrient Data Base for Standard Reference. 2013. **Pumpkin (*Cucurbita* spp.), fresh, nutritive value per 100 g**. [Online]. Available: <http://www.nutrition-and-you.com/pumpkin.html> (24 March 2019).
- Thevenieau, F. and J.M. Nicaud. 2013. Microorganisms as sources of oils. **Oil Fat Crop & Lipid OCL**. 20(6): D603.
- Thongkrathok, R. 2010. **Effect of Fermented Cassava Pulp on Digestibility, Growth Performance and Carcass Quality of Broilers**. Master Thesis. Suranaree University of Technology. 101 p. [in Thai]
- Wilkinson, M. 1990. **Silage UK**. UK: Cambrian Prister Aberystwyth Ltd. 185 p.

การเปรียบเทียบปริมาณคอเลสเตอรอลและปริมาณคอลลาเจนต่อค่าแรงตัดผ่านในเนื้อไก่ไข่
ที่อายุ 85 และ 90 สัปดาห์ ที่เลี้ยงแบบปล่อยพื้น

Comparison of Cholesterol and Collagen Content on Shear Force in Laying Hen Meat
at 85 and 90 Weeks of Age in Raising under Litter Floor System

อังสุมา แก้วคอต^{1*}, โซเฟียน ดีอราแม¹, ฉันทกรณ์ ขอบคำ¹, สุตา ชูถิ่น² และอัจฉรา ขยัน³

Aungsuma Kaewkot^{1*}, Sofian Deramae¹, Chanthakorn Chopkha¹, Suda Choothin² and Autchara Kayan³

¹สาขาเกษตรและเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา กรุงเทพฯ 10600

²สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา กรุงเทพฯ 10600

³ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ 10900

¹Program of Agriculture and Agriculture Technology, Faculty of Science and Technology

Bansomdejchaopraya Rajabhat University, Bangkok, Thailand 10600

²Program of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology

Bansomdejchaopraya Rajabhat University, Bangkok, Thailand 10600

³Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Kasetsart University, Bangkok, Thailand 10900

*Corresponding author: kaewkot@hotmail.com

Received: January 7, 2019

Revised: March 8, 2019

Accepted: March 19, 2019

Abstract

The aim of this study was to determine the comparison of cholesterol and collagen content on shear force in laying hens meat at 85 and 90 weeks of age in raising litter floor system. Layers were fed *ad libitum* a commercial layer diet. When the growers reach of age, 10 chickens from each age groups (n= 20) were randomly selected to provide for analysis. They were slaughtered and retail cut followed international standard. Breast and thigh meat were used to analyze cholesterol content, collagen content and shear force value. The result showed that the cholesterol content in breast meat was not significant difference between groups ($P \geq 0.05$) but thigh meat of laying hen at 90 week of age was higher than laying hen at 85 week of age ($P < 0.05$). For, the soluble collagen, insoluble collagen content and shear force were not significant difference between groups ($P \geq 0.05$). Furthermore, breast and thigh meat in laying hen at 85 and 90 weeks of age has positive correlation coefficients (r) between insoluble collagen and shear force $r=0.918$ and $r=0.885$ ($P < 0.001$), respectively.

Keywords: cholesterol, collagen, shear force, laying hens

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบปริมาณคอเลสเตอรอล และปริมาณคอลลาเจนต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อในไก่ไข่ที่อายุ 85 และ 90 สัปดาห์ ที่เลี้ยงแบบปล่อยพื้น โดยไก่ไข่ได้รับน้ำและอาหารอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) อาหารที่ให้เป็นอาหารไก่ไข่สำเร็จรูปทางการค้า เมื่อไก่ไข่มีอายุครบตามกำหนดจะถูกสุ่มมาจำนวนช่วงอายุละ 10 ตัว ไก่ไข่ถูกฆ่าตามแบบวิธีมาตรฐานสากล และตัดแต่งซากแบบสากล จากนั้นเก็บตัวอย่างเนื้ออกและสะโพกเพื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณคอเลสเตอรอล คอลลาเจน และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ ผลการศึกษาพบว่าปริมาณคอเลสเตอรอลในเนื้ออกของไก่ไข่ที่อายุ 85 และ 90 สัปดาห์ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$) แต่เนื้อสะโพกของไก่ไข่ที่อายุ 90 สัปดาห์ มีปริมาณคอเลสเตอรอลสูงกว่าไก่ไข่ที่อายุ 85 สัปดาห์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สำหรับปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ คอลลาเจนที่ไม่ละลาย และค่าแรงตัดผ่านเนื้อของไก่ไข่ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างกลุ่ม ($P \geq 0.05$) นอกจากนี้เนื้ออกและเนื้อสะโพกของไก่ไข่ที่อายุ 85 และ 90 สัปดาห์ พบว่าปริมาณคอลลาเจนที่ไม่ละลาย มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่าแรงตัดผ่านเนื้อ มีค่าเท่ากับ $r=0.918$ และ $r=0.885$ ($P < 0.001$) ตามลำดับ

คำสำคัญ: คอเลสเตอรอล คอลลาเจน แรงตัดผ่านเนื้อไก่ไข่

คำนำ

ไก่ไข่เป็นหนึ่งในสัตว์เศรษฐกิจที่ให้ผลผลิตไข่เป็นหลัก แต่เมื่อไก่ไข่ปลดระวางจากการให้ไข่สามารถนำไปชำแหละขายเป็นเนื้อไก่ไข่ปลดระวาง จึงเป็นไก่ที่มีอายุมากทำให้คุณภาพเนื้อที่ได้ไม่ดีนัก เนื่องจากมีความเหนียวและมีไขมันสะสมมาก ทำให้ในระหว่างการเก็บรักษาเนื้อเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่ายส่งผลให้คุณภาพเนื้อด้าน

ต่างๆ ต่ำลง (Maksri *et al.*, 2017) โดยทั่วไปไก่ไข่ที่ขายเป็นไก่ปลดไข่จะมีอายุประมาณ 72 ถึง 80 สัปดาห์ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ปริมาณผลผลิตไข่ และศักยภาพของผู้ผลิต ซึ่งมีน้ำหนักตัวไม่เกิน 2 กก. และมีราคาค่อนข้างต่ำ แต่ปัจจุบันการบริโภคเนื้อไก่ไข่ เช่น ไก่ต้ม น้ำปลา หรือผลิตภัณฑ์แปรรูปจากเนื้อไก่ไข่ เช่น ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหรือไก่ยอมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ผู้บริโภคที่มีทัศนคติต่อการปฏิบัติกับสัตว์อย่างมีมนุษยธรรม จะให้ความสำคัญกับการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์จากสัตว์ เช่น เนื้อ นม และไข่ ที่มาจากการจัดการเลี้ยงสัตว์ที่คำนึงถึงสุขภาพสัตว์ ซึ่งส่วนใหญ่การเลี้ยงไก่ไข่เป็นการเลี้ยงบนกรงตับ พบว่าส่งผลต่อสุขภาพของสัตว์ทำให้บางประเทศมีข้อกำหนดเกี่ยวกับการเลี้ยงไก่ไข่บนกรงตับ โดยการเลี้ยงไก่ไข่ที่เป็นระบบการเลี้ยงแบบปล่อยอิสระภายในคอก พบว่าส่งผลให้ไก่ได้แสดงพฤติกรรมตามธรรมชาติ เช่น การคลุกฝุ่น การใช้ขน การฟักไข่ การก่ไข่ ทำให้ไก่มีความสุข มีการสร้างภูมิคุ้มกันโรค และมีสุขภาพร่างกายแข็งแรง และอาจส่งผลต่อลักษณะคุณภาพเนื้อที่มีคุณภาพดีด้วย ดังนั้น การสร้างความมั่นใจให้กับผู้บริโภคโดยวิธีการเลี้ยงสัตว์ที่ไม่ใช้สารเคมีสังเคราะห์ด้วยการจัดการเลี้ยงสัตว์ที่คล้ายธรรมชาติของสัตว์มากที่สุด (Bureau of Animal Husbandry and Genetic Improvement, 2010)

ปัจจุบันผู้บริโภคยังให้ความสำคัญกับสุขภาพมากขึ้น ส่งผลให้ผู้บริโภคพิจารณาและคำนึงถึงปริมาณคอเลสเตอรอล (Cholesterol) ซึ่งพบในอาหาร และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ หากได้รับในปริมาณที่ไม่พอเหมาะกับการร่างกายจะส่งผลต่อการเป็นโรคหลอดเลือดอุดตัน และอีกหลายๆ โรค ซึ่งปัจจัยทางด้านพันธุศาสตร์ ชนิดของสัตว์ เพศ ชนิดของกล้ามเนื้อ อาหาร และอายุของสัตว์ รวมทั้งวิธีการประกอบอาหารมีผลต่อองค์ประกอบของคอเลสเตอรอลในเนื้อสัตว์ (Jaturasitha, 2004) สำหรับความนุ่มเนื้อเป็นลักษณะคุณภาพเนื้ออย่างหนึ่งที่ผู้บริโภคให้ความสนใจ โดยคอลลาเจน (Collagen) มีบทบาทต่อความนุ่มเนื้อ ซึ่งคอลลาเจนแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ คอลลาเจนที่ละลาย (Soluble collagen)

และคอลลาเจนที่ละลาย (Soluble collagen) โดยเนื้อสัตว์ที่มีปริมาณของคอลลาเจนที่ละลายได้มาก เนื้อจะมีความนุ่ม แต่เนื้อสัตว์ที่มีปริมาณคอลลาเจนที่ไม่ละลายมากจะทำให้เนื้อชนิดนั้นมีความเหนียว (Intarapichet *et al.*, 2003)

นอกจากนี้ปริมาณของคอลลาเจนในเนื้อสัตว์มีความสัมพันธ์กับค่าแรงตัดผ่านของเนื้อ (Shear force) (Wattanachant *et al.*, 2007) ซึ่งค่าแรงตัดผ่านของเนื้อสามารถบ่งบอกคุณสมบัติของเนื้อสัมผัส (Texture analyzer) โดยปัจจุบันมีเครื่องมือที่มีบทบาทอย่างมากสำหรับใช้ในการทดสอบความนุ่มเนื้อ ความเหนียว และความแข็งของชิ้นเนื้อ โดยการวัดค่าแรงตัดผ่านด้วยเครื่องวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่มีความแม่นยำสูง จากเหตุผลดังกล่าวจึงนำมาสู่การศึกษาด้านคุณภาพเนื้อ ได้แก่ ปริมาณคอเลสเตอรอล คอลลาเจน และค่าแรงตัดผ่านของเนื้อไก่ไข่ที่ปลดระวางในช่วงอายุ 85 และ 90 สัปดาห์ ที่เลี้ยงแบบปล่อยพื้น เพื่อสนับสนุนการเลี้ยงไก่ไข่แบบปล่อยพื้นตามหลักสวัสดิภาพของสัตว์ที่ดี และการเปรียบเทียบช่วงอายุที่แตกต่างกันของไก่ไข่ หากพบว่าคุณภาพเนื้อดีกว่าหรือคุณภาพเนื้อที่ได้ไม่แตกต่างกัน ซึ่งจะส่งผลต่อการตัดสินใจของเกษตรกรผู้เลี้ยงไก่ไข่ที่มักจะปลดระวางไก่ในช่วงที่ราคาซื้อขายไก่สูง แต่หากช่วงราคาการรับซื้อต่ำ เกษตรกรบางรายอาจยืดอายุการปลดระวางไก่ไข่ได้

อุปกรณ์และวิธีการ

สัตว์ทดลองและการเก็บตัวอย่าง

ไก่ไข่ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ คือ ไก่ไข่สายพันธุ์ซีพีบราวน์ อายุ 1 วัน จำนวนทั้งหมด 40 ตัว โดยแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 เลี้ยงจนถึงอายุ 85 สัปดาห์ ($n = 20$) และกลุ่มที่ 2 เลี้ยงจนถึงอายุ 90 สัปดาห์ ($n = 20$) ไก่ไข่ทั้งหมดถูกเลี้ยงในโรงเรือนระบบเปิดแบบปล่อยพื้นขนาด $2 \times 6 \times 3$ เมตร หรืออัตราส่วน 0.3 ตร.ม./ตัว โดยไก่ไข่ได้รับน้ำและอาหารอย่างเต็มที่ (*ad libitum*) อาหารที่ใช้เป็นอาหารไก่สำเร็จรูปทางการค้า โดยไก่เล็กอายุ 0-6 สัปดาห์ โปรตีนไม่น้อยกว่า 19 เปอร์เซ็นต์ พลังงาน

2,900 กิโลแคลอรี/กิโลกรัม ไก่รุ่นอายุ 6-12 สัปดาห์ โปรตีนไม่น้อยกว่า 15 เปอร์เซ็นต์ พลังงาน 2,900 กิโลแคลอรี/กิโลกรัม และไก่ไข่อายุ 20 สัปดาห์-กำลังไข่ โปรตีนไม่น้อยกว่า 16 เปอร์เซ็นต์ พลังงาน 2,900 กิโลแคลอรี/กิโลกรัม เมื่อไก่ไข่มีอายุครบตามช่วงอายุที่กำหนด คือ 85 และ 90 สัปดาห์ ไก่ไข่จะถูกสุ่มมาช่วงอายุละ 10 ตัว ซึ่งน้ำหนักมีชีวิตหลังจากนั้นไก่ไข่ถูกฆ่าตามแบบวิธีมาตรฐานสากลของโรงฆ่าสัตว์ปีก และนำซากไก่ไข่ไปเก็บที่อุณหภูมิ 4°C. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นทำการตัดแต่งและแยกชิ้นส่วนของซากไก่ไข่ และเก็บตัวอย่างเนื้ออกและเนื้อสะโพกเพื่อนำไปวิเคราะห์คุณภาพเนื้อ

การวิเคราะห์คุณภาพเนื้อ

นำตัวอย่างเนื้ออกและเนื้อสะโพกมาวิเคราะห์หาปริมาณคอเลสเตอรอลตามวิธีของ Jung *et al.* (1975) และวิเคราะห์หาปริมาณคอลลาเจนตามวิธีของ Hill (1966) เพื่อหาค่าคอลลาเจนที่ละลายได้ (Soluble collagen) และคอลลาเจนที่ไม่ละลาย (Insoluble collagen) และวัดค่าแรงตัดผ่านเนื้อ (Shear force) โดยเครื่องมือวิเคราะห์ Texture analyzer (Stable Micro System, TA-XT2i/50, UK) ใช้หัวตัดใบมีดแบบ Warner-Blazler shear force โดยอ่านเป็นค่าแรงที่ใช้ในการตัดผ่านเนื้อในหน่วยกิโลกรัม/ตร.ซม. (kg/cm^2)

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลใช้การวิเคราะห์ทางสถิติแบบ t-Tests ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติ (SAS, 2003) โดยพิจารณาความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ $P < 0.05$

ผลการวิจัย

ปริมาณคอเลสเตอรอลในเนื้ออกและเนื้อสะโพกของไก่ไข่

จากผลการศึกษา พบว่าปริมาณคอเลสเตอรอลในเนื้ออกของไก่ไข่ที่อายุ 85 และ 90 สัปดาห์ ไม่มีความ

แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$; Figure 1A) โดยปริมาณคอเลสเตอรอลในเนื้ออก มีค่าเท่ากับ 34.50 ± 4.25 และ 46.02 ± 8.51 มก./100 กรัม ตามลำดับ สำหรับเนื้อสะโพก พบว่าไก่ที่อายุ 90 สัปดาห์ มีปริมาณ

คอเลสเตอรอลสูงกว่าไก่ที่อายุ 85 สัปดาห์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$; Figure 1B) โดยปริมาณคอเลสเตอรอลในเนื้อสะโพก มีค่าเท่ากับ 67.69 ± 10.76 และ 42.17 ± 7.43 มก./100 กรัม ตามลำดับ

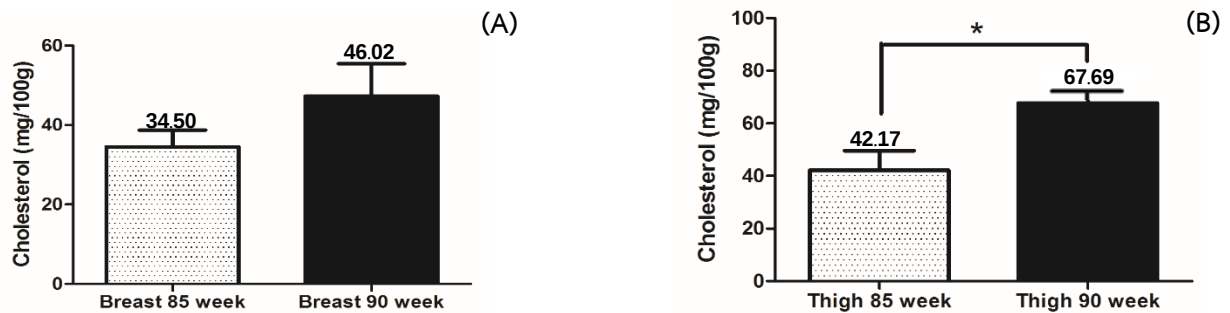


Figure 1 Cholesterol content (mg/100g) of laying hen meat at 85 and 90 weeks of age in breast (A) and thigh (B)

ปริมาณคอลลาเจนในเนื้ออกและเนื้อสะโพกของไก่ไข่

จากผลการศึกษา พบว่าปริมาณคอลลาเจนที่ไม่ละลายในเนื้ออกและสะโพกของไก่ที่อายุ 85 และ 90 สัปดาห์ พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$; Figure 2B, D) โดยมีปริมาณคอลลาเจนที่ไม่ละลายในเนื้ออก มีค่าเท่ากับ 6.27 ± 0.28 และ 5.22 ± 0.46 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ ส่วนในเนื้อสะโพกมีปริมาณคอลลาเจนที่ไม่ละลายเท่ากับ 5.15 ± 0.45 และ 6.06 ± 0.73 กรัม/100 กรัม

ตามลำดับ สำหรับปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ในเนื้ออกและสะโพกของไก่ที่อายุ 85 และ 90 สัปดาห์ พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$; Figure 2A, C) โดยมีปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ในเนื้ออก มีค่าเท่ากับ 0.047 ± 0.01 และ 0.065 ± 0.01 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ ส่วนในเนื้อสะโพกมีปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้เท่ากับ 0.069 ± 0.01 และ 0.094 ± 0.02 กรัม/100 กรัม ตามลำดับ

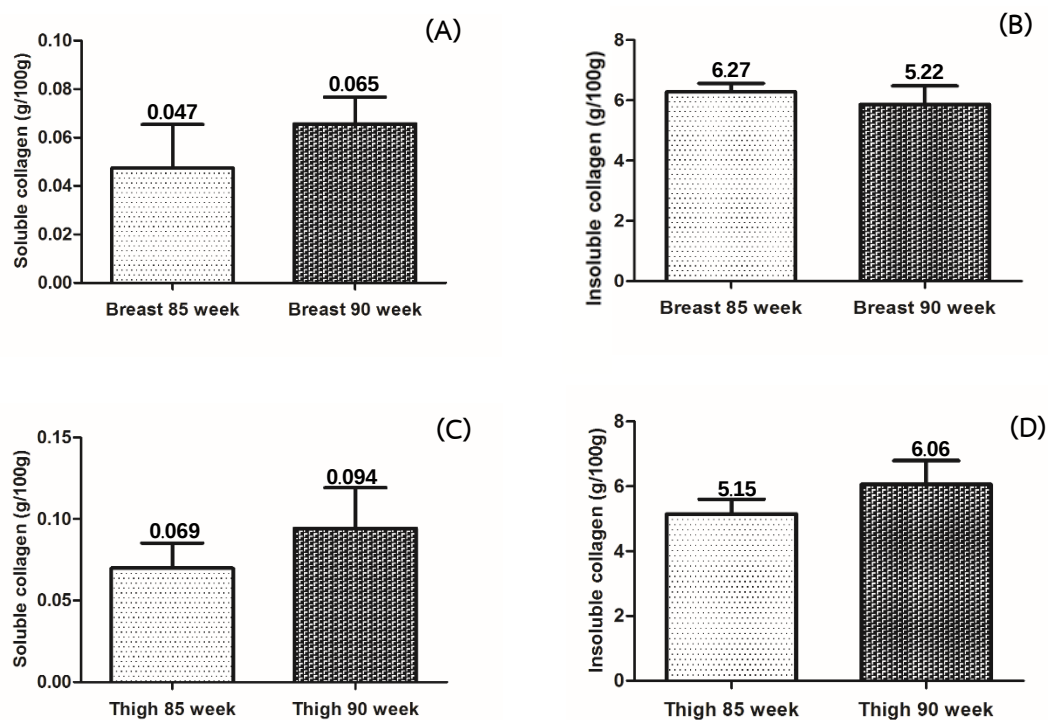


Figure 2 Collagen content of laying hen at 85 and 90 weeks of age including soluble collagen in breast (A), insoluble collagen in breast (B), soluble collagen in thigh (C) and insoluble collagen in thigh (D)

ค่าแรงตัดผ่านเนื้ออกและเนื้อสะโพกในไก่ไข่

จากผลการศึกษาพบว่า ค่าแรงตัดผ่านเนื้ออกและเนื้อสะโพกของไก่ไข่ที่อายุ 85 และ 90 สัปดาห์ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$; Figure 3)

โดยค่าแรงตัดผ่านในเนื้ออก มีค่าเท่ากับ 5.05 ± 0.53 และ 5.39 ± 0.56 กก./ตร.ซม. ตามลำดับ สำหรับเนื้อสะโพกมีค่าเท่ากับ 10.42 ± 0.53 และ 10.38 ± 0.28 กก./ตร.ซม. ตามลำดับ

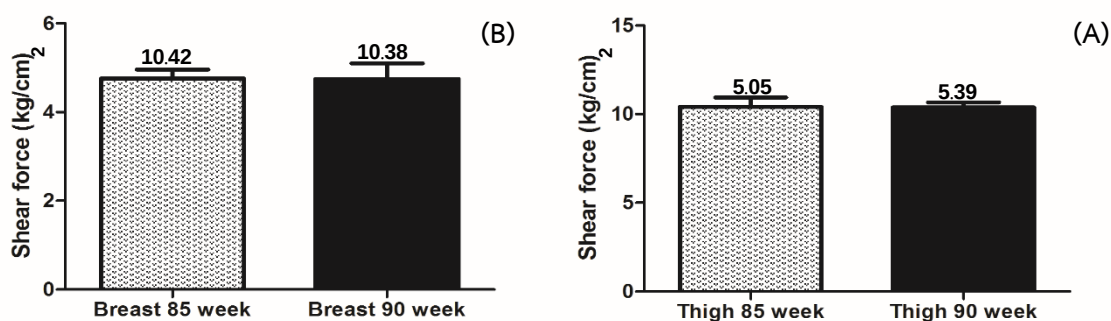


Figure 3 Shear force value (kg/cm²) of laying hen at 85 and 90 weeks of age in breast (A) and thigh (B)

ความสัมพันธ์ของปริมาณคอลลาเจนต่อค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

จากผลการศึกษาเนื้ออกและเนื้อสะโพกของไก่ไข่ที่อายุ 85 และ 90 สัปดาห์ (Table 1) พบว่าปริมาณคอลลาเจนที่ไม่ละลายมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่าแรง

ตัดผ่านเนื้อ ($r=0.918$; $P<0.001$) และ ($r=0.885$; $P<0.001$) ตามลำดับ นอกจากนี้ในเนื้อสะโพก (Table 1) พบว่าปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณคอลลาเจนที่ไม่ละลาย ($r=0.740$; $P<0.01$)

Table 1 Correlation coefficients (r) between soluble collagen, insoluble collagen and shear force in breast and thigh of laying hen meat at 85 and 90 weeks of age

Traits	Soluble collagen	Insoluble collagen	Shear force	Age
Breast				
Soluble collagen	–	0.324	0.530	0.617
Insoluble collagen	0.324	–	0.918***	-0.146
Shear force	0.530	0.918***	–	0.176
Age	0.617	0.146	0.176	–
Thigh				
Soluble collagen	–	0.740**	0.668	0.161
Insoluble collagen	0.740**	–	0.885***	0.398
Shear force	0.668	0.885***	–	0.139
Age	0.161	0.398	0.139	–

** $P<0.01$, *** $P<0.001$

วิจารณ์ผลการวิจัย**ปริมาณคอเลสเตอรอลในเนื้ออกและเนื้อสะโพกของไก่ไข่**

จากการศึกษาครั้งนี้ พบว่าปริมาณคอเลสเตอรอลในเนื้ออกของไก่ไข่อายุ 85 และ 90 สัปดาห์ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่พบว่ามีปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตามอายุของไก่ที่เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Fakolade (2015) ที่รายงานว่ เนื้ออกของไก่ไข่อายุ 20 สัปดาห์ มีปริมาณคอเลสเตอรอลสูงกว่าเนื้ออกของไก่ไข่อายุ 16 สัปดาห์ โดยมีค่าเท่ากับ 72.45 และ 69.91 มก./100 กรัม ตามลำดับ เช่นเดียวกับ

การศึกษาของ Lawrie (1998) ที่รายงานว่ เนื้ออกของไก่ไข่ที่เลี้ยงแบบกรงดับที่อายุ 85 สัปดาห์ มีปริมาณคอเลสเตอรอลสูงกว่าเนื้ออกของไก่ไข่อายุ 80 สัปดาห์ โดยมีค่าเท่ากับ 33.80 และ 32.78 มก./100 กรัม ตามลำดับ สำหรับปริมาณ คอเลสเตอรอลในเนื้อสะโพกจากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ไก่ไข่ที่อายุ 90 สัปดาห์ มีปริมาณคอเลสเตอรอลสูงกว่าไก่ไข่ที่อายุ 85 สัปดาห์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สอดคล้องกับการศึกษาของ Lawrie (1998) ที่รายงานว่ เนื้อสะโพกของไก่ไข่ที่เลี้ยงแบบกรงดับที่อายุ 85 สัปดาห์ มีปริมาณคอเลสเตอรอลสูงกว่าเนื้อสะโพกของไก่ไข่อายุ 80 สัปดาห์ โดยมีค่าเท่ากับ

52.70 และ 47.92 มก./100 กรัม ตามลำดับ เนื่องจากสัตว์ที่มีอายุมากขึ้นจะส่งผลให้อัตราส่วนในการสะสมปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น (Jaturasitha, 2004) ซึ่งมีผลต่อปริมาณคอเลสเตอรอลที่มากขึ้นตามไปด้วย (Armstrong *et al.*, 2005) นอกจากนี้อาจเนื่องจากรูปแบบการเลี้ยง การเก็บรักษาไขมัน ความแตกต่างของอายุ ชนิดของสัตว์ และองค์ประกอบทางเคมีในอาหารสัตว์ เป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณคอเลสเตอรอลในเนื้อสัตว์ (Rule *et al.*, 2002) และพบว่าเนื้อสะโพกมีปริมาณคอเลสเตอรอลสูงกว่าเนื้ออกอาจเป็นเพราะเนื้อสะโพกมีสัดส่วนของไขมันสูงกว่าเนื่องจากสรีรวิทยาของไก่มีการสะสมไขมันภายในช่องท้องและในกล้ามเนื้อบริเวณน่องและสะโพกมากกว่ากล้ามเนื้ออก (Wattanachant *et al.*, 2007; Cheva-sarakul *et al.*, 2004) โดยปริมาณ คอเลสเตอรอลของเนื้อสัตว์มีค่าระหว่าง 30-120 มก./100 กรัม (Valsta *et al.*, 2005) ดังนั้น ปริมาณคอเลสเตอรอลเป็นปัจจัยหนึ่งที่สามารถบ่งบอกถึงคุณภาพในเนื้อสัตว์ได้ ซึ่งปริมาณคอเลสเตอรอลที่สูงเกินความต้องการของร่างกายจะส่งผลโดยตรงกับความต้องการของผู้บริโภคที่ใส่ใจในสุขภาพ

ปริมาณคอลลาเจนในเนื้ออกและเนื้อสะโพกของไก่ไข่

ปริมาณคอลลาเจนในเนื้อเป็นค่าดัชนีที่ใช้บอกความนุ่มหรือเหนียวของเนื้อ โดยปริมาณคอลลาเจนในเนื้ออกและสะโพกของไก่ไข่ที่อายุ 85 และ 90 สัปดาห์ในการศึกษาครั้งนี้ พบว่าอายุที่เพิ่มขึ้นไม่มีอิทธิพลต่อปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้และคอลลาเจนที่ไม่ละลาย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Atthaporn *et al.* (2009) ที่รายงานว่ อายุที่เพิ่มขึ้นของไก่พื้นเมืองอายุ 6 ถึง 24 สัปดาห์ ไม่มีผลต่อปริมาณคอลลาเจนทั้งหมด ($P \geq 0.05$) แต่จากการศึกษานี้พบว่า ปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ (เนื้ออกและเนื้อสะโพก) มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อยในไก่ไข่ที่มีอายุมากขึ้น อาจเนื่องจาก Pyridinoline ซึ่งเป็นสารประกอบของ Crosslinks ของเส้นใยคอลลาเจนสำหรับสัตว์ที่โตเต็มวัยมีปริมาณมากขึ้นตามอายุของสัตว์ที่เพิ่มขึ้น จากการศึกษาของ Coró *et al.* (2003) ที่รายงานว่

ความเข้มข้นของ Pyridinoline มีความสัมพันธ์กับปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ และปริมาณคอลลาเจนทั้งหมดในเนื้ออกของไก่ไข่อายุ 20 ถึง 540 วัน โดยปริมาณของ Pyridinoline เพิ่มขึ้นตามอายุไก่ที่มากขึ้น ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.448-0.568 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับการศึกษาของ Jayasena *et al.* (2013) ที่รายงานว่ ปริมาณคอลลาเจนทั้งหมด (Total collagen content) ในเนื้ออกของไก่พื้นเมืองเกาหลีอายุ 12 สัปดาห์ มีค่าสูงกว่าไก่เนื้ออายุ 5 สัปดาห์ โดยมีค่าเท่ากับ 2.14 และ 1.58 มก./กรัม ตามลำดับ เช่นเดียวกับจากการศึกษาของ Intarapichet *et al.* (2008) ที่รายงานว่ ปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ในเนื้ออกของไก่ลูกผสมพื้นเมืองไทย (4 สายพันธุ์) มีค่าสูงกว่าไก่เนื้อ โดยมีปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้เท่ากับ 1.5 กับ 0.9 มก./กรัม ซึ่งแตกต่างจากการศึกษาของ Atthaporn *et al.* (2009) ที่รายงานว่ ปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้ลดลงเมื่อไก่มีอายุเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากผลของความแตกต่างของอายุ (Wattanachant *et al.*, 2005) ซึ่งโดยทางทฤษฎีพบว่ากล้ามเนื้อของสัตว์ที่มีอายุมากถึงแม้ว่าเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมีปริมาณสูงขึ้นเล็กน้อย แต่ปริมาณ Intermolecular crosslinks ของเส้นใยคอลลาเจนกลับเพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงทำให้คอลลาเจนที่ละลายได้ลดลงทำให้เนื้อมีความเหนียว (Warriss, 2000)

นอกจากนี้ปริมาณและโครงสร้างของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมีผลต่อความนุ่มของเนื้อ โดยกล้ามเนื้อบริเวณที่มีปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและปริมาณคอลลาเจนสูงจะทำให้มีความนุ่มต่ำ (Jaturasitha, 2004) และปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า เนื้อสะโพกมีปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้สูงกว่าเนื้ออกเล็กน้อย สอดคล้องกับการศึกษาของ Chaosap and Tuntivisoottikul (2006) ที่รายงานว่ กล้ามเนื้อสะโพกมีปริมาณคอลลาเจนที่ละลายได้สูงกว่าเนื้ออก โดยมีค่าเท่ากับ 0.20 มก./กรัม และ 0.10 มก./กรัม ตามลำดับ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Wattanachant *et al.* (2004) ที่รายงานว่ กล้ามเนื้อส่วนอกของไก่พื้นเมืองมีปริมาณคอลลาเจนทั้งหมดและคอลลาเจนที่ละลายได้ (5.09 มก./100 กรัม และ 22.16% ของปริมาณ

คอลลาเจนทั้งหมด) ต่ำกว่ากล้ามเนื้อสะโพก (12.85 มก./100 กรัม และ 26.04% ของปริมาณคอลลาเจนทั้งหมด)

นอกจากนี้พบว่าปริมาณคอลลาเจนในเนื้ออกและเนื้อสะโพกของไก่ไข่ที่อายุ 85 และ 90 สัปดาห์ ที่มีการเลี้ยงแบบปล่อยพื้นมีความสัมพันธ์กับค่าแรงตัดผ่านเนื้อ โดยพบว่าปริมาณคอลลาเจนที่ไม่ละลายในเนื้ออกและเนื้อสะโพกมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่าแรงตัดผ่านเนื้อ สอดคล้องกับการศึกษาของ Torrescano *et al.* (2003) ที่รายงานว่า ปริมาณคอลลาเจนทั้งหมดและคอลลาเจนที่ไม่ละลาย มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่าแรงตัดผ่านเนื้อในเนื้อโค โดยมีค่าความสัมพันธ์เท่ากับ $r=0.72$ และ $r=0.66$ ตามลำดับ เช่นเดียวกับการศึกษาของ Nishimura *et al.* (2009) ที่รายงานว่า ปริมาณคอลลาเจนทั้งหมดมีความสัมพันธ์เชิงบวกกับค่าแรงตัดผ่านเนื้อในเนื้อสุกร ($r=0.72$) เนื่องจากค่าแรงตัดผ่านเนื้อสัมพันธ์กับโครงสร้างของกล้ามเนื้อในระดับซาร์โคเมียร์ ปริมาณและระดับการเกิด Crosslinks ของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันที่ตำแหน่งของกล้ามเนื้อส่วนต่างๆ (Wattanachant *et al.*, 2007) สำหรับปริมาณคอลลาเจนที่ไม่ละลายในเนื้ออกของไก่ไข่จากการศึกษาครั้งนี้พบว่ามีความสัมพันธ์เชิงลบกับอายุของไก่ไข่ ซึ่งขัดแย้งกับทฤษฎีและงานวิจัยอื่น แต่สอดคล้องกับผลของคอลลาเจนที่ไม่ละลายในเนื้ออกของการศึกษาครั้งนี้ที่พบว่าไก่ไข่ที่อายุ 90 สัปดาห์ มีค่าต่ำกว่าไก่ไข่ที่อายุ 85 สัปดาห์

ค่าแรงตัดผ่านเนื้อในเนื้ออกและเนื้อสะโพกของไก่ไข่

ค่าแรงตัดผ่านเนื้อเป็นดัชนีที่ใช้บอกความนุ่มหรือความเหนียวของเนื้อ และเป็นสิ่งที่ผู้บริโภคใช้พิจารณาตัดสินว่าเนื้อนั้นอร่อยหรือไม่อร่อยจากความรู้สึกหลังรับประทาน (Jaturasitha, 2004) โดยค่าแรงตัดผ่านเนื้อสูงแสดงว่าเนื้อมีความเหนียวแน่นกว่าเนื้อที่มีค่าแรงตัดผ่านน้อย (Jaturasitha *et al.*, 2003) ในทางตรงกันข้ามค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่ต่ำกว่าจะเป็นตัวบ่งชี้ว่าเนื้อมีความนุ่มมากกว่าค่าแรงตัดผ่านเนื้อที่สูงกว่า (Riley *et al.*, 2005) ซึ่ง

พบว่ามีความสัมพันธ์กับชนิดของสัตว์ สายพันธุ์ อายุ ชนิดกล้ามเนื้อ ปริมาณเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ปริมาณไขมันที่แทรกอยู่ในกล้ามเนื้อ เป็นต้น (Sethakul, 1997) จากการศึกษาครั้งนี้พบว่า ความแตกต่างของอายุไม่มีผลต่อค่าแรงตัดผ่านในเนื้ออกและเนื้อสะโพกของไก่ไข่ที่อายุ 85 และ 90 สัปดาห์ โดยเนื้ออกของไก่ไข่มีแนวโน้มค่าแรงตัดผ่านเนื้อเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตามอายุที่เพิ่มขึ้น แต่เนื้อสะโพกมีแนวโน้มค่าแรงตัดผ่านเนื้อลดลงเล็กน้อยตามอายุที่เพิ่มขึ้น ซึ่งค่าแรงตัดผ่านของเนื้อสะโพกมีความขัดแย้งกับทฤษฎีและงานวิจัยอื่น พบว่าอายุของสัตว์ที่มากขึ้นจะมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อเพิ่มสูงขึ้น เนื่องจากสัตว์จะมีเนื้อเยื่อเกี่ยวพันมากขึ้นตามอายุที่มากขึ้น จากการศึกษาของ Jaturasitha *et al.* (2008) ที่รายงานว่าไก่พื้นเมืองมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อสูงกว่าไก่กระທง เนื่องจากไก่กระທงมีอายุการเลี้ยงสั้นกว่าไก่พื้นเมืองทำให้มีการสะสมของเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน และการเกิด Crosslinks ของคอลลาเจนน้อยกว่าไก่พื้นเมือง ซึ่งอายุของสัตว์ที่เพิ่มมากขึ้นจะส่งผลต่อ Crosslinks ของคอลลาเจนที่สูงขึ้น (Pongduang *et al.*, 2013) และการเคลื่อนไหวของกล้ามเนื้อมาก ส่งผลให้มีความแน่นและเหนียวของกล้ามเนื้อซึ่งเป็นลักษณะเด่นของไก่พื้นเมือง ส่งผลให้ไก่พื้นเมืองมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อสูงกว่าไก่กระທง จากการศึกษาของ Husak *et al.* (2008) พบว่าเนื้ออกและสะโพกของไก่เนื้อที่เลี้ยงด้วยระบบการเลี้ยงขังกรงจะมีค่าแรงตัดผ่านเนื้อน้อยกว่าไก่เนื้อที่เลี้ยงด้วยระบบปล่อยพื้น ซึ่งการเลี้ยงไก่ในระบบปล่อยเป็นการเลี้ยงในพื้นที่กว้าง ไก่มีการเคลื่อนไหวสูงส่งผลทำให้เกิดกระบวนการ Myogenesis ของกล้ามเนื้อแทนการเกิด Lipogenesis (Castellini *et al.*, 2002) และการเลี้ยงไก่ในระบบปล่อยจะทำให้เนื้อมีการยืดเกาะที่มากกว่าการเลี้ยงในโรงเรือน (Santos *et al.*, 2005) และความหนาแน่นสูงในการเลี้ยงจะทำให้ไก่ถูกจำกัดพื้นที่ในการเคลื่อนไหว มีผลทำให้เนื้อไก่มีความเหนียวลดลง (Farmer *et al.*, 1997)

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาลักษณะคุณภาพของเนื้ออกและเนื้อสะโพกในไก่ไข่ที่อายุแตกต่างกันที่อายุ 85 และ 90 สัปดาห์ พบว่าเนื้อสะโพกของไก่ไข่อายุ 90 สัปดาห์ มีค่าคอเลสเตอรอลสูงกว่าไก่ไข่อายุ 85 สัปดาห์ แต่เนื้ออกไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สำหรับปริมาณคอเลสเตอรอลที่ละลายได้และคอเลสเตอรอลที่ไม่ละลาย และค่าแรงตัดผ่านในเนื้ออกและสะโพก พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้นหากต้องการปลดระวางไก่ไข่ที่อายุ 85 สัปดาห์ เพื่อช่วยประหยัดต้นทุนในการเลี้ยงสามารถทำได้ ขึ้นอยู่กับกลไกราคาของเนื้อไก่ไข่ปลดระวางในช่วงเวลานั้น แต่ถ้าราคาของไก่ไข่ปลดระวางมีราคาต่ำมากเกษตรกรอาจยืดอายุการปลดระวางไก่ไข่ได้เนื่องจากอายุไม่มีผลต่อปริมาณคอเลสเตอรอลในเนื้ออกคอเลสเตอรอล และค่าแรงตัดผ่านเนื้อ

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณศูนย์วิทยาศาสตร์และประยุกต์ที่สนับสนุนทุนวิจัย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 และห้องปฏิบัติการ สาขาเกษตรศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา และห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ที่เอื้อเฟื้อสถานที่สำหรับการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Armstrong, E.J., P.K. Safo and F.M. Sacks. 2005. Pharmacology of Cholesterol and Lipoprotein Metabolism. pp. 357-373. In Golon, D., A. Tashjian, J.R. Armstrong, E. Galanter, J. Armstrong and A. Amaout. (eds.) **Principles of Pharmacology: The Pathophysiologic Basis of Drug Therapy**. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Atthaporn, S., C. Wattanachant, S. Wattanachant and S. Wattanasit. 2009. Effects of rearing systems and age on carcass percentage, physical properties, microstructure and chemical composition of Kai Nok Dang (Thai native chicken) muscle. **J. Sci. Technol. MSU**. 28(4): 412-423. [in Thai]
- Bureau of Animal Husbandry and Genetic Improvement. 2010. **Free-range Chicken System**. Bangkok: Department of Livestock Development. 32 p. [in Thai]
- Castellini, C., C. Mugnai and A. Dal Bosco. 2002. Meat quality of three chicken genotypes reared according to the organic system. **Ital. J. Food Sci**. 14: 401-412.

- Chaosap, C. and K. Tuntivisoottikul. 2006. Carcass Quality and Some Muscle Properties of Broiler, Native, Sritong and Tanawsri Chickens. pp. 52-60. **In Proceedings of 43rd Kasetsart University Annual Conference.** Bangkok: Kasetsart University. [in Thai]
- Cheva-Isarakul, B., T. Mahuemaung and S. Tangtaweewipat. 2004. Production of Low Fat and Low Cholesterol Broilers Meat by Supplementing Organic Copper or Chromium or Unsaturated Fat. pp. 253-261. **In Proceedings of 42nd Kasetsart University Annual Conference: Animals, Veterinary Medicine.** Bangkok: Kasetsart University. [in Thai]
- Coró, F.A.G., E.Y. Youssef and M. Shimokomaki. 2003. Age related changes in poultry breast meat collagen pyridinoline and texture. **J. Food Biochem.** 26: 533-541.
- Fakolade, P.O. 2015. Effect of age on physico-chemical, cholesterol and proximate composition of chicken and quail meat. **Afr. J. Food Sci.** 9(4): 182-186.
- Farmer, L.J., G.C. Perry, P.D. Lewis, G.R. Nute, J.R. Piggott and R.L.S. Patterson. 1997. Responses of two genotypes of chicken to the diets and stocking densities of conventional UK and label rouge production systems. II. Sensory attributes. **Meat Sci.** 47: 77-93.
- Hill, F. 1966. The solubility of intramuscular collagen in meat animal of various ages. **J. Food Sci.** 31: 161-166.
- Husak, R.L., J.G. Sebranek and K. Bregendahl. 2008. A survey of commercially available broilers marketed as organic, free-range and conventional broilers for cooked meat yields, meat composition, and relative value. **Poult. Sci.** 87: 2367-2376.
- Intarapichet, K., M. Sutheerawattananonda and W. Suksombat. 2003. **A comparative study of characteristics, chemical composition and sensory qualities of hybrid native chicken, commercial broilers and laying male chicks.** 260 p. **In Research Report.** Bangkok: The Thailand Research Fund. [in Thai]
- Intarapichet, K., W. Suksombat and B. Maikhunthod. 2008. Chemical compositions, fatty acid, collagen and cholesterol contents of Thai hybrid native and broiler chicken meats. **J. Poult. Sci.** 45: 7-14.
- Jaturasitha, S., S. Saitong, A. Phongphaew, T. Apichatsrungkoon and A. Leotaragul. 2003. **Carcass and meat quality of Thai indigenous chicken and their crosses 4 lines.** 185 p. **In Research Report.** Bangkok: The Thailand Research Fund. [in Thai]

- Jaturasitha, S. 2004. **Meat Management**. .
Chiang Mai: Mingmuang Press
170 p. [in Thai]
- Jaturasitha, S., A. Kayan and M. Wicke. 2008.
Carcass and meat characteristics of male
chickens between Thai indigenous
compared with improved layer breeds and
their crossbred. **Arch. Tierz.** 51: 283-294.
- Jayasena, D.D., S. Jung, H.J. Kim, Y.S. Bae, H.I. Yong,
J.H. Lee, J.G. Kim and C. Jo. 2013.
Comparison of quality traits of meat
from Korean native chickens and broilers
used in two different traditional Korean
cuisines. **Asian Australas. J. Anim. Sci.**
26: 1038-1046.
- Jung, D.H., H.G. Biggs and W.R. Moorehead. 1975.
Colorimetry of serum cholesterol with use
of ferric acetate uranyl acetate and ferrous
sulfate/sulfuric acid reagents.
J. Clin. Chem. 21(10): 1526-1530.
- Lawrie, R.A. 1998. **Lawrie's Meat Science**. 6thed.
Cambridge: Woodhead Publishing Ltd. 366 p.
- Maksri, N., N. Chauychuwong, R. Chauychuwong
and K. Soisuwun. 2017. Effects of
supplementation with *Andrographis*
paniculata and *Curcuma longa* in feed
on carcass composition and meat
quality of spent laying hen. **Khon Kaen**
Agr J. 45 (Suppl.1): 20-25. [in Thai]
- Nishimura, T., S. Fang, J. Wakamatsu and
K. Takahashi. 2009. Relationships
between physical and structural
properties of intramuscular connective
tissue and toughness of raw pork.
Anim Sci J. 80(1): 85-90.
- Pongduang, U., A. Leotaragul, A. Pianmongkol,
P. Thakeow and S. Jaturasitha. 2013.
Tenderness of Pradu Hang Dam Chiang Mai 1,
Pradu Hang Dam's crossbred and broiler.
Khon Kaen Agr J. 41(Suppl.1): 21-26.
[in Thai]
- Riley, J.D., T.C. Schroeder and T.L. Wheeler.
2005. Valuing Fed Cattle Using Slice
Shear Force Measurements. pp. 1-22.
In Selected Paper for Presentation
at the Western Agricultural
Economics, Association Annual
Meeting 6-8 Jul. 2005. San Francisco,
California: Western Agricultural
Economics Association.
- Rule, D.C., K.S. Broughton, S.M. Shellito and
G. Maiorano. 2002. Comparison
of muscle fatty acid profiles and
cholesterol concentrations of bison,
beef cattle, elk and chicken.
J. Anim. Sci. 80(5): 1202-1211.
- Santos, A.L, N.K. Sakomura, E.R. Freitas,
C.M.S. Fortes and E.N.V.M. Carrilho. 2005.
Comparison of free range broiler chicken
strains raised in confined or semi-
confined systems. **Braz. J. Poultry Sci.**
7 (2): 85-92.
- SAS. 2003. **SAS Online Doc 9.1.3.** Inc. Cary, NC:
SAS Institute Inc. 404 p.
- Sethakul. J. 1997. **Slaughter House**
Management. Bangkok: King Mongkut's
Institute of Technology Ladkrabang.
260 p. [in Thai]

- Torrescano, G., A. Sánchez-Escalante, B. Giménez, P. Roncalés and J.A. Beltrán. 2003. Shear values of raw samples of 14 bovine muscles and their relation to muscle collagen characteristics. **Meat Sci.** 64: 85-91.
- Valsta, L.M., H. Tapanainen and S. Männistö. 2005. Meat fats in nutrition. **Meat Sci.** 70: 525-530.
- Warriss, P.D. 2000. **Meat science: An Introduction Text.** London: Biddles Ltd. 297 p.
- Wattanachant S., S. Benjakul and D.A. Ledward. 2004. Composition, color, and texture of Thai indigenous and broiler chicken muscles. **Poult. Sci.** 83: 123-128.
- Wattanachant, S., S. Benjakul and D.A. Ledward. 2005. Microstructure and thermal characteristics of Thai indigenous and broiler chicken muscles. **Poult. Sci.** 84: 328-336.
- Wattanachant, C., S. Wattanasit, S. Wattanachant and A. Songsang. 2007. Carcass characteristics, physical property and chemical composition of Naked-Neck and Thai indigenous chickens muscles reared under backyard production system. **Songklanakarin J. Sci. Technol.** 29(2): 321-337. [in Thai]

ผลของความร้อนต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์เยื่อบุผิวท่อนำไข่ และเซลล์ไข่สุกร Effect of Heat Shock on Viability of Oviductal Epithelial Cell and Porcine Oocytes

สุพัตน์ เชื้อนวัง และพยุงค์ศักดิ์ อินตะวิชา*

Supat Kuanwang and Payungsuk Intawicha*

สาขาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยพะเยา พะเยา 56000

Division of Animal Science, Faculty of Agriculture and Natural Resources, Phayao University, Phayao, Thailand 56000

*Corresponding author: payungsuk@up.ac.th

Received: November 02, 2018

Revised: January 30, 2019

Accepted: February 08, 2019

Abstract

The experiments aimed to study viability rate of oviduct epithelial cell (OEC) and oocytes after exposed heat shock (EHS) *in vitro* culture. **Study 1**, to study on the viability rate of OEC after EHS different temperatures. Oviducts were collected from ovaries 18 gilts slaughterhouse. Completely randomized design was used. There were 6 groups (group 1 EHS 38.5°C 12 h, group 2 EHS 38.5°C 24 h, group 3 EHS 40°C 12 h, group 4 EHS 40°C 24 h, group 5 EHS 42°C 12 h and group 6 EHS 42°C 24 h). The results showed that group 1 ($99.09 \pm 0.68\%$) had viability rate than group 4 ($97.45 \pm 1.43\%$), group 5 ($95.90 \pm 2.29\%$) and group 6 ($95.88 \pm 1.89\%$) with statistical significance ($P < 0.01$) but not different from with group 2 ($98.95 \pm 0.56\%$), group 3 ($97.59 \pm 1.31\%$) ($P < 0.01$). **Study 2**, study on cumulus-oocyte complexes (COCs) co-culture OEC, EHS with the different temperature was determined *in vitro* culture system. Ovaries were collected from 300 gilts. The results showed that after culture for 44 h in group 1 ($6.23 \pm 0.90 \mu\text{m}$) was expanded of cumulus cells higher than group 3 ($5.86 \pm 0.88 \mu\text{m}$), group 4 ($5.85 \pm 0.90 \mu\text{m}$), group 5 ($5.86 \pm 0.95 \mu\text{m}$) and group 6 ($5.70 \pm 1.09 \mu\text{m}$) with statistical significance ($P < 0.01$) but not significance with group 2 ($6.21 \pm 0.93 \mu\text{m}$) ($P > 0.01$). Development rate of oocytes to metaphase II stage in group 1 (67.21%) was higher than group 2 (66.13%), group 3 (62.40%), group 4 (61.81%), group 5 (62.10%) and group 6 (61.82%). It was concluded that high temperature decreases viability rate of OEC, expanded of cumulus cells COCs and development rate of oocytes to metaphase II stage.

Keywords: oviduct epithelial cell, oocyte, oviduct, porcine

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาอัตราการมีชีวิตรอดของเซลล์เยื่อบุผิวท่อนำไข่ และเซลล์ไข่ที่ได้รับอุณหภูมิร้อน (Exposed Heat Shock; EHS) ในหลอดทดลอง

การศึกษาที่ 1 ศึกษาอัตราการมีชีวิตรอดของเซลล์เยื่อบุผิวท่อนำไข่ โดยใช้ท่อนำไข่ที่ถูกเก็บจากสุกรสาวทั้งหมด 18 ตัว แบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ 1 EHS 38.5°ซ. 12 ซม., กลุ่มที่ 2 EHS 38.5°ซ. 24 ซม., กลุ่มที่ 3 EHS 40°ซ. 12 ซม., กลุ่มที่ 4 EHS 40°ซ. 24 ซม., กลุ่มที่ 5 EHS 42°ซ. 12 ซม. และกลุ่มที่ 6 EHS 42°ซ. 24 ซม. ผลพบว่า กลุ่มที่ 1 ($99.09 \pm 0.68\%$) มีอัตราการมีชีวิตรอดสูงกว่า กลุ่มที่ 4 ($97.45 \pm 1.43\%$) กลุ่มที่ 5 ($95.90 \pm 2.29\%$) และกลุ่มที่ 6 ($95.880 \pm 1.89\%$) ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ 2 ($98.95 \pm 0.56\%$) และกลุ่มที่ 3 ($97.59 \pm 1.31\%$) ($P > 0.01$)

การศึกษาที่ 2 ศึกษาการเพาะเลี้ยง COCs ร่วมกับเซลล์เยื่อบุผิวท่อนำไข่ที่ถูกฮีทช็อก ด้วยอุณหภูมิที่แตกต่างกัน รังไข่ถูกเก็บจากสุกรสาวทั้งหมด 300 ตัว ผลการทดลอง พบว่า มีการขยายของคิวมูลัส (Cumulus) เมื่อเลี้ยงไปถึงชั่วโมงที่ 44 ในกลุ่มที่ 1 ($6.237 \pm 0.90 \mu\text{m}$) มีค่ามากกว่ากลุ่มที่ 3 ($5.86 \pm 0.88 \mu\text{m}$) กลุ่มที่ 4 ($5.853 \pm 0.90 \mu\text{m}$) กลุ่มที่ 5 ($5.862 \pm 0.95 \mu\text{m}$) และกลุ่มที่ 6 ($5.707 \pm 1.09 \mu\text{m}$) ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ 2 ($6.210 \pm 0.93 \mu\text{m}$) ($P > 0.01$) และผลของอัตราการพัฒนาของเซลล์ไข่ไปจนถึงระยะ Metaphase II ในกลุ่มที่ 1 (67.21%) มีค่ามากกว่ากลุ่มที่ 2 (66.13%) กลุ่มที่ 3 (62.40%) กลุ่มที่ 4 (61.81%) กลุ่มที่ 5 (62.10%) และกลุ่มที่ 6 (61.82%) ดังนั้นสรุปได้ว่า อุณหภูมิสูงส่งผลต่ออัตราการมีชีวิตรอดของเซลล์เยื่อบุผิวท่อนำไข่ และการขยายของเซลล์คิวมูลัส และการพัฒนาของเซลล์ไข่

คำสำคัญ: เยื่อบุผิวท่อนำไข่ เซลล์ไข่ ท่อนำไข่ สุกร

คำนำ

อุณหภูมิมีส่วนสำคัญต่อการจัดการภายในฟาร์ม หากจัดการไม่ดีจะส่งผลให้สุกรเกิดความเครียดจากความร้อน (Wegner *et al.*, 2016) ทำให้สุกรกินอาหารได้น้อย น้ำหนักตัวลดลง แม่สุกรให้น้ำนมลดลง จำนวนลูกต่อครอก และน้ำหนักแรกคลอดต่ำ นอกจากนี้ยังส่งผลกระทบต่อระบบสืบพันธุ์ เช่น ทำให้แม่สุกรมีความสมบูรณ์พันธุ์ต่ำ อัตราการมีชีวิตรอดของลูกสุกรลดลง (Prunier *et al.*, 1994) มีรายงานเกี่ยวกับเทคโนโลยีการเจริญของไข่ในหลอดทดลอง *In Vitro* Maturation (IVM) และการปฏิสนธิในหลอดทดลอง *In Vitro* Fertilization (IVF) สามารถศึกษาผลกระทบจากความร้อนต่อการเจริญของไข่และตัวอ่อนได้ โดยนำเยื่อบุผิวท่อนำไข่มาเลี้ยงร่วมกับเซลล์ไข่และตัวอ่อน Kidson *et al.* (2003) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเซลล์เยื่อบุผิวท่อนำไข่มีหน้าที่สำคัญในระบบสืบพันธุ์เพศเมีย เช่น ช่วยในการขนส่งเซลล์สืบพันธุ์เพศผู้และเพศเมีย (Fazeli *et al.*, 1999) หลังของเหลวที่ช่วยในการปฏิสนธิระหว่างอสุจิกับเซลล์ไข่ (Romar *et al.*, 2001) ช่วยขนส่งตัวอ่อนที่ปฏิสนธิแล้วไปฝังตัวยังมดลูก (Georgiou *et al.*, 2005) และผลิตโปรตีนที่สำคัญต่อการพัฒนาของตัวอ่อนในระยะแรก เช่น Insulin-like Growth Factor (IGF), Epidermal Growth Factor (EGF), Transforming Growth Factor (TGF) และ Fibroblast Growth Factors (FGFs) (Chen *et al.*, 2007) จากการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Kidson *et al.* (2003) ที่ศึกษาการเพาะเลี้ยงเยื่อบุผิวท่อนำไข่ที่เลี้ยงร่วมกับไข่ในหลอดทดลอง เปรียบเทียบกับเซลล์ไข่ที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่การเสริมเยื่อบุผิวท่อนำไข่ พบว่าขนาดของเซลล์ไข่ที่เลี้ยงร่วมกับเยื่อบุผิวท่อนำไข่ ($150.43 \pm 0.64 \mu\text{m}$) มีขนาดใหญ่กว่าเซลล์ไข่ที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มีการเสริมเยื่อบุผิวท่อนำไข่ ($149.60 \pm 0.30 \mu\text{m}$) และพบว่าความหนาของ Perivitelline space ของเซลล์ไข่ที่เลี้ยงร่วมกับเยื่อบุผิวท่อนำไข่ ($4.40 \pm 0.30 \mu\text{m}$) มากกว่าเซลล์ไข่ที่ไม่เสริมเยื่อบุผิวท่อนำไข่ ($4.25 \pm 0.21 \mu\text{m}$) นอกจากนี้ยังพบว่าตัวอ่อนที่เลี้ยงร่วมกับเยื่อบุผิว

ท่อนำไข่ สามารถพัฒนาไปถึงระยะ Blastocyst ได้สูงถึง 47% ซึ่งมากกว่าตัวอ่อนที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มีการเสริมเยื่อหุ้มท่อนำไข่ (40%) อย่างไรก็ตามยังมีข้อมูลอยู่จำกัดเกี่ยวกับผลของความร้อนต่อ COCs และสามารถพัฒนาของไข่ จึงเป็นที่มาของการศึกษานี้เพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปใช้เป็นแนวทางในการเพิ่มอัตราการพัฒนาของเซลล์ไข่ในระบบการเพาะเลี้ยงเซลล์ไข่ในหลอดทดลองต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การวางแผนการทดลอง

การศึกษานี้ใช้ตัวอย่าง ท่อนำไข่ และรังไข่ของสุกรสาวสายพันธุ์ทางการค้า (แลนด์เรซ × ลาร์จไวท์ × ดุริโอก) จำนวนทั้งหมด 318 ตัว โดยจัดกลุ่มทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design) แบ่งออกเป็น 2 การทดลองดังนี้ การทดลองที่ 1 ใช้สุกรสาวทั้งหมด 18 ตัว ซึ่งแบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม กลุ่มละ 3 ตัว ดังนี้ กลุ่มที่ 1 EHS 38.5°C. 12 ชม. กลุ่มที่ 2 EHS 38.5°C. 24 ชม. กลุ่มที่ 3 EHS 40°C. 12 ชม. กลุ่มที่ 4 EHS 40°C. 24 ชม. กลุ่มที่ 5 EHS 42°C. 12 ชม. และกลุ่มที่ 6 EHS 42°C. 24 ชม. และการทดลองที่ 2 ใช้สุกรสาวทั้งหมด 300 ตัว ซึ่งแบ่งออกเป็น 6 กลุ่ม กลุ่มละ 3 ตัว ดังนี้ กลุ่มที่ 1 OEC+EHS 38.5°C. 12 ชม. กลุ่มที่ 2 OEC+EHS 38.5°C. 24 ชม. กลุ่มที่ 3 OEC+EHS 40°C. 12 ชม. กลุ่มที่ 4 OEC+EHS 40°C. 24 ชม. กลุ่มที่ 5 OEC+EHS 42°C. 12 ชม. และกลุ่มที่ 6 OEC+EHS 42°C. 24 ชม.

จรรยาบรรณการใช้สัตว์ทดลอง

การใช้สัตว์ทดลองในงานวิจัยนี้ปฏิบัติตามข้อกำหนดในจรรยาบรรณการใช้สัตว์เพื่องานทดลองทางวิทยาศาสตร์ สภาวิจัยแห่งชาติ และภายใต้คำแนะนำของคณะกรรมการกำกับดูแลการเลี้ยงและใช้สัตว์ทดลอง ศูนย์สัตว์ทดลองมหาวิทยาลัยพะเยา เลขที่ UP-AE60-01-01-002

การเก็บตัวอย่างและการเพาะเลี้ยงเซลล์ที่ทำการศึกษา

เก็บตัวอย่างท่อนำไข่และรังไข่จากโรงฆ่าสัตว์ โดยสวมถุงมือที่สะอาด และใช้ใบมีดผ่าตัดทำการตัดรังไข่และท่อนำไข่จากซากของสุกร จากนั้นนำมาล้างด้วย Sodium chloride ความเข้มข้น 0.9% และนำไปแช่ในภาชนะที่ควบคุมอุณหภูมิประมาณ 35-38°C. และนำกลับไปยังห้องปฏิบัติการภายใน 1 ชั่วโมง ตามวิธีของ Kidson *et al.* (2003)

การเพาะเลี้ยงเซลล์เยื่อหุ้มท่อนำไข่

นำรังไข่และท่อนำไข่มาล้างด้วย Sodium chloride ความเข้มข้น 0.9% และใช้ใบมีดผ่าตัด ตัดแยกท่อนำไข่ในส่วนแอมพูลลา (Ampullar) และอิสมีส (Isthmus) ออกจากส่วนของกรวยปากแตร (Infundibulum) และนำมาล้างด้วย Phosphate Buffer Saline (PBS) 2 ครั้ง ใช้ใบมีดผ่าตัดผ่าท่อนำไข่ตามแนวยาวและขูดเยื่อหุ้มท่อนำไข่โดยใช้กระจกสไลด์ และทำการล้างเยื่อหุ้มท่อนำไข่ด้วย PBS 2 ครั้ง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 300 × g เป็นเวลา 3 นาที และทำการดูดของเหลวที่อยู่เหนือตะกอนทิ้ง ทำซ้ำกันสองครั้ง และย้ายมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเซลล์ M199 จากนั้นนำไปเลี้ยงในตู้เลี้ยงเซลล์ CO₂ incubator เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนำเยื่อหุ้มท่อนำไข่ส่วนหนึ่งมาแบ่งตามกลุ่มทดลองที่อุณหภูมิ 38.5, 40 และ 42°C. เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำมาตรวจสอบอัตราการมีชีวิตรอดด้วยอุปกรณ์ Hematocytometer ตามวิธีของ Kidson *et al.* (2003)

การเพาะเลี้ยงเซลล์ไข่ที่เลี้ยงร่วมกับเซลล์เยื่อหุ้มท่อนำไข่ในหลอดทดลอง

นำรังไข่มาล้างด้วย PBS 2 ครั้ง จากนั้นนำเข็มฉีดยาเบอร์ 18 ต่อกับกระบอกฉีดยาขนาด 15 ซีซี เพื่อทำการเจาะดูดเอา Cumulus-oocyte Complexes (COCs) ในรังไข่แล้วทำการคัดเลือกในงานเพาะเลี้ยงภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ที่กำลังขยาย 10X โดยทำการตัดไข่ที่มีชั้นเซลล์คิวมูลัส (Cumulus cell) ที่ล้อมรอบเซลล์ไข่ตั้งแต่ 3 ชั้นขึ้นไป และนำมาเลี้ยงร่วมกับเยื่อบุผิวท่อนำไข่ ตามวิธีของ Chen *et al.* (2007) แล้วนำไปศึกษาผลกระทบจากอุณหภูมิที่ 38.5, 40 และ 42°C. เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง ในตู้เพาะเลี้ยงเซลล์เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการบันทึกอัตราการพัฒนาของเซลล์ไข่จนถึงระยะ Metaphase II

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลพื้นฐานถูกวิเคราะห์โดยโปรแกรม R เวอร์ชัน 3.2.5 โดยอัตราการมีชีวิตรอดของเยื่อบุผิวท่อนำไข่ และอัตราการพัฒนาของเซลล์ไข่ ถูกเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยแบบ Least Significant Difference (LSD) โดยกำหนดความเชื่อมั่นที่ 99% ($P\text{-value} < 0.01$)

ผลการวิจัย

การศึกษาที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเยื่อบุผิวท่อนำไข่ในสุกรสาว

สัณฐานวิทยาของเยื่อบุผิวท่อนำไข่เมื่อนำมาเลี้ยงในหลอดทดลองในชั่วโมงที่ 0 พบว่าเซลล์เยื่อบุผิวท่อนำไข่มีลักษณะเป็นแผ่นมีรูปร่างหลายลักษณะไม่แน่นอน (Figure 1A) เมื่อทำการเลี้ยงถึงชั่วโมงที่ 12 พบว่ากลุ่มเซลล์ที่อยู่รวมกันเป็นแผ่นเริ่มเปลี่ยนรูปเป็นแผ่นวงกลม (Figure 1B) ชั่วโมงที่ 18 เริ่มสังเกตเห็นแผ่นวงกลมมีเซลล์เยื่อบุผิวท่อนำไข่มีขนเส้นเล็ก (Cilia) อยู่รอบๆ และเคลื่อนที่ได้ (Figure 1C) ชั่วโมง 24 สามารถแยกเซลล์เยื่อบุผิวท่อนำไข่ได้ออกจากเซลล์ชนิดอื่นได้จากการเคลื่อนที่อย่างชัดเจน (Figure 1D)

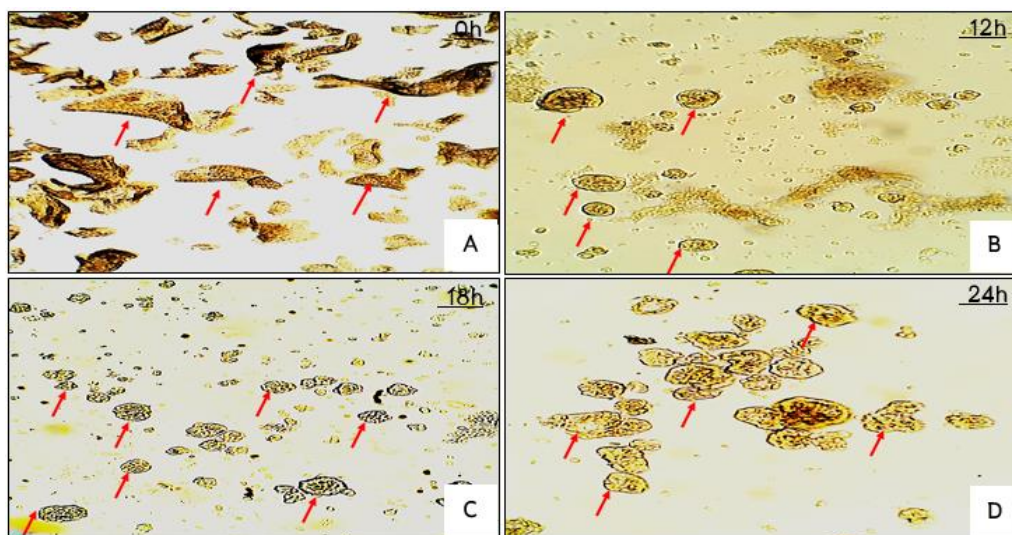


Figure 1 Morphology of oviduct epithelial cell after culture for 0, 12, 18 and 24 h (A) uncertainty shape of cultured oviduct epithelial cell at 0 h (B) round shape after culture of 12 h (C) cilia on epithelial cell at 18 h (D) movement of oviduct epithelial cell in culture medium at 24 h

การตรวจสอบอัตราการมีชีวิตของเซลล์เยื่อบุผิว ท่อนำไข่

ทำได้โดยนำเซลล์เยื่อบุผิวท่อนำไข่มาเลี้ยงในตู้เลี้ยงเซลล์ที่ปรับอุณหภูมิระดับ 38.5, 40, และ 42°C. เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ แล้วตรวจสอบอัตรา

การมีชีวิตรอดด้วยน้ำย้อมสี Trypan blue พบว่าเซลล์ที่มีชีวิตไม่มีการย้อมติดสี (Figure 2A) และเซลล์ที่ตายมีการย้อมติดน้ำเงิน Trypan blue ดังแสดงใน (Figure 2B)

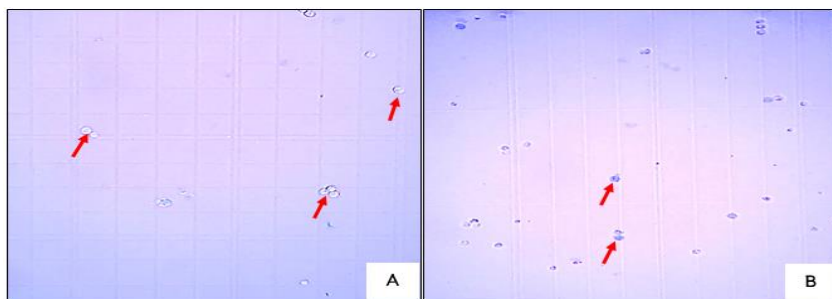


Figure 2 Morphology of living cells (A) and dead cells (B) after stained with Trypan blue

เลี้ยงเซลล์ที่อุณหภูมิ 38.5, 40 และ 42°C. เป็นระยะเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่าในกลุ่มที่ 1 มีอัตราการมีชีวิตรอด ($99.09 \pm 0.68\%$) สูงกว่ากลุ่มที่ 4 ($97.45 \pm 1.43\%$) กลุ่มที่ 5 ($95.90 \pm 2.29\%$) และกลุ่มที่ 6 ($95.88 \pm 1.89\%$) ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ 2 ($98.95 \pm 0.56\%$)

($P > 0.01$) กลุ่มที่ 3 ($97.59 \pm 1.31\%$) ($P > 0.01$) นอกจากนี้ กลุ่มที่ 2 ($98.95 \pm 0.56\%$) และกลุ่มที่ 3 ($97.59 \pm 1.31\%$) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ 4 ($97.45 \pm 1.43\%$) กลุ่มที่ 5 ($95.90 \pm 2.29\%$) และกลุ่มที่ 6 ($95.88 \pm 1.89\%$) ($P < 0.01$) และกลุ่มที่ 5 ($95.90 \pm 2.29\%$) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ 6 ($95.88 \pm 1.89\%$) ($P > 0.01$) ดังแสดงใน Table 1

Table 1 The viability rate of oviduct epithelial cell after exposed to different temperature

Treatment	Number of oviduct epithelial cell (n)	Viability rate (%) (mean $\pm$ SD)	Mortality rate (%) (mean $\pm$ SD)
OEC+EHS 38.5°C at 12 h	1,660	99.09 ± 0.68^c (1,645/1,660)	0.88 ± 0.66^a (15/1,660)
OEC+EHS 38.5°C at 24 h	1,659	98.95 ± 0.56^{bc} (1,642/1,659)	1.06 ± 0.55^{ab} (17/1,659)
OEC+EHS 40°C at 12 h	1,616	97.59 ± 1.31^{bc} (1,576/1,616)	2.44 ± 1.33^{bc} (40/1,616)
OEC+EHS 40°C at 24 h	1,663	97.45 ± 1.43^b (1,621/1,663)	2.57 ± 1.47^{bcd} (42/1,663)
OEC+EHS 42°C at 12 h	1,627	95.90 ± 2.29^a (1,562/1,627)	3.77 ± 2.41^{cd} (65/1,627)
OEC+EHS 42 °C at 24 h	1646	95.88 ± 1.89^a (1571/1,646)	4.14 ± 1.88^d (75/1,646)

Different superscripts (^{a, b, c}) with in same column are significantly different ($P < 0.01$).

OEC: Oviduct epithelial cell, EHS: Exposed heat shock, SD: Standard deviation

การศึกษาที่ 2 การเพาะเลี้ยงเซลล์ไข่ที่เลี้ยงร่วมกับเซลล์เยื่อหุ้มตัวอ่อนไข่ที่ถูกฮิทช็อคด้วยอุณหภูมิที่แตกต่างกันในสุกรสาว

รังไข่ของสุกรสาวถูกเก็บจากโรงเชือดทั้งหมด 300 ตัว จากนั้นคัดทิ้งเซลล์ไข่ในจานเพาะเลี้ยงที่มี Cumulus cell หุ้มน้อยกว่า 3 ชั้น (Figure 3A) แล้วทำการคัดเลือกเอาแต่เซลล์ไข่ที่มี Cumulus cell ตั้งแต่ 3 ชั้นขึ้นไป (Figure 3B) สำหรับใช้ในการทดลอง จากนั้นนำเซลล์ไข่มา

เลี้ยงร่วมกับเยื่อหุ้มตัวอ่อนไข่และนำไปฮิทช็อคในตู้เพาะเลี้ยงที่มีอุณหภูมิต่างกัน หลังจากเพาะเลี้ยงผ่านไป 22 ชั่วโมง ทำการประเมินคุณภาพของเซลล์ไข่เลี้ยงที่ห่อหุ้มรอบเซลล์ไข่ โดยดูจากการเกิดการแผ่ขยายออกเป็นวงกว้างของ Cumulus cell (Figure 3C) จากนั้นเลี้ยงจนถึง 44 ชั่วโมง และนำเซลล์ไข่ไปกำจัดเซลล์ไข่เลี้ยงออกด้วยเอนไซม์ Hyaluronidase เพื่อดูการพัฒนาของเซลล์ไข่ พบว่าเซลล์ไข่เกิดการพัฒาจนถึงระยะ Metaphase II (Figure 3D)

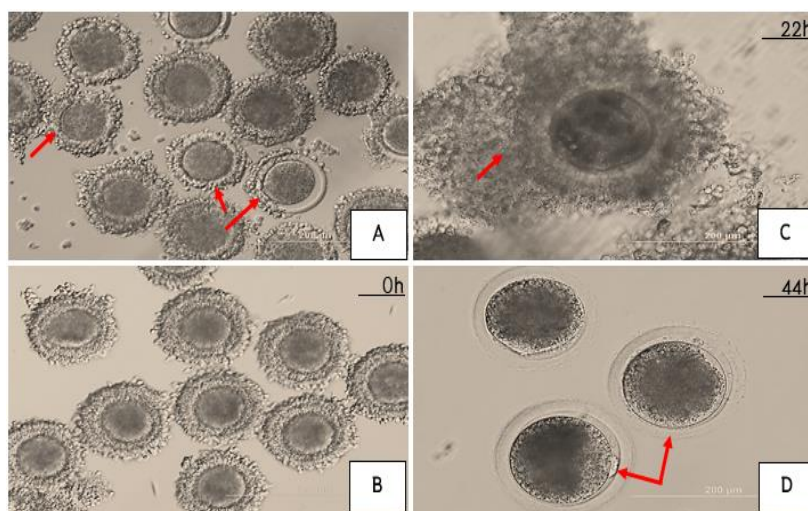


Figure 3 Morphology of oocytes during in vitro culture; (A) the remove the oocyst with layer of cumulus with less than 3 layers (Pointing red arrows), (B) selected oocytes with were used for culture its appearance of cumulus layers of oocytes covering 3 or more layers, (C) characteristics of the cumulus layer encapsulated around the oocytes expansion (Pointing red arrows). and (D) development of oocytes in Metaphase II stage

การขยายตัวของคิวมูลัสเซลล์ที่ล้อมรอบเซลล์ไข่หลังจากเลี้ยงด้วยอุณหภูมิที่แตกต่างกัน

ผลของความร้อนต่อการขยายตัวของคิวมูลัสเซลล์ที่รอบเซลล์ไข่หลังจากเพาะเลี้ยงเซลล์ไข่ผ่านไป 22 ชั่วโมง ในกลุ่มที่ 1 ($3.75 \pm 0.64 \mu\text{m}$) ซึ่งมีการขยายตัวของคิวมูลัสเซลล์สูงกว่ากลุ่มที่ 3 ($3.45 \pm 0.59 \mu\text{m}$) กลุ่มที่ 4 ($3.42 \pm 0.59 \mu\text{m}$) กลุ่มที่ 5 ($3.403 \pm 0.62 \mu\text{m}$) และกลุ่มที่ 6 ($3.40 \pm 0.62 \mu\text{m}$) ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มที่ 2 ($3.45 \pm 0.59 \mu\text{m}$)

($P > 0.01$) เมื่อทำการเพาะเลี้ยงไปถึงชั่วโมงที่ 44 พบว่าการขยายตัวของคิวมูลัสเซลล์ใน กลุ่มที่ 1 ($6.23 \pm 0.90 \mu\text{m}$) กลุ่มที่ 2 (6.21 ± 0.93) มีการขยายตัวของคิวมูลัสเซลล์สูงกว่ากลุ่มที่ 3 ($5.86 \pm 0.88 \mu\text{m}$) กลุ่มที่ 4 ($5.853 \pm 0.90 \mu\text{m}$) กลุ่มที่ 5 ($5.86 \pm 0.95 \mu\text{m}$) และกลุ่มที่ 6 ($5.70 \pm 1.09 \mu\text{m}$) ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มที่ 2 ($6.21 \pm 0.93 \mu\text{m}$) ($P > 0.01$) ดังแสดงใน Table 2

Table 2 Development rate of cumulus cells of COCs co-culture with oviduct epithelial cells from different heat shocked

Treatment	Number of oocytes cultured (n)	Development of cumulus cell		
		0 h ($\mu\text{m}\pm\text{SD}$)	22 h ($\mu\text{m}\pm\text{SD}$)	44 h ($\mu\text{m}\pm\text{SD}$)
COCs+OEC 38.5°C at 12 h	159	2.14 $\pm$ 0.15	3.75 $\pm$ 0.64 ^b	6.23 $\pm$ 0.90 ^b
COCs+OEC 38.5°C at 24 h	156	2.17 $\pm$ 0.15	3.64 $\pm$ 0.71 ^{ab}	6.21 $\pm$ 0.93 ^b
COCs+OEC 40°C at 12 h	161	2.15 $\pm$ 0.18	3.45 $\pm$ 0.59 ^a	5.86 $\pm$ 0.88 ^a
COCs+OEC 40°C at 24 h	158	2.13 $\pm$ 0.16	3.42 $\pm$ 0.59 ^a	5.85 $\pm$ 0.90 ^a
COCs+OEC 42°C at 12 h	160	2.14 $\pm$ 0.14	3.40 $\pm$ 0.62 ^a	5.86 $\pm$ 0.95 ^a
COCs+OEC 42°C at 24 h	160	2.13 $\pm$ 0.16	3.40 $\pm$ 0.62 ^a	5.70 $\pm$ 1.09 ^a

Different superscripts (^{a, b}) with in same column are significantly different ($P<0.01$).

COCs: Cumulus oocytes complexes, OEC: Oviduct epithelial cell, SD: Standard deviation

การพัฒนาของเซลล์ไข่ที่เลี้ยงร่วมกับเซลล์เยื่อบุผิว ท่อนำไข่ด้วยอุณหภูมิที่ต่างกัน

ผลของการเลี้ยงเซลล์ไข่ร่วมกับเยื่อบุผิวท่อนำไข่ที่ถูกฮีทช็อคด้วยความร้อน พบว่าการพัฒนาของเซลล์ไข่ในระยะ MII กลุ่มที่ 1 มีค่าเท่ากับ 67.21% กลุ่มที่ 2 มีค่า

เท่ากับ 66.13% กลุ่มที่ 3 มีค่าเท่ากับ 62.40% กลุ่มที่ 4 มีค่าเท่ากับ 61.81% กลุ่มที่ 5 มีค่าเท่ากับ 62.10% และกลุ่มที่ 6 มีค่าเท่ากับ 61.82% ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ดังแสดงใน Table 3

Table 3 Development rate of oocytes co-culture oviduct epithelium cell by heat shocked at different temperatures

Treatment	Number of oocytes cultured (n)	Development of oocytes	
		MII (%)	Degenerate (%)
IVM+OEC 38.5°C at 12 h	159	67.21 (107/159)	33.79 (52/159)
IVM+OEC 38.5°C at 24 h	156	66.13 (103/156)	33.87 (53/156)
IVM+OEC 40°C at 12 h	161	62.40 (101/161)	37.60 (60/161)
IVM+POEC 40°C at 24 h	158	61.81 (97/158)	38.19 (61/158)
IVM+POEC 42°C at 12 h	160	62.10 (99/160)	37.90 (64/160)
IVM+POEC 42°C at 24 h	160	61.82 (96/160)	38.17 (64/160)

IVM: *In vitro* maturation, OEC: Oviduct epithelial cell, SD: Standard deviation

วิจารณ์ผลการวิจัย

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์เยื่อใบโพธิ์ที่นำไข่ในหลอดทดลองที่พบจากการศึกษาในครั้งนี้ มีลักษณะทรงกระบอกและมีไมโครวิลไลล้อมรอบ ส่วนอีกชนิดหนึ่งมีลักษณะเป็นทรงกลม มีไมโครวิลไลล้อมรอบ และสามารถเคลื่อนไหวได้ ความร้อนมีผลต่ออัตราการมีชีวิตรอดของเซลล์เยื่อใบโพธิ์ที่นำไข่ โดยผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเมื่อเซลล์ยังได้รับอุณหภูมิสูงเป็นระยะเวลานาน ทำให้อัตราการมีชีวิตรอดลดลง และการศึกษาอัตราการพัฒนาของเซลล์ไข่ที่เลี้ยงร่วมกับเยื่อใบโพธิ์ที่นำไข่ที่ถูกกระตุ้นด้วยอุณหภูมิร้อนที่ต่างกันในหลอดทดลอง Chen *et al.* (2007) ได้รายงานว่าคุณสมบัติของ Cumulus cell ที่มีลักษณะติดกัน

แน่นแบนแผ่กระจายหลายชั้น เป็นดัชนีที่แสดงถึงความสมบูรณ์และแข็งแรงของเซลล์ไข่ และมีโอกาสพัฒนาไปจนถึงระยะ Metaphase II ได้ดีกว่าเซลล์ไข่ที่มีเซลล์ฟิเลียลล้อมรอบแบบไม่หนา ซึ่งในการทดลองนี้พบว่า กลุ่มที่ได้รับความร้อนสูงและเป็นระยะเวลานานมีอัตราการขยายจำนวนของ Cumulus cell ลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม นอกจากนี้ Kidson *et al.* (2003) รายงานว่า สาเหตุที่ทำให้เซลล์ไข่มีประสิทธิภาพในการพัฒนาเพิ่มขึ้น มาจากเซลล์เยื่อใบโพธิ์ที่นำไข่ที่ซื้อซีเลียล ซึ่งเซลล์ชนิดนี้สร้างและหลั่งสารไกลโคโปรตีนซึ่งพบที่ต่อมหลังสาร (Secretory granule) และ Growth factor จำพวก Insulin-like Growth Factor (IGF), Epidermal Growth Factor (EGF), Transforming Growth Factor (TGF) และ Fibroblast Growth Factors

(FGFs) ซึ่งสารเหล่านี้มีหน้าที่ช่วยกระตุ้นการพัฒนาของไข่และตัวอ่อนในระยะแรก และจากการศึกษาเกี่ยวกับการพัฒนาของเซลล์ไข่ที่นำมาเลี้ยงร่วมกับเซลล์เยื่อบุผิวท่อนำไข่ที่ถูกยึดติดด้วยอุณหภูมิ 38.5°C. เป็นเวลา 12 ชั่วโมง มีอัตราการพัฒนาของเซลล์ไข่ไปจนถึงระยะ Metaphase II ถึงร้อยละ 67.21 (107/159) ซึ่งมีอัตราการพัฒนาที่มากกว่ากลุ่มที่ 2 ร้อยละ 66.13 (103/156) กลุ่มที่ 3 ร้อยละ 62.40 (101/161) กลุ่มที่ 4 ร้อยละ 61.81 (97/158) กลุ่มที่ 5 ร้อยละ 62.10 (99/160) และกลุ่มที่ 6 ร้อยละ 61.81 (96/160) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแม้เซลล์ไข่จะถูกยึดติดด้วยอุณหภูมิร้อนแต่เซลล์เยื่อบุผิวท่อนำไข่ยังสามารถปรับปรุงคุณภาพของเซลล์ไข่ให้มีการเจริญเติบโตไปจนถึงระยะ Metaphase II ได้ ซึ่งมีเหตุผลสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Kidson *et al.*, (2003)

สรุปผลการวิจัย

การได้รับความร้อนสูงส่งผลต่อการมีชีวิตรอดของเซลล์เยื่อบุผิวท่อนำไข่ การขยายตัวของคิวมูลัสเซลล์ที่ล้อมรอบเซลล์ไข่ที่เลี้ยงในหลอดทดลองลดลง และการพัฒนาของเซลล์ไข่ที่เลี้ยงร่วมกับเซลล์เยื่อบุผิวท่อนำไข่ด้วยอุณหภูมิสูงมีแนวโน้มการพัฒนาลดลง

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. รัชสรรค์ พาลพ่าย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และผู้ช่วยศาสตราจารย์ น.สพ. ดร.อนุชา สธนวงศ์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ที่ได้ให้ความรู้คำแนะนำเกี่ยวกับเทคโนโลยีการเพาะเลี้ยงเซลล์ไข่ในหลอดทดลอง และการเพาะเลี้ยงตัวอ่อนในหลอดทดลอง และขอขอบคุณโรงเชือดอำเภอมะเมือง จังหวัดพะเยา ที่ได้อนุเคราะห์การเก็บตัวอย่างรังไข่สุกร

เอกสารอ้างอิง

- Chen, X.Y., Q.W. Li and J. Huang. 2007. Effects of ovarian cortex cell co-culture during *in vitro* maturation on porcine oocytes maturation, fertilization and embryo development. **Anim. Reprod. Sci.** 99(3-4): 306-316.
- Fazeli, A., A.E. Duncan and W.V. Holt. 1999. Sperm-oviduct interaction: induction of capacitation and preferential binding of uncapacitated spermatozoa to oviductal epithelial cells in porcine species. **Biol. Reprod.** 60(4): 879-886.
- Georgiou, A.S., E. Sostaric and H.D. Moore. 2005. A gametes alter the oviductal secretory proteome. **Mol Cell Proteomics.** 4(11): 1785-1796.
- Kidson, A., E. Schoevers and M. Bevers. 2003. The effect of oviductal epithelial cell co-culture during in maturation on sow oocyte morphology, fertilization and embryo development. **Theriogenology** 59(9): 1889-1903.
- Prunier, A., J.Y. Dourmad and M. Etienne. 1994. Effect of light regimen under various ambient temperatures on sow and litter performance. **J. Anim Sci.** 72(6): 1461-1466.

Romar, R., P. Coy and S. Ruiz. 2001. Effect of co-culture of porcine sperm and oocytes with porcine oviductal epithelial cells on *in vitro* fertilization. **Anim. Reprod. Sci.** 68(1-2): 85-98.

Wegner, K., C. Lambertz and M. Gauly. 2016. Effects of temperature and temperature-humidity index on the reproductive performance of sows during summer months under a temperate climate. **J. Anim. Sci.** 87(11): 1334-1339.

การพัฒนาปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์สำหรับการตรวจเชื้อ *Ehrlichia canis*
Hepatozoon canis และ *Babesia canis* จากเลือดสุนัข

Development of Multiplex Polymerase Chain Reaction for Simultaneous Detection
of *Ehrlichia canis*, *Hepatozoon canis* and *Babesia canis* in Canine Blood

ชัมัยพร นิธิกาจณ์พานิช เพ็ญญา ตาคำ และวศิน เจริญตันธนกุล*

Chamaiporn Nithikadpanich, Pennapa Takam and Wasin Charerntantanakul*

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

Program in Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

*Corresponding author: wasin@mju.ac.th

Received: May 03, 2018

Revised: September 25, 2018

Accepted: September 27, 2018

Abstract

This study developed multiplex polymerase Chain Reaction (mPCR) from our previous study that could detect only *Ehrlichia canis* and *Babesia canis* in canine blood. In this study, we developed mPCR for simultaneous detection of *VirB9* gene of *E. canis* and *18S rRNA* gene of *Hepatozoon canis* and *B. canis* in dog blood. Infection by *E. canis* (rickettsia), *H. canis* (protozoa), and *B. canis* (protozoa) causes canine ehrlichiosis, hepatozoonosis, and babesiosis, respectively. These three pathogens share brown dog ticks (*Rhipicephalus sanguineus*) as carrier. Infected dogs usually present anemia, fever and lethargy. Current diagnostic techniques include Wright Giemsa staining of thin blood smear, PCR and immunochromatographic assay for detection of specific antibody. Among these techniques, PCR had the highest sensitivity. However, it was time-consuming, particularly when it was used for detection of individual pathogen. The mPCR technique developed in this study should save time for simultaneous detection of these three pathogens.

Keywords: *Ehrlichia canis*, *Hepatozoon canis*, *Babesia canis*, multiplex PCR, blood

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้พัฒนาเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์ต่อเนื่องจากการศึกษาก่อนหน้าที่ตรวจได้เพียงเชื้อ *Ehrlichia canis* และ *Babesia canis* จากตัวอย่างเลือดสุนัข ในการศึกษาครั้งนี้ผู้วิจัยพัฒนาเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์เพื่อตรวจหา *VirB9* ของ *Ehrlichia canis* และ *18S rRNA* ของ *Hepatozoon canis* และ *Babesia canis* ในตัวอย่างเลือดของสุนัข การติดเชื้อ *E. canis* (ริกเกตเซีย) *H. canis* (โปรโตซัว) และ *B. canis* (โปรโตซัว) ก่อให้เกิดโรคเออลิซิโอสิส (*Ehrlichiosis*) โรคเฮปาทอซูโนสิส (*Hepatozoonosis*) และโรคบาบิซิโอสิส (*Babesiosis*) ในสุนัข ตามลำดับ เชื้อก่อโรคทั้งสามชนิดมีพาหะร่วมกัน คือ เห็บสุนัขสีน้ำตาล (*Rhipicephalus sanguineus*) สุนัขที่ติดเชื้อมักแสดงอาการโลหิตจาง เป็นไข้ และอ่อนเพลีย วิธีการวินิจฉัยโรคนี้ในปัจจุบันใช้วิธีการย้อมฟิล์มเลือดบางด้วยสี Wright-Giemsa วิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส และวิธี Immunochromatographic ซึ่งใช้ตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้อ ในวิธีการต่างๆ เหล่านี้ วิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสมีความไวในการตรวจพบเชื้อสูงที่สุด แต่ใช้ระยะเวลาการตรวจนานที่สุด โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อตรวจหาเชื้อก่อโรคทีละเชื้อ เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์ที่พัฒนาขึ้นนี้คาดว่าจะช่วยลดระยะเวลาในการวินิจฉัยโรคทั้งสามได้

คำสำคัญ: *Ehrlichia canis*, *Hepatozoon canis*, *Babesia canis* ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์ เลือด

คำนำ

โรคติดเชื้อพยาธิในเลือดของสุนัขเป็นโรคที่พบบ่อยในประเทศไทย โรคนี้มีพาหะ คือ เห็บสุนัขสีน้ำตาล (*Rhipicephalus sanguineus*) ที่มีเชื้อก่อโรคอยู่ภายในตัว

ได้แก่ เชื้อริกเกตเซีย เช่น *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia chaffeensis*, *Ehrlichia ewingii*, *Anaplasma phagocytophila* และ *Anaplasma platys* เป็นต้น เชื้อโปรโตซัว ได้แก่ *Hepatozoon canis*, *Babesia canis* และ *Babesia gibsoni* เป็นต้น และเชื้อแบคทีเรีย *Bartonella vinsonii* (Little, 2010; Baneth, 2011; Chomel, 2011; Solano-Gallego *et al.*, 2016) เชื้อก่อโรคที่พบได้บ่อยในประเทศไทย ได้แก่ เชื้อ *Ehrlichia canis*, *Hepatozoon canis* และ *Babesia canis* (Jittapalapong *et al.*, 2006; Laummaunwai *et al.*, 2014; Piratae *et al.*, 2015; Liu *et al.*, 2016) สุนัขติดเชื้อ *H. canis* จากการกินเห็บที่มีเชื้อ และติดเชื้อ *E. canis* และ *B. canis* จากการถูกเห็บที่มีเชื้อกัดและเชื้อถูกปล่อยผ่านทางน้ำลายของเห็บเข้าสู่กระแสเลือดของสุนัข (Pantchev *et al.*, 2015)

เชื้อพยาธิในเลือดของสุนัขมีเซลล์เป้าหมายที่แตกต่างกันโดยเชื้อ *E. canis*, *E. chaffeensis* และ *E. ewingii* มีเซลล์เป้าหมาย คือ เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์ (Monocyte) และลิมโฟไซต์ (Lymphocyte) เชื้อ *H. canis* มีเซลล์เป้าหมาย คือ เม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์และนิวโทรฟิล (Neutrophil) และเชื้อ *B. canis* มีเซลล์เป้าหมาย คือ เม็ดเลือดแดงของสุนัข (Skotarczak, 2003; Carrade *et al.*, 2009) เชื้อเหล่านี้มีระยะฟักตัวประมาณ 2-3 สัปดาห์ อาการทางคลินิกที่พบบ่อย ได้แก่ โลหิตจาง มีไข้ ซึม บางรายที่ติดเชื้อ *E. canis* จะมีเลือดกำเดาออกง่ายและอาจแสดงอาการทางประสาทร่วมด้วย ส่วนบางรายที่ติดเชื้อ *H. canis* อาจแสดงอาการเจ็บขาจนถึงเป็นอัมพาตของขาหลัง สัตว์อายุน้อยมักจะเสียชีวิตถ้าไม่ได้รับการวินิจฉัยที่ถูกต้องและได้รับการรักษาทันเวลา

การวินิจฉัยโรคติดเชื้อพยาธิในเลือดในปัจจุบันมีหลายวิธี วิธีที่นิยมที่สุด ได้แก่ การใช้ชุดตรวจสำเร็จรูป (Test kit) ซึ่งให้ผลตรวจรวดเร็วภายใน 8 นาที สามารถตรวจหาแอนติบอดี (Antibody) ต่อเชื้อ *E. canis*, *E. ewingii*, *Anaplasma phagocytophila* และ *Anaplasma platys* แต่ยังไม่สามารถตรวจหาแอนติบอดีต่อเชื้ออื่นๆ ได้ วิธีนี้มีข้อด้อย คือ สามารถบอกได้เพียงว่าสุนัขมี

แอนติบอดีต่อเชื้อ แต่ไม่สามารถบอกได้ว่าสุนัขกำลังติดเชื้ออยู่หรือไม่ แอนติบอดีที่ตรวจพบอาจจากการติดเชื้อครั้งก่อนไม่ใช่การติดเชื้อในปัจจุบัน วิธีการทำฟิล์มเลือดบาง (Thin blood smear) และย้อมด้วยสี Wright Giemsa เพื่อส่องหาตัวเชื้อด้วยกล้องจุลทรรศน์ วิธีนี้มีค่าใช้จ่ายน้อยแต่มีความไว (Sensitivity) ต่ำ ต้องอาศัยประสบการณ์และความชำนาญของผู้ตรวจ และวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส (Polymerase Chain Reaction; PCR) เพื่อตรวจหาชิ้นของเชื้อ ซึ่งมีทั้งวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบดั้งเดิม (Traditional PCR) โดยตรวจหาทีละเชื้อ และวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์เรียลไทม์ (Multiplex real-time PCR) ที่สามารถตรวจหาได้ตั้งแต่ 2 เชื้อขึ้นไป (Bell and Patel, 2005; Peleg *et al.*, 2010; Harrus and Waner, 2011; Allison and Little, 2013; Kongklieng *et al.*, 2014; René-Martellet *et al.*, 2015; Modrý *et al.*, 2017) ซึ่งวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์เรียลไทม์ต้องใช้เครื่องเพิ่มปริมาณสารพันธุกรรมแบบเวลาจริงที่มีราคาสูงมาก ไม่ได้มีใช้ในห้องปฏิบัติการทั่วไป วิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสมีความไวสูงและเป็นวิธีทางห้องปฏิบัติการที่ใช้ตรวจยืนยันการติดเชื้อพยาธิในเลือด แต่วิธีนี้มีค่าใช้จ่ายสูงมีขั้นตอนที่ซับซ้อนและใช้เวลานานกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่น

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาต่อยอดเทคนิคการตรวจหาเชื้อพยาธิในเลือดด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์ (Multiplex Polymerase Chain Reaction) โดยในงานวิจัยก่อนหน้านี้ผู้วิจัยได้พัฒนาเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์ที่สามารถตรวจหาเชื้อ *E. canis* และ *B. canis* พร้อมกันได้ (Nithikadpanich *et al.*, 2018) ในงานวิจัยนี้เทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์ถูกพัฒนาขึ้นให้สามารถตรวจหาเชื้อได้พร้อมกัน 3 ชนิด ได้แก่ *E. canis*, *H. canis* และ *B. canis* โดยเทคนิคที่พัฒนาขึ้นจะช่วยลดระยะเวลาการตรวจวินิจฉัยทาง

ห้องปฏิบัติการจากการใช้ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส ตรวจครวละ 1 ชนิดเชื้อ

อุปกรณ์และวิธีการ

ตัวอย่างเลือดสุนัข

ตัวอย่างเลือดของสุนัขจำนวนทั้งหมด 24 ตัวอย่าง ได้รับความอนุเคราะห์จากคลินิกรักษาสัตว์เอกชนแห่งหนึ่งในอำเภอสนทราย จังหวัดเชียงใหม่ โดยสัตวแพทย์เจาะเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดดำที่ขาหน้าของสุนัข (Cephalic vein) ปริมาตร 2 มล./ตัว เก็บตัวอย่างเลือดในหลอดที่มี EDTA เป็นสารกันเลือดแข็งตัวและเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C. ในระหว่างรอการสกัดดีเอ็นเอ

การสกัดดีเอ็นเอ

การสกัดดีเอ็นเอจากตัวอย่างเลือดต้องทำภายใน 6 ชั่วโมงหลังได้รับเลือด โดยปั่นตัวอย่างเลือดปริมาตร 30 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1 มล. ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 8,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25°C. นาน 1 นาที ทำซ้ำ 2 ครั้ง จากนั้นทิ้งสารละลายส่วนใสแล้วเติม 5% Chelex ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และ Proteinase K ปริมาตร 10 ไมโครลิตร (ความเข้มข้น 10 มก./มล.) ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 56°C. นาน 30 นาที และบ่มต่อที่อุณหภูมิ 95°C. นาน 10 นาที เมื่อครบเวลาวางไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปหมุนเหวี่ยงที่ 8,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25°C. นาน 1 นาที เก็บสารละลายส่วนใสใส่หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 1.6 มล. แล้วนำไปเก็บไว้ที่ -20°C. นำดีเอ็นเอที่สกัดได้ตรวจวัดหาคุณภาพและปริมาณของดีเอ็นเอด้วยเครื่อง NanoDrop 2000/2000C spectrophotometer V1.0 (Thermo Scientific, USA) ที่ความยาวคลื่น 230, 260 และ 280 นาโนเมตร โดยดีเอ็นเอที่สกัดได้มีค่า A260/280 อยู่ระหว่าง 1.8-2.0 และ A260/A230 อยู่ระหว่าง 2.1-2.2

การตรวจสอบยีน *VirB9* ของ *E. canis* และ *18S rRNA* ของ *H. canis* และ *B. canis*

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้มาเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของ ยีนเป้าหมายด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสด้วยชุด Quick

Taq[®] HS DyeMix (Toyobo, Japan) โดยใช้ไพรเมอร์ ดังแสดงใน Table 1

Table 1 Primer sequence for *VirB9* gene of *Ehrlichia canis* and *18S rRNA* gene for *Hepatozoon canis* and *Babesia canis*

Pathogen	Gene	Primer	Sequence (5'-3')	Conc. (nM)	Product size (bp)
<i>Ehrlichia canis</i>	<i>VirB9</i>	Ehr140F	CCATAAGCATAGCTGATAACCCTGTTACAA	500	380
		Ehr1780R	TGGATAATAAAACCGTACTATGTATGCTAG		
<i>Hepatozoon canis</i>	<i>18S</i>	HEMO3	TGTGTACAAAGGGCAGGGACG	500	462
	<i>rRNA</i>	HEMO4	GCGGCTTAATTTGACTCAACAC		
<i>Babesia canis</i>	<i>18S</i>	Ba103F	CCAATCCTGACACAGGGAGGTAGTGACA	500	619
	<i>rRNA</i>	Ba721R	CCCCAGAACCCAAAGACTTTGATTTCTCTCAAG		

สภาวะที่ใช้ในการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอของยีนเป้าหมายทั้ง 3 ยีนเหมือนกัน ได้แก่ Pre-denaturation (94^oซ. นาน 3 นาที จำนวน 1 รอบ) Denaturation (94^oซ. นาน 30 วินาที จำนวน 35 รอบ) Annealing (58^oซ. นาน 30 วินาที จำนวน 35 รอบ) Extension (68^oซ. นาน 30 วินาที จำนวน 35 รอบ) และ Final extension (72^oซ. นาน 10 นาที จำนวน 1 รอบ)

นำผลผลิตดีเอ็นเอที่ได้จากปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสมาแยกตามน้ำหนักโมเลกุลด้วยวิธีอิเล็กโทรโฟรีซิส (Electrophoresis) โดยใช้อะกาโรสเจล (Agarose gel) ที่ความเข้มข้น 1.5% และใช้ 1xTBE เป็นตัวนำไฟฟ้า ใช้กระแสไฟฟ้า 100 โวลต์ นาน 30 นาที ย้อมเจลด้วยเอทิดียมโบรไมด์ (Ethidium bromide) เพื่อให้เห็นแถบดีเอ็นเอ ตัดเจลของแถบดีเอ็นเอที่ขึ้นตรงตำแหน่งขนาด 380 bp (สำหรับยีน *VirB9*) 462 bp (สำหรับยีน *18S rRNA* ของ *H. canis*) และ 619 bp (สำหรับยีน *18S*

rRNA ของ *B. canis*) ใส่ในหลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 1.6 มล. เพื่อส่งหาลำดับนิวคลีโอไทด์ (Nucleotide sequencing) ที่บริษัท 1st Base จำกัด ประเทศมาเลเซีย เปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ได้กับลำดับนิวคลีโอไทด์ในฐานข้อมูล NCBI ด้วยโปรแกรม BLAST ใช้ดีเอ็นเอดังกล่าวเป็นกลุ่มควบคุมเชิงบวก (Positive control) ของปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์ต่อไป

การหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในขั้นตอน Annealing สำหรับปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์

เตรียมปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสที่มีสภาวะ Pre-denaturation (94^oซ. นาน 3 นาที จำนวน 1 รอบ) Denaturation (94^oซ. นาน 30 วินาที จำนวน 35 รอบ) Annealing (56, 58 หรือ 60^oซ. นาน 30 วินาที จำนวน 35 รอบ) Extension (68^oซ. นาน 30 วินาที จำนวน 35 รอบ) และ Final extension (72^oซ. นาน 10 นาที จำนวน 1 รอบ)

โดยใช้ไพรเมอร์ที่ความเข้มข้นอย่างละ 500 nM เปรียบเทียบความเข้มข้นของแถบดีเอ็นเอที่ได้ บันทึกภาพด้วยเครื่อง Gel documentation system (Gene Genius, Germany) เลือกอุณหภูมิ Annealing ที่สามารถให้ความเข้มข้นของแถบดีเอ็นเอของยีน *VirB9* และ *18S rRNA* มากที่สุด และไม่มีแถบดีเอ็นเอที่ไม่จำเพาะเกิดขึ้น เพื่อใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์ต่อไป

การหาความเข้มข้นของไพรเมอร์ที่เหมาะสม

เตรียมปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสที่มีสภาวะ Pre-denaturation (94°C. นาน 3 นาที จำนวน 1 รอบ) Denaturation (94°C. นาน 30 วินาที จำนวน 35 รอบ) Annealing (60°C. นาน 30 วินาที จำนวน 35 รอบ) Extension (68°C. นาน 30 วินาที จำนวน 35 รอบ) และ Final extension (72°C. นาน 10 นาที จำนวน 1 รอบ) ใช้ไพรเมอร์ที่ความเข้มข้นอย่างละ 500, 250, 125 และ 62.5 nM เปรียบเทียบความเข้มข้นของแถบดีเอ็นเอที่ได้ บันทึกภาพด้วยเครื่อง Gel documentation system (Gene Genius, Germany) เลือกความเข้มข้นของไพรเมอร์ที่ให้ความเข้มข้นของแถบดีเอ็นเอของยีน *VirB9* และ *18S rRNA* มากที่สุด และไม่มีแถบดีเอ็นเอที่ไม่จำเพาะเกิดขึ้น เพื่อใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์ต่อไป

การหาปริมาณดีเอ็นเอน้อยที่สุดที่สามารถตรวจพบยีน *VirB9* และ *18S rRNA* ได้ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส

เตรียมปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสที่มีสภาวะ Pre-denaturation (94°C. นาน 3 นาที จำนวน 1 รอบ) Denaturation (94°C. นาน 30 วินาที จำนวน 35 รอบ) Annealing (60°C. นาน 30 วินาที จำนวน 35 รอบ) Extension (68°C. นาน 30 วินาที จำนวน 35 รอบ) และ Final extension (72°C. นาน 10 นาที จำนวน 1 รอบ) ใช้ไพรเมอร์ที่ความเข้มข้นอย่างละ 500 nM และใช้ปริมาณดีเอ็นเอตั้งต้นที่ 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625 และ 0.3125 นาโนกรัม

เปรียบเทียบความเข้มข้นของแถบดีเอ็นเอที่ได้ บันทึกภาพด้วยเครื่อง Gel documentation system (Gene Genius, Germany)

การศึกษาความจำเพาะในการตรวจพบยีน *VirB9* และ *18S rRNA* ด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรส แบบมัลติเพล็กซ์ในตัวอย่างเลือดของสุนัขป่วย

นำตัวอย่างเลือดของสุนัขที่ตรวจพบยีน *VirB9* ของ *E. canis*, *18S rRNA* ของ *H. canis* และ *18S rRNA* ของ *B. canis* อย่างใดอย่างหนึ่งหรือรวมกันมาใช้ศึกษาหาความจำเพาะในการตรวจพบยีนดังกล่าวด้วยปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์ที่เพิ่มขึ้น โดยเตรียมปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์ที่มีสภาวะ Pre-denaturation (94°C. นาน 3 นาที จำนวน 1 รอบ) Denaturation (94°C. นาน 30 วินาที จำนวน 35 รอบ) Annealing (60°C. นาน 30 วินาที จำนวน 35 รอบ) Extension (68°C. นาน 30 วินาที จำนวน 35 รอบ) และ Final extension (72°C. นาน 10 นาที จำนวน 1 รอบ) ใช้ไพรเมอร์ที่ความเข้มข้นอย่างละ 500 nM และใช้ปริมาณดีเอ็นเอที่ 5 นาโนกรัม เปรียบเทียบแถบดีเอ็นเอที่ได้ บันทึกภาพด้วยเครื่อง Gel documentation system (Gene Genius, Germany)

ผลการวิจัยและวิจารณ์

เมื่อนำดีเอ็นเอซึ่งเตรียมขึ้นจากปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสด้วยคู่ไพรเมอร์ Ehr1401F/Ehr1780R, HEMO3/HEMO4 และ Ba103F/Ba721R มาวิเคราะห์ความเหมือนกับยีน *VirB9* ของเชื้อ *E. canis* และยีน *18S rRNA* ของเชื้อ *H. canis* และ *B. canis* ตามลำดับ ด้วยโปรแกรม BLAST กับฐานข้อมูล NCBI พบว่าชิ้นดีเอ็นเอที่เตรียมขึ้นมีความเหมือนกับยีน *VirB9* ของ *E. canis* และยีน *18S rRNA* ของ *H. canis* และ *B. canis* ร้อยละ 100 (Table 2)

Table 2 Nucleotide sequence homology of *VirB9* and *18S rRNA* PCR products compared to NCBI database following BLAST analysis

Homologous gene	Organism	GenBank accession No.	BLAST details			
			Max score	Query coverage	Identity	E-value
<i>VirB9</i>	<i>Ehrlichia canis</i>	AF546158	702	100%	100%	0.0
<i>18S rRNA</i>	<i>Hepatozoon canis</i>	KC138532	767	100%	100%	0.0
<i>18S rRNA</i>	<i>Babesia canis</i>	MG586235	1024	100%	100%	0.0

นำชิ้นดีเอ็นเอที่เตรียมได้มาใช้เป็นกลุ่มควบคุมเชิงบวก เพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในขั้นตอน Annealing เพื่อนำไปใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์ต่อไป โดยเลือกอุณหภูมิทดสอบ 3 อุณหภูมิ ได้แก่ 56, 58 และ 60°C. พบว่าที่อุณหภูมิ 60°C. สามารถตรวจพบแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดความยาวของนิวคลีโอไทด์ตรงกับที่ต้องการ

คือ 380 bp สำหรับ *E. canis* 462 bp สำหรับ *H. canis* และ 619 bp สำหรับ *B. canis* และมีความเข้มและความคมชัดมากกว่าที่อุณหภูมิ 56 และ 58°C. และไม่มีแถบดีเอ็นเอที่ไม่จำเพาะเกิดขึ้น (Figure 1) ดังนั้นจึงเลือกอุณหภูมิ 60°C. เป็นอุณหภูมิสำหรับขั้นตอน Annealing ในปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์ต่อไป

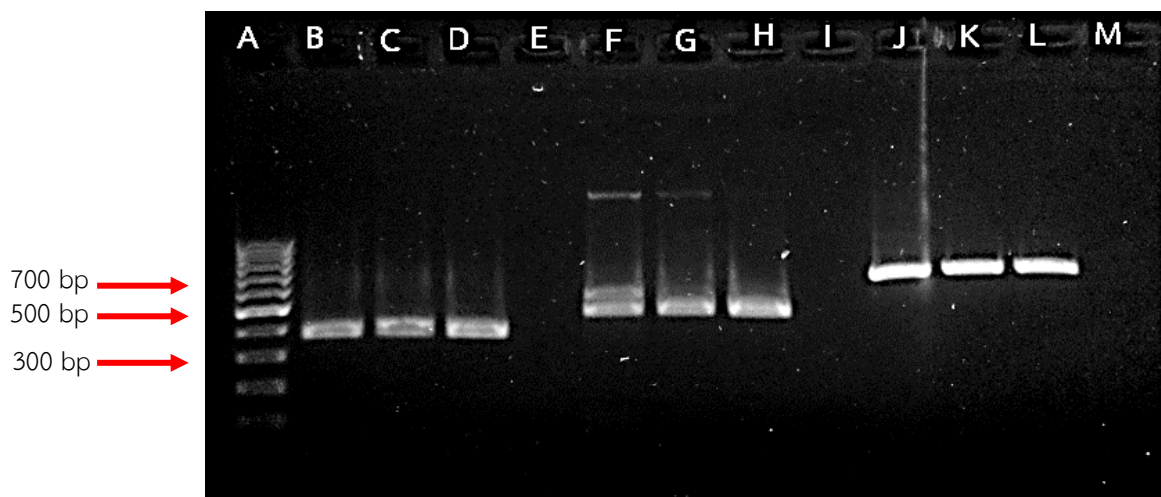


Figure 1 Optimization of annealing temperature (Lane A = Marker (100bp DNA ladder); B = *VirB9* gene of *E. canis* at 56°C; C = *VirB9* gene of *E. canis* at 58°C; D = *VirB9* gene of *E. canis* at 60°C; E = No DNA control for *VirB9* gene; F = *18S rRNA* gene of *H. canis* at 56°C; G = *18S rRNA* gene of *H. canis* at 58°C; H = *18S rRNA* gene of *H. canis* at 60°C; I = No DNA control for *18S rRNA* gene of *H. canis*; J = *18S rRNA* gene of *B. canis* at 56°C; K = *18S rRNA* gene of *B. canis* at 58°C; L = *18S rRNA* gene of *B. canis* at 60°C; M = No DNA control for *18S rRNA* gene of *B. canis*)

นำชิ้นดีเอ็นเอของกลุ่มควบคุมเชิงบวกมาศึกษาหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของไพรเมอร์ โดยเลือกความเข้มข้นที่ทดสอบ 4 ความเข้มข้น ได้แก่ 500, 250, 125 และ 62.5 nM พบว่าที่ความเข้มข้น 250 และ 500 nM สามารถตรวจพบแถบดีเอ็นเอที่มีขนาดความยาวของ

นิวคลีโอไทด์ตรงกับที่ต้องการ แต่แถบที่เกิดจากความเข้มข้น 500 nM มีความเข้มและความคมชัดมากกว่าที่ความเข้มข้น 250 nM (Figure 2) ดังนั้น จึงเลือกความเข้มข้นของไพรเมอร์ที่ 500 nM สำหรับใช้ในปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์ต่อไป

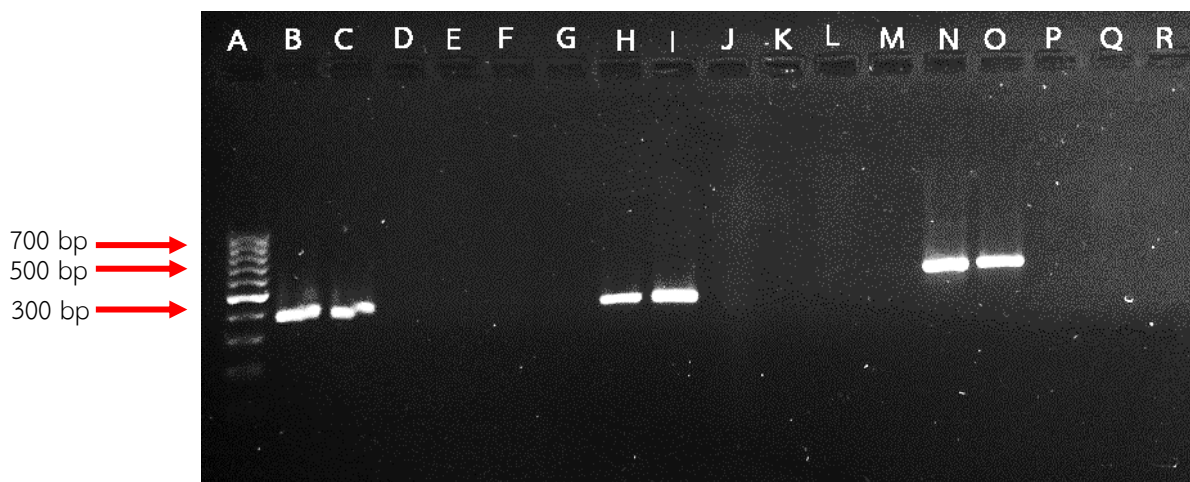


Figure 2 Optimization of primer concentration (A = Marker (100bp DNA ladder); B = *VirB9* gene of *E. canis* at 500 nM; C = *VirB9* gene of *E. canis* at 250 nM; D = *VirB9* gene of *E. canis* at 125 nM; E = *VirB9* gene of *E. canis* at 62.5 nM; F = No DNA control for *VirB9* gene; G = Empty lane; H = *18S rRNA* gene of *H. canis* at 500 nM; I = *18S rRNA* gene of *H. canis* at 250 nM; J = *18S rRNA* gene of *H. canis* at 125 nM; K = *18S rRNA* gene of *H. canis* at 62.5 nM; L = No DNA control for *18S rRNA* of *H. canis*; M = Empty lane; N = *18S rRNA* gene of *B. canis* at 500 nM; O = *18S rRNA* gene of *B. canis* at 250 nM; P = *18S rRNA* gene of *B. canis* at 125 nM; Q = *18S rRNA* gene of *B. canis* at 62.5 nM; R = No DNA control for *18S rRNA* of *B. canis*)

นำชิ้นดีเอ็นเอของกลุ่มควบคุมเชิงบวกมาศึกษาต่อเพื่อหาปริมาณดีเอ็นเอตั้งต้นที่น้อยที่สุดที่ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสสามารถตรวจพบได้ โดยศึกษาปริมาณดีเอ็นเอตั้งต้นที่ 10, 5, 2.5, 1.25, 0.625 และ 0.3125

นาโนกรัม พบว่าปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสสามารถตรวจพบแถบดีเอ็นเอที่เห็นได้ชัดของทั้งยีน *VirB9* ของ *E. canis* และ *18S rRNA* ของ *H. canis* และ *B. canis* ได้ที่ปริมาณดีเอ็นเอตั้งต้นเริ่มต้น 5 นาโนกรัม (Figure 3)

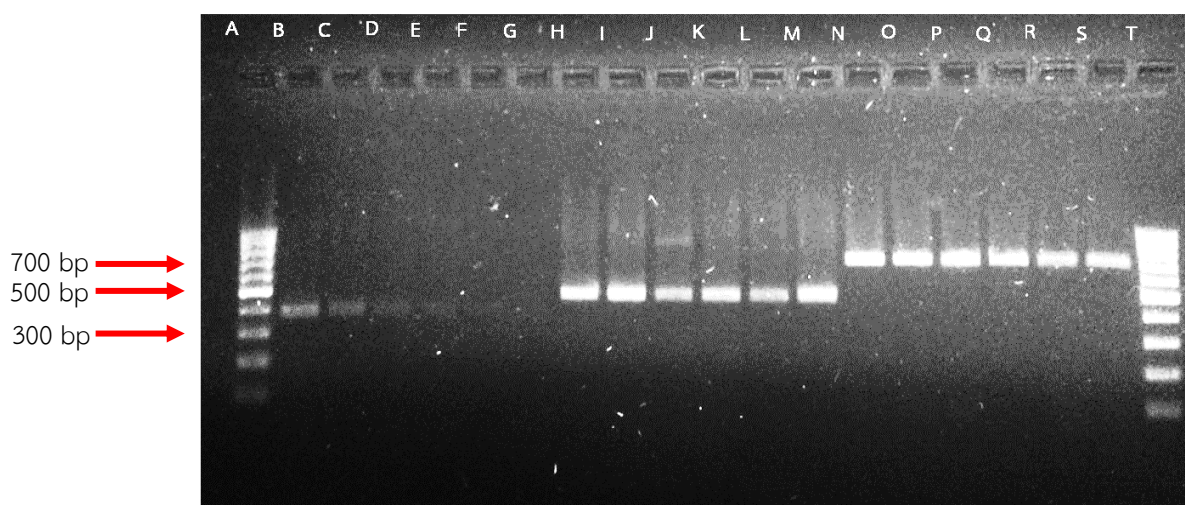


Figure 3 Determination of least detectable DNA template quantity by PCR (A = Marker (100bp DNA ladder); B = *VirB9* gene of *E. canis* at 10 ng; C = *VirB9* gene of *E. canis* at 5 ng; D = *VirB9* gene of *E. canis* at 2.5 ng; E = *VirB9* gene of *E. canis* at 1.25 ng; F = *VirB9* gene of *E. canis* at 0.625 ng; G = *VirB9* gene of *E. canis* at 0.3125 ng; H = *18S rRNA* gene of *H. canis* at 10 ng; I = *18S rRNA* gene of *H. canis* at 5 ng; J = *18S rRNA* gene of *H. canis* at 2.5 ng; K = *18S rRNA* gene of *H. canis* at 1.25 ng; L = *18S rRNA* gene of *H. canis* at 0.625 ng; M = *18S rRNA* gene of *H. canis* at 0.3125 ng; N = *18S rRNA* gene of *B. canis* at 10 ng; O = *18S rRNA* gene of *B. canis* at 5 ng; P = *18S rRNA* gene of *B. canis* at 2.5 ng; Q = *18S rRNA* gene of *B. canis* at 1.25 ng; R = *18S rRNA* gene of *B. canis* at 0.625 ng; S = *18S rRNA* gene of *B. canis* at 0.3125 ng; T = DNA Marker)

ศึกษาความจำเพาะของปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์ที่พัฒนาขึ้นกับตัวอย่างดีเอ็นเอที่แยกได้จากเลือดสุนัขที่ป่วยจากการติดเชื้อ *E. canis*, *H. canis* หรือ *B. canis* อย่างใดอย่างหนึ่งหรือร่วมกัน พบว่าจากตัวอย่างเลือดสุนัขที่ติดเชื้อ *E. canis* เพียงอย่างเดียว ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์ที่พัฒนาขึ้นสามารถสร้างแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลตรงกับยีน *VirB9* ของ *E. canis* และไม่สร้างแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลตรงกับยีน *18S rRNA* ของ *H. canis* และ *B. canis* และจากตัวอย่างเลือดสุนัขที่ติดเชื้อ *H. canis* หรือ *B. canis* เพียงอย่างเดียว ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์ที่พัฒนาขึ้นสามารถสร้างแถบดีเอ็นเอที่มี

น้ำหนักโมเลกุลตรงกับยีน *18S rRNA* ของ *H. canis* และ *B. canis* และไม่สร้างแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลตรงกับยีน *VirB9* ของ *E. canis* และจากตัวอย่างเลือดสุนัขที่ติดเชื้อทั้ง *E. canis*, *H. canis* และ *B. canis* ปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์ที่พัฒนาขึ้นสามารถสร้างแถบดีเอ็นเอที่มีน้ำหนักโมเลกุลตรงกับทั้งยีน *VirB9* ของ *E. canis* และ *18S rRNA* ของ *H. canis* และ *B. canis* (Figure 4) ซึ่งผลการศึกษานี้บ่งชี้ว่าปฏิกิริยาลูกโซ่โพลิเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์ที่พัฒนาขึ้นมีความจำเพาะในการตรวจพบยีน *VirB9* ของ *E. canis* และ *18S rRNA* ของ *H. canis* และ *B. canis*

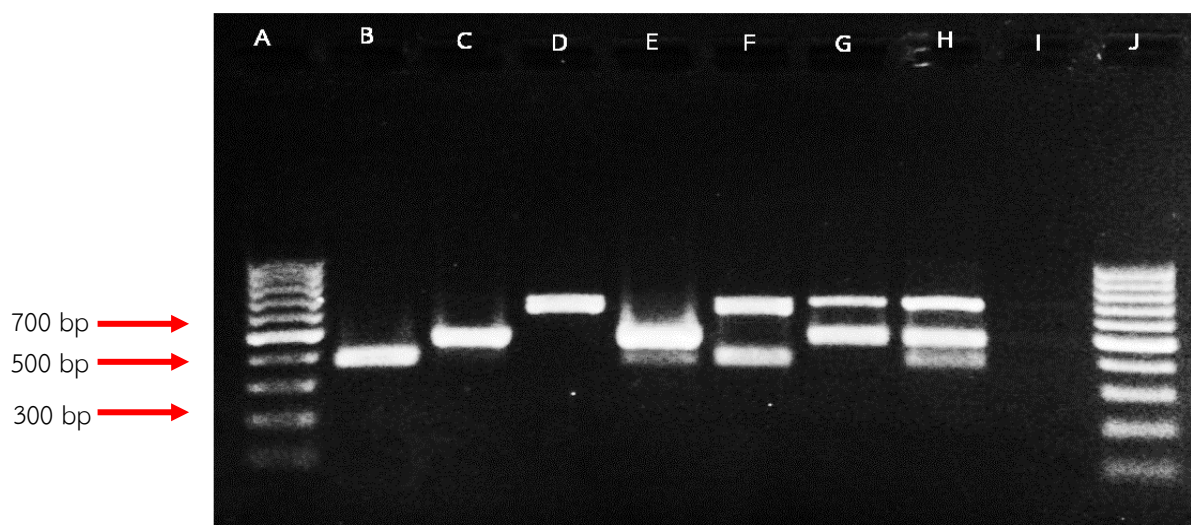


Figure 4 Specificity of multiplex PCR (A = Marker (100bp DNA ladder); B = *VirB9* gene of *E. canis*; C = *18S rRNA* gene of *H. canis*; D = *18S rRNA* gene of *B. canis*; E = blood sample positive to *VirB9* gene of *E. canis* and *18S rRNA* gene of *H. canis*; F = blood sample positive to *VirB9* gene of *E. canis* and *18S rRNA* gene of *B. canis*; G = blood sample positive to *18S rRNA* gene of *H. canis* and *B. canis*; H = blood sample positive to *VirB9* gene of *E. canis* and *18S rRNA* gene of *H. canis* and *B. canis*; I = No DNA control; J = Marker (100bp DNA ladder))

ผลการศึกษานี้จะเป็นประโยชน์ต่อการวินิจฉัยการติดเชื้อ *E. canis*, *H. canis* และ *B. canis* ในสุนัข โดยช่วยลดระยะเวลาในการตรวจทางห้องปฏิบัติการลง เพราะสามารถตรวจหา 3 เชื้อพร้อมกันได้ในเวลาเดียวกัน และช่วยลดค่าใช้จ่ายของเจ้าของสุนัขในการตรวจวินิจฉัยโรคทางห้องปฏิบัติการด้วย

สรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้พัฒนาเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์เพื่อตรวจหา *VirB9* ของ *E. canis* และ *18S rRNA* ของ *H. canis* และ *B. canis* เพื่อช่วยในการวินิจฉัยทางห้องปฏิบัติการต่อโรคติดเชื้อทั้งสามชนิดนี้

ในสุนัข ผลที่ได้จากการศึกษานี้ คือ สภาวะที่เหมาะสมของปฏิกิริยาลูกโซ่โพลีเมอเรสแบบมัลติเพล็กซ์ที่สามารถตรวจพบ *VirB9* ของ *E. canis* และ *18S rRNA* ของ *H. canis* และ *B. canis* ได้อย่างแม่นยำ และประโยชน์ที่ได้จากการศึกษานี้ คือ การช่วยลดระยะเวลาของการตรวจวินิจฉัยโรคติดเชื้อ *E. canis*, *H. canis* และ *B. canis* ในสุนัข

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ได้สนับสนุนทุนการวิจัยประจำปี พ.ศ. 2560 และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือในการทำงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วง

เอกสารอ้างอิง

- Allison, R.W. and S.E. Little. 2013. Diagnosis of rickettsial diseases in dogs and cats. **Veterinary Clinical Pathology** 42(2): 127-144.
- Baneth, G. 2011. Perspectives on canine and feline hepatozoonosis. **Veterinary Parasitology** 181(1): 3-11.
- Bell, C.A. and R. Patel. 2005. A real-time combined polymerase chain reaction assay for the rapid detection and differentiation of *Anaplasma phagocytophilum*, *Ehrlichia chaffeensis*, and *Ehrlichia ewingii*. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease** 53: 301-306.
- Carrade, D.D., J.E. Foley, D.L. Borjesson and J.E. Sykes. 2009. Canine granulocytic anaplasmosis: a review. **Journal of Veterinary Internal Medicine** 23: 1129-1141.
- Chomel, B. 2011. Tick-borne infections in dogs- an emerging infectious threat. **Veterinary Parasitology** 179(4): 294-301.
- Harrus, S. and T. Waner. 2011. Diagnosis of canine monocytotropic ehrlichiosis (*Ehrlichia canis*): an overview. **The Veterinary Journal** 187: 292-296.
- Jittapalapong, S., O. Rungphisutthipongse, S. Maruyama, J.J. Schaefer and R.W. Stich. 2006. Detection of *Hepatozoon canis* in stray dogs and cats in Bangkok, Thailand. **Annals of the New York Academy of Sciences** 1081: 479-488.
- Kongklieng, A., T. Thanchomnang, P.M. Intapan, T. Boonmars, P. Janwan, O. Sanpool, V. Lulitanond, P. Taweethavonsawat, S. Chungpivat, N. Morakote and W. Maleewong. 2014. Detection of *Ehrlichia canis* in canine blood samples by real-time fluorescence resonance energy transfer (FRET) PCR and melting curve analysis. **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health** 45(5): 1149-1156.
- Laummaunwai, P., P. Sriraj, R. Aukkanimart, T. Boonmars, S. Boonjaraspinyo, S. Sangmaneeet , P. Potchimplee, P. Khianman and W. Maleewong. 2014. Molecular detection and treatment of tick-borne pathogens indomestic dogs in Khon Kaen, Northeastern Thailand. **The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health** 45(5): 1157-1166.
- Little, S.E. 2010. Ehrlichiosis and anaplasmosis in dogs and cats. **Veterinary Clinics of North America; Small Animal Practice** 40(6): 1121-1140.

- Liu, M., N. Ruttayaporn, V. Saechan, C. Jirapattarasate, P. Vudriko, P.F. Moumouni, S. Cao, T. Inpankaew, A.P. Ybañez, H. Suzuki and X. Xuan. 2016. Molecular survey of canine vector-borne diseases in stray dogs in Thailand. **Parasitology International** 65(4): 357-361.
- Modrý, D., R. Beck, K. Hrazdilová and G. Baneth. 2017. A review of methods for detection of hepatozoon infection in carnivores and arthropod vectors. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases** 17(1): 66-72.
- Nithikadpanich, C., R. Praphruet, N. Inkeawpoungkham, N. Peepim, T. Khemasathid and W. Charentantanakul. 2018. Development of multiplex polymerase chain reaction for the detection of *Babesia* spp. and *Ehrlichia canis* in dog blood. **Journal of Agricultural Research and Extension** 35(2): 34-43. [in Thai]
- Pantchev, N., S. Pluta, E. Huisinga, S. Nather, M. Scheufelen, M.G. Vrhovec, A. Schweinitz, H. Hampel and R.K. Straubinger. 2015. Tick-borne Diseases (Borreliosis, Anaplasmosis, Babesiosis) in German and Austrian dogs: status quo and review of distribution, transmission, clinical findings, diagnostics and Prophylaxis. **Parasitology Research** 114 (Suppl 1): S19-54.
- Peleg, O., G. Baneth, O. Eyal, J. Inbar and S. Harrus. 2010. Multiplex real-time qPCR for the detection of *Ehrlichia canis* and *Babesia canis vogeli*. **Veterinary Parasitology** 173: 292-299.
- Piratae, S., K. Pimpjong, K. Vaisusuk and W. Chatan. 2015. Molecular detection of *Ehrlichia canis*, *Hepatozoon canis* and *Babesia canis vogeli* in stray dogs in Mahasarakham province, Thailand. **Annals of Parasitology** 61(3): 183-187.
- René-Martellet, M., I. Lebert, J. Chêne, R. Massot, M. Leon, A. Leal, S. Badavelli, K. Chalvet-Monfray, C. Ducrot, D. Abrial, L. Chabanne and L. Halos. 2015. Diagnosis and incidence risk of clinical canine monocytic ehrlichiosis under field conditions in Southern Europe. **Parasites & Vectors** 8: 3.
- Skotarczak, B. 2003. Canine ehrlichiosis. **Annals of Agricultural and Environmental Medicine** 10: 137-141.
- Solano-Gallego, L., A. Sainz, X. Roura, A. Estrada-Peña and G. Miró. 2016. A review of canine babesiosis: the European perspective. **Parasites & Vectors** 9(1): 336.

การศึกษาการทำเครื่องประดับจากปีกแมลงทับและแนวทางการอนุรักษ์แมลงทับ
ในอำเภอกุฉินารายณ์ จังหวัดสกลนคร

The Study of Jewelry Making from Metallic Woodboring Beetle's Wings
and Conservation Guidelines in Phu Phan District, Sakon Nakhon Province

อนุรักษ์ เครือคำ^{1*} รัตติยาภรณ์ บุญทวีไพศาล¹ และพุฒิสรรค์ เครือคำ²

Anurak Khruetakham^{1*}, Rattiyaporn Boonthaveepaisarn¹ and Phutthisun Kruekum²

¹กองบริหารการวิจัยและบริการวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติ สกลนคร 47000

²สาขาวิชาการพัฒนาส่งเสริมและนิเทศศาสตร์เกษตร คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

¹Division of Research Administration and Academic Services, Kasetsart University Chalermphrakiat
Sakon Nakhon Province Campus, Sakon Nakhon, Thailand 47000

²Department of Agricultural Development, Extension and Communication, Faculty of Agricultural Production
Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

*Corresponding author: bay_o_9@hotmail.com

Received: November 02, 2018

Revised: January 21, 2019

Accepted: February 08, 2019

Abstract

This research aimed to study the jewelry making from metallic woodboring beetle's wings and conservation of metallic woodboring beetles, opinions of the public for understanding of the value and importance of metallic woodboring beetles, conserving the forest, and using metallic woodboring beetles under appropriate and sustainable ways. The results found that there were six styles for jewelry decoration using metallic woodboring beetles at Ban Kampeom, Tambon Kokphoo, Phu Phan district, Sakon Nakhon province as follows: brooches, necklaces, earrings, key chains, barrettes and wall picture.

For the opinions on the value and importance of metallic woodboring beetles conservation, problems and guidelines for metallic woodboring beetles conservation, the researchers organized using the stage for the villagers' meeting at the Non-Chareon village, Tambon Kok-Prasew, Phu Phan district, Sakon Nakhon province by 25 participants. The results were found as follows:

1. Opinions level of the public to understand the value and importance of conservation of metallic woodboring beetles, of the forest and the use of the metallic woodboring beetles in appropriate ways were highly agreed.

2. Problems related to the conservation of metallic woodboring beetles found that most villagers were knowledgeable about the life cycle of metallic woodboring beetles. Catching metallic woodboring beetles by the villagers in Non-Chareon was mainly for food. Too many people from other places came to the area to catch metallic woodboring beetles in the region for sale. However, villagers were not able to control outsiders' catching metallic woodboring beetles in the area. Additionally, they have no prevention of catching insects during the spawning season.

3. Guidelines for the sustainable conservation of metallic woodboring beetles should definitely be set the schedule for metallic woodboring beetles catch by promoting privatization of metallic woodboring beetles that people used to make jewelry. Setting the regulation for metallic woodboring beetles conservation and making the campaign signs to prevent the catch during the spawning season were recommended. Planting trees for metallic woodboring beetles' food, setting up a community forest and establishing a forest project every year focusing on areas for the insects' food were also suggested. The conservation of the forest area with clear label zoning and having the village committee should be strengthen up and taken care of preventing the metallic woodboring beetles' catch in the area of conservation. The villagers should focus on eco-tourism which should be held during August-September when a large number of metallic woodboring beetles exist in the area. In addition, regulations or resolutions should be made known to the public not to catch the insects during the spawning season. After preparation of resolutions, a letter should be sent to the village government and announcement of the resolutions should be made on the radio to promote the resolutions of the village.

Keywords: metallic woodboring beetles, conservative approach, jewelry

บทคัดย่อ

การศึกษาการทำเครื่องประดับจากปีกแมลงทับ และแนวทางการอนุรักษ์แมลงทับ มีวัตถุประสงค์เพื่อ ศึกษาการทำเครื่องประดับจากปีกแมลงทับ ศึกษาระดับ ความคิดเห็นต่อคุณค่าและความสำคัญของการอนุรักษ์ แมลงทับ ปัญหาและแนวทางการอนุรักษ์แมลงทับ เพื่อให้ ประชาชนเห็นคุณค่าความสำคัญของการอนุรักษ์แมลงทับ และป่าไม้และการใช้ประโยชน์จากแมลงทับอย่างถูกต้อง

พบว่าการทำเครื่องประดับจากปีกแมลงทับของกลุ่ม เครื่องประดับปีกแมลงทับเพชรพลอย บ้านคำเพิ่ม ตำบลโคกภู อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร มีการทำ เครื่องประดับจากปีกแมลงทับ จำนวน 6 ประเภท ได้แก่ เข็มกลัดแมลงทับ สร้อยคอ ต่างหู พวงกุญแจ ปิ่นปักผม และภาพติดฝาผนัง

ความคิดเห็นต่อคุณค่าและความสำคัญของการ อนุรักษ์แมลงทับ ปัญหาและแนวทางในการอนุรักษ์แมลงทับ คณะผู้วิจัยได้ดำเนินการจัดทำเวทีชาวบ้าน ณ หมู่บ้าน

โนนเจริญ ตำบลกกปลาซิว อำเภอกุฉินารายณ์ จังหวัดสกลนคร โดยมีผู้เข้าร่วม จำนวน 25 คน พบว่า

1. การศึกษาระดับความคิดเห็นต่อคุณค่าและความสำคัญของการอนุรักษ์แมลงทับและป่าไม้ การใช้ประโยชน์จากแมลงทับอย่างถูกต้อง พบว่ากลุ่มตัวอย่างมีความคิดเห็นเกี่ยวกับคุณค่าและความสำคัญของการอนุรักษ์แมลงทับและป่าไม้อยู่ในระดับมาก

2. ปัญหาเกี่ยวกับการอนุรักษ์แมลงทับ กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีความรู้เกี่ยวกับวงจรของแมลงทับ การจับแมลงทับของชาวบ้านโนนเจริญ เป็นการจับเพื่อนำไปประกอบอาหารเท่านั้น แต่มีคนต่างถิ่นเข้ามาจับแมลงทับในพื้นที่เป็นจำนวนมากและในปริมาณมาก เพื่อนำไปจำหน่าย ชาวบ้านไม่สามารถควบคุมดูแลการจับแมลงทับของคนต่างถิ่นที่เข้ามาจับแมลงทับในพื้นที่ และขาดมาตรการเฝ้าระวังการจับแมลงทับในฤดูวางไข่

3. แนวทางการอนุรักษ์แมลงทับแบบยั่งยืน ควรดำเนินการ ดังนี้ กำหนดช่วงในการจับแมลงทับให้ชัดเจน ห้ามตัดไม้ทำลายป่าในพื้นที่ที่มีแมลงทับ ห้ามบุคคลภายนอกเข้ามาจับแมลงทับ ส่งเสริมการแปรรูปแมลงทับ ให้หน่วยงานราชการหาแนวทางในการป้องกันเขตพื้นที่เพื่อไม่ให้บุคคลภายนอกเข้ามาจับแมลงทับในฤดูวางไข่ออกกฎหมายบังคับในการอนุรักษ์แมลงทับ ทำป้ายรณรงค์ห้ามจับแมลงทับในฤดูวางไข่ ปลูกต้นไม้ที่เป็นอาหาร แมลงทับ สร้างป่าชุมชน และจัดทำโครงการปลูกป่าทุกๆ ปี โดยเน้นพื้นที่ป่าเพื่อการอนุรักษ์และเพื่อเป็นอาหารให้ชัดเจน โดยมีการปักป้ายแบ่งเขตให้แน่นอน ห้ามตัดต้นไม้บริเวณที่มีแมลงทับโดยให้เป็นมติของหมู่บ้าน ประชาสัมพันธ์การห้ามจับแมลงทับในฤดูวางไข่ทางเสียงตามสาย สถานีวิทยุ สร้างจิตสำนึกให้กับคนในหมู่บ้านไม่ให้จับแมลงทับในฤดูวางไข่ จัดการท่องเที่ยวเชิงนิเวศในช่วงเดือนสิงหาคม-กันยายน ของทุกปี และหน่วยงานราชการต้องร่วมมือกับชาวบ้านอนุรักษ์แมลงทับอย่างจริงจัง

คำสำคัญ: แมลงทับ แนวทางการอนุรักษ์ เครื่องประดับ

คำนำ

มีผู้ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับชื่อสามัญและวงศ์ของแมลงทับไว้หลายท่าน ได้แก่ Kerremanns (1903); Linsenmaier (1972); Ohmomo and Akiyama (1972); Richard and Davies (1977) โดยมีรายละเอียดดังนี้ แมลงทับเป็นแมลงปีกแข็งที่มีปีกสีเขียวแวววาว หนวดสั้น มีรูปร่างหยักคล้ายฟันเลื่อย มีวงจรชีวิตประมาณหนึ่งปี มีชื่อสามัญว่า Metallic woodboring beetle อยู่ในวงศ์ Buprestidae ในอันดับ Coleoptera แมลงทับนั้นนับว่าเป็นแมลงที่อาภัพ เพราะมีวงจรชีวิตเพียง 1 ปี แต่ใช้ชีวิตส่วนใหญ่อยู่ในดินอย่างน้อย 11 เดือน นับตั้งแต่ระยะไข่จนเป็นตัวหนอนเป็นดักแด้แล้วจึงโตเต็มวัย ช่วงโตเต็มวัยแมลงทับมีระยะเวลาเพียง 3-4 สัปดาห์ ในการผสมพันธุ์เท่านั้น ซึ่งอยู่ระหว่างเดือนมิถุนายนถึงเดือนกันยายน หลังจากนั้นก็จะตายไป

ประเทศไทยพบแมลงทับ 2 ชนิด คือ แมลงทับขาเขียวและแมลงทับขาแดง แมลงทับทั้งสองชนิดนี้พบอยู่ทั่วทุกภาคของประเทศไทย แต่พบมากที่สุดที่ภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เนื่องจากสีและรูปร่างของปีกแมลงทับสามารถอยู่คงทนถาวรไม่ซีดหรือหลุดโรมหด ดังนั้น สมเด็จพระนางเจ้าสิริกิติ์ พระบรมราชินีนาถ พระบรมราชชนนีพันปีหลวง ได้ทรงพบเห็นศิลปหัตถกรรมที่ทำมาจากปีกแมลงทับ จึงมีพระราชดำริให้นำปีกแมลงทับมาทดลองประกอบเป็นเครื่องประดับต่างๆ และได้ทรงมอบหมายให้ทางมูลนิธิส่งเสริมศิลปาชีพฯ นำปีกแมลงทับมาประดิษฐ์เป็นผลิตภัณฑ์เพื่อเผยแพร่งานทางศิลปหัตถกรรมทั้งในประเทศและต่างประเทศต่อไป (Khaosod, 1993)

การทำเครื่องประดับจากปีกแมลงทับในอำเภอกุฉินารายณ์ จังหวัดสกลนคร เริ่มต้นขึ้นเมื่อปี พ.ศ. 2527 โดยนายปรามิทธิ์ เจริญพฤษ์วัฒนา ซึ่งเคยเป็นช่างทำหัตถกรรมเครื่องประดับเพชรพลอย ได้ย้ายถิ่นฐานมาอยู่อาศัยที่บ้านคำเพิ่ม และได้เห็นว่าในพื้นที่อำเภอกุฉินารายณ์ซึ่งอยู่ในอุทยาน

แห่งชาติภูพาน มีแมลงทับที่มีสีเขียวมรกตสวยงามเป็นจำนวนมาก น่าจะนำมาเป็นส่วนประกอบของเพชรพลอยได้ จึงได้ออกแบบและประดิษฐ์เป็นสินค้าเครื่องประดับปีกแมลงทับออกจำหน่าย ซึ่งได้รับการตอบรับจากตลาดภายในประเทศ โดยในระยะแรกทำในรูปหัตถกรรมในครัวเรือน ต่อมาทางราชการหลายหน่วยงานได้เริ่มเห็นความสำคัญ จึงได้มีการจัดฝึกอบรมการทำเครื่องประดับจากปีกแมลงทับในเครือข่ายของศูนย์ศิลปาชีพ โครงการฝึกอาชีพของหน่วยงานราชการต่างๆ จนเป็นที่รู้จักของประชาชนทั่วไป จึงได้มีการจัดตั้งเป็นกลุ่มเครื่องประดับปีกแมลงทับและเพชรพลอยบ้านคำเพิ่มขึ้น และได้เผยแพร่ความรู้ให้กับหน่วยงาน กลุ่มชุมชน และประชาชนทั่วไปผู้ที่สนใจทั้งภายในจังหวัดสกลนคร และจังหวัดใกล้เคียง (Chiamphruekwatthana, 2003)

ปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์ที่ทำมาจากปีกแมลงทับเพิ่มมากขึ้นโดยเฉพาะจากเอกชน ทำให้ต้องมีการนำปีกแมลงทับมาใช้เป็นจำนวนมาก ส่งผลให้ประชากรของแมลงทับมีจำนวนลดลงเรื่อยๆ เนื่องจากแมลงทับมีวงจรชีวิตในการเจริญเติบโตจากไข่จนถึงตัวเต็มวัยประมาณ 1 ปี และมนุษย์มีการใช้ประโยชน์จากแมลงทับมากขึ้น โดยการนำมารับประทาน นำมาทำเป็นเครื่องประดับเพื่อการค้า โดยเฉพาะในพื้นที่อำเภอภูพาน มีการทำเครื่องประดับจากปีกแมลงทับมาก ตลอดจนมีการบุกรุกพื้นที่ป่าไม้มากขึ้น ทำให้แหล่งอาหารและที่อยู่อาศัยของแมลงทับลดน้อยลง ถึงแม้ว่าจะมีหน่วยงานภาครัฐโดยเฉพาะเจ้าหน้าที่ป่าไม้จังหวัด เข้าไปรณรงค์ส่งเสริมการอนุรักษ์ป่าไม้เพื่ออนุรักษ์แมลงทับ และปลูกพืชอาหารแมลงทับ แต่ก็ไม่ได้ผลเท่าที่ควร ดังนั้นการจะอนุรักษ์แมลงทับให้คงอยู่ต่อไป จะต้องทำให้ประชาชนเห็นคุณค่าและความสำคัญของแมลงทับ ตลอดจนมีความตระหนักในการช่วยกันดูแลรักษาธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ป่าไม้ ฝืนป่าที่เป็นแหล่งอาหารและที่อยู่อาศัยของแมลงทับ และรู้จักใช้ประโยชน์จากแมลงทับอย่างถูกต้อง พร้อมทั้งช่วยกันอนุรักษ์แมลงทับให้คงอยู่ต่อไป

จากปัญหาที่กล่าวมาข้างต้น หากประชาชนนำแมลงทับมาใช้ประโยชน์ โดยไม่มีการอนุรักษ์ก็จะส่งผลให้แมลงทับสูญพันธุ์ หรือหายจากป่าไปในที่สุด ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาการทำเครื่องประดับจากปีกแมลงทับ ศึกษาระดับความคิดเห็นต่อคุณค่าและความสำคัญของการอนุรักษ์แมลงทับ ปัญหาและแนวทางในการอนุรักษ์แมลงทับ เพื่อเป็นการส่งเสริมการทำเครื่องประดับจากปีกแมลงทับให้เกิดรายได้ในครัวเรือนให้ประชาชนเห็นคุณค่าความสำคัญของการอนุรักษ์แมลงทับและป่าไม้ และการใช้ประโยชน์จากแมลงทับอย่างถูกต้องและเหมาะสมต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาในครั้งนี้ ศึกษาในพื้นที่บ้านโนนเจริญ ตำบลกกปลาซิว อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร ซึ่งเป็นสถานที่ที่พบแมลงทับจำนวนมาก และบ้านคำเพิ่ม ตำบลโคกภู อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร ซึ่งเป็นสถานที่ที่มีการทำเครื่องประดับจากปีกแมลงทับ ได้ดำเนินการจัดทำเวทีชาวบ้าน ณ หมู่บ้านโนนเจริญ ตำบลกกปลาซิว อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร โดยมีผู้เข้าร่วม จำนวน 25 คน ได้แก่ ผู้ใหญ่บ้านโนนเจริญ บ้านคำเพิ่ม ผู้นำชุมชน เจ้าหน้าที่กรมป่าไม้ จำนวน 5 คน ตัวแทนกลุ่มผู้ผลิตเครื่องประดับจากปีกแมลงทับ บ้านโนนเจริญ บ้านคำเพิ่ม จำนวน 5 คน ตัวแทนชาวบ้านที่มีอาชีพเก็บของป่าขายจากบ้านคำเพิ่ม จำนวน 5 คน และชาวบ้านโนนเจริญ จำนวน 10 คน

เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

เครื่องมือที่ใช้ในการเก็บรวบรวมข้อมูล ได้แก่

1. กล้องถ่ายภาพ
2. สมุดบันทึก
3. แบบบันทึกการจัดเวทีชาวบ้าน

4. แบบสอบถามความคิดเห็นเกี่ยวกับคุณค่าและความสำคัญของการอนุรักษ์แมลงทับ มีลักษณะเป็นแบบมาตราส่วนประมาณค่า (Rating Scale) 5 ระดับ ให้ผู้เข้าร่วม 25 คน กรอกแบบสอบถามหลังจากการจัดเวทีชาวบ้าน โดยใช้เกณฑ์การแปลความหมาย (Srisard, 2002) ดังนี้

ค่าเฉลี่ย 4.51 - 5.00	มากที่สุด
ค่าเฉลี่ย 3.51 - 4.50	มาก
ค่าเฉลี่ย 2.51 - 3.50	ปานกลาง
ค่าเฉลี่ย 1.51 - 2.50	น้อย
ค่าเฉลี่ย 1.00 - 1.50	น้อยที่สุด

วิธีการรวบรวมข้อมูล

1. ศึกษาการทำเครื่องประดับจากปีกแมลงทับ คณะผู้วิจัยได้ศึกษาการทำเครื่องประดับจากปีกแมลงทับจากกลุ่มเครื่องประดับปีกแมลงทับเพชรพลอยบ้านคำเพิ่ม ตำบลโคกภู อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร ซึ่งเป็นสถานที่ที่มีการทำเครื่องประดับจากปีกแมลงทับ จากนายปราโมทย์ เจริญพุกษ์วัฒนา ซึ่งเป็นผู้นำกลุ่มเครื่องประดับจากปีกแมลงทับ โดยจัดบันทึกการทำเครื่องประดับจากปีกแมลงทับอย่างละเอียดในทุกขั้นตอนของวิธีการผลิต

2. การศึกษาระดับความคิดเห็นต่อคุณค่าและความสำคัญของการอนุรักษ์แมลงทับและป่าไม้ ให้ประชาชนเห็นคุณค่าและความสำคัญของการอนุรักษ์แมลงทับและป่าไม้ และการใช้ประโยชน์จากแมลงทับอย่างถูกต้อง สำรวจความคิดเห็นของประชาชนเกี่ยวกับคุณค่าและความสำคัญของการอนุรักษ์แมลงทับและป่าไม้ การใช้ประโยชน์จากแมลงทับอย่างถูกต้อง โดยใช้แบบสอบถามความคิดเห็นที่เกี่ยวกับคุณค่าและความสำคัญของการอนุรักษ์แมลงทับและป่าไม้ เป็นแบบมาตราส่วนประมาณค่า (Rating scale) 5 ระดับ

3. ปัญหาและแนวทางในการอนุรักษ์แมลงทับ ดำเนินการจัดทำเวทีชาวบ้าน ณ หมู่บ้านโนนเจริญ ตำบลกกปลาซิว อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร ซึ่งเป็นบริเวณที่มีแมลงทับจำนวนมาก เพื่อสำรวจความคิดเห็นเกี่ยวกับแนวทางในการอนุรักษ์แมลงทับ สภาพปัญหาในการอนุรักษ์ แนวทางแก้ไขปัญหาลักษณะเกี่ยวกับการอนุรักษ์แมลงทับ ตลอดจนให้ประชาชนในท้องถิ่นร่วมกันอนุรักษ์แมลงทับ บันทึกผลการแสดงความคิดเห็นเกี่ยวกับสภาพปัญหาแนวคิดในการอนุรักษ์แมลงทับ

ผลการวิจัยและวิจารณ์

กลุ่มเครื่องประดับปีกแมลงทับเพชรพลอย บ้านคำเพิ่ม ตำบลโคกภู อำเภอภูพาน จังหวัดสกลนคร มีการทำเครื่องประดับจากปีกแมลงทับ จำนวน 6 ประเภท ได้แก่ 1) เข็มกลัดแมลงทับ มี 4 แบบ คือ เข็มกลัดแมลงทับแบบธรรมดา แบบเกะกิ้ง แบบคาดเพชร และแบบขยับปีก 2) สร้อยคอจากปีกแมลงทับประดับเพชรพลอย 3) ต่างหูจากปีกแมลงทับ 4) พวงกุญแจจากปีกแมลงทับ 5) ปิ่นปักผมจากปีกแมลงทับ และ 6) ภาพติดฝาผนังจากปีกแมลงทับ จากการศึกษาวิธีการทำเครื่องประดับทั้ง 6 ประเภท พบว่าการทำเข็มกลัดจากปีกแมลงทับเป็นประเภทที่มีขั้นตอนและวิธีการที่ย่งยากใช้เวลานานและมีวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้มากกว่าประเภทอื่น โดยมีขั้นตอนและวิธีการทำทั้งสิ้น 12 ขั้นตอน แต่ละขั้นตอนต้องใช้ความละเอียดและประณีตในกรรมวิธีการผลิต ในบางขั้นตอนใช้ระยะเวลา รongลงมา คือ การทำสร้อยคอจากปีกแมลงทับ ซึ่งมีขั้นตอนและวิธีการทั้งสิ้น 10 ขั้นตอน และประเภทที่มีวิธีการทำที่ง่าย ไม่ยุ่งยากและวัสดุอุปกรณ์ที่ใช้มีเพียง 6 ชนิด คือ การทำพวงกุญแจจากปีกแมลงทับ มีวิธีการ 5 ขั้นตอน แต่ละขั้นตอนไม่ซับซ้อนและใช้ระยะเวลาไม่นาน เมื่อเปรียบเทียบกับประเภทอื่นๆ (Figure 1)

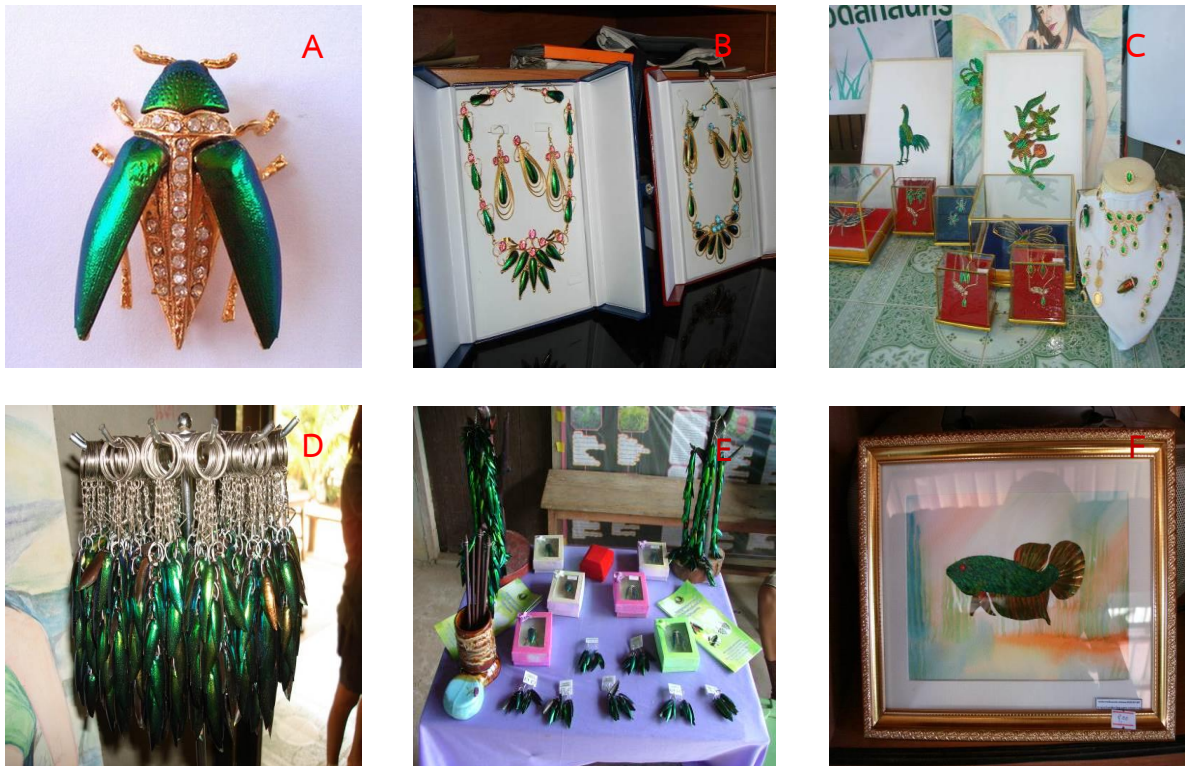


Figure 1 Production from metallic woodboring beetles: A) Brooches; B) Necklaces; C) Earring; D) Key chains; E) Barrettes; F) Wall picture

การศึกษาความคิดเห็นต่อคุณค่าและความสำคัญของการอนุรักษ์แมลงทับและป่าไม้ ปัญหาและแนวทางในการอนุรักษ์แมลงทับ จากการดำเนินการจัดเวทีชาวบ้าน พบว่า

1. ระดับความคิดเห็นต่อคุณค่าและความสำคัญของการอนุรักษ์แมลงทับและป่าไม้ การใช้ประโยชน์จากแมลงทับอย่างถูกต้อง พบว่ากลุ่มตัวอย่างมีความคิดเห็นเกี่ยวกับคุณค่าและความสำคัญของการอนุรักษ์แมลงทับและป่าไม้โดยรวมอยู่ในระดับมาก เมื่อพิจารณาเป็นรายข้อพบว่าในหัวข้อท่านสามารถช่วยประชาสัมพันธ์เกี่ยวกับการ

อนุรักษ์แมลงทับให้ยั่งยืนได้ มีค่าเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 4.29 รองลงมา คือ ควรให้ความรู้เกี่ยวกับวงจรชีวิตของแมลงทับแก่ประชาชนได้รับทราบ ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.00 และแมลงทับเป็นสิ่งที่ควรรักและหวงแหน มีค่าเฉลี่ยน้อยสุดเท่ากับ 3.12 ทั้งนี้อาจเนื่องจากประชาชนได้รับการส่งเสริมจากเจ้าหน้าที่ของรัฐที่ศึกษาเกี่ยวกับแมลงทับ ต้องการอนุรักษ์แมลงทับมากขึ้น และส่งเสริมให้ประชาชนอนุรักษ์แมลงทับให้คงอยู่ ระดับความคิดเห็นโดยรวมจึงอยู่ในระดับมาก (Table 1)

Table 1 Average and standard deviation Level of people opinion about value and importance of metallic woodboring beetles and forest conservation

N=25			
Items	$\bar{X}$	SD	Level
1. Metallic woodboring beetles are valuable and important to the environment.	3.59	0.80	Much
2. Metallic woodboring beetles are a symbols of the abundance of the forest.	3.82	0.53	Much
3. Metallic woodboring beetles are useful to humans.	3.29	1.05	Moderate
4. Metallic woodboring beetles are the thing that should love and cherish.	3.12	0.78	Moderate
5. Metallic woodboring beetles are valuable animals should be preserved for a long time.	3.94	0.97	Much
6. You should contribute to metallic woodboring beetles conservation.	3.29	0.92	Moderate
7. Metallic woodboring beetles conservation must be done in conjunction with forest conservation.	3.76	0.83	Much
8. Forests are the food source, therefore, the insects' habitat should be conserved.	3.41	0.51	Moderate
9. The knowledge of the life cycle of metallic woodboring beetles should be provided to the people.	4.00	0.87	Much
10. People should be informed of the insects' breeding season.	3.35	0.86	Moderate
11. A referendum on metallic woodboring beetles conservation should be made in the community.	3.47	0.51	Moderate
12. You should take advantage of the metallic woodboring beetle as moderately as you could.	3.35	0.49	Moderate
13. You can help promote metallic woodboring beetles regarding sustainable conservation.	4.29	0.77	Much
14. You can cooperate with various agencies in the village for sustainable conservation.	3.59	0.62	Much
15. You are aware of the value and importance of metallic woodboring beetles including sustainable conservation.	3.47	0.62	Moderate
Total	3.58	0.80	Much

2. สภาพปัญหาเกี่ยวกับการอนุรักษ์แมลงทับ พบว่า กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีความรู้เกี่ยวกับวงจรของแมลงทับ การจับแมลงทับของชาวบ้านโนนเจริญ เป็นการจับเพื่อนำไปประกอบอาหารเท่านั้น มีคนต่างถิ่นเข้ามาจับแมลงทับในพื้นที่เป็นจำนวนมากในปริมาณมาก เพื่อนำไปจำหน่าย ชาวบ้านไม่มีความสามารถเพียงพอที่จะควบคุม กำกับดูแลการจับแมลงทับของคนต่างถิ่นที่เข้ามาจับแมลงทับในพื้นที่ อีกทั้งยังขาดมาตรการเฝ้าระวังป้องกันการจับแมลงทับในฤดูวางไข่

3. แนวทางการอนุรักษ์แมลงทับ ควรมีการดำเนินการดังนี้ กำหนดช่วงในการจับแมลงทับให้ชัดเจน ห้ามตัดไม้ทำลายป่าในพื้นที่ที่มีแมลงทับ ห้ามคนต่างถิ่นเข้ามาจับแมลงทับ ส่งเสริมการแปรรูปแมลงทับ หรือนำไปทำเป็นเครื่องประดับ ให้หน่วยงานราชการหาแนวทางในการป้องกันเขตพื้นที่ไม่ให้คนต่างถิ่นเข้ามาจับแมลงทับในฤดูวางไข่ ออกกฎระเบียบ ข้อบังคับในการอนุรักษ์แมลงทับ ทำป้ายรณรงค์ห้ามจับแมลงทับในฤดูวางไข่ ปลูกต้นไม้ที่เป็นอาหารแมลงทับ สร้างป่าชุมชน และจัดทำโครงการปลูกป่าทุก ๆ ปี โดยเน้นพื้นที่ที่เป็นอาหารของแมลงทับ แบ่งเขตพื้นที่ป่าเพื่อการอนุรักษ์และป่าเพื่อเป็นอาหารโดยมีการปักป้ายแบ่งเขตให้ชัดเจน คณะกรรมการหมู่บ้านต้องเข้มแข็ง ช่วยกันดูแลป้องกันไม่ให้มีการเข้าไปจับแมลงทับในเขตพื้นที่อนุรักษ์ ห้ามตัดต้นไม้บริเวณที่มีแมลงทับโดยให้เป็นมติของหมู่บ้าน ประชาสัมพันธ์การห้ามจับแมลงทับในฤดูวางไข่ ใช้วิธีการเสียงตามสาย สถานีวิทยุ คนในหมู่บ้านจะต้องบริหารจัดการภายในหมู่บ้าน สร้างจิตสำนึกให้กับคนในหมู่บ้านไม่ให้จับแมลงทับในฤดูวางไข่ ชุมชนเห็นว่าควรจัดการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ในช่วงเดือนสิงหาคม-กันยายน ซึ่งเป็นช่วงที่มีแมลงทับเป็นจำนวนมากในพื้นที่ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะการท่องเที่ยวเชิงนิเวศในพื้นที่จะทำให้เกิดสิ่งต่างๆ ดังนี้ เศรษฐกิจของชุมชนดีขึ้น สร้างงานให้แก่บุคคลในชุมชนสร้างรายได้ให้แก่ชุมชนในการจำหน่ายผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร (Khruetakham *et al.*, 2010) ออกกฎระเบียบ หรือมีมติห้ามจับแมลงทับใน ฤดูวางไข่

ฝ่าฝืนจับปรับตัวละ 500 บาท โดยจัดทำเป็นมติหมู่บ้าน และทำหนังสือไปยังหน่วยงานราชการ และสถานีวิทยุเพื่อประชาสัมพันธ์ ห้ามจับแมลงทับในฤดูวางไข่ หน่วยงานราชการต้องมีส่วนร่วมในการอนุรักษ์แมลงทับอย่างจริงจัง เนื่องจากแมลงทับจะพบมากในช่วงเดือนสิงหาคม-กันยายน และแมลงทับจะมีการผสมพันธุ์และวางไข่ในช่วงเวลาดังกล่าว ดังนั้นการจะอนุรักษ์แมลงทับให้ยั่งยืนได้จะต้องงดการจับแมลงทับในฤดูวางไข่ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Rotchanawong (1997) ได้ศึกษาการอนุรักษ์และการเพาะเลี้ยงแมลงทับในประเทศไทย ผลจากการศึกษาชีพจักรและการเพาะเลี้ยงในธรรมชาติพบว่า ในฤดูแมลงทับจะมีจำนวนแมลงทับมากที่สุดในเดือนกันยายน ดังนั้นควรที่จะเผยแพร่ให้ชาวบ้านที่เก็บแมลงทับไปบริโภคหรือขายนั้น ห้ามจับแมลงทับในเดือนกันยายนของทุกปี โดยปล่อยให้แมลงทับวางไข่เสียก่อน หรือปิดประกาศข้อความที่ว่า “รักษแมลงทับอย่าจับในเดือนกันยายน” นอกจากนี้ที่กล่าวมาข้างต้น แนวทางการอนุรักษ์แมลงทับอีกประการหนึ่ง คือ การเสนอให้พื้นที่ป่าเต็งรังของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติจังหวัดสกลนคร และพื้นที่ในวิทยาเขตเฉลิมพระเกียรติจังหวัดสกลนคร บางส่วนเป็นเขตอนุรักษ์ห้ามจับ ตัดทำลายพืชอาหารที่สำคัญของ แมลงทับ และควรส่งเสริมให้มีการปลูกพืชอาหารแมลงทับเพื่อการอนุรักษ์แมลงทับให้มียั่งยืนต่อไป

สรุปผลการวิจัย

การศึกษากการทำเครื่องประดับจากปีกแมลงทับ และแนวทางการอนุรักษ์แมลงทับ พบว่ากลุ่มเครื่องประดับปีกแมลงทับเพชรพลอย บ้านคำเพิ่ม ตำบลโคกภู อำเภอกุพาน จังหวัดสกลนคร มีการทำเครื่องประดับจากปีกแมลงทับจำนวน 6 แบบ ดังนี้ เข็มกลัดแมลงทับ สร้อยคอจากปีกแมลงทับประดับเพชรพลอย ต่างหูจากปีกแมลงทับ พวงกุญแจจากปีกแมลงทับ ปิ่นปักผมจากปีกแมลงทับ

และภาพติดฝาผนังจากปีกแมลงทับ ทำให้เกิดรายได้ในครอบครัวจากการขายผลิตภัณฑ์ของกลุ่มฯ ส่งผลให้มีชีวิตความเป็นอยู่ที่ดีขึ้น ประชาชนมีความคิดเห็นเกี่ยวกับคุณค่าและความสำคัญของการอนุรักษ์แมลงทับและป่าไม้ อยู่ในระดับมาก ปัญหาเกี่ยวกับการอนุรักษ์แมลงทับพบว่าชาวบ้านมีความรู้เกี่ยวกับวงจรของแมลงทับ การจับแมลงทับของชาวบ้านโนนเจริญ เป็นการจับเพื่อนำไปประกอบอาหารเท่านั้น ปัญหาในการจับแมลงทับ มีคนต่างถิ่นเข้ามาจับแมลงทับในพื้นที่เป็นจำนวนมาก และในปริมาณมากเพื่อนำไปจำหน่ายชาวบ้านไม่สามารถควบคุม ดูแลการจับแมลงทับของคนต่างถิ่นที่เข้ามาจับแมลงทับ ในพื้นที่และขาดมาตรการเฝ้าระวังป้องกันการจับแมลงทับในฤดูวางไข่

แนวทางในการอนุรักษ์แมลงทับ ควรดำเนินการดังนี้ กำหนดช่วงในการจับแมลงทับให้ชัดเจน ห้ามตัดไม้ทำลายป่าในพื้นที่ที่มีแมลงทับอาศัยอยู่ และห้ามคนต่างถิ่นเข้ามาจับแมลงทับ ส่งเสริมการแปรรูปแมลงทับ หรือนำไปทำเป็นเครื่องประดับ ให้หน่วยงานราชการหาแนวทางในการป้องกันเขตพื้นที่ไม่ให้คนต่างถิ่นเข้ามาจับแมลงทับในฤดูวางไข่ ออกกฎ ข้อบังคับ ในการอนุรักษ์แมลงทับ ทำป้ายรณรงค์ห้ามจับแมลงทับในฤดูวางไข่ ปลุกต้นไม้ที่เป็นอาหารแมลงทับ สร้างป่าชุมชน และจัดทำโครงการปลูกป่าทุกๆ ปี โดยเน้นพื้นที่ที่เป็นอาหารแมลงทับ แบ่งเขตพื้นที่ป่าเพื่อการอนุรักษ์และป่าเพื่อเป็นอาหาร โดยมีการปักป้ายแบ่งเขตให้ชัดเจน คณะกรรมการหมู่บ้านต้องเข้มแข็ง ช่วยกันดูแลป้องกันไม่ให้มีบุคคลภายนอกเข้าไปจับแมลงทับในเขตพื้นที่อนุรักษ์ ห้ามตัดไม้บริเวณที่มีแมลงทับ โดยให้เป็นมติของหมู่บ้าน ประชาสัมพันธ์การห้ามจับแมลงทับในฤดูวางไข่ โดยใช้เสียงตามสายสถานีวิทยุ คนในหมู่บ้านจะต้องบริหารจัดการภายในหมู่บ้าน สร้างจิตสำนึกให้กับคนในหมู่บ้านไม่ให้จับแมลงทับในฤดูวางไข่ มีการจัดการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ในช่วง

เดือนสิงหาคม-กันยายน ออกกฎระเบียบ หรือมีมติห้ามจับ ฝ่าฝืนจับปรับตัวละ 500 บาท โดยจัดทำเป็นมติหมู่บ้าน ให้ประชาชนเห็นคุณค่า และความสำคัญของการอนุรักษ์แมลงทับและป่าไม้ และการใช้ประโยชน์จากแมลงทับอย่างถูกต้อง

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (บางเขน) โครงการศูนย์ความเป็นเลิศทางวิชาการ ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในการวิจัย ตลอดจนประชาชนในพื้นที่เป้าหมายที่ให้ข้อมูลสำหรับการวิจัยจนสำเร็จ ลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Chiamphruekwatthana, P. 2003. **Making a Brooch from Wing Jewel Beetles.** (publication) [in Thai]
- Kerremanns, C. 1903. *Coleoptera serricomia* Fam. Buprestidae Genera Insectorum 12. Cited by Chunram, S. **Taxonomic Studies of Thai Metallic Wood Boring Beetle in Tribe Chrysochroini (Coleoptera: Buprestidae).** Bangkok: Entomology and Zoology Division, Department of Agriculture. 85 p. [in Thai]
- Khaosod. 1993. **Make use of wing Jewel beetle.** [Online]. Available <http://www.khaosod.co.th> (15 September 2009). [in Thai]

- Khrueakham, A., S. Shatachote,
K. Sukhawattanakun, S. Pongkuleekarn,
and A. Sreemart. 2010. The
development of Nong Harn
Chalermphrakiat park for lotus species
collection, ecological tourist attraction,
and local economic development.
Journal of The social Sciences
5(3): 270-275.
- Linsenmaier, W. 1972. **Insect of the World**.
New York City: McGraw-Hill Book
Company. 329 p.
- Ohmomo, S. and K. Akiyama. 1972. **Jewel
Beetles**. Tokyo: Sansho Co., Ltd.: 59 p.
- Richard, O.W. and R.G. Davies. 1977. **General
Textbook of Entomology**. New York:
A Halsted Press Book John Wiley & Son.
1354 p.
- Rotchanawong, W. 1997. **Cultivate Jewel
Beetles in Thailand**. Bangkok:
Kasetsart University Press. 6 p. [in Thai]
- Srisa-ard, B. 2002. **Basic Research**.
Bangkok: Sureeriyasat Printing. 171 p.
[in Thai]

การศึกษากระบวนการผลิตเมล็ดกาแฟอาราบิก้าของวิสาหกิจชุมชนบ้านผาหมี่
ตำบลเวียงพางคำ อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย
Study of Green Arabica Coffee Bean Production Process
of PhaMee Community Enterprise in Wiang Pang Kum Sub-district
Mae Sai District, Chiang Rai Province

ปิยะ พละปัญญา^{1*} และณัฐตากานต์ ปินทุภาค²
Piya Palapanya^{1*} and Nathitakarn Pinthukas²

¹สาขาวิชาการพัฒนาส่งเสริมและนิเทศศาสตร์เกษตร คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

²ภาควิชาพัฒนาเศรษฐกิจการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200

¹Department of Agricultural Extension and Communications, Faculty of Agricultural Production, Maejo University
Chiang Mai, Thailand 50290

²Department of Agricultural Economy and Development, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University, Chiang Mai, Thailand 50200

*Corresponding author: piya_p@mju.ac.th

Received: May 03, 2018

Revised: July 18, 2018

Accepted: August 06, 2018

Abstract

This research aimed to study and explore the arabica coffee production process of PhaMee's community enterprise in Wiang Pang Kum sub-district, Mae Sai district, Chiang Rai province. Researcher interviewed farmers in PhaMee Village. There was talk about the process of coffee production within the enterprise community. Development of a model for the promotion and development of arabica coffee of PhaMee village community between researchers and farmers. The result found that most of the farmers had ecological planting. The coffee was sold to the community and local traders. Farmers maintain the fertilizer once a year, using rain to make coffee. And over half the farmers had no pruning of coffee. In addition, there were problems in capital and labor, resulting in the need of farmers who want to be trained. Increasing knowledge from the agricultural extension officer and those involved including the visit to the coffee grounds to consult.

The recommendations for this research should include the establishment of a learning center to transfer knowledge on coffee production, processing and marketing within the community. There should be a group to collect money to buy quality coffee machines and sufficient to meet the needs of farmers and having a budget to repair and buy a new one.

Keywords: coffee production process, arabica coffee, community enterprise

บทคัดย่อ

การวิจัยเรื่องนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาและสำรวจกระบวนการผลิตกาแฟอราบิก้าของวิสาหกิจชุมชนบ้านผาหมี ตำบลเวียงพางคำ อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย ผู้วิจัยทำการสัมภาษณ์เกษตรกรกลุ่มวิสาหกิจชุมชนบ้านผาหมี มีการพูดคุยซักถามเกี่ยวกับกระบวนการผลิตกาแฟภายในวิสาหกิจชุมชนบ้านผาหมี และร่วมกันพัฒนารูปแบบการส่งเสริมและพัฒนากลุ่มวิสาหกิจชุมชน การศึกษาพบว่า เกษตรกรส่วนใหญ่มีการผลิตกาแฟเป็นไปในเชิงอนุรักษ์ ผลผลิตกาแฟที่ได้นำไปจำหน่ายให้กับชุมชน และพ่อค้าท้องถิ่น สำหรับการบำรุงรักษาเกษตรกรมีการใส่ปุ๋ยต้นกาแฟปีละ 1 ครั้ง อาศัยน้ำฝนในการให้น้ำต้นกาแฟ และเกษตรกรเคยครั้งไม่มีการตัดแต่งกิ่งต้นกาแฟทำให้พบปัญหาโรคและแมลง เช่น มอด เพลี้ย เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบปัญหาในด้านเงินทุนและแรงงาน ส่งผลถึงความต้องการของเกษตรกรที่อยากจะได้รับการอบรมการเพิ่มพูนองค์ความรู้จากเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตรและผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้อง รวมไปถึงการเข้าไปตรวจเยี่ยมพื้นที่ปลูกกาแฟและให้คำปรึกษา

ข้อเสนอแนะในงานวิจัย ได้แก่ ควรมีการจัดตั้งศูนย์การเรียนรู้เพื่อถ่ายทอดองค์ความรู้เกี่ยวกับการผลิตกาแฟ การแปรรูป ไปจนถึงการแนะนำด้านการตลาดภายในชุมชน ควรมีการรวมกลุ่มเพื่อรวบรวมเงินซื้อเครื่องสีกาแฟที่มีคุณภาพและเพียงพอต่อความต้องการของเกษตรกร มีการจัดเวรและเวลาการใช้เครื่อง และมีงบประมาณสำรองเพื่อซ่อมแซมและซื้อเครื่องใหม่เพิ่มเติม

คำสำคัญ: กระบวนการผลิตกาแฟ กาแฟอราบิก้า
วิสาหกิจชุมชน

คำนำ

กาแฟเป็นพืชเศรษฐกิจที่ปลูกกันอย่างกว้างขวางในพื้นที่ภาคเหนือ เพราะมีสภาพอากาศและภูมิประเทศที่เหมาะสม ผลผลิตกาแฟอราบิก้ามีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเนื่องจากกระแสความนิยมบริโภคกาแฟอราบิก้าเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ราคากาแฟที่เกษตรกรขายได้สูงขึ้น ปัจจุบันความต้องการบริโภคกาแฟของคนไทยเริ่มมากขึ้น ทำให้ความต้องการใช้เมล็ดกาแฟเพิ่มขึ้นเช่นกัน ซึ่งหากเปรียบเทียบกับประเทศอาเซียนแล้ว ไทยเป็นประเทศผู้ส่งออกกาแฟอันดับที่ 3 รองจากประเทศเวียดนาม และอินโดนีเซีย แต่สิ่งหนึ่งที่ไทยยังได้เปรียบคู่แข่งหลายๆ ประเทศ คือ การปรับปรุงสายพันธุ์กาแฟอราบิก้าที่มีคุณภาพและมีรสชาติดีเยี่ยม ซึ่งจะสามารถพัฒนากาแฟอราบิก้าไทยให้แตกต่างจากกาแฟของคู่แข่งในอาเซียนได้ อย่างไรก็ตามเกษตรกรจะต้องมีการปรับตัวในเรื่องการผลิตกาแฟหลังการเปิดการค้าเสรี เช่น การลดต้นทุนการผลิต การเสริมสร้างความรู้ความเข้าใจเรื่องคุณภาพผลผลิต และการสร้างความเข้าใจเรื่องการผลิตสีเขียวหรือการผลิตที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม โดยต้องมีกระบวนการวางแผนและทำแผนการส่งเสริมและพัฒนา Road map ให้กับกลุ่มเป้าหมาย (Chaovanapoonphol *et al.*, 2014)

วิสาหกิจชุมชนบ้านผาหมี ตำบลเวียงพางคำ อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย เป็นหมู่บ้านชาวไทยภูเขาเผ่าอาข่า ตั้งอยู่ห่างจากสถานีขนส่งผู้โดยสารอำเภอแม่สายประมาณ 6 กิโลเมตร เส้นทางคมนาคมเป็นถนนลาดยางและถนนลูกรังคั่นด้วยหุบเขา เป็นหมู่บ้านชาวไทยภูเขามีวิวัฒนาการของหมู่บ้านที่ตั้งอยู่ท่ามกลางสวนป่าภูเขาหินอ่อนตั้งเป็นฉากหลังสลับกับสวนผลไม้ ชา กาแฟ ลิ้นจี่ อยู่ในพื้นที่ระดับความสูง 1,291 เมตร ซึ่งถือได้ว่ามีสภาพภูมิประเทศ และสภาพภูมิอากาศเหมาะสมกับการปลูกกาแฟอราบิก้า

แนวทางการส่งเสริมการเกษตรที่ดีและเหมาะสม (Good Agricultural Extension Practice: GAEP) เป็นแนวทางการดำเนินงานที่สำคัญของกรมวิชาการเกษตรที่กำหนดไว้ เป็นนโยบายการให้การส่งเสริมที่มุ่งเน้นการเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตการเกษตร พร้อมทั้งมีการอนุรักษ์ พัฒนา และใช้ทรัพยากรธรรมชาติที่เป็นปัจจัยการผลิตอย่างฉลาด สอดคล้องกับสถานะและความต้องการของตลาดและอุตสาหกรรม อันจะเป็นการสร้างและพัฒนาคุณภาพชีวิตของประชาชนและพื้นฐานทางเศรษฐกิจ สังคมและความมั่นคงของประเทศ เริ่มต้นจากภาวะความเป็นจริงที่มีอยู่ของเกษตรกร ได้แก่ สภาพปัญหา ความจำเป็น ทักษะประสบการณ์ ทรัพยากร ภูมิปัญญา ระบบนิเวศวัฒนธรรม และความพร้อมในด้านอื่นๆ

อย่างไรก็ตามในทางปฏิบัติเกษตรกรผู้ปลูกกาแฟบนพื้นที่สูงยังขาดองค์ความรู้และเทคโนโลยีที่ชัดเจนถูกต้อง และเหมาะสมสำหรับการนำไปใช้ในพื้นที่ของตนเอง ตลอดจนขาดการดูแลและจัดการสวนที่ดี ทำให้ผลผลิตกาแฟอาราบิก้ามีปริมาณและคุณภาพไม่สม่ำเสมอ จึงต้องมีการส่งเสริมและถ่ายทอดองค์ความรู้และเทคโนโลยีในการปลูก การดูแลรักษา และการจัดการสวนกาแฟอาราบิก้า เพื่อให้ได้ผลผลิตกาแฟอาราบิก้าที่ตรงตามมาตรฐาน และมีคุณภาพดีสม่ำเสมอ ดังนั้น การวิจัยเพื่อศึกษาถึงรูปแบบและกระบวนการการส่งเสริมการปลูกกาแฟอาราบิก้าจึงเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่งต่อการปลูกกาแฟอาราบิก้า มุ่งหวังเพื่อแสวงหาค้นหากระบวนการและรูปแบบการส่งเสริมการปลูกกาแฟบนพื้นที่สูง และถ่ายทอดความรู้ไปสู่เกษตรกรอย่างยั่งยืน โดยมุ่งหวังให้เกษตรกรสมาชิกวิสาหกิจชุมชนมีความรู้ ความเข้าใจในการผลิตกาแฟอาราบิก้าคุณภาพ สามารถพัฒนาและเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์กาแฟให้เป็นสินค้าที่มีคุณภาพได้มาตรฐาน

วิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้มีแผนการทำงานร่วมกับหน่วยงานในท้องถิ่น คือ กลุ่มวิสาหกิจชุมชนบ้านผาหมี่

ตำบลเวียงพางคำ อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย มุ่งเน้นไปที่การศึกษา สรรวจรูปแบบและกระบวนการผลิตกาแฟอาราบิก้าในพื้นที่ เพื่อให้เกษตรกรสมาชิกวิสาหกิจชุมชนมีความรู้ ความเข้าใจในการผลิตกาแฟอาราบิก้าและนำผลการศึกษาที่ได้ไปพัฒนาคุณภาพกาแฟของวิสาหกิจชุมชนบ้านผาหมี่ให้มีคุณภาพมาตรฐานที่ดี สามารถนำไปพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์ให้ดียิ่งขึ้น โดยมีขั้นตอนและวิธีการดำเนินการวิจัย ดังรายละเอียดต่อไปนี้

1) การเก็บรวบรวมข้อมูล

ทำการเก็บรวบรวมข้อมูลของชุมชน 2 แหล่ง คือ ข้อมูลทุติยภูมิจากเอกสารวิชาการต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย และข้อมูลปฐมภูมิจากการสัมภาษณ์เกษตรกรกลุ่มวิสาหกิจชุมชนบ้านผาหมี่ เพื่อพูดคุยซักถามเกี่ยวกับกระบวนการผลิตกาแฟภายในวิสาหกิจชุมชนบ้านผาหมี่

2) การพัฒนารูปแบบการส่งเสริมและพัฒนากลุ่มปลูกกาแฟอาราบิก้าของวิสาหกิจชุมชนบ้านผาหมี่ โดยร่วมกันระหว่างนักวิจัยและเกษตรกรกลุ่มวิสาหกิจชุมชน

3) การวิเคราะห์ข้อมูล

4) จัดทำรายงานฉบับสมบูรณ์และเผยแพร่ผลการศึกษา

ผลการวิจัย

กระบวนการผลิตกาแฟอาราบิก้า

พื้นที่ชุมชนบ้านผาหมี่ ตำบลเวียงพางคำ อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย อยู่ในพื้นที่ระดับความสูง 1,291 เมตร มีประชากรอาศัยอยู่ประมาณ 300 กว่าครัวเรือน เกษตรกรส่วนใหญ่เป็นชนเผ่าอาข่า มีอาชีพหลักคือการปลูกกาแฟ มีการผลิตกาแฟเป็นไปในเชิงอนุรักษ์ ส่วนใหญ่จำหน่ายผลผลิตกาแฟให้กับชุมชนและพ่อค้าท้องถิ่น การปลูกกาแฟในระยะที่เหมาะสม คือ 1.5 x 2.0 เมตร ส่งผลให้ง่ายต่อการจัดการในแปลง และใช้ประโยชน์จากพื้นที่ได้สูงสุด มีการใส่ปุ๋ยเพื่อบำรุงต้นกาแฟและดินอย่างน้อยปีละ 1 ครั้งหลังกาแฟออกดอก และอาศัยน้ำฝนในการให้น้ำต้นกาแฟ เนื่องจากพื้นที่ปลูกกาแฟโดยส่วนใหญ่เป็น

พื้นที่ป่าที่มีความลาดชัน เกษตรกรควรมีการตัดแต่งกิ่งต้นกาแฟหลังเก็บเกี่ยวผลผลิตเสร็จ โดยตัดกิ่งที่ไม่สมบูรณ์ออก เพื่อลดความเสี่ยงจากการติดโรคและแมลงในฤดูถัดไป ต้นกาแฟได้สร้างกิ่งใหม่ ลำต้นใหม่ส่งผลให้ต้นไม่โทรม และผลผลิตไม่ลดต่ำลง การเก็บเกี่ยวผลกาแฟอร่าบีก้า เพื่อให้ได้คุณภาพที่ดีนั้นเกษตรกรจะต้องเก็บผลที่สุกพอดีด้วยมือ ไม่ควรเก็บผลที่สุกเกินไป ผลแห้ง หรือผลเขียว เพราะจะส่งผลกระทบต่อรสชาติของกาแฟ (ฟาดและเปรี้ยว) การผลิตกาแฟอร่าบีก้าในรูปแบบเชิงอนุรักษ์สามารถเพิ่มผลผลิตเพิ่มรายได้ และยกระดับคุณภาพชีวิตความเป็นอยู่ของชุมชนให้ดีขึ้น เกิดความเข้มแข็งบนพื้นฐานของการพึ่งพาตนเองและการพัฒนาอย่างสมดุลตามแนวทางหลักปรัชญาเศรษฐกิจพอเพียง ทั้งในมิติของการพัฒนาทักษะอาชีพ การเสริมสร้างชีวิตความเป็นอยู่ที่ดีของคนในชุมชน การมีส่วนร่วมฟื้นฟูและอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะป่าต้นน้ำให้คงอยู่ เกิดการต่อยอดและการเผยแพร่องค์ความรู้สู่ชุมชนอื่นๆ บนพื้นฐานของความยั่งยืนต่อไป

แนวทางในการพัฒนารูปแบบการส่งเสริมและพัฒนาการปลูกกาแฟอร่าบีก้า

แนวทางในการพัฒนารูปแบบการส่งเสริมและพัฒนาการปลูกกาแฟอร่าบีก้า ได้แก่ การเพิ่มพูนองค์ความรู้เรื่องกาแฟอร่าบีก้าให้แก่เกษตรกรวิสาหกิจชุมชนบ้านผาหมี่ โดยเริ่มตั้งแต่การเตรียมก่อนการปลูก การปลูกและการดูแลรักษา การป้องกันกำจัดโรคแมลงศัตรูที่สำคัญของกาแฟอร่าบีก้า การแปรรูปกาแฟอร่าบีก้า รวมไปถึงการจัดการเก็บเกี่ยว

ปัญหาและความต้องการการส่งเสริมการปลูกและผลิตกาแฟในพื้นที่

พบว่าเกษตรกรยังคงประสบปัญหาอย่างต่อเนื่องทั้งทางด้านเงินทุน แรงงาน โรคและแมลง เช่น มอด เพลี้ย เป็นต้น ซึ่งส่งผลถึงความต้องการของเกษตรกรที่อยากจะได้รับการอบรมจากเจ้าหน้าที่

ส่งเสริมการเกษตรและผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้อง รวมไปถึงการเข้าไปตรวจเยี่ยมพื้นที่ปลูกกาแฟ และให้คำปรึกษา และมีความต้องการเพิ่มเติม ดังนี้

- 1) การจัดอบรมให้ความรู้เกี่ยวกับการแก้ไขปัญหาเรื่องโรคและแมลง
- 2) การปรับปรุงระบบการประกันราคาผลผลิต
- 3) การจัดให้มีกองทุนกู้ยืม
- 4) ความต้องการการสนับสนุนเครื่องมือในการผลิต เช่น เครื่องโม่เมล็ดกาแฟ
- 5) ความต้องการการสนับสนุนการตลาดโดยเฉพาะการประกันราคาและการขยายตลาด
- 6) ความต้องการส่งเสริมองค์ความรู้การเพิ่มมูลค่าผลผลิตกาแฟ เช่น การออกแบบบรรจุภัณฑ์ การออกแบบโลโก้ของผลิตภัณฑ์ เป็นต้น

วิจารณ์และสรุปผลการวิจัย

เกษตรกรส่วนใหญ่มีการผลิตกาแฟเป็นไปในเชิงอนุรักษ์ ซึ่งทำให้สามารถเพิ่มผลผลิต เพิ่มรายได้ และยกระดับคุณภาพชีวิตความเป็นอยู่ของชุมชนให้ดีขึ้น ผลผลิตกาแฟที่ได้นำไปจำหน่ายให้กับชุมชน และพ่อค้าท้องถิ่น สำหรับการบำรุงรักษาเกษตรกรมีการใส่ปุ๋ยต้นกาแฟปีละ 1 ครั้ง อาศัยน้ำฝนในการให้น้ำต้นกาแฟ และเกษตรกรเกินครึ่งไม่มีการตัดแต่งกิ่งต้นกาแฟ ทำให้พบปัญหาโรคและแมลง เช่น มอด เพลี้ย เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบปัญหาในด้านเงินทุน และแรงงานส่งผลถึงความต้องการของเกษตรกรที่อยากจะได้รับการอบรมการเพิ่มพูนองค์ความรู้ โดยเริ่มตั้งแต่การเตรียมก่อนการปลูก การปลูกและการดูแลรักษา การป้องกันกำจัดโรคและแมลงศัตรูที่สำคัญของกาแฟอร่าบีก้า การแปรรูปกาแฟอร่าบีก้า การจัดการเก็บเกี่ยว ฯลฯ จากเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตรและผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้อง รวมไปถึงการเข้าไปตรวจเยี่ยมพื้นที่ปลูกกาแฟและการให้คำปรึกษา ซึ่งสอดคล้องกับผลงานวิจัยของ Angkasith and Pinthukas (2016) พบว่าความต้องการการส่งเสริมการปลูกและผลิตกาแฟ

ของเกษตรกรในพื้นที่ คือการเข้าไปตรวจเยี่ยมและให้คำแนะนำ คำปรึกษาในพื้นที่ปลูกกระดุมมาก ร้อยละ 72.7 ปัญหาและอุปสรรคในการปลูกและผลิตกาแฟและข้อเสนอแนะในการแก้ไขปัญหา คือ ปัญหาด้านโรคและแมลงในระดับมาก ร้อยละ 60.8 การวิเคราะห์กระบวนการส่งเสริมการปลูกกาแฟ หลักสำคัญ คือ แหล่งที่มาของวิชาการมาจากนักวิชาการเกษตร และนักส่งเสริมในระดับมาก ร้อยละ 56.9 ด้านการดำเนินการส่งเสริมการปลูกกาแฟ คือ การสร้างความตระหนัก และความสนใจจากโครงการหลวง และพื้นที่โครงการพัฒนาพื้นที่สูงแบบโครงการหลวงในระดับมาก ร้อยละ 72.2 ด้านการพัฒนาการปลูกและการผลิตของเกษตรกรผู้ปลูกกาแฟ คือ การตลาดกาแฟในระดับมาก ร้อยละ 73.2 ด้านการให้คำแนะนำ ปรึกษา และนิเทศ โดยเจ้าหน้าที่หรือนักวิจัย คือ ความรู้ด้านการปลูกและการผลิตกาแฟ ในภาพรวมจัดอยู่ในระดับมาก ร้อยละ 53.1 เงื่อนไขและปัจจัยในการเพิ่มประสิทธิภาพการส่งเสริม คือ การส่งเสริมสนับสนุน โครงการหลวงและสถาบันวิจัยและพัฒนาพื้นที่สูง ในระดับมากร้อยละ 80.9 รูปแบบการส่งเสริมการปลูกกาแฟ คือ การส่งเสริมปลูกในรูปแบบการอนุรักษ์ทรัพยากรธรรมชาติ และป่าไม้ ในระดับมาก ร้อยละ 70.3

ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะในงานวิจัย ได้แก่ ควรมีการจัดตั้งศูนย์การเรียนรู้เพื่อถ่ายทอดองค์ความรู้เกี่ยวกับการผลิตกาแฟ การแปรรูป ไปจนถึงการแนะนำด้านการตลาดภายในชุมชน นอกจากนี้แล้วควรมีการรวมกลุ่มเพื่อรวบรวมเงินซื้อเครื่องสีกาแฟที่มีคุณภาพและเพียงพอต่อความต้องการของเกษตรกร มีการจัดเวร เวลาการใช้

เครื่อง มีงบประมาณสำรองเพื่อซ่อมแซมและซื้อเครื่องใหม่เพิ่มเติม

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ได้สนับสนุนทุนอุดหนุนการวิจัย ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2561 และคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ตลอดจนเกษตรกรกลุ่มวิสาหกิจชุมชนบ้านผาหมี่ ตำบลเวียงพางคำ อำเภอแม่สาย จังหวัดเชียงราย ที่ให้ความร่วมมือและสนับสนุนการศึกษารายงานในครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Angkasith, P. and P. Pinthukas. 2016 **Arabica Coffee Extension Pattern and Process in Royal Project and Expansion Royal Project Area**. Chiang Mai: Highland Research and Development Institute (Public Organization). 1616 p. [in Thai]
- Chaovanapoonphol, Y., A. Wiboonpongse, A. Cheamuangphan, P. Kowsuwan, S. wirasak and K. Kunasri. 2014. **Competitiveness of the Royal Project Potential Products under Transition to AEC**. Chiang Mai: Highland Research and Development Institute (Public Organization). [in Thai]

ปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับเทคโนโลยีการปลูกข้าวภายใต้ระบบเกษตรดีที่เหมาะสม
ของเกษตรกรอำเภอจำพอน จังหวัดสทวันนเขต สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว
Factors Affecting to Farmers Adoption of Rice Production Technology
under Good Agricultural Practices System at Champhone District
Savannakhet Province, Lao People's Democratic Republic

Inta Chanthavong* พุฒิสรรค์ เครือคำ พหล ศักดิ์คะทัศน์ และนคเรศ รังควัต

Inta Chanthavong*, Phutthisun Kruekum, Phahol Sakkatat and Nakarate Rungkawat

สาขาวิชาพัฒนทรัพยากรและส่งเสริมการเกษตร คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

Department of Resources Development and Agricultural Extension, Faculty of Agricultural Production

Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

*Corresponding author: inta_ch@hotmail.com

Received: May 01, 2018

Revised: August 06, 2018

Accepted: August 08, 2018

Abstract

The objectives of the study were to investigate; 1) farmers' backgrounds on social and economic characteristics, 2) farmers adoption of rice production technology under good agricultural practices system, 3) factors affecting to farmers adoption of rice production technology under good agricultural practices system, 4) problems and suggestions about rice production under good agricultural practices system. The questionnaire was created to collect data from a sample of 267 farmers. The collected data were analyzed for frequency, percentage, mean, arithmetic mean, minimum, maximum, standard deviation and multiple regression.

The study results showed that the majority of farmers, 64 percent, were male with average age of 51.45 years, married, and graduated primary education or lower. The farmers had an average 6.82 of family members, 3 household workforce, 3.88 rai of agricultural area, 31.83 years of farming experience, and total family income earned 41,396 Baht. The farmers had a high level of knowledge and understanding about rice production under good agricultural practices system. However, the farmers' adoption the technology, all the average on a low level. The factors effecting to farmer's adoption on rice production technology were five factors such as education level, contracted with agricultural staff, channel for perceived agricultural information, numbers of information perceived, and knowledge and understanding about rice production under good agricultural practices. The problems of rice production under good agricultural practices was found that the farmers was not

adopting of modern technology to rice production, water shortage, soil deterioration, rice yield was affected by natural disasters, breakout of diseases and insects. Therefore, based on this result, researchers suggested to government agencies should promote and develop rice production by continuously to support new agricultural knowledge and modern technology of rice production, development of water source for rice production; relevant agencies and farmers should be prepared to protecting with natural disasters, provide advice on how to prevent disease and insect pests properly; and promotion of agricultural group forming for rice yield selling.

Keywords: adoption, rice production technology, Good Agricultural Practices
Savannakhet province, Lao People's Democratic Republic

บทคัดย่อ

การวิจัยในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษา คือ 1) ข้อมูลพื้นฐานส่วนบุคคล เศรษฐกิจ และสังคมของเกษตรกร 2) ระดับการยอมรับเทคโนโลยีการปลูกข้าวภายใต้ระบบเกษตรดีที่เหมาะสม 3) ปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับเทคโนโลยีการปลูกข้าวภายใต้ระบบเกษตรดีที่เหมาะสม และ 4) ปัญหา และข้อเสนอแนะเกี่ยวกับการปลูกข้าวภายใต้ระบบเกษตรดีที่เหมาะสม เก็บรวบรวมข้อมูลจากกลุ่มตัวอย่าง จำนวน 267 คน โดยใช้แบบสอบถาม วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติพรรณนา เพื่อหาค่าความถี่ ค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ย ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน และการวิเคราะห์ปัจจัยที่ส่งผลต่อการยอมรับเทคโนโลยีการปลูกข้าวโดยสถิติถดถอยพหุคูณแบบคัดเลือกเข้า

ผลการวิจัยพบว่า ร้อยละ 64 ของเกษตรกรเป็นเพศชาย มีอายุเฉลี่ย 51.45 ปี เกือบทั้งหมดมีสถานภาพสมรสแล้ว เกษตรกรมากกว่าครึ่งมีการศึกษาอยู่ในระดับชั้นประถมศึกษาหรือต่ำกว่า มีสมาชิกในครัวเรือนเฉลี่ย 6.82 คน มีแรงงานในครัวเรือนเฉลี่ย 3 คน มีพื้นที่ทำการเกษตรเฉลี่ย 3.88 ไร่ มีประสบการณ์ในการทำเกษตรกรรมเฉลี่ย 31.83 ปี มีรายได้รวมในครัวเรือนเฉลี่ย 41,396 บาทต่อปี เกษตรกรมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการปลูกข้าวภายใต้ระบบเกษตรดีที่เหมาะสมอยู่ในระดับมาก โดยภาพรวม

เกษตรกรมีการยอมรับเทคโนโลยีการปลูกข้าวภายใต้ระบบเกษตรดีที่เหมาะสมรวมทุกด้านอยู่ในระดับน้อย ปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับเทคโนโลยีการปลูกข้าวภายใต้ระบบเกษตรดีที่เหมาะสม มี 5 ปัจจัย ได้แก่ ระดับการศึกษา จำนวนครั้งของการติดต่อกับเจ้าหน้าที่ ช่องทางการรับรู้ข้อมูลข่าวสาร การรับรู้ข้อมูลข่าวสารด้านการเกษตร และปัจจัยด้านความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการปลูกข้าวภายใต้ระบบเกษตรดีที่เหมาะสม ด้านปัญหาของการปลูกข้าวภายใต้ระบบเกษตรดีที่เหมาะสม พบว่าเกษตรกรมีปัญหาเรื่องการไม่ยอมรับเทคโนโลยีที่ทันสมัยมาใช้ในการผลิต ปัญหานี้ไม่เพียงพอต่อการผลิต ปัญหาดินขาดความอุดมสมบูรณ์ ปัญหาผลผลิตข้าวได้รับความเสียหายจากภัยพิบัติทางธรรมชาติ ปัญหาการระบาดของโรคและแมลงศัตรูพืช ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีข้อเสนอแนะดังนี้ เนื่องจากเกษตรกรมีการยอมรับเทคโนโลยีการปลูกข้าวอยู่ในระดับน้อย เจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตรต้องออกส่งเสริมอย่างต่อเนื่อง เพื่อสนับสนุนองค์ความรู้หรือวิทยาการสมัยใหม่ในการปลูกข้าวให้แก่เกษตรกร เพื่อให้เกษตรกรเห็นถึงความสำคัญของการใช้เทคโนโลยีที่ทันสมัยในการผลิตข้าว

คำสำคัญ: การยอมรับ เทคโนโลยีการปลูกข้าว
เกษตรดีที่เหมาะสม จังหวัดสະຫວັນນະເຂດ
สาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว

คำนำ

ข้าวเป็นพืชที่มีความสำคัญทั้งในด้านเศรษฐกิจ สังคม วัฒนธรรม และวิถีชีวิตของคนในสาธารณรัฐประชาธิปไตยประชาชนลาว (สปป. ลาว) รายได้จากข้าวคิดเป็นร้อยละ 17.23 ของผลิตภัณฑ์มวลรวมในประเทศ (GDP) อีกทั้งยังสร้างอาชีพแรงงานในภาคการเกษตรได้ถึงร้อยละ 86 ซึ่งปัจจุบัน สปป. ลาว มีพื้นที่ปลูกข้าวประมาณ 5,455,600 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 80 ของพื้นที่ปลูกพืชทั้งหมดในประเทศ สามารถผลิตข้าวได้ประมาณ 4.12 ล้านตันข้าวเปลือก เฉลี่ย 768 กิโลกรัมต่อไร่ นอกจากนี้ข้าวยังเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญ สามารถสร้างรายได้นำเงินเข้าประเทศปีละหลายล้านบาท และยังเป็นพืชที่สร้างความมั่นคงทางด้านอาหารในประเทศอีกด้วย (Lao Statistics Bureau, 2015)

แผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 8 (พ.ศ. 2559–2563) ของ สปป. ลาว รัฐบาลได้มีการกำหนดเป้าหมายในการผลิตข้าวให้ได้ 4.5 ล้านตันต่อปี วัตถุประสงค์เพื่อตอบสนองความต้องการอาหารของคนในประเทศ และส่วนที่เหลือเพื่อการส่งออกให้ได้ 1-1.5 ล้านตันต่อปี เพื่อบรรลุเป้าหมายนี้รัฐบาลต้องส่งเสริมให้เกษตรกรเน้นการทำเกษตรที่ทันสมัย และมีคุณภาพสูง ปรับปรุงระบบการผลิตของเกษตรกรในรูปแบบฟาร์ม สร้างกลุ่มการผลิตที่มีระบบการจัดกลุ่มเป็นวิสาหกิจชุมชน และครอบคลุมต้นแบบทางการผลิตเกษตร รวมทั้งส่งเสริมให้นำเทคโนโลยีทางการเกษตรที่ทันสมัยมาประยุกต์ใช้ในการผลิต นอกจากนี้ภาครัฐก็ยังให้การช่วยเหลือเกษตรกรด้วยการสร้างระบบชลประทานที่ดี ใช้เครื่องมือทางการเกษตรที่ทันสมัย ปัจจัยการผลิต ปุ๋ย จัดหาพันธุ์ข้าวชนิดใหม่ที่ให้ผลผลิตสูง รวมไปถึงการหาวิธีการเพื่อเพิ่มผลผลิตข้าวในรูปแบบต่างๆ เพื่อให้ได้ผลผลิตตามเป้าหมายที่กำหนดไว้ และสามารถสนองผลผลิตให้แก่ภาคอุตสาหกรรมแปรรูปและการบริการ ให้ได้ทั้งในด้านปริมาณและคุณภาพ นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มมูลค่าให้แก่สินค้าเกษตรได้อีกด้วย (Ministry of Planning and Investment, 2016)

นอกจากการเพิ่มผลผลิตข้าวให้สูงขึ้นตามเป้าหมายแล้ว ปัจจุบันการแข่งขันด้านสินค้าเกษตรและอาหารของโลกยังมุ่งเน้นไปที่คุณภาพและความปลอดภัย ไม่เฉพาะตัวผลผลิต แต่ยังรวมถึงสุขภาพและการลดความเสี่ยงของเกษตรกรจากการใช้สารเคมี รวมทั้งคำนึงถึงการเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย ดังนั้นการเพาะปลูกในรูปแบบการเกษตรที่ดีที่เหมาะสม (GAP) และการทำเกษตรอินทรีย์ จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของเกษตรกรที่จะมีคุณภาพชีวิตที่ดีอย่างยั่งยืน เนื่องจากสินค้าปลอดสารเคมีจะมีราคาสูง อีกทั้งกระบวนการผลิตจะช่วยเกษตรกรลดต้นทุนการผลิตต่อหน่วยได้อีกด้วย ดังนั้นรัฐบาล สปป. ลาว จึงมีมาตรการสนับสนุนและควบคุมความปลอดภัยของสินค้าเกษตรและอาหารชนิดต่างๆ ให้มีมาตรฐาน รวมถึงการผลิตข้าวซึ่งเป็นสินค้าเกษตรสำคัญของ สปป. ลาว ที่จะต้องเร่งผลักดันให้เกษตรกรเข้าใจถึงแนวทางการผลิตทั้งสองรูปแบบที่กล่าวไปข้างต้น ว่ามีผลดีในระยะยาวอย่างไร โดยจะมีการเผยแพร่ความรู้ตั้งแต่เตรียมพื้นที่เพื่อการเพาะปลูก ไปจนถึงการแปรรูปข้าวให้เป็นสินค้าทั้งบริโภค อุปโภค เพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับผลผลิตข้าว (Ministry of Agriculture and Forestry, 2017)

ปี พ.ศ. 2557 กรมปลูกฝิ่ง กระทรวงกสิกรรมและป่าไม้ ได้สร้างคู่มือว่าด้วยการปฏิบัติกสิกรรมที่ดีสำหรับข้าว เพื่อเป็นคู่มือให้แก่กลุ่มผู้ผลิตกสิกรรมที่ดีและวิชาการการเกษตรในการควบคุมมาตรฐานกสิกรรมที่ดีให้ถูกต้องและสอดคล้องกับมาตรฐาน โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อส่งเสริมการผลิตกสิกรรมที่ดีให้กลายเป็นสินค้าเพิ่มขึ้น มาตรฐานกสิกรรมที่ดีสำหรับข้าวประกอบด้วย 12 ด้าน และ 65 ข้อกำหนด ซึ่งจะใช้ในการควบคุมการผลิตข้าวทุกขั้นตอน เริ่มจากการจัดหาเมล็ดพันธุ์ข้าวไปจนถึงการเก็บรักษาและการขนส่งผลผลิตเพื่อทำให้การผลิตข้าวมีคุณภาพที่ดีและมีความปลอดภัยทั้งผู้ผลิตและผู้บริโภค (Department of Agronomy, 2014)

จังหวัดสะหวันนะเขต เป็นจังหวัดที่มีพื้นที่การผลิตข้าวมากที่สุด ใน สปป. ลาว โดยมีพื้นที่ปลูกข้าวทั้งหมด 1,460,713 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 26 ของพื้นที่ปลูกข้าวทั้งหมดในประเทศ มีผลผลิตรวม 911,325 ตัน (Lao Statistics Bureau, 2015) เนื่องจากจังหวัดสะหวันนะเขตเป็นแหล่งผลิตข้าวที่สำคัญของประเทศ รัฐบาล สปป. ลาว จึงได้มีโครงการส่งเสริมให้เกษตรกรนำเทคโนโลยีที่ทันสมัยมาใช้ในการผลิตข้าวทดแทนรูปแบบการผลิตแบบดั้งเดิม เพื่อที่จะทำให้เกษตรกรสามารถเพิ่มผลผลิตข้าวต่อไร่ให้ได้มากที่สุด (Sacklokham, 2013) อำเภอจำพอน เป็นอำเภอที่มีพื้นที่ปลูกข้าวเป็นอันดับหนึ่งของจังหวัด ซึ่งเรียกได้ว่าเป็นอู่ข้าวอู่น้ำของจังหวัดสะหวันนะเขต มีพื้นที่ปลูกข้าวทั้งหมด 218,125 ไร่ คิดเป็นร้อยละ 15 ของพื้นที่ปลูกข้าวทั้งหมดของจังหวัดสะหวันนะเขต สามารถปลูกข้าวได้ทั้งฤดูนาปีและนาปรัง มีผลผลิตข้าว 105,831 ตัน คิดเป็นร้อยละ 12 ของผลผลิตข้าวทั้งหมดของจังหวัด (Champhone's Agriculture and forestry office, 2018)

ปัจจุบันมีการนำเอาเทคโนโลยีมาใช้ในการสร้างประโยชน์ทางภาคการเกษตรในรูปแบบต่างๆ เริ่มตั้งแต่การเพาะปลูกไปจนถึงการเก็บเกี่ยว และการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว ซึ่งภาครัฐพยายามผลักดันนโยบายต่างๆ เพื่อพัฒนาเศรษฐกิจให้มีการขยายตัวมากยิ่งขึ้น จากการพยายามผลักดันสินค้าเกษตรเพื่อการส่งออก ทั้งผลผลิตแบบสดและผลผลิตแปรรูป ส่งผลให้มีความพยายามในการพัฒนาในภาคการเกษตรเพื่อนำไปสู่ภาคอุตสาหกรรมอย่างต่อเนื่องที่ต้องอาศัยความรู้ด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีระดับสูง โดยเฉพาะการวิจัยและพัฒนาทางวิทยาศาสตร์ เพื่อให้เกิดการนำเทคโนโลยีมาใช้ในการเพิ่มมูลค่าให้กับตัวสินค้า หรือผลิตผลก่อนจำหน่ายออกสู่ตลาด เพื่อให้เกิดการลดต้นทุน และสามารถเพิ่มผลกำไรได้มากขึ้นนั่นเอง (Wattanasanguth, 2011)

มาตรฐานเกษตรที่ดีที่เหมาะสมสำหรับข้าวใน สปป. ลาว นั้นประกอบด้วยหลายด้าน หลายข้อกำหนด และหลายขั้นตอน จึงเป็นเรื่องยากที่จะทำให้เกษตรกรเกิดการยอมรับ และนำไปปฏิบัติตาม เนื่องจากการยอมรับเทคโนโลยีการผลิต

พืชของเกษตรกรนั้น มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องอยู่หลายปัจจัย ทั้งปัจจัยในครัวเรือนของเกษตรกร ได้แก่ การถือครองที่ดิน แรงงานและทุน รวมทั้งปัจจัยภายนอกที่มีผลกระทบต่อกิจกรรมต่างๆ ได้แก่ ปัจจัยทางด้านกายภาพ ชีวภาพ เช่น ความอุดมสมบูรณ์ของดิน ปริมาณน้ำฝน สภาพพื้นที่ โรคแมลง และวัชพืช ปัจจัยทางเศรษฐกิจและสังคม เช่น ตลาดสินเชื่อ การขนส่ง ความเชื่อ ความกดดัน การรวมกลุ่ม การรับรู้ข้อมูลข่าวสาร ความรู้ความสามารถของเกษตรกรและเงื่อนไขทางสังคมอื่นๆ ปัจจัยต่างๆ เหล่านี้มีความสัมพันธ์ซึ่งกันและกัน นอกจากนี้ ยังมีปัจจัยภายนอกระบบซึ่งมีผลกระทบมาถึงเกษตรกรผู้ผลิต เช่น การตลาด ราคาผลผลิต ปัจจัยการผลิต นโยบายรัฐบาล กฎเกณฑ์ของสังคม สิ่งต่างๆ เหล่านี้ล้วนส่งผลต่อการยอมรับเทคโนโลยีของเกษตรกรทั้งสิ้น รวมทั้งเงื่อนไขของเกษตรกรจะแตกต่างกันไปในแต่ละท้องที่ (Margaret Mwangi and Samuel Kariuki, 2015) จากสภาพปัญหาดังกล่าว จึงควรศึกษาการยอมรับเทคโนโลยีการปลูกข้าวภายใต้ระบบเกษตรที่ดีที่เหมาะสมของเกษตรกรในอำเภอจำพอน จังหวัดสะหวันนะเขต เพื่อนำไปใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการวางแผนงานส่งเสริม แก้ปัญหา และปรับปรุงการผลิตข้าวตามระบบเกษตรที่ดีที่เหมาะสมให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น และนำไปใช้เป็นข้อมูลในการเลือกเทคโนโลยีการปลูกข้าวให้มีความเหมาะสมต่อเกษตรกรได้

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยนี้ใช้รูปแบบการวิจัยเชิงปริมาณ เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับเทคโนโลยีการปลูกข้าวภายใต้ระบบเกษตรที่ดีที่เหมาะสมของเกษตรกรอำเภอจำพอน จังหวัดสะหวันนะเขต สปป. ลาว โดยมีการดำเนินวิจัยดังนี้

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรที่ใช้ในการศึกษาวิจัย คือ เกษตรกรที่ปลูกข้าวในอำเภอจำพอน ซึ่งมีการคำนวณจำนวนกลุ่มตัวอย่างด้วยการใช้วิธีการสุ่มตัวอย่างแบบหลายขั้นตอน

(Sawathee, 1998) ดังนี้ 1) เลือกทุกตำบลในอำเภอมาสุ่มได้หนึ่งตำบล คือ ตำบลที่ 10 2) เลือกหมู่บ้านในตำบล ได้จำนวน 5 หมู่บ้าน ได้แก่ บ้านท่าเมือง ท่าม่วง ดงเมือง สะคินใต้ และสะคินเหนือ โดยพบว่ามีความถี่ของเกษตรกรจำนวน 806 ครัวเรือน จากนั้นกำหนดขนาดตัวอย่างตามสูตรของ Yamane (1973) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ความคลาดเคลื่อน 0.05 ได้กลุ่มตัวอย่างครัวเรือนเกษตรกร คือ 267 ครัวเรือน 3) กำหนดสัดส่วนประชากรในแต่ละหมู่บ้านด้วยวิธีการเทียบบัญญัติไตรยางศ์ และ 4) เลือกตัวอย่างเกษตรกรที่จะสัมภาษณ์จากแต่ละหมู่บ้านด้วยวิธีการสุ่มตัวอย่างแบบง่าย คือ การจับฉลากหมายเลขจากรายชื่อเกษตรกร โดยไม่นำสลากหมายเลขรายชื่อเกษตรกรที่จับแล้วใส่กลับคืนไป โดยการวิจัยครั้งนี้ได้ดำเนินการวิจัยตั้งแต่เดือนตุลาคม พ.ศ. 2560 ถึงเดือนมิถุนายน พ.ศ. 2561

การเก็บรวบรวมข้อมูล

แหล่งข้อมูลที่รวบรวมเพื่อใช้ในการวิจัยสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ 1) ข้อมูลทุติยภูมิ ซึ่งเป็นการรวบรวมข้อมูลจากเอกสาร รายงานการวิจัย รายงานประจำปีของอำเภอจำพอน และข้อมูลพื้นฐานของการปลูกข้าว จากสำนักงานกสิกรรมและป่าไม้อำเภอจำพอน และ 2) ข้อมูลปฐมภูมิ โดยมีการใช้แบบสอบถามเป็นเครื่องมือในการเก็บรวบรวมข้อมูลการวิจัย ซึ่งมีจำนวน 267 ชุด โดยเก็บจากเกษตรกรเป็นรายบุคคล

การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลการวิจัยในครั้งนี้ ใช้โปรแกรมสถิติสำเร็จรูป เพื่อการวิจัยทางสังคมศาสตร์ ซึ่งมีการแบ่งการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ได้ดังนี้ คือ 1) ข้อมูลพื้นฐานส่วนบุคคล เศรษฐกิจ สังคมของเกษตรกร และระดับความรู้ของเกษตรกร โดยใช้สถิติเชิงพรรณนา ได้แก่ ค่าร้อยละ ค่าเฉลี่ยเลขคณิต ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 2) สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลเกี่ยวกับการยอมรับเทคโนโลยีการปลูกข้าวทั้งหมด 12 ด้าน 65 ประเด็น ใช้วิธีการประเมินระดับการยอมรับ

ที่ประยุกต์มาจากมาตราประมาณค่าของ Likert โดยกำหนดค่าคะแนน ดังนี้ 1) ปฏิบัติทุกครั้ง แทนค่าคะแนนด้วย 5 2) ปฏิบัติเกือบทุกครั้ง แทนค่าคะแนนด้วย 4 3) ปฏิบัติบางครั้ง แทนค่าคะแนนด้วย 3 4) ปฏิบัติน้อยครั้ง แทนค่าคะแนนด้วย 2 และ 5) ไม่ปฏิบัติเลย แทนค่าคะแนนด้วย 1 จากนั้นแปลความหมายด้วยวิธีนำแต่ละประเด็นมาเปรียบเทียบกับเกณฑ์การแปลความหมาย ใช้ค่าเฉลี่ยกลางเป็นเกณฑ์ในการแปลความหมาย ดังนี้ 1) ค่าคะแนนเฉลี่ยระหว่าง 4.51-5.00 หมายถึง ยอมรับเทคโนโลยีในระดับมากที่สุด 2) ค่าคะแนนเฉลี่ยระหว่าง 3.51-4.50 หมายถึง ยอมรับเทคโนโลยีในระดับมาก 3) ค่าคะแนนเฉลี่ยระหว่าง 2.51-3.50 หมายถึง ยอมรับเทคโนโลยีในระดับปานกลาง 4) ค่าคะแนนเฉลี่ยระหว่าง 1.51-2.50 หมายถึง ยอมรับเทคโนโลยีในระดับน้อย และ 5) ค่าคะแนนเฉลี่ยระหว่าง 1.00-1.50 หมายถึง ไม่ยอมรับเทคโนโลยี ส่วนการวิเคราะห์หาปัจจัยที่ส่งผลต่อการยอมรับเทคโนโลยีการปลูกข้าวภายใต้ระบบเกษตรดีที่เหมาะสม โดยการใช้สถิติอนุमान คือ การวิเคราะห์พหุคูณถอยแบบคัดเลือกเข้า (Enter multiple regression analysis)

ผลการวิจัยและวิจารณ์

ผลการวิจัยพบว่า ร้อยละ 64 ของเกษตรกรที่ตอบแบบสอบถามเป็นเพศชาย มีอายุเฉลี่ย 51.45 ปี เกือบทั้งหมดมีสถานภาพสมรสแล้ว (ร้อยละ 92.5) เกษตรกรมากกว่าครึ่งมีการศึกษาอยู่ในระดับชั้นประถมศึกษาหรือต่ำกว่า (ร้อยละ 53.2) มีสมาชิกในครัวเรือนเฉลี่ย 6.82 คน มีแรงงานในครัวเรือนเฉลี่ย 3 คน มีพื้นที่ทำการเกษตรเฉลี่ย 3.88 ไร่ มีประสบการณ์ในการทำเกษตรกรรมเฉลี่ย 31.83 ปี มีรายได้รวมในครัวเรือนเฉลี่ย 41,396 บาทต่อปี เข้าร่วมเป็นสมาชิกองค์กรในชุมชนเฉลี่ย 4 กลุ่ม ติดต่อกับเจ้าหน้าที่ทางการเกษตรเฉลี่ย 1 ครั้งต่อปี เข้าร่วมฝึกอบรมหรือดูงานเกี่ยวกับการทำเกษตรกรรมเฉลี่ย 1 ครั้งต่อปี รับข้อมูลข่าวสารจากสื่อต่างๆ ผ่าน 4 ช่องทาง จำนวนครั้งที่ได้รับข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับการทำเกษตรกรรมเฉลี่ย 10 ครั้งต่อปี

และด้านการติดต่อกับเพื่อนบ้านด้านการเกษตร เฉลี่ย 1 ครั้งต่อปี เกษตรกรมีความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการปลูกข้าว ภายใต้ระบบเกษตรดีที่เหมาะสมเฉลี่ย 15 คะแนน อยู่ในระดับมาก

การยอมรับเทคโนโลยีการปลูกข้าวภายใต้ระบบเกษตรดีที่เหมาะสมรวมทุกด้านเฉลี่ย 2.09 คะแนน อยู่ในระดับน้อย โดยเรียงค่าเฉลี่ยแต่ละด้านจากมากไปน้อยได้ดังนี้ ด้านสุขภาพของแรงงาน ด้านการใช้เมล็ดพันธุ์ ด้าน

แหล่งน้ำ ด้านการเก็บรักษาและขนส่งผลผลิต ด้านการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์การเก็บเกี่ยว ด้านการใช้และการเก็บรักษาสารเคมี ด้านปุ๋ยและธาตุอาหารบำรุงดิน ด้านประวัติและการจัดการพื้นที่การผลิต ด้านการพิสูจน์หลักฐานและการเรียกกลับ ด้านการทบทวนเกี่ยวกับการปฏิบัติงาน ด้านการฝึกอบรม และด้านการบันทึกข้อมูล โดยมีค่าเฉลี่ย 3.06, 2.69, 2.64, 2.51, 2.12, 2.12, 1.83, 1.76, 1.69, 1.66, 1.50 และ 1.47 ตามลำดับ (Table 1)

Table 1 The farmer's adoption level on rice production technology under good agricultural practices system

Adoption on rice production technology under good agricultural practices system	Mean	S.D	Interpretation
Plantation area	1.76	0.49	Low
Seed utilization	2.69	0.60	Moderate
Application of fertilizer	1.83	0.53	Low
Water sources	2.64	0.80	Moderate
Application of chemicals	2.12	0.68	Low
Equipment for harvesting	2.13	0.81	Low
Storage and transportation	2.51	0.83	Moderate
Problems solving and feedback	1.69	0.57	Low
Farmer's health	3.06	0.99	Moderate
Participation on agricultural training	1.47	0.51	Lowest
Recording and record keeping	1.51	0.60	Low
Practices review	1.66	0.57	Low
Accumulated average	2.09	0.40	Low

ผลการวิเคราะห์ปัจจัยที่มีผลต่อการยอมรับเทคโนโลยีการปลูกข้าวภายใต้ระบบเกษตรที่ดีที่เหมาะสมพบว่าตัวแปรอิสระทั้งหมด 16 ตัวแปร มีอิทธิพลต่อการยอมรับเทคโนโลยีการปลูกข้าวภายใต้ระบบเกษตรที่ดีที่เหมาะสมอยู่ร้อยละ 38.80 ($R^2=0.388$) ส่วนที่เหลืออีกร้อยละ 61.20 เป็นอิทธิพลจากปัจจัยอื่นที่ไม่ได้กำหนดในการวิจัยครั้งนี้ และเมื่อพิจารณาตัวแปรอิสระที่มีผลต่อการยอมรับเทคโนโลยีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พบว่ามีทั้งหมด 5 ตัวแปร และทั้งหมดมีผลทางบวก คือ ระดับการศึกษา จำนวนครั้งของการติดต่อกับเจ้าหน้าที่ส่งเสริม ช่องทางการรับรู้ข้อมูลข่าวสาร ซึ่งมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ส่วนจำนวนครั้งของการรับรู้ข้อมูลข่าวสารด้านการเกษตร และความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการปลูกข้าวภายใต้ระบบเกษตรที่ดีที่เหมาะสม มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเกษตรกรที่มีระดับการศึกษาสูงจะมีการยอมรับเทคโนโลยีได้เร็วกว่า ทั้งนี้เนื่องจากการศึกษาที่สูงขึ้นมีอิทธิพลต่อทัศนคติและความคิดเห็นของเกษตรกร ทำให้พวกเขาเปิดกว้างมากขึ้น มีเหตุผลและสามารถวิเคราะห์ประโยชน์ของเทคโนโลยีใหม่ได้ จึงทำให้เกิดการยอมรับง่ายขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Khemmee *et al.* (2013) ที่พบว่า ระดับการศึกษาเป็นตัวแปรอิสระที่มีผลต่อการยอมรับเทคโนโลยีการปลูกข้าวนาโยนโดยภาพรวมในเชิงปฏิบัติของเกษตรกรในอำเภอบางระกำ จังหวัดพิษณุโลก และการที่เกษตรกรมีการติดต่อสื่อสารกับเจ้าหน้าที่ส่งเสริมด้านการเกษตรมาก จะทำให้เกิดความรู้ความเข้าใจได้ดี จึงนำมาซึ่งการยอมรับเทคโนโลยีได้ง่ายขึ้น ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Akudugu *et al.* (2012) ที่พบว่า การเข้าถึงบริการของการส่งเสริมการเกษตร เป็นสิ่งสำคัญในการช่วยให้เกิดการยอมรับเทคโนโลยีการผลิตทางการเกษตรที่ทันสมัย เนื่องจากจะได้รับข้อมูลข่าวสารที่เป็นทางการและเกิดความรู้ความเข้าใจในเทคโนโลยีได้ง่ายขึ้น ซึ่งจะทำให้

เกษตรกรกล้าตัดสินใจเพื่อนำเทคโนโลยีมาใช้ การเข้าถึงบริการของการส่งเสริมเกษตรจึงเป็นแหล่งสำคัญสำหรับการได้มาซึ่งข้อมูลที่เกี่ยวข้อง และการเข้าถึงข้อมูลผ่านบริการนักส่งเสริมจะช่วยลดความไม่แน่นอนเกี่ยวกับประสิทธิภาพของเทคโนโลยี ซึ่งอาจเปลี่ยนแปลงการประเมินของแต่ละบุคคล จากเรื่องที่ยังไม่เข้าใจไปสู่เป้าหมายโดยสิ้นเชิง ซึ่งจะช่วยให้เกิดการยอมรับได้ง่ายขึ้น และทำนองเดียวกับ Painvijite (2011) ที่พบว่า เกษตรกรที่มีการติดต่อกับเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตรอยู่เป็นประจำจะยอมรับวิทยาการแผนใหม่มากกว่า เพราะมีโอกาสรับรู้และเรียนเทคนิคในการทำฟาร์มใหม่ๆ และ Kristy (1984) พบว่าเกษตรกรที่มีการติดต่อกับเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตรหรือผู้นำการเปลี่ยนแปลงอื่นๆ มากกว่า จะมีการยอมรับการเปลี่ยนแปลงในระดับที่เร็วและมากกว่า ดังนั้นสิ่งสำคัญที่สุดในการนำเทคโนโลยีไปใช้ ขึ้นอยู่กับความสัมพันธ์ระหว่างเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตรกับเกษตรกร โดยเฉพาะความสัมพันธ์ด้านจิตใจ ความเข้าใจ ความจริงใจที่จะปฏิบัติงาน ต้องมีอุดมการณ์ในการทำงาน มีความเชื่อใจ มีความศรัทธาต่อเจ้าหน้าที่ มีความสามารถในการถ่ายทอดข่าวสาร เช่น การพูด การเขียน ความมีเหตุผล ตลอดจนมีความสามารถในการรับข่าวสาร ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับเรื่องนี้ คือ การเข้าถึงบริการจากเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตร มีความสัมพันธ์เชิงบวกกับการยอมรับเทคโนโลยีการผลิตข้าวตามระบบเกษตรที่ดีที่เหมาะสม และพบว่ามีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 หมายความว่า เกษตรกรมีแนวโน้มที่จะใช้เทคโนโลยีการผลิตข้าวตามระบบเกษตรที่ดีที่เหมาะสม หากพวกเขามีโอกาสเข้าถึงการบริการด้านการส่งเสริมการเกษตร

ในด้านช่องทางการรับรู้ข้อมูลข่าวสารด้านการเกษตรจากสื่อต่างๆ ก็มีอิทธิพลต่อการยอมรับเทคโนโลยี เนื่องจากข้อมูลข่าวสารจากสื่อต่างๆ ที่เกษตรกรได้รับจะช่วยกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทัศนคติ และเกิดการยอมรับได้เร็วขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ

Lapple and Rensburg (2011) ที่พบว่า การขาดคำแนะนำจากสื่อต่างๆ ในประเทศไอร์แลนด์ และการขาดแคลนข้อมูลข่าวสารอย่างกว้างขวาง เช่น นิตยสาร อินเทอร์เน็ต และทีวี/วิทยุ และทั้งนี้อาจเป็นเพราะแหล่งข้อมูลเหล่านี้ส่วนใหญ่ยังให้ข้อมูลเกี่ยวกับการทำการเกษตรในรูปแบบเดิม จึงมีผลกระทบด้านลบต่อการยอมรับการทำเกษตรอินทรีย์ ด้านจำนวนครั้งของการได้รับข้อมูลข่าวสารด้านการเกษตรก็มีผลที่ทำให้เกิดการยอมรับเทคโนโลยีการปลูกข้าวภายใต้ระบบเกษตรที่ดีที่เหมาะสมนั้นหมายความว่ายิ่งเกษตรกรได้รับข้อมูลข่าวสารด้านการเกษตรมากเท่าไรก็ยิ่งทำให้เกิดการยอมรับเทคโนโลยีได้มากขึ้น ซึ่งผลการวิจัยครั้งนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Saosama *et al.* (2010) ที่พบว่า การที่เกษตรกรได้รับข้อมูลข่าวสารด้านการเกษตรมาก จึงทำให้เกษตรกรเกิดการยอมรับการผลิตข้าวหอมมะลิคุณภาพดีตามระบบเกษตรที่ดีที่เหมาะสม ในระดับมากตามไปด้วย เช่นเดียวกับ Rahul *et al.* (2013) ที่พบว่า การรับรู้ข่าวสารเกี่ยวกับยางพารา จากสื่อมวลชน มีความสัมพันธ์กับการตัดสินใจปลูกยางพาราของเกษตรกรด้านการผลิตยางพารา

ด้านผู้นำในท้องถิ่น และด้านภาพรวมในอำเภอสนามชัยเขต จังหวัดฉะเชิงเทรา (ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติ 0.05) และด้านความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการปลูกข้าวตามระบบเกษตรที่ดีที่เหมาะสม ผลการวิเคราะห์พบว่า ถ้าเกษตรกรมีคะแนนความรู้เพิ่มขึ้นจะมีผลต่อการยอมรับเทคโนโลยีการปลูกข้าวตามระบบเกษตรที่ดีที่เหมาะสมเพิ่มขึ้นตาม ซึ่งอาจเป็นผลมาจากเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตรได้มีการถ่ายทอดความรู้ให้แก่เกษตรกรอย่างต่อเนื่อง และเกษตรกรมีการรับรู้ข้อมูลข่าวสารจากสื่อต่างๆ ด้วย เนื่องจากเกษตรกรที่มีความรู้ความเข้าใจจะสามารถประเมินผล และวิเคราะห์ประโยชน์ของเทคโนโลยีใหม่ได้ดีกว่า ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Sunthophan (2009) ที่พบว่า ความรู้เกี่ยวกับเกษตรอินทรีย์ และทัศนคติต่อการทำเกษตรอินทรีย์ของผู้ให้ข้อมูลมีความสัมพันธ์กับระดับการยอมรับเทคโนโลยีการผลิตแบบเกษตรอินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และทำนองเดียวกับ Sujaritturakarn (2010) ที่พบว่า ความรู้เกี่ยวกับการผลิตและการใช้ปุ๋ยอินทรีย์ มีอิทธิพลต่อการยอมรับการผลิตและการใช้ปุ๋ยอินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ 0.01 (Table 2)

Table 2 Factors affecting to farmers adoption of rice production technology under good agricultural practices

Independent variables	Dependent variable		
	Farmers adoption of rice production technology under good agricultural practices		
	B	T	Sig.
1. Sex	0.059	1.180	0.239
2. Age	-0.001	-0.348	0.728
3. Status	0.154	1.692	0.092
4. Education level	0.115	2.293	0.023*
5. Family member	-0.005	-0.557	0.578
6. Main occupation	0.018	0.280	0.780
7. Farming area	-0.013	-0.134	0.894
8. Farming experience	-0.001	-0.358	0.721
9. Family income	-1.487E-9	-0.586	0.558
10. Agricultural group member	-0.025	-0.358	0.720
11. Contact with agricultural staffs	0.097	2.307	0.022*
12. Agricultural training/educational trip	0.001	0.025	0.980
13. Agricultural information chanel	0.120	2.515	0.013*
14. Number of perceived agricultural information	0.009	2.762	0.007*
15. Number of contacts with neighbors about agricultural production	-0.009	-0.333	0.739
16. Knowledge about rice production under good agricultural practice	0.029	2.831	0.005*
Constant	1.672	3.553	0.000**
$R^2 = 0.388$ (38.80%), $F = 2.429$, Sig. $F = 0.001$			

*statistically significant level at 0.05, ** statistically significant level at 0.01

การศึกษาปัญหาและข้อเสนอแนะต่อการปลูกข้าว ภายใต้ระบบเกษตรที่ดีที่เหมาะสม พบว่า 1) ปัญหาเรื่องน้ำ เกษตรกรปลูกข้าวโดยอาศัยน้ำฝน ทำให้ยากต่อการควบคุม ปริมาณน้ำ บางปีเกิดภัยแล้งทำให้น้ำไม่เพียงพอต่อการปลูก

ข้าว บางปีน้ำท่วมพื้นที่การผลิตทำให้ผลผลิตข้าวได้รับความเสียหาย 2) ปัญหาดินขาดความอุดมสมบูรณ์ ทำให้ เกษตรกรใช้ปัจจัยการผลิตเพิ่มขึ้น เช่น ปุ๋ยเคมี ยาปราบ ศัตรูพืชและแมลง เครื่องมือ/เครื่องจักรทางการเกษตร จึงทำ

ให้ต้นทุนการผลิตสูงขึ้น ในทางตรงกันข้ามราคาผลผลิตข้าวกลับตกต่ำ ทำให้เกษตรกรต้องขายผลผลิตข้าวในราคาถูกและขาดทุน 3) การได้รับความเสียหายจากภัยพิบัติทางธรรมชาติ ได้แก่ ภัยแล้งและน้ำท่วม อันเป็นสาเหตุทางตรงและทางอ้อม ทำให้ผลผลิตเสียหายไม่ได้มาตรฐานและปริมาณตามที่ตลาดต้องการ 4) ปัญหาการระบาดของโรคและแมลงศัตรูพืช เช่น โรคใบด่าง บั่ว (Rice gall midge) หอยเชอรี่ทำลายต้นข้าว ทำให้ข้าวได้รับความเสียหายเป็นจำนวนมาก ดังนั้นเกษตรกรจึงมีข้อเสนอแนะที่ต้องการให้หน่วยงานของรัฐและเอกชน ควรมีการส่งเสริมและพัฒนาการทำเกษตรกรรม ดังนี้ 1) เจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตรต้องออกส่งเสริมอย่างต่อเนื่อง เพื่อสนับสนุนองค์ความรู้หรือวิทยาการสมัยใหม่ในการทำเกษตรให้แก่เกษตรกร เช่น ปฏิบัติตามระบบเกษตรที่ดีที่เหมาะสม การบำรุงรักษาดิน การวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตและการตลาด เพื่อให้เกษตรกรเกิดความรู้ความเข้าใจและมีการยอมรับเทคโนโลยีมากขึ้น 2) ควรจัดหาแหล่งน้ำที่สะอาด และให้เพียงพอต่อการทำเกษตรกรรมตลอดทั้งปี ด้วยการสร้างระบบชลประทานให้ทั่วถึงพื้นที่ทำการเกษตรของเกษตรกร 3) หน่วยงานที่เกี่ยวข้องและเกษตรกรควรมีมาตรการเพื่อเตรียมรับมือกับภัยพิบัติทางธรรมชาติที่จะเกิดขึ้น เช่น การขุดลอกลำเหมืองไม่ให้ตันเขินเพื่อสามารถกักเก็บน้ำไว้ใช้ในการทำเกษตรในฤดูแล้ง การกำจัดวัชพืชหรือสิ่งกีดขวางทางน้ำไหลเพื่อบรรเทาปัญหาน้ำท่วมในฤดูฝน เป็นต้น 4) หน่วยงานที่เกี่ยวข้องควรให้คำแนะนำเกี่ยวกับวิธีการในการป้องกันโรคและแมลงศัตรูพืชอย่างถูกวิธีทั้งในระบบเกษตรที่ดีที่เหมาะสม และระบบเกษตรอินทรีย์ 5) สนับสนุนให้เกษตรกรมีการรวมกลุ่มเพื่อให้เกิดความเข้มแข็งและมีอำนาจในการต่อรองราคาผลผลิตทางการเกษตร

สรุปผลการวิจัย

การยอมรับเทคโนโลยีการปลูกข้าวภายใต้ระบบเกษตรที่ดีที่เหมาะสมของเกษตรกร ทั้งหมด 12 ด้าน พบว่าโดยภาพรวมเกษตรกรยอมรับเทคโนโลยีในระดับต่ำ ทั้งนี้

เกษตรกรยอมรับในระดับปานกลางมี 4 ด้าน ได้แก่ ด้านการใช้เมล็ดพันธุ์ ด้านแหล่งน้ำในการผลิต ด้านการเก็บรักษา และการขนส่งผลผลิต และด้านสุขภาพของแรงงาน การยอมรับเทคโนโลยีในระดับน้อย มี 7 ด้าน คือ ด้านการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์เก็บเกี่ยว ด้านการใช้และการเก็บรักษาสารเคมี ด้านปุ๋ยและธาตุอาหารบำรุงดิน ด้านประวัติและการจัดการพื้นที่การผลิต ด้านการพิสูจน์หลักฐานและการเรียกคืน ด้านการทบทวนคืนเกี่ยวกับการปฏิบัติงาน และด้านการฝึกอบรม ส่วนการยอมรับเทคโนโลยีในระดับต่ำมากมีเพียงด้านเดียว คือ ด้านการบันทึกข้อมูล ปัจจัยที่ส่งผลต่อการยอมรับเทคโนโลยีการปลูกข้าวภายใต้ระบบเกษตรที่ดีที่เหมาะสม มี 5 ปัจจัย ได้แก่ ระดับการศึกษา จำนวนครั้งของการติดต่อกับเจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตร ช่องทางการรับรู้ข้อมูลข่าวสาร จำนวนครั้งที่ได้รับข้อมูลข่าวสารด้านการเกษตร และความรู้และความเข้าใจเกี่ยวกับการปลูกข้าวภายใต้ระบบเกษตรที่ดีที่เหมาะสม

ข้อเสนอแนะ

เสนอให้หน่วยงานภาครัฐ เจ้าหน้าที่ส่งเสริมการเกษตร และหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ดังนี้ 1) เนื่องจากเกษตรกรมีการยอมรับเทคโนโลยีการปลูกข้าวในระดับต่ำ ดังนั้น ควรจัดการฝึกอบรมและให้ความรู้แก่เกษตรกรอย่างต่อเนื่อง เพื่อสนับสนุนองค์ความรู้หรือวิทยาการที่ทันสมัย ซึ่งจะช่วยให้เกษตรกรได้รู้ถึงความสำคัญของการใช้เทคโนโลยีในการผลิตข้าว และเกิดการยอมรับมากขึ้น 2) ควรจัดการฝึกอบรมและให้ความรู้แก่เกษตรกร ในเรื่องการบริหารจัดการน้ำ เพื่อใช้ในการปลูกข้าวในระบบเกษตรที่ดีที่เหมาะสม และกิจกรรมทางการเกษตรอื่นๆ เมื่อเกิดปัญหาภัยแล้งหรือน้ำท่วม 3) ควรจัดการฝึกอบรมเรื่องการปรับปรุงบำรุงดิน การป้องกันโรคและแมลงศัตรูพืชอย่างถูกวิธี รวมไปถึงการอบรมเรื่องการตลาด และการแปรรูปข้าวให้มากขึ้น 4) ควรให้คำแนะนำแก่เกษตรกรให้รู้ถึงความสำคัญประโยชน์ และขั้นตอนในการวิเคราะห์ปัจจัยการผลิตหรือต้นทุนการผลิตมากขึ้น เพื่อไม่ให้เกษตรกรมีความเสี่ยงต่อการขาดทุนในการผลิต และ 5) ควรมีการจัดทำแปลงสาธิต

การปลูกข้าวในระบบเกษตรที่เหมาะสมไว้เป็นตัวอย่าง
ในชุมชนเพื่อถ่ายทอดการศึกษา โดยเกษตรกรสามารถเรียนรู้
ได้มากขึ้นจากการสัมผัส และเห็นการปฏิบัติในสถานที่จริงที่
อยู่ในชุมชน และนำไปปฏิบัติจนเกิดการยอมรับเทคโนโลยี
การปลูกข้าวมากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ เกษตรกรผู้ให้ข้อมูล สำนักงาน
กสิกรรมและป่าไม้อำเภอจำปอน สำนักงานกสิกรรมและป่าไม้
จังหวัดสกลนคร คณะอาจารย์ และบุคลากรสาขาวิชา
พัฒนาทรัพยากรและส่งเสริมการเกษตร คณะผลิตกรรม
การเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้ข้อมูล คำปรึกษา และ
สนับสนุนในการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Champhone's Agriculture and Forestry Office.
2018. **Annual report on agriculture
and forestry practices in 2017.**
Champhone: Agriculture and Forestry
Office. 17 p.
- Department of Agronomy. 2014. **Good
Agricultural Practices Standard
for Rice Production in Laos.**
Vientiane: State Printing. 65 p.
- Kristy, D. 1984. **Principle of Agricultural
Extension Method.** Bangkok:
Thai Watlana Panit Publishing Co.,Ltd.
250p.
- Lapple, D. and T.V. Rensburg. 2011.
**Adoption of Organic Farming: Are
There Differences between Early and
Late Adoption.** Amsterdam: Elsevier.
9p
- Painvijite, K. 2011. **Application of Organic Rice
Production Technology by Farmers
in Phayakkhaphum Phisai District,
Maha Sarakham Province.** Nonthaburi:
Sukhothai Thammathirat
Open University. 15 p.
- Lao Statistics Bureau. 2015. **Statistics Yearbook
2015.** Vientiane: Lao PDR. 230 p.
- Akudugu, M.A., E. Guo and S.K. Dadzie. 2012.
Adoption of modern agricultural
production technologies by farm
households in Ghana: what factors
influence their decisions? **Journal of
Biology, Agriculture and Healthcare** 2(3):
1-14.
- Ministry of Agriculture and Forestry. 2017.
**Expanding Clean Agriculture
Production to Supply Market
Demands Together with Improved
International Market Access can Serve
to Catalyse Growth in the Lao Organic
Produce Sector.** Vientiane: Department
of Agronomy. 56 p.
- Ministry of Planning and Investment. 2016.
**8th Five-Year National Socio-Economic
Development Plan (2016–2020).**
Vientiane: Lao PDR. 253 p.
- Mwangi, M. and S. Kariuki, 2015 Factors
determining adoption of new agricultural
technology by smallholder farmers in
developing countries. **Journal of
Economics and Sustainable
Development** 6(5): 208-217.

- P. Rahul., P.Tongdeelert and S. Rangsiapaht.
2013. **Factors Relating to Decision Making on Para Rubber Cultivation of Farmers in Sanam Chai Khet District, Chachoengsao Province.** Bangkok: Kasetsart University. 10 p.
- Khemmee, P. S.K. Sanserm and B. Yooprasert.
2013. **Farmer Adoption of Parachute Rice Planting Technology in Bang Rakum District of Phitsanulok Province.** Nonthaburi: Sukhothai Thammathirat Open University. 13 p.
- Sacklokham, S. 2013. Rice based farming systems in Lao PDR: opportunities and challenges for food security. Faculty of Agriculture, National University of Laos, Vientiane, Lao PDR. 9 p.
- Sawathee, P. 1998. Sampling method for research. **NIDA Development Journal.** 38(3): 103-130.
- Sunthophan, S. 2009. **Farmer's Adoption of Organic Production Technology System of Mango Orchards in Phrao District.** Chiang Mai: Maejo University. 132 p.
- Saosama, T., S. Yotakhong and S. Seesang. 2010. **Factors Affecting the Adoption of Good Quality Hom Mali Rice Production Adhering to Good Agricultural Practice of Farmers in Borabue District of Maha Sarakham Province.** Nonthaburi: Sukhothai Thammathirat Open University. 13 p.
- Sujaritturakarn, W. 2010. **Factors Influencing the Adoption of Production Techniques and Application of Organic Fertilizer among Agriculturists in Hatyai District, Songkhla Province.** Songkhla: Prince of Songkla University. 116 p.
- Wattanasangsuth, W. 2011. **Determinants of Nuclear Technology Adoption through Irradiation for Agriculture in Thailand.** Bangkok: Thammasart University. 222 p.
- Yamane, T. 1973. **Statistics: An Introductory Analysis.** New York: 3.S.l. Harper International. 886 p.

ปัจจัยที่มีผลต่อความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ
ของประชาชนบ้านดงห้วยเย็น ตำบลบ้านโฮ้ง อำเภอบ้านโฮ้ง จังหวัดลำพูน
Factors Effecting Needs for Resource Development to be Eco-Tourism Attractions
of People in Baan DongHuayYen, BaanHong Sub-district
BaanHong District, Lamphun Province

ศิริลักษณ์ สายกับ นคเรศ รังควัต* พุฒิสรรค์ เครือคำ และสายสกุล ฟองมูล

Siriluck Saikub, Nakarate Rungkawat*, Phutthisun Kruekum and Saisakul Fongmul

สาขาวิชาพัฒนาทรัพยากรและส่งเสริมการเกษตร คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

Department of Resources Development and Agricultural Extension, Faculty of Agricultural Production

Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

*Corresponding author: nrungkawat@yahoo.com

Received: June 23, 2018

Revised: October 09, 2018

Accepted: October 11, 2018

Abstract

This study was conducted to investigate: 1) socio-economic status of people in Baan DongHuayYen, BaanHong sub-district, BaanHong district, Lamphun province; 2) knowledge and needs for resource development to be eco-tourism attractions of people; 3) factors affecting needs for resource development to be eco-tourism attractions of people; and 4) problems encountered and suggestions about resource development to be eco-tourism attraction. A set of questionnaires was used for data collection administered with 180 samples in Baan DongHuayYen. Obtained data were analyzed by using descriptive statistics and multiple regression analysis.

Results of the study revealed that most of the respondents were female (60%), elementary school graduates (77.2%), traders/hired workers/farmers (90%), but only 17.7 percent were married. The respondents had 4 family members and household workforce on average. The household monthly income was 10,143.90 Baht on average. They held a land for 912.22 square meters each on average. They had been living in Baan DongHuayYen for 50 years on average. The respondents perceived information about eco-tourism for 11 times per month on average and contacted private and government personnel for 0.16 time per month on average. Most of the respondents had knowledge about eco-tourism at moderate level and joined educational trip for 0.27 time per year on average. Factors having an effect on needs for resource development to be eco-tourism attractions of the respondents included a number of family members land holding with a statistically significant relationship at 0.01, land holding and time span of living in the community with a statistically significant relationship at 0.05.

The following were problems encountered: lack of knowledge about eco-tourism and basic infrastructure to provide convenience to tourists such as toilet, electricity, trekking trail, etc. The following were suggestions: the respondents needed for support on knowledge about eco-tourism, budgets, and job opportunity related to eco-tourism.

Keywords: needs, resource development, eco-tourism attractions, Lamphun province

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์คือ 1) เพื่อศึกษาข้อมูลพื้นฐานส่วนบุคคล เศรษฐกิจ และสังคมของประชาชน 2) เพื่อศึกษาความรู้ และความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศของประชาชน 3) เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศของประชาชน 4) เพื่อศึกษาปัญหา อุปสรรค และข้อเสนอแนะในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศของประชาชน บ้านดงห้วยเย็น ตำบลบ้านโฮ้ง อำเภอบ้านโฮ้ง จังหวัดลำพูน โดยงานวิจัยได้ใช้แบบสอบถามในการเก็บรวบรวมข้อมูล จากประชาชนจำนวน 180 ตัวอย่าง วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้สถิติเชิงพรรณนา และการวิเคราะห์ถดถอยพหุคูณ

ผลการศึกษาพบว่า กลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง ร้อยละ 60 มีสถานภาพสมรส คิดเป็นร้อยละ 17.7 จบการศึกษาชั้นประถมศึกษา คิดเป็นร้อยละ 77.2 มีอาชีพค้าขาย รับจ้างทั่วไป และทำการเกษตร คิดเป็นร้อยละ 90 มีจำนวนสมาชิกในครัวเรือนเฉลี่ย 4 คน จำนวนแรงงานในครัวเรือนเฉลี่ย 3 คน มีรายได้ของครัวเรือนเฉลี่ย 10,143.90 บาทต่อเดือน การถือครองที่ดินของครัวเรือนเฉลี่ย 912.22 ตารางวา ระยะเวลาที่อาศัยอยู่ในชุมชนเฉลี่ย 50 ปี มีการรับรู้ข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศเฉลี่ย 11 ครั้งต่อเดือน ติดต่อกับเจ้าหน้าที่ภาครัฐหรือเอกชน เฉลี่ย 0.16 ครั้งต่อเดือน ได้ผ่านการอบรมศึกษาดูงานเกี่ยวกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศเฉลี่ย 0.27 ครั้งต่อปี และกลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีความรู้เกี่ยวกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ

ในระดับปานกลาง ส่วนปัจจัยที่มีผลต่อความต้องการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ได้แก่ จำนวนสมาชิกในครัวเรือน มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.01 ส่วนการถือครองที่ดิน และระยะเวลาที่อาศัยอยู่ในชุมชน มีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 0.05 ปัญหาในการจัดการทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศที่สำคัญ ได้แก่ การขาดความรู้ด้านการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ และการขาดสาธารณูปโภคที่จะคอยอำนวยความสะดวกให้กับนักท่องเที่ยว เช่น ห้องน้ำ ไฟฟ้า ถนนบนเส้นทางเดินป่า ฐานเรียนรู้ ไกด์นำเที่ยว และข้อเสนอแนะของประชาชนที่เป็นกลุ่มตัวอย่าง คือ ต้องการให้หน่วยงานภาครัฐเข้ามาสนับสนุนความรู้ด้านการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ สนับสนุนงบประมาณ และการสร้างอาชีพที่เกี่ยวข้องกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศให้กับประชาชนในชุมชน

คำสำคัญ: ความต้องการ การพัฒนาทรัพยากร แหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ลำพูน

คำนำ

อุตสาหกรรมการท่องเที่ยวนับว่ามีความสำคัญต่อระบบเศรษฐกิจเป็นอย่างมาก จากรายงานขององค์การการท่องเที่ยวโลกแห่งสหประชาชาติ (UNWTO) ฉบับที่ 14 พ.ศ. 2559 การเติบโตยังเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ซึ่งมีการขยายตัวมากที่สุดในทวีปแอฟริกา อเมริกา และเอเชียแปซิฟิก โดยภูมิภาคเอเชียและแอฟริกายังคงเป็นแหล่งท่องเที่ยวที่ดึงดูดนักท่องเที่ยวจากทั่วโลกได้เพิ่มขึ้นสูงที่สุด ด้วยอัตราการเติบโตร้อยละ 9.3 (Ministry of

Tourism and Sports, 2014) เช่นเดียวกับอุตสาหกรรม การท่องเที่ยวในประเทศไทย ถือเป็นตัวกระตุ้นเศรษฐกิจ ที่สำคัญ สร้างรายได้ให้กับประเทศไทยจำนวนมหาศาล และพัฒนาเศรษฐกิจสังคมของประเทศให้มีการเติบโตมากยิ่งขึ้น โดยแนวโน้มจำนวนนักท่องเที่ยวที่เดินทางมาท่องเที่ยวประเทศไทยในปี พ.ศ. 2559 มีจำนวน 32,588,300 คน ซึ่งมีจำนวนเพิ่มขึ้นจากปี พ.ศ. 2558 ที่มีจำนวนนักท่องเที่ยว 29,923,185 คน เป็นจำนวนที่เพิ่มขึ้นมาก โดยคิดเป็นร้อยละ +8.91 (Department of Tourism, 2016) นอกจากจะทำให้ประเทศมีรายได้เพิ่มมากขึ้นแล้ว การท่องเที่ยวยังส่งผลให้ประชาชนมีงานทำ ลดอัตราการว่างงาน มีความเป็นอยู่ที่ดีขึ้น และสร้างรายได้ให้กับประชาชน เช่น การมีรายได้จากการขายสินค้าหรือบริการ นำมาซึ่งการกระจายรายได้อย่างทั่วถึง แต่สิ่งที่เกิดขึ้นตามมาจากการพัฒนาอุตสาหกรรมการท่องเที่ยวที่ไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้ คือ ผลกระทบที่มีต่อทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม ตลอดจนวัฒนธรรม สังคม และวิถีชีวิตความเป็นอยู่ของคนในชุมชน ก็ถือเป็นผลด้านลบของอุตสาหกรรมการท่องเที่ยว เพื่อให้เกิดความสมดุลระหว่างการพัฒนาและการอนุรักษ์ จึงเกิดแนวคิดรูปแบบใหม่ของการท่องเที่ยว คือ การพัฒนาการท่องเที่ยวอย่างยั่งยืน เพื่อแก้ปัญหาผลกระทบที่เกิดจากการพัฒนาเศรษฐกิจ อันจะส่งผลก่อให้เกิดความสมดุลทางเศรษฐกิจและการพัฒนาสิ่งแวดล้อม

ในระยะ 10 ปีข้างหน้าแนวโน้มกลุ่มนักท่องเที่ยวเชิงสิ่งแวดล้อมและนิเวศ คาดว่าจะมีอัตราการเติบโตเพิ่มขึ้นแบบทวีคูณ ทั้งหมดนี้เป็นผลสืบเนื่องจากรายได้ของนักท่องเที่ยวที่เติบโตขึ้น และความต้องการในบริการแบบครบวงจรที่เพิ่มมากขึ้น การเปลี่ยนแปลงจะบ่งชี้ถึงนโยบายของรัฐบาลในการพัฒนา ซึ่งในแผนพัฒนาการท่องเที่ยวแห่งชาติ ฉบับที่ 2 (Ministry of Tourism and Sports, 2014) ได้มียุทธศาสตร์ในการพัฒนา ที่เน้นการมีส่วนร่วมของประชาชน คือ ยุทธศาสตร์ที่ 3 การพัฒนาบุคลากรด้านการท่องเที่ยว และสนับสนุนการมีส่วนร่วมของประชาชนในการพัฒนาการท่องเที่ยว เป็น

การปลูกฝังจิตสำนึกและการเป็นเจ้าบ้านที่ดีให้กับประชาชน และการส่งเสริมการมีส่วนร่วมของประชาชน และชุมชน เน้นการใช้ทรัพยากรธรรมชาติให้มีประสิทธิภาพ เน้นการกระจายรายได้และการพัฒนาไปในทุกส่วน การท่องเที่ยวเชิงนิเวศถือว่าเป็นกิจกรรมหนึ่งที่เกิดการท่องเที่ยวอย่างยั่งยืนได้ โดยชุมชนเข้ามามีส่วนร่วมในการจัดการท่องเที่ยว ควบคู่ไปกับการดูแลทรัพยากรในชุมชนของตน เพื่อไม่ให้ทำลายธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม อีกทั้งยังเป็นการกระจายรายได้เข้าสู่ภายในชุมชนอีกด้วย

ปัจจุบันหมู่บ้านดงห้วยเย็น ตำบลบ้านโอง อำเภอบ้านโอง จังหวัดลำพูน มีป่าชุมชนที่คนในพื้นที่ร่วมกันบริหารจัดการ ทำให้พื้นที่ป่าที่เคยแห้งแล้งกลายเป็นพื้นที่ป่าที่มีความอุดมสมบูรณ์ มีแหล่งต้นน้ำ และเป็นแหล่งที่อยู่ของนกยูงเป็นอันดับ 2 ของประเทศ อีกทั้งชุมชนยังได้รับรางวัลการจัดการป่าชุมชนในระดับประเทศเมื่อปี พ.ศ. 2556 นอกจากนี้ชุมชนได้รวมตัวกัน โดยที่ผู้นำชุมชนมีความมุ่งมั่นที่จะอนุรักษ์ผืนป่าชุมชน ควบคู่ไปกับการใช้ประโยชน์ของทรัพยากรจากป่า โดยเห็นว่าการท่องเที่ยวเชิงนิเวศจะเป็นอีกหนึ่งทางเลือกของชุมชนที่ได้ทั้งในเรื่องของการอนุรักษ์ทรัพยากรป่าไม้ และการทำให้เกิดรายได้เสริมและการจ้างงานในชุมชน รวมไปถึงการให้ลูกหลานที่ไปทำงานพื้นที่อื่นๆ ได้กลับมาใช้ชีวิตในชุมชนบ้านเกิดของตนเอง ช่วยกันพัฒนาและวางแผนพื้นที่ป่า ซึ่งจะตกทอดไปยังคนรุ่นหลัง อันจะเป็นแนวทางในการอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรอย่างยั่งยืน

ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ศึกษาความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศของประชาชนที่อาศัยอยู่ในชุมชนบ้านดงห้วยเย็น ตำบลบ้านโอง อำเภอบ้านโอง จังหวัดลำพูน โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) ศึกษาข้อมูลพื้นฐานส่วนบุคคล เศรษฐกิจ และสังคม ของประชาชน 2) ศึกษาความรู้และความต้องการในการพัฒนาทรัพยากร เพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศของประชาชน 3) ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความต้องการในการพัฒนาทรัพยากร เพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศของประชาชน 4) ศึกษาปัญหา อุปสรรค และข้อเสนอแนะ

ในการพัฒนาทรัพยากร เพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศของประชาชน เพื่อให้หน่วยงานการท่องเที่ยวภายในจังหวัดลำพูน หรือองค์การบริหารอำเภอบ้านโฮ่ง ใช้เป็นข้อมูลสำหรับวางแผนการบริหารจัดการการท่องเที่ยวเชิงนิเวศต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

การดำเนินการวิจัยครั้งนี้ใช้วิธีวิจัยเชิงปริมาณในการศึกษา โดยได้กำหนดพื้นที่ คือ หมู่บ้านดงห้วยเย็น ตั้งอยู่ที่ หมู่ 14 ตำบลบ้านโฮ่ง อำเภอบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน โดยมีการดำเนินการวิจัยดังนี้

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ประชากรที่ใช้ในการศึกษาวิจัย คือ ประชาชนที่อาศัยในหมู่บ้านดงห้วยเย็น ตำบลบ้านโฮ่ง อำเภอบ้านโฮ่ง จังหวัดลำพูน จำนวนครัวเรือนทั้งสิ้น 327 ครัวเรือน แยกเป็นเพศชาย 469 คน เพศหญิง 450 คน รวมมีประชากรทั้งหมด 919 คน (Department of Provincial Administration Registration, 2016) โดยขั้นตอนที่ 1 ทำการสุ่มกลุ่มตัวอย่างตามสูตร Yamane (1973) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ความคลาดเคลื่อน 0.05 ได้กลุ่มตัวอย่าง 180 ครัวเรือน และขั้นตอนที่ 2 ใช้เทคนิคการสุ่มตัวอย่างแบบง่าย (Simple random sampling) สุ่มจับฉลากครัวเรือนจากข้อมูลทะเบียนราษฎร์ และกำหนดให้ผู้ตอบแบบสอบถามครัวเรือนละ 1 คน ซึ่งจะได้จำนวนประชากรกลุ่มตัวอย่าง 180 คน

การเก็บรวบรวมข้อมูล

แหล่งข้อมูลที่รวบรวมเพื่อใช้ในการวิจัยสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ 1) ข้อมูลทุติยภูมิ ซึ่งเป็นการรวบรวมข้อมูลจากเอกสาร รายงานการวิจัย และข้อมูลพื้นฐานของอำเภอบ้านโฮ่ง 2) ข้อมูลปฐมภูมิ โดยมีการใช้แบบสอบถามเป็นเครื่องมือในการเก็บรวบรวมข้อมูลการวิจัย (Kanjanasamranwong, 2017)

การวิเคราะห์ข้อมูล

การวิเคราะห์ข้อมูลได้ แบ่งการวิเคราะห์ออกเป็น 2 ขั้นตอน คือ 1) การวิเคราะห์ข้อมูลพื้นฐานส่วนบุคคล เศรษฐกิจ สังคม ความรู้ และความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ โดยใช้สถิติพรรณนา ซึ่งประกอบด้วยสถิติ ค่าร้อยละ (Percentage) ค่าเฉลี่ย (Arithmetic mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation) เพื่ออธิบายลักษณะข้อมูลต่างๆ ของกลุ่มตัวอย่าง 2) การวิเคราะห์หาปัจจัยที่มีผลต่อความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ใช้สถิติเพื่อหาความสัมพันธ์ ได้แก่ การวิเคราะห์พหุคูณถอยแบบคัดเลือกเข้า (Enter multiple regression analysis) ระหว่างตัวแปรอิสระ ได้แก่ ลักษณะส่วนบุคคล ประกอบด้วย เพศ สถานภาพ อายุ ระดับการศึกษา ปัจจัยด้านเศรษฐกิจประกอบด้วย อาชีพ จำนวนสมาชิกในครัวเรือน รายได้ทั้งหมดของครัวเรือน และการถือครองที่ดินของครัวเรือน และปัจจัยสังคมประกอบด้วย การเป็นสมาชิกองค์กรต่างๆ ในหมู่บ้าน การได้รับข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ การติดต่อกับเจ้าหน้าที่ภาครัฐ การศึกษาดูงาน และความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ กับตัวแปรตาม คือ ระดับความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ

ผลการวิจัยและวิจารณ์

ข้อมูลพื้นฐานส่วนบุคคล เศรษฐกิจ และสังคมของประชาชน

ประชาชนที่เป็นกลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง ร้อยละ 60 มีสถานภาพสมรส คิดเป็นร้อยละ 17.7 ส่วนใหญ่จบการศึกษาชั้นประถมศึกษา คิดเป็นร้อยละ 77.2 และประชาชนมีอาชีพค้าขาย รับจ้างทั่วไป ทำการเกษตร คิดเป็นร้อยละ 90 จำนวนสมาชิกในครัวเรือนเฉลี่ย 4 คน จำนวนแรงงานในครัวเรือนเฉลี่ย 3 คน มีรายได้ของครัวเรือนเฉลี่ย 10,143.90 บาทต่อเดือน การ

ถือครองที่ดินของครัวเรือนเฉลี่ย 1.105 ไร่ ระยะเวลาที่อาศัยอยู่ในชุมชนเฉลี่ย 50 ปี การรับรู้ข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศเฉลี่ย 18 ครั้งต่อเดือน การติดต่อเจ้าหน้าที่ภาครัฐหรือเอกชนเฉลี่ย 0.16 ครั้งต่อเดือน การอบรมศึกษาดูงานเกี่ยวกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศเฉลี่ย 0.27 ครั้งต่อปี และประชาชนเป็นสมาชิกองค์กรภายในชุมชน คิดเป็นร้อยละ 14.4

ความรู้เกี่ยวกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศของประชาชน

ผลการวิจัยพบว่า ประชาชนกลุ่มตัวอย่างมีความรู้เกี่ยวกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ อยู่ในระดับปานกลาง ร้อยละ 50.6 และประชาชนกลุ่มตัวอย่างที่มีความรู้ มีคะแนนรวมเฉลี่ยอยู่ที่ 12.64 ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน 2.06 ตอบถูกน้อยที่สุด 6 ข้อ และสูงที่สุด 20 ข้อ จากคำถามวัดความรู้ทั้งหมด 20 ข้อ

ความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศของประชาชน

ผลการศึกษาความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ พบว่าประชาชนมีความต้องการพัฒนาทรัพยากร เพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศรวมทุกด้านเฉลี่ย 3.72 ซึ่งอยู่ในระดับมาก และจากการสอบถามประชาชนกลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีความต้องการพัฒนาด้านศักยภาพในการเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศมากที่สุด ซึ่งมีความต้องการในระดับมาก เป็นการพัฒนาด้านศักยภาพของพื้นที่เพื่อที่จะสามารถรองรับนักท่องเที่ยวได้ คือ การพัฒนาทรัพยากรให้มีความอุดมสมบูรณ์ ปลูกป่า/เสริมป่าตลอดทั้งปี การพัฒนาพันธุ์ไม้ให้มีความหลากหลายชนิด อนุรักษ์นกยูงและสัตว์ป่าเพื่อให้ระบบนิเวศมีความสมบูรณ์และป้องกันการสูญพันธุ์ รวมไปถึงการพัฒนาพื้นที่ให้เป็นฐานเรียนรู้ระบบนิเวศและศูนย์เรียนรู้วัฒนธรรมภายในชุมชน เพื่อเพิ่มกระบวนการเรียนรู้ และสร้างจิตสำนึกในการอนุรักษ์สิ่งแวดล้อมทางธรรมชาติ และถ่ายทอดวิถีชีวิตความเป็นอยู่ของคนในชุมชน ตลอดจนพัฒนาพื้นที่ให้มีความ

ปลอดภัยสำหรับนักท่องเที่ยว โดยเฉพาะการท่องเที่ยวในส่วนของหน้าผาหรือระหว่างทางเดินป่า

รองลงมา คือ ความต้องการด้านการให้ความรู้และสร้างจิตสำนึก มีความต้องการในระดับมาก เป็นการพัฒนาเพื่อสร้างความรู้และจิตสำนึกให้กับนักท่องเที่ยว คือ การพัฒนาให้มีศูนย์บริการอย่างชัดเจน และมีเจ้าหน้าที่หรือบุคลากรที่คอยให้ความรู้แก่นักท่องเที่ยว พัฒนาให้มีสื่อหลากหลายประเภทในการให้ข้อมูลข่าวสารแก่นักท่องเที่ยว เช่น แผ่นพับ โปสเตอร์ วิทยุทัศน์ เป็นต้น พัฒนาให้มีสื่อในการรณรงค์ให้นักท่องเที่ยวเกิดจิตสำนึกช่วยกันประหยัดน้ำ พลังงาน และมีสื่อการทิ้งขยะที่มีการแยกประเภทขยะให้นักท่องเที่ยวไม่ทิ้งขยะในแหล่งธรรมชาติ อีกทั้งพัฒนาให้เจ้าหน้าที่สื่อสารภาษาได้หลากหลายภาษา เพื่อรองรับความหลากหลายของนักท่องเที่ยว พัฒนาเส้นทางศึกษาธรรมชาติและป้ายสื่อความหมายบนเส้นทาง เพื่อให้ความรู้แก่นักท่องเที่ยว พัฒนากิจกรรมด้านการศึกษาระบบนิเวศให้กับนักท่องเที่ยวที่มีความสนใจเฉพาะด้าน เช่น กิจกรรมการดูนก การศึกษาพันธุ์ไม้ เป็นต้น รวมไปถึงการพัฒนาให้มีการเผยแพร่ข้อมูลการท่องเที่ยวผ่านเว็บไซต์ทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ และการพัฒนาบุคลากรให้มีความรู้ในเรื่องระบบนิเวศ และการอนุรักษ์ มีการอบรม ศึกษาดูงานเกี่ยวกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศและการอนุรักษ์

ความต้องการด้านการใช้ประโยชน์ของพื้นที่เพื่อให้เกิดความยั่งยืนในลำดับต่อมา ซึ่งมีความต้องการในระดับมาก เป็นการพัฒนาเพื่อให้เกิดการใช้ประโยชน์ในพื้นที่ คือ พัฒนาให้มีระบบเตือนภัยนักท่องเที่ยว และระบบรักษาความปลอดภัยแก่ชีวิตและทรัพย์สินของนักท่องเที่ยว การพัฒนาสิ่งก่อสร้างและสาธารณูปโภค เช่น ถนน น้ำ ไฟฟ้า ห้องสุขา สถานปฐมพยาบาล ให้เหมาะสมและกลมกลืนกับสภาพพื้นที่ การพัฒนาให้เกิดระบบการจัดการด้านอาหารและโภชนาการที่ถูกสุขลักษณะ มีการจัดเก็บขยะและกำจัดของเสียอย่างถูกวิธี การพัฒนาด้านพื้นที่พักสำหรับนักท่องเที่ยวให้มีความเหมาะสม เช่น มีการออกแบบและใช้วัสดุก่อสร้างที่

กลมกลืนกับธรรมชาติ และประหยัดพลังงาน การพัฒนาให้เกิดการติดตามและประเมินผลการดำเนินงาน มีการวิเคราะห์ประเมินผลกระทบ และมีการปรับปรุงและแก้ไข ปัญหาที่เกิดจากการท่องเที่ยว

ความต้องการด้านการมีส่วนร่วมของชุมชนในกิจกรรมการท่องเที่ยว มีความต้องการในระดับมาก โดยความต้องการในการมีส่วนร่วมของชุมชน คือ การเข้ามามีส่วนร่วมในการวางแผน กำหนดกฎเกณฑ์ หรือเสนอแนวทางในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ การเข้ามามีส่วนร่วมในการตัดสินใจเลือกกิจกรรมหรือแนวทางที่เห็นว่าดีหรือเหมาะสม ในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ การเข้ามามีส่วนร่วมในการดำเนินงานหรือกิจกรรมต่างๆ เช่น การเป็นไกด์ท้องถิ่น การขายของที่ระลึกจากชุมชน หรือการให้บริการด้านที่พักภายในบ้าน การเข้ามามีส่วนร่วมในการรับผลประโยชน์ เช่น มีรายได้เพิ่มขึ้นจากการมีส่วนร่วมในการดำเนินกิจกรรมการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ การเข้ามามีส่วนร่วมในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ เพราะต้องการให้หมู่บ้านเป็นที่รู้จักและมีชื่อเสียง และการเข้ามามีส่วนร่วมในการติดตามและประเมินผล หลังจากดำเนินกิจกรรมไปได้ระยะเวลาหนึ่ง เพื่อช่วยกันแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้น

กล่าวโดยสรุป ความต้องการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศของประชาชนกลุ่มตัวอย่าง มีความต้องการพัฒนาด้านศักยภาพในการเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศมากที่สุด รองลงมา คือ ความต้องการด้านการให้ความรู้และสร้างจิตสำนึก ความต้องการด้านการใช้ประโยชน์ของพื้นที่เพื่อให้เกิดความ

ยั่งยืน และความต้องการด้านการมีส่วนร่วมของชุมชนในกิจกรรมการท่องเที่ยว ตามลำดับ

ปัจจัยที่มีผลต่อความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ

ผลการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ซึ่งวิเคราะห์เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระกับตัวแปรตาม โดยใช้สถิติเพื่อหาความสัมพันธ์ Simple linear regression เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรตามกับตัวแปรอิสระหลายตัว ว่าตัวแปรอิสระแต่ละตัวมีความสัมพันธ์ในทิศทางใด (Phengsawat, 2010) ในวิเคราะห์ครั้งนี้ใช้ตัวแปรอิสระทั้งหมด 15 ตัวแปร ได้แก่ เพศ อายุ ระดับการศึกษา สถานภาพสมรส อาชีพ รายได้ในครัวเรือน จำนวนสมาชิกในครัวเรือน จำนวนแรงงานในครัวเรือน พื้นที่ถือครองในครัวเรือน ระยะเวลาที่อาศัยอยู่ในชุมชน การรับรู้ข้อมูลข่าวสารบ้านเมืองจากสื่อต่างๆ การติดต่อกับเจ้าหน้าที่ภาครัฐและเอกชน การเป็นคณะกรรมการหมู่บ้าน การฝึกอบรมดูงานด้านการท่องเที่ยว และความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ เพื่อหาความสัมพันธ์กับตัวแปรตาม คือ ความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ เมื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระแต่ละคู่พบว่า ไม่มีตัวแปรอิสระคู่ใดที่มีความสัมพันธ์กันสูงกว่า 0.80 ที่จะก่อให้เกิดปัญหาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรอิสระด้วยกันเอง (Multicollinearity) อันเป็นการละเมิดข้อสมมุติฐานที่กำกับเทคนิคการวิเคราะห์ถดถอยพหุ (Prasit-rathasint, 2002)

Table 1 An analysis of factors effecting needs for resource development to be eco-tourism attractions of people Baan DongHuayYen, BaanHong sub-district, BaanHong district, Lamphun province

Independent variable	Dependent variable		
	Needs for resource development to be eco-tourism attractions of people		
	B	t	Sig
1. Sex	0.093	0.800	0.425
2. Age	-0.009	-1.079	0.282
3. Education level	0.144	0.085	0.398
4. Status	-0.180	-1.328	0.186
5. Family member	-0.526	-10.780	0.000**
6. Occupation	-0.073	-0.331	0.741
7. Family labor member	-0.026	-0.386	0.700
8. Family income	-1.165E-006	-0.146	0.884
9. Holding land area	7.605E-005	2.077	0.039*
10. Time of living community	0.011	2.026	0.044*
11. Contact with extension officer	0.090	0.593	0.554
12. Training and educational tour	0.051	0.511	0.554
13. Received Ecotourism information	0.006	0.821	0.413
14. Participate of community traditional activities	-0.078	-0.600	0.549
15. Knowledge about ecotourism	-0.008	-0.266	0.791
Constant	5.712	10.235	0.000
R² = 0.560 (56.0%), F = 13.857, Sig. F = 0.000			

* statistically significant level at 0.05, ** statistically significant level at 0.01

ผลการวิเคราะห์สรุปได้ว่า ตัวแปรอิสระทั้งหมด 15 ตัว สามารถพยากรณ์และทำนายความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ประมาณร้อยละ 56.0 ($R^2=0.560$) ขณะที่ตัวแปรอิสระที่มีผลต่อความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ จำนวน 3 ตัวแปร ได้แก่ จำนวนสมาชิกในครัวเรือน ซึ่งมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 การถือครองที่ดินของครอบครัว และระยะเวลาที่อาศัยอยู่ในชุมชน ซึ่งมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 และตัวแปรที่มีผลต่อความต้องการในเชิงบวก คือ การ

ถือครองที่ดินของครอบครัว และระยะเวลาที่อาศัยอยู่ในชุมชน และตัวแปรที่มีผลต่อความต้องการในเชิงลบ คือ จำนวนสมาชิกในครัวเรือน

จากผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า จำนวนสมาชิกในครอบครัวมีผลต่อความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศในทางลบ ซึ่งอธิบายได้ว่า ประชาชนที่มีจำนวนสมาชิกในครัวเรือนมาก ความต้องการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศน้อยกว่า ครัวเรือนที่มีจำนวนสมาชิกน้อย ที่มีความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรมากกว่า อธิบายได้จากการที่มีจำนวน

สมาชิกในครอบครัวมากภายในชุมชนส่วนใหญ่จะเป็นครอบครัวที่มีกลุ่มคนที่อยู่ในช่วงวัยทำงาน มีความรู้และมีความสนใจในเรื่องอื่นๆ ที่นอกเหนือจากการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ประกอบกับมีความสนใจในอาชีพอื่นที่มีรายได้ที่ดีกว่า จึงทำให้การมีจำนวนสมาชิกในครัวเรือนมากมีความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศน้อย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Srikum (2015) ได้ศึกษาเรื่อง การศึกษาความต้องการปรับปรุงที่อยู่อาศัยของผู้สูงอายุ กรณีศึกษา: องค์การบริหารส่วนตำบลหนองซอน และองค์การบริหารส่วนตำบลค้อน้อย จังหวัดอุบลราชธานี พบว่าขนาดครัวเรือนไม่มีความสัมพันธ์ต่อความต้องการปรับปรุงที่อยู่อาศัยของผู้สูงอายุ หรือมีความสัมพันธ์ในทางลบต่อความต้องการ เพราะว่าการที่มีจำนวนสมาชิกในครัวเรือนมากย่อมมีเรื่องเป็นองค์ความรู้ใหม่ๆ หรือกิจกรรมอื่นที่มีความน่าสนใจมากกว่าความต้องการพัฒนาทรัพยากรหรือพัฒนาพื้นที่อยู่อาศัยของตนเอง

การถือครองที่ดินของครอบครัว สามารถอธิบายได้ว่า กลุ่มตัวอย่างประชาชนที่มีการถือครองที่ดินมาก ความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศมากกว่าประชาชนกลุ่มตัวอย่างที่มีการถือครองที่ดินของครอบครัวน้อย ซึ่งอธิบายได้ว่าประชาชนกลุ่มตัวอย่างมีความต้องการพัฒนาทรัพยากรของชุมชน และนำเอาทรัพยากรของตนเองพัฒนาเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยว และมีแนวโน้มที่จะเข้ามามีส่วนร่วมในกิจกรรมทางการท่องเที่ยวมากกว่า เช่น สร้างที่พัก โฮมสเตย์ ร้านค้าให้กับนักท่องเที่ยว เพื่อสร้างรายได้ให้กับครอบครัว ซึ่งหลักการท่องเที่ยวชุมชน The Thailand Community Based Tourism Institute (2017) ระบุว่าองค์ประกอบของการจัดการท่องเที่ยวโดยชุมชนต้องให้ชุมชนเข้ามามีส่วนร่วม เนื่องจากชุมชนเป็นเจ้าของทรัพยากร ชุมชนจะต้องได้รับผลประโยชน์ในการใช้ทรัพยากรของตนเอง สอดคล้องกับแผนยุทธศาสตร์พัฒนาการท่องเที่ยวภาคเหนือ (Office of the National Economic and Social Development Board, 2018) ที่ต้องการสนับสนุน Community Based Tourism/Local

Tourism เพื่อกระจายประโยชน์จากการท่องเที่ยวสู่ชุมชน รวมทั้งให้ความสำคัญกับการฟื้นฟูสืบสานวัฒนธรรมภูมิปัญญาท้องถิ่น และพัฒนาทรัพยากรของชุมชน โดยชุมชนนำมาประยุกต์สร้างสรรค์สินค้าและบริการท่องเที่ยวที่มีอัตลักษณ์เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่ม

ระยะเวลาที่อาศัยอยู่ในชุมชน อธิบายได้ว่าประชาชนกลุ่มตัวอย่างที่มีระยะเวลาอาศัยอยู่ในชุมชนมานาน ความต้องการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศมากกว่าครัวเรือนที่อาศัยอยู่ได้ไม่นาน อธิบายได้ว่าประชาชนกลุ่มตัวอย่างที่อาศัยในชุมชนนั้นมานานล้วนแต่เป็นผู้เฒ่าผู้แก่ หรืออาศัยอยู่ในชุมชนมาตั้งแต่กำเนิด จึงมีความคุ้นเคยกับพื้นที่ และมีความรู้สึกถึงความเป็นเจ้าของ จึงต้องการที่จะพัฒนาทรัพยากรที่มีอยู่ในชุมชนให้เกิดความยั่งยืนสืบทอดต่อไปยังรุ่นลูกรุ่นหลาน และต้องการให้เกิดความเปลี่ยนแปลงในชุมชนที่สอดคล้องกับการอนุรักษ์ทรัพยากรที่มีอยู่ในชุมชน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Swangpun (2004) ศึกษาเรื่อง “ความพร้อมของประชาชนในการพัฒนาชุมชนเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ กรณีศึกษาชุมชนชาวเล เกาะสิเหร่ อำเภอเมือง จังหวัดภูเก็ต” ผลการศึกษาพบว่า ปัจจัยที่มีผลต่อความต้องการ มีส่วนร่วมของประชาชนในการจัดการท่องเที่ยวเชิงนิเวศอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ได้แก่ ระยะเวลาที่อาศัยอยู่ในท้องถิ่น และสอดคล้องกับการศึกษาของ Rattanapariyanuch (2013) ได้ศึกษาเรื่องความต้องการในการพัฒนาชุมชนของประชาชนในเขตเทศบาลตำบลเสม็ด อำเภอเมืองชลบุรี พบว่าประชาชนที่มีระยะเวลาที่อาศัยอยู่ในพื้นที่เทศบาลตำบลเสม็ด อำเภอเมืองชลบุรี จังหวัดชลบุรี ไม่เท่ากันมีความต้องการในการพัฒนาชุมชนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการที่มีระยะเวลาที่อาศัยในชุมชนจะมีความแตกต่างในความต้องการพัฒนาทรัพยากร ประชาชนที่อาศัยมานานมีความต้องการที่จะพัฒนาพื้นที่ในชุมชนของตนเองให้เกิดการอนุรักษ์ทรัพยากรควบคู่ไปกับการใช้ทรัพยากรอย่างมีประสิทธิภาพ

ปัญหา อุปสรรค และข้อเสนอแนะ ต่อการพัฒนาทรัพยากร เพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ

ผลการศึกษาปัญหา อุปสรรค และข้อเสนอแนะ ต่อการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ พบว่า 1) การขาดถนน และถนนในบางพื้นที่ชำรุดเป็นหลุม ทำให้การเดินทางไปยังแหล่งท่องเที่ยวมีความยากลำบาก ไม่เอื้ออำนวยในการเดินทางของนักท่องเที่ยว 2) ขาดฐานเรียนรู้ระบบนิเวศ และศูนย์เรียนรู้วัฒนธรรมภายในชุมชน 3) บนเส้นทางการเดินป่ายังไม่ได้รับการพัฒนาให้มีความปลอดภัยและมีความสะดวกสบายในการเดินขึ้นไปยังจุดชมวิวนบตอยปูคำ 4) สาธารณูปโภคในพื้นที่แหล่งท่องเที่ยว เช่น ไฟฟ้าและห้องน้ำ ยังไม่มีในพื้นที่แหล่งท่องเที่ยวในบางจุด 5) ความรู้ของประชาชนในเรื่องการจัดการการท่องเที่ยวเชิงนิเวศยังไม่เพียงพอ 6) การขาดแคลนบุคลากรหรือเจ้าหน้าที่ที่มีความรู้ทางการท่องเที่ยว และบุคลากรที่จะคอยอำนวยความสะดวกให้กับนักท่องเที่ยว เช่น ไกด์เจ้าหน้าที่ด้านภาษา เป็นต้น 7) ขาดแคลนงบประมาณในการปรับปรุงพื้นที่ 8) ขาดการกระจายข้อมูลการท่องเที่ยวของชุมชนผ่านสื่อต่างๆ ทำให้การท่องเที่ยวในพื้นที่ยังไม่เป็นที่รู้จักอย่างกว้างขวางมากนัก ซึ่งสอดคล้องกับความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ด้านศักยภาพในการเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ซึ่งเป็นการพัฒนาพื้นที่ให้พร้อมโดยมีฐานเรียนรู้ระบบนิเวศ และศูนย์เรียนรู้วัฒนธรรมภายในชุมชน ซึ่งเป็นสิ่งที่ยังไม่มีภายในชุมชนและด้านการใช้ประโยชน์ของพื้นที่เพื่อให้เกิดความยั่งยืนที่ไม่มีระบบสาธารณูปโภคต่างๆ เพื่อคอยอำนวยความสะดวกให้แก่นักท่องเที่ยว

ดังนั้นประชาชนจึงมีข้อเสนอแนะให้กับหน่วยงานภาครัฐและเอกชน ในพื้นที่ตำบลบ้านโฮ้ง อำเภอบ้านโฮ้ง จังหวัดลำพูน ในการจัดการทรัพยากรเพื่อแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ดังนี้ 1) ต้องการให้หน่วยงานภาครัฐที่เกี่ยวข้องกับการท่องเที่ยวเข้ามาอบรมให้ความรู้ นำไปศึกษาดูงานด้านการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ 2) ต้องการให้หน่วยงานภาครัฐหรือเอกชน สนับสนุนงบประมาณในการจัดการพัฒนาพื้นที่เพื่ออำนวยความสะดวกให้แก่นักท่องเที่ยว 3) สนับสนุนให้

เกิดการรวมกลุ่มสร้างกิจกรรม โดยตั้งคณะกรรมการเพื่อจัดการทรัพยากรเพื่อแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศภายในชุมชน

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้เป็นการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ของประชาชนบ้านดงห้วยเย็น ตำบลบ้านโฮ้ง อำเภอบ้านโฮ้ง จังหวัดลำพูน โดยผู้วิจัยให้ความสำคัญกับการศึกษาข้อมูลพื้นฐานส่วนบุคคล ลักษณะทางด้านเศรษฐกิจและลักษณะทางสังคมของประชาชน ความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ การศึกษาระดับความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศของประชาชน นอกจากนี้ยังได้ศึกษาหาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อความต้องการพัฒนาทรัพยากรของประชาชน รวมทั้งยังได้ศึกษาถึงปัญหา อุปสรรค และข้อเสนอแนะในการจัดการทรัพยากรเพื่อแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ในพื้นที่บ้านดงห้วยเย็น อำเภอบ้านโฮ้ง จังหวัดลำพูน ดังนี้

1) ข้อมูลพื้นฐานส่วนบุคคลเศรษฐกิจ และสังคมของประชาชน ผลการวิจัยพบว่าประชาชนที่เป็นกลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่เป็นเพศหญิง คิดเป็นร้อยละ 60 มีสถานภาพสมรส คิดเป็นร้อยละ 17.7 ส่วนใหญ่จบการศึกษาชั้นประถมศึกษา คิดเป็นร้อยละ 77.2 มีอายุเฉลี่ย 55 ปี ประชาชนส่วนใหญ่มีอาชีพค้าขาย รับจ้างทั่วไป และการเกษตร คิดเป็นร้อยละ 90 จำนวนสมาชิกในครัวเรือนเฉลี่ย 4 คน จำนวนแรงงานในครัวเรือนเฉลี่ย 3 คน รายได้ของตนเองเฉลี่ย 4,446 บาทต่อเดือน ส่วนรายได้ของครัวเรือนเฉลี่ย 10,143 บาทต่อเดือน มีการถือครองที่ดินของตนเองเฉลี่ย 469 ตารางวา ส่วนการถือครองที่ดินของครัวเรือนเฉลี่ย 912.22 ตารางวา ระยะเวลาที่อาศัยอยู่ในชุมชนเฉลี่ย 50 ปี ประชาชนเป็นสมาชิกองค์กรภายในชุมชน คิดเป็นร้อยละ 14.4 การรับรู้ข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศเฉลี่ย 11 ครั้งต่อเดือน มีการติดต่อเจ้าหน้าที่ภาครัฐหรือเอกชนเฉลี่ย 0.16 ครั้งต่อเดือน และเข้ารับการอบรมศึกษาดูงานเกี่ยวกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศเฉลี่ย 0.27 ครั้งต่อปี

2) ความรู้เกี่ยวกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศและความต้องการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ผลการวิจัยพบว่า ประชาชนส่วนใหญ่มีความรู้เกี่ยวกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศอยู่ในระดับปานกลาง และระดับความต้องการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศในระดับมาก มีความต้องการด้านศักยภาพในการเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศมากที่สุด รองลงมา คือ ความต้องการด้านการให้ความรู้และสร้างจิตสำนึก ความต้องการด้านการใช้ประโยชน์ของพื้นที่เพื่อให้เกิดความยั่งยืน และความต้องการด้านการมีส่วนร่วมของชุมชนในกิจกรรมการท่องเที่ยวตามลำดับ

3) การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อความต้องการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ผลการวิจัยพบว่า มีจำนวน 3 ตัวแปร ได้แก่ จำนวนสมาชิกในครัวเรือน ซึ่งมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.01 การถือครองที่ดินของครอบครัว และระยะเวลาที่อาศัยในชุมชน ซึ่งมีความสัมพันธ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ตามลำดับ

4) ปัญหาอุปสรรคและข้อเสนอแนะในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ผลการวิจัยพบว่า มีปัญหาการขาดสาธารณูปโภคที่จะคอยอำนวยความสะดวกให้กับนักท่องเที่ยว ขาดฐานเรียนรู้ระบบนิเวศ ศูนย์เรียนรู้วัฒนธรรมภายในชุมชน ขาดความรู้เกี่ยวกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ และบุคลากรเจ้าหน้าที่ที่มีความรู้ในการจัดการทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ อีกทั้งยังขาดการกระจายข้อมูลการท่องเที่ยวผ่านสื่อต่างๆ ทำให้การท่องเที่ยวไม่เป็นที่รู้จักอย่างกว้างขวาง ดังนั้นภาครัฐหรือองค์กรปกครองส่วนท้องถิ่นควรที่จะเข้ามาสนับสนุน และคอยให้การช่วยเหลือในเรื่องของงบประมาณและบุคลากร อีกทั้งส่งเสริมให้เกิดการรวมกลุ่มในการจัดการทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศในชุมชน ให้เกิดเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศที่มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ข้อเสนอแนะ

1. จากผลการศึกษาครั้งนี้ จำนวนสมาชิกในครัวเรือนมีความสัมพันธ์ในทางลบกับความต้องการพัฒนาทรัพยากรแสดงให้เห็นว่า ประชาชนที่มีจำนวนสมาชิกในครอบครัวมากจะมีความต้องการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศน้อยกว่าประชาชนที่มีจำนวนสมาชิกในครัวเรือนน้อยกว่า ดังนั้น ผู้วิจัยจึงมีข้อเสนอแนะว่าในการสร้างการมีส่วนร่วมควรเริ่มจากการส่งเสริมเป็นรายบุคคล หรือรายครัวเรือนก่อน เช่น การคัดเลือกอาสาสมัครในการเป็นผู้นำ อาสาสมัครในการมีส่วนร่วมในการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ หรือการส่งเสริมอบรมให้ความรู้การท่องเที่ยวเชิงนิเวศให้กับเยาวชนที่จะเป็นผู้สืบทอดทรัพยากรในอนาคต และควรมีการเผยแพร่ข้อมูลข่าวสารเกี่ยวกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ และมีการรับรู้ข่าวสารอย่างต่อเนื่อง เพื่อให้ประชาชนมีทัศนคติที่ดีเกี่ยวกับการท่องเที่ยวเชิงนิเวศมากขึ้น

2. จากผลการศึกษาครั้งนี้ การถือครองที่ดินของครอบครัวมีความสัมพันธ์ในทางบวกกับความต้องการพัฒนาทรัพยากร แสดงให้เห็นว่าประชาชนที่มีการถือครองที่ดินของครอบครัวมาก มีความต้องการพัฒนาทรัพยากรมากกว่าประชาชนที่มีการถือครองที่ดินน้อย ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีข้อเสนอแนะว่า หน่วยงานภาครัฐควรที่จะเข้ามาส่งเสริมการใช้ที่ดินในครัวเรือน เช่น ส่งเสริมการปลูกพันธุ์ไม้ หรือการสร้างที่พัก โฮมสเตย์ สร้างจุดเด่นให้กับพื้นที่ให้ประชาชนได้ใช้ประโยชน์ในที่ดินของตนเอง เพื่อพัฒนาให้เกิดแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศได้ในอนาคต

3. จากผลการศึกษาครั้งนี้ ระยะเวลาที่อาศัยอยู่ในชุมชนมีความสัมพันธ์ในทางบวกกับความต้องการพัฒนาทรัพยากร แสดงให้เห็นว่าประชาชนที่อาศัยมานาน จะมีความต้องการพัฒนาทรัพยากรมากกว่าประชาชนที่อาศัยในชุมชนนี้ได้ไม่นานมากนัก ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีข้อเสนอแนะว่าควรส่งเสริมอบรมความรู้เกี่ยวกับการท่องเที่ยว และส่งเสริม

กิจกรรมทางด้านวัฒนธรรมให้กับผู้สูงอายุ และประชาชนที่อยู่อาศัยมานาน หรือการให้ประชาชนที่อาศัยมานานที่มีความรู้ ความเชี่ยวชาญในการเดินป่า หรือรู้จักเส้นทางในการเดินป่า เป็นไกด์หรือเป็นวิทยากรให้กับนักท่องเที่ยว รวมไปถึงการสร้างแผนที่เส้นทางในการเดินป่าเพื่อสร้างความปลอดภัยในการเดินทาง ป้องกันนักท่องเที่ยวเดินออกนอกเส้นทาง เนื่องจากประชาชนที่อาศัยมานานมีความคุ้นชินในพื้นที่ รู้แหล่งของทรัพยากร รู้จักพื้นที่ภายในชุมชน มีความหวงแหน และผูกพันในทรัพยากรภายในชุมชนอย่างมาก

4. จากผลการศึกษา ผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะว่าควรมีการจัดทำสื่อความรู้ด้านการท่องเที่ยว ให้ประชาชนมีความตระหนัก และควรมีหน่วยงานภาครัฐเข้ามาสนับสนุนอาชีพที่เกี่ยวข้องกับการท่องเที่ยว เช่น การเป็นไกด์ การเป็นนักลงทุนในการสร้างที่พัก โฮมสเตย์ การทำของที่ระลึก จะทำให้ประชาชนมีทัศนคติที่ดี มีความรู้ในการจัดการทรัพยากรอย่างถูกวิธีก็จะทำให้การใช้ทรัพยากรมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

5. จากผลการศึกษา ผู้วิจัยมีข้อเสนอแนะว่าควรมีหน่วยงานในพื้นที่จังหวัดลำพูน เช่น สำนักงานการท่องเที่ยวและกีฬาจังหวัดลำพูน เข้ามาสนับสนุนงบประมาณในการพัฒนาแหล่งท่องเที่ยว สนับสนุนงบประมาณในการจัดอบรมการศึกษาดูงาน การส่งเสริมอาชีพทางการท่องเที่ยวให้กับประชาชนภายในชุมชน และองค์การบริหารส่วนตำบลบ้านโฮ้ง ควรเข้ามาสนับสนุนงบประมาณการพัฒนาพื้นที่ที่มีความพร้อมเพื่อรองรับนักท่องเที่ยว เช่น ระบบไฟฟ้า ระบบน้ำประปา หรือห้องสุขาที่ถูกสุขลักษณะ

6. จากผลการศึกษา ผู้วิจัยพบว่าประชาชนกลุ่มตัวอย่างส่วนใหญ่มีความต้องการในการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศมาก แต่ในขณะเดียวกันก็มีประชาชนกลุ่มตัวอย่างส่วนน้อยที่ไม่เห็นด้วยกับการพัฒนาทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่งท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีข้อเสนอแนะว่า ควรมีหน่วยงานภาครัฐในพื้นที่เข้ามาส่งเสริม พบปะพูดคุยให้ประชาชนกลุ่มตัวอย่างที่ไม่เห็นด้วยมีความเชื่อใจในการจัดการทรัพยากรเพื่อเป็นแหล่ง

ท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ให้มีความสมดุลระหว่างการพัฒนาการท่องเที่ยวเชิงนิเวศ ควบคู่ไปกับการอนุรักษ์ทรัพยากรและสิ่งแวดล้อมภายในชุมชนเพื่อให้เกิดความยั่งยืน

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่สนับสนุนทุนศึกษากันกุฎี ประจำปี พ.ศ. 2559 ในการทำวิจัย ขอขอบคุณผู้ใหญ่บ้าน ผู้นำชุมชน และประชาชน บ้านดงห้วยเย็น ตำบลบ้านโฮ้ง อำเภอบ้านโฮ้ง จังหวัดลำพูน ที่ให้ความอนุเคราะห์ และให้ความร่วมมือในการให้ข้อมูล ตรวจสอบ และให้ความช่วยเหลือ รวมไปถึงคณาจารย์ที่ให้คำแนะนำ และบุคลากรสาขาพัฒนาทรัพยากรและส่งเสริมการเกษตร คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้การสนับสนุนการศึกษาวิจัยในครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

- Department of Provincial Administration
Registration. 2016. **Number of population.** [Online]. Available <http://stat.bora.dopa.go.th> (25 August 2016). [in Thai]
- Department of Tourism. 2016. **Tourist statistics.** [Online]. Available <http://www.tourism.go.th> (5 July 2017). [in Thai]
- Kanjanasamranwong, P. 2017. **Principles of Statistics.** Nonthaburi: IDC Premier. 568 p. [in Thai]
- Ministry of Tourism and Sports. 2014. **National tourism development plan No.2 (2017–2021).** [Online]. Available http://www.ubu.ac.th/web/files_up/03f2017052216244626.pdf (5 July 2017). [in Thai]

- Office of the National Economic and Social Development Board. 2018. **Northern development plan during the 12th national economic and social development plan (2017–2021)**. [Online]. Available http://www.nesdb.go.th/ewt_dl_link.php?nid=7528 (24 May 2018). [in Thai]
- Phengsawat, W. 2010. **Applied Statistics for Social Science Research**. Bangkok: Suveeriyasarn 428 p. [in Thai]
- Prasit-rathasint, S. 2002. **Applications of Statistical Methods in Research**. Bangkok: Fueang Fa Printing House. 352 p. [in Thai]
- Rattanapariyanuch, N. 2013. **Public Needs for Community Development in Samed Municipality, Amphur Muang, Chon Buri Province**. Master Thesis. Bruce University. 109 p. [in Thai]
- Srikum, J. 2015. A study of requirements of elderly houses improvements case study: Nongkhon sub-district administrative organization and Kono sub-district administrative organization Ubon Ratchathani province. **Journal of Industrial Technology Ubon Ratchathani Rajabhat University**. 5(2): 117-130. [in Thai]
- Swangpun, K. 2004. **The Readiness of Local People for Ecotourism Development a Case Study Kohsira Community Amphurmuang Phuket Province**. Master Thesis. Mahidol University. 216 p. [in Thai]
- The Thailand Community Based Tourism Institute. 2017. **Tourism by the community**. [Online]. Available <http://www.cbt-i.org/travel.php>. (24 May 2018). [in Thai]
- Yamane, T. 1973. **Statistics: An Introductory Analysis**. 3.S.l. Harper International. 886 p.

วารสารวิจัยและส่งเสริมวิชาการเกษตร เป็นวารสารราย 4 เดือน กำหนดออกปีละ 3 ฉบับ โดยเริ่มฉบับที่ 1 ในเดือนมกราคม ฉบับที่ 2 ในเดือนพฤษภาคม และฉบับที่ 3 ในเดือนกันยายน มีจุดประสงค์หลักเพื่อเผยแพร่ผลงานวิจัยของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ และองค์กรที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาการเกษตรทั่วประเทศ โดยมีการเผยแพร่ออนไลน์ (Journal Online) ในรูปวารสารอิเล็กทรอนิกส์ (E-ISSN 2630-0206) สำหรับหน่วยงานที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาการเกษตร เรื่องที่จะตีพิมพ์ในวารสาร นอกจากบทความวิจัยแล้ว บทความทางวิชาการอื่นๆ ที่เป็นการแสดงความคิดใหม่ หรือสมมุติฐานใหม่ที่มีหลักฐานอ้างอิง หรือเป็นการแสดงความคิดเห็นอย่างกว้างขวางหรือลึกซึ้งในสาขาวิชาการใดสาขาวิชาการหนึ่งที่เกี่ยวข้องกับการเกษตร หรือเป็นการรวบรวมข้อมูลจากแหล่งต่างๆ ก็มีสิทธิ์ได้รับการตรวจสอบทางวิชาการจากผู้ทรงคุณวุฒิที่เชี่ยวชาญในสาขาที่เกี่ยวข้องกับบทความนั้นๆ อย่างน้อย 2 ท่าน พิจารณาให้ลงตีพิมพ์ ได้เช่นเดียวกัน

การเตรียมต้นฉบับ

1. **ต้นฉบับ** เผยแพร่บทความเป็นภาษาไทย โดยใช้ตัวอักษร TH Sarabun PSK ขนาดตัวอักษร 16 ตัวหนา ในส่วนของหัวข้อเรื่อง และขนาดตัวอักษร 15 ตัวปกติ ในส่วนของเนื้อหา พิมพ์หน้าเดียว เว้นขอบทั้ง 4 ด้าน 1 นิ้ว (2.5 ซม.) พร้อมระบุเลขหน้า ความยาวของเนื้อเรื่อง รวมรูปภาพ ตาราง และเอกสารอ้างอิงต้องไม่เกิน 10 หน้า
2. **ชื่อเรื่อง** ต้องมีทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ควรกระชับและตรงกับเนื้อเรื่อง ขนาดตัวอักษร 18 ตัวหนา
3. **ชื่อผู้แต่ง และสถานที่ติดต่อ** ต้องมีชื่อเต็ม-นามสกุลเต็มทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ขนาดตัวอักษร 15 ตัวหนา และระบุหน่วยงานหรือสถาบันที่สังกัด ของผู้แต่งหลักและผู้แต่งร่วมทุกคน และ E-mail address ของผู้แต่งหลักไว้ด้วย ขนาดตัวอักษร 12 ตัวปกติ
4. **บทคัดย่อ (Abstract)** บทความวิจัย/บทความทางวิชาการอื่นๆ จะต้องมีย่อทั้งภาษาไทยและภาษาอังกฤษ ความยาวไม่เกิน 15 บรรทัด โดยเขียนให้กะทัดรัด ตรงประเด็น และให้สาระสำคัญ
5. **คำสำคัญ (Keywords)** ต้องมีคำสำคัญทั้งภาษาไทย และภาษาอังกฤษไว้ท้ายบทคัดย่อของแต่ละภาษา อย่างละไม่เกิน 5 คำ
6. **เนื้อเรื่อง**

- (1) **คำนำ** อธิบายความสำคัญของปัญหาและวัตถุประสงค์ของการวิจัย อาจรวมการตรวจเอกสารเข้าไว้ด้วย ในการอ้างอิงเอกสารให้เขียนชื่อผู้แต่ง และปีที่ตีพิมพ์ อยู่ในวงเล็บเดียวกัน หรือเขียนชื่อผู้แต่ง แล้วเขียนปีที่ตีพิมพ์ ไว้ในวงเล็บแล้วแต่กรณี **เฉพาะภาษาอังกฤษ** ดังนี้ “.....โรคใบไหม้พบทั่วไปในประเทศบังคลาเทศ จีน อินเดีย อินโดนีเซีย ญี่ปุ่น มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ ศรีลังกา ไต้หวัน ไทย (Boccardo and Milne, 1984; Ling *et al.*, 1978) ในประเทศไทยนั้น นอกจากก่อความเสียหายกับข้าวปลูกทั้งชนิด Japonica และ Indica (*Oryza sativa*) พันธุ์ต่างๆ แล้ว Thawat (2001) ยังพบว่า ทำความเสียหายได้กับข้าวไร่และข้าวป่าต่างๆ.....”
- (2) **อุปกรณ์และวิธีการ/วิธีดำเนินการวิจัย** อธิบายเครื่องมือ พร้อมระบุวิธีการวิจัย วิธีการเก็บข้อมูล ระยะเวลาและปีที่ทำการวิจัย รวมทั้งวิธีการวิเคราะห์ข้อมูล ให้บรรยายโดยสรุปและไม่จำเป็นต้องระบุวิธีการที่เป็นที่รู้จักทั่วไป
- (3) **ผลการวิจัย** ไม่จำเป็นต้องแสดงวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติ แต่ให้เสนอในรูปของตาราง และรูปภาพโดยสรุปหลังจากวิเคราะห์ทางสถิติแล้ว ทั้งนี้ **คำอธิบายและรายละเอียดต่างๆ ของตารางและรูปภาพ ต้องเป็นภาษาอังกฤษเท่านั้น** โดยมีความชัดเจน กะทัดรัด และมีหมายเลขกำกับด้านบของตารางและด้านล่างของรูปภาพ และเมื่ออ้างถึงในเนื้อหาให้ใช้เป็นคำว่า Table และ Figure
- (4) **การวิจารณ์ผล การสรุปผล และข้อเสนอแนะ** ควรวิจารณ์ผลการวิจัยพร้อมทั้งสรุปประเด็น และสาระสำคัญของงานวิจัย หรือให้ข้อเสนอแนะบนพื้นฐานของผลการวิจัย

หมายเหตุ: หน่วยวัดตามระบบต่างๆ ให้ใช้ตัวย่อตามมาตรฐานในการเขียนที่กำหนดไว้ เช่น เซนติเมตร = ซม. ตารางเมตร = ตร.ม.

มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม = มก./กก. แต่ถ้าเป็นหน่วยวัดที่มีพยางค์เดียวให้ใช้คำเต็มตามปกติ เช่น เมตร กรัม ลิตร

7. **กิตติกรรมประกาศ** เพื่อแสดงความขอบคุณแก่ผู้ให้ทุนวิจัย หรือผู้ที่ให้ความช่วยเหลือในการวิจัย
8. **เอกสารอ้างอิง** รายชื่อเอกสารที่ใช้เป็นหลักในการค้นคว้าวิจัยและมีการอ้างอิงถึงในเนื้อหา **ต้องแสดงเป็นภาษาอังกฤษเท่านั้น กรณีที่อ้างอิงจากเอกสารภาษาไทยหรือภาษาอื่นๆ ให้แปลเป็นภาษาอังกฤษ โดยมีวงเล็บกำกับท้ายเอกสาร [in Thai]** หรือภาษาอื่นๆ ตามคำแนะนำวิธีการเขียน ดังนี้

การเขียนเอกสารอ้างอิง

1. บทความจากวารสารวิชาการมาตรฐาน

1.1 ผู้เขียนคนเดียวหรือหลายคน

ชื่อผู้เขียนบทความคนที่ 1/ผู้เขียนบทความคนที่ 2/และ/ผู้เขียนบทความคนสุดท้าย./ปีที่พิมพ์./ชื่อบทความ./ชื่อวารสาร/
เลขปีที่(เลขฉบับที่):/เลขหน้า.

Koiprasert, H. and P. Niranatlumpong. 2004. Investigation of method for stainless steel welding wire as a replacement for arc wire consumables. **Songklanakarin J. Sci. Technol.** 27(1): 91-100. [in Thai]

Nadeem, M.Y. and M. Ibrahim. 2002. Phosphorus management in wheat-rice cropping system. **Pak. J. Soil Sci.** 21(4): 21-23.

Chowdhury, M.A.H., R. Begum, M.R. Kabit and H.M. Zakir. 2002. Plant and animal residue decomposition and transformation of S and P in soil. **Pakistan Journal of Biological Sciences** 5(7): 736-739.

2. หนังสือ

2.1 ผู้เขียนคนเดียวหรือหลายคน

ชื่อผู้แต่งคนที่ 1/ผู้แต่งคนที่ 2/และผู้แต่งคนสุดท้าย./ปีที่พิมพ์./ชื่อหนังสือ./ครั้งที่พิมพ์ (ถ้ามี)./สถานที่พิมพ์:/สำนักพิมพ์./
จำนวนหน้า.

Peyachoknagu, S. 2000. **Pan Thu Vis Sa Wa Kum.** Bangkok: Kasetsart University Press. 256 p. [in Thai]

Aksornkoe, S. 1999. **Ecology and Management of Mangroves.** Bangkok: Kasetsart University Press. 198 p.

Rajeshwar, K. and J.G. Ibanez. 1997. **Environmental Electrochemistry.** San Diego: Academic Press. 327 p.

2.2 บทหนึ่งในหนังสือ

ชื่อผู้เขียนบทความ./ปีที่พิมพ์./ชื่อบทความ./น./เลขหน้าที่ปรากฏเรื่อง./ใน/ชื่อผู้รับผิดชอบ./ชื่อหนังสือ./รายละเอียดอื่นๆ (ถ้ามี).
./ครั้งที่พิมพ์ (ถ้ามี)./สถานที่พิมพ์:/สำนักพิมพ์.

Hill, S.E. 1996. Emulsions. pp. 153-185. In Hall, G.M. (ed.). **Methods of Testing Protein Functionality.** London: Chapman & Hall.

Jacober, L.F. and A.G. Rand. 1982. Biochemical of Seafood. pp. 347-365. In Martin, R.E., G.J. Flick, C.E. Hebard and D.R. Ward (eds.). **Chemistry and Biochemistry of Marine Food Products.** Westport: AVI Inc.

2.3 หนังสือที่มีผู้รับผิดชอบในหน้าที่เป็นผู้รวบรวม ผู้เรียบเรียง หรือบรรณาธิการ

ชื่อผู้รับผิดชอบ./ใน/หน้าที่รับผิดชอบ./ ปีที่พิมพ์./ชื่อเรื่อง./ครั้งที่พิมพ์ (ถ้ามี)./สถานที่พิมพ์:/สำนักพิมพ์./จำนวนหน้า.

Tosirichok, K. (Editor). 1994. **Karn Rak Sa Doi Sa Moon Pri.** 1st. Bangkok: Mayik Publisher. 172 p. [in Thai]

Byrappa, K. and M. Yoshimura. (eds.). 2001. **Handbook of Hydrothermal Technology.** New Jersey: Noyes Publication. 854 p.

3. เอกสารอื่นๆ

3.1 วิทยานิพนธ์

ชื่อผู้แต่ง./ปีที่พิมพ์./ชื่อวิทยานิพนธ์./ระดับของวิทยานิพนธ์./ชื่อสถาบันการศึกษา./จำนวนหน้า.

Soitongcome, P. 1987. **Tannin Extraction from Rhizophora's Bark for Retanning.** Master Thesis. Kasetsart University. 113 p. [in Thai]

Saiklao, W. 2002. **Adaptive Bandwidth Allocation Control for Virtual Paths in Broadband Networks.** Doctoral Dissertation. Georgia Institute of Technology. 86 p.

3.2 รายงานการประชุมวิชาการ รายงานการสัมมนา ปาฐกถา รายงานประจำปี

ชื่อผู้เขียนบทความ./ปีที่พิมพ์./ชื่อบทความ./น./เลขหน้าที่ปรากฏเรื่อง./ใน/ชื่อการประชุม./รายละเอียดอื่นๆ (ถ้ามี)/ครั้งที่พิมพ์ (ถ้ามี)/สถานที่พิมพ์: สำนักพิมพ์.

Summadee, P. and B. Leenanon. 2013. Production of Probiotic Kefir Product. p. 109-116 *In Proceedings of the 12th MJU Annual Conference (Poster)*. Chiang Mai: Maejo University. [in Thai]

Coates, J. 2013. Clinical Trial for Canine Degenerative Myelopathy. pp. 29-31. *In Proceedings of ACVIM Specialty Symposium (Pre-forum) 12-15 June 2013*. Seattle: American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM).

3.3 รายงานผลการวิจัย

ชื่อผู้เขียนงานวิจัย./ปีที่พิมพ์./ชื่องานวิจัย./จำนวนหน้า./ใน/รายงานผลการวิจัย./สถานที่พิมพ์:ชื่อหน่วยงาน.

Poopramporn, P., K. Duangsong and R. Sribaopern. 2001. *DNA Fingerprinting of Thai Native Orchid Vanda coerulea*. 62 p. *In Research Report*. Chiang Mai: Maejo University. [in Thai]

Theraumpon, N. 2003. *Automatic classification of white blood cells in bone marrow images*. 74 p. *In Research Report*. Chiang Mai: Chiang Mai University.

3.4 บทความจากนิตยสาร

ชื่อผู้เขียนบทความ./ปีที่ตีพิมพ์./ชื่อบทความ./ปีที่ของนิตยสาร(เล่มที่): เลขที่หน้า/ที่อ้างอิง.

Srinuansom, K. 2018. Half-artificial breeding of *Monopterus albus*. *Maejo Vision* 18(4): 33-37. [in Thai]

3.5 บทความจากหนังสือพิมพ์

ชื่อผู้เขียนบทความ./ปีที่ตีพิมพ์./ชื่อบทความ./ชื่อหนังสือพิมพ์./ (วันที่/เดือน/ปี):/เลขที่หน้า/ที่อ้างอิง.

Manapaisarn, S. 2006. Kra Sate Tra Korn Thai Nai A Na Koth. *Thai Rath*. (10 January 2006): 7. [in Thai]

4. แหล่งข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์

ผู้แต่งหรือผู้รับผิดชอบ./ปีที่บันทึกข้อมูล./ชื่อเรื่อง./[ระบบออนไลน์]/แหล่งที่มา/ระบุแหล่งการติดต่อเครือข่ายหรือการถ่ายโอนแฟ้มข้อมูล ชื่อแฟ้มข้อมูล(วันที่/เดือน/ปี ที่ค้นข้อมูล).

Maythyanon, T., N. Piriyaungroj and S. Soponarit. 2004. Novel vortex-fluidized bed combustor with two combustion chambers for rice-husk fuel. *SJST* 26(6): 875-893. [Online]. Available <http://www2.psu.ac.th/PresidentOffice/EduService/Journal/Firstpage.htm> (22 September 2005). [in Thai]

National Economic and Social Development Board (NESDB). 2001. *Input-output tables of Thailand*. [Online]. Available <http://www.nesdb.go.th> (8 August 2001).

Singh, M. and R.P. Singh. 2001. *Siderophore producing bacteria-as potential biocontrol agents of mushroom disease*. [Online]. Available <http://www.uio.no/conferences June2000.htm# Samuels> (3 July 2001).

Guide for Authors

Manuscripts submitted for publication should be of high academic merit and are accepted on condition that they are contributed solely to the Journal of Agricultural Research and Extension. Manuscripts, parts of which have been previously published in conference proceedings, may be accepted if they contain additional material not previously published and not currently under consideration for publication elsewhere.

Submission of a multi-authored manuscript implies the consent of all the participating authors. All manuscripts considered for publication will be peer-reviewed by at least 2 independent referees.

Submission checklist

Manuscript submission must include title page, abstract, keywords, text, tables, figures, acknowledgments, reference list and appendices (if necessary). The title page of this file should include the title of the article, full names, official name and affiliations of all authors, E-mail address, telephone and fax numbers and full postal address of the corresponding author.

Preparation and Submission of Manuscripts

Authors submitting manuscripts for consideration for publication should follow the following guidelines.

1. Manuscript texts must be written using high-quality language. For non-native English language authors, the article should be proof-read by a language specialist before it is sent to Journal.
2. Manuscript texts should not exceed than 10 pages and the combined number of figures and tables. The inclusion of more figures and tables will reduce the word allowance, and vice versa.
3. The manuscript text and tables should be created using Microsoft Word.
4. Manuscript texts should be prepared single column, with sufficient margins (1.0 inch) for editorial and proof-reader's marks. 15 pt TH Sarabun PSK font should be used throughout and all pages numbered consecutively.
5. Abstracts should not exceed than 200 words. About 5 keywords should also be provided.
6. All measures in the text should be reported in abbreviation
7. Tables and figures should each be numbered consecutively.
8. Acknowledgments should be as brief as possible, in a separate section before the references, not in the text or as footnotes.
9. Citations of published literature in the text should be given in the form of author and year in parentheses; (Hoffmann *et al.*, 2001), or, if the name forms part of a sentence, it should be followed by the year in parenthesis; Hoffmann *et al.* (2001). All references mentioned in the reference list must be cited in the text, and vice versa. The references section at the end of the manuscript should list all and only the references cited in the text in alphabetical order of the first author's surname. The following are examples of reference writing.

Reference to a journal article:

Chowdhury, M.A.H., R. Begum, M.R. Kabit and H.M. Zakir. 2002. Plant and animal residue decomposition and transformation of S and P in soil. **Pak. J. Bio. Sci.** 5: 736-739.

Reference to article or abstract in a conference proceedings:

Coates, J. 2013. Clinical Trial for Canine Degenerative Myelopathy. pp. 29-31. **In Proceedings of ACVIM Specialty Symposium (Pre-forum) 12-15 June 2013.** Seattle: American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM).

Reference to a book:

Rajeshwar, K. and J.G. Ibanez. 1997. **Environmental Electrochemistry.** San Diego: Academic Press. 327 p.

Reference to an edited book:

Hill, S.E. 1996. Emulsions. pp. 153-185. **In** Hall, G.M. (ed.). **Methods of Testing Protein Functionality.** London: Chapman & Hall.

Reference to an electronic data source (used only when unavoidable): Supplier/Database name (Database identifier or number)/Item or accession number (Access date) should be included

National Economic and Social Development Board (NESDB). 2001. **Input-output tables of Thailand.** [Online]. Available <http://www.nesdb.go.th> (8 August 2001).

10. Submission of manuscript must conform to the format of the Journal of Agricultural Research and Extension and cover letter to the editor. All should be directed to the editor at the <http://tcj-thaijo.org/index.php/MJUJN/index> or <http://www.jare.mju.ac.th>

การส่งต้นฉบับ การตรวจสอบเบื้องต้น และการแก้ไข

- 1) ส่งไฟล์ต้นฉบับ ให้มีรายละเอียดครบตรงตามคำแนะนำในการเตรียมต้นฉบับ และหนังสือนำเสนอถึงบรรณาธิการ โดยนำเสนอและลงทะเบียนออนไลน์ที่ <https://www.tci-thaijo.org/index.php/MJUJN/index> หรือ <http://www.jare.mju.ac.th> ช่องทาง “ลงทะเบียนออนไลน์”
- 2) กองบรรณาธิการจะพิจารณาบทความเบื้องต้น ในกรณีที่ต้องแก้ไขจะแจ้งให้เจ้าของบทความทำการแก้ไข ก่อนนำเสนอให้ผู้ทรงคุณวุฒิพิจารณาในลำดับต่อไป สำหรับบทความที่ไม่ได้รับการพิจารณาให้ดำเนินการต่อจะส่งต้นฉบับคืนให้เจ้าของบทความ
- 3) บทความที่ได้รับการพิจารณาจากกองบรรณาธิการให้ดำเนินการต่อ จะได้รับการตรวจสอบทางวิชาการจากผู้ทรงคุณวุฒิ อย่างน้อยบทความละ 2 ท่าน ที่เชี่ยวชาญในสาขาที่เกี่ยวข้องกับบทความนั้นๆ และบทความที่ได้รับการพิจารณาให้ตีพิมพ์ กองบรรณาธิการจะส่งข้อคิดเห็นและข้อเสนอแนะจากผู้ทรงคุณวุฒิ พร้อมทั้งต้นฉบับให้เจ้าของบทความปรับปรุงแก้ไข
- 4) บทความที่ได้รับการตีพิมพ์จะมีการเผยแพร่ออนไลน์ (Journal Online) ในรูปแบบวารสารอิเล็กทรอนิกส์ที่ <http://www.jare.mju.ac.th> และ <https://www.tci-thaijo.org/index.php/MJUJN/index>

JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH AND EXTENSION

Honorable Consultants: Asst. Prof. Dr. Chamnian Yosraj
Asst. Prof. Pawin Monochai

Directing Editors: Assoc. Prof. Dr. Yongyut Khamsee Assoc. Prof. Dr. Jamnian Bunmark
Asst. Prof. Dr. Jiraporn Inthasan Asst. Prof. Dr. Sureewan Mekkamol

Editor-in Chief: Assoc. Prof. Dr. Kriangsak Sri-Ngernyuang

Editorial Board:	Prof. Chalernpol Sampet	Chiang Mai University
	Prof. Emeritus Dr. Anurak Panyanuwat	Chiang Mai University
	Prof. Dr. Tanongkiat Kiatsiriroat	Chiang Mai University
	Prof. Dr. Sanchai Jaturasitha	Chiang Mai University
	Prof. Dr. Prisarn Sithigorngul	Srinakharinrawit University
	Prof. Dr. Pranom Chantaranothai	Khon Kaen University
	Prof. Dr. Uthairat Na-Nakorn	Kasetsart University
	Prof. Dr. Siriwat Wongsiri	Maejo University
	Assoc. Prof. Dr. Wallratat Intarucconporn	Chiang Mai University
	Assoc. Prof. Dr. Wandee Wattanachaiyingcharoen	Naresuan University
	Assoc. Prof. Dr. Ubolluk Rattanasak	Burapha University
	Assoc. Prof. Dr. Pramot Seetakoses	Maejo University
	Assoc. Prof. Dr. Prasert Janyasupab	Maejo University
	Assoc. Prof. Dr. Nopmanee Topoonyanont	Maejo University
	Assoc. Prof. Aomtip Mekruksawannich-Kampe	Maejo University
	Assoc. Prof. Prawit Puddhanon	Maejo University
	Asst. Prof. Teerapong Sawangpanyangkura	Maejo University

Operation committee:	Ms. Varee Rahong	Mrs. Thanyarat Thawatmongkonsuk
	Ms. Rungsima Ampawan	Mrs. Thipsuda Pookmanee
	Mr. Somyot Meesuk	Ms. Ampar Sansai
	Mrs. Chiranan Senanan	Ms. Ranrana Kayun

PR and Publishing: Mr. Prinya Painusa Mr. Prasit Chaikum
Mrs. Prapaisri Thongjang

Journal of Agricultural Research and Extension is a publication of the Office of Agricultural Research and Extension, Maejo University, and is intended to make available the results of technical work in the agricultural and related social sciences. Articles are contributed by MJU faculty members as well as by relevant general public. The paper must be considered by at least 2 peer reviewers. **Journal of Agricultural Research and Extension** is published three times per year, the first issue is on January, the second and the third issue are on May and September, respectively. Contact with the Journal should be addressed to:

The Editor, Journal of Agricultural Research and Extension
Innovation and Technology Transfer Section, Office of Agricultural Research and Extension
Maejo University, Chiang Mai 50290, Thailand

Tel: +66-53-87-3411 Fax: +66-53-87-3418
E-mail: res_journal@mju.ac.th
Web site: www.jare.mju.ac.th



JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH AND EXTENSION

Office of Agricultural Research & Extension

Maejo University

Vol. 36 No. 2 May – August 2019

E-ISSN 2630-0206

Weed Selection for Phytoremediation of Fluoranthene Waraporn Chouychai and Khanitta Somtrakoon.....	1-10
Roles of Plant Growth Promoting Bacteria on Growth of Ornamental Plants Grown in Anthracene-spiked Soil Khanitta Somtrakoon, Aphidech Sangdee and Waraporn Chouychai.....	11-21
Variation in the Virulence and Aggressiveness of <i>Phytophthora infestans</i> Isolates Collected from Different Potato Fields of Thailand Pipat Chiampiriyakul.....	22-32
Mineralized Nitrogen and Organic Matter Changer in Soil Amended with <i>Crotalaria juncea</i> L. Residues Sutdacha Khunthong, Chaiyasit Wattanawangjongsuk and Surachet Narabhat....	33-44
Effects of Fermented Pumpkin and Rice Bran Diet on Performance and Meat Quality in Thai Native Chicken Chaiwat Singchai, Chainarong Wongsunsri, Somchart Thana Choke Sorachakula and Khanchai Danmek	45-57
Comparison of Cholesterol and Collagen Content on Shear Force in Laying Hen Meat at 85 and 90 Weeks of Age in Raising under Litter Floor System Aungsuma Kaewkot, Sofian Deramae, Chanthakorn Chopkha Suda Choothin and Autchara Kayan.....	58-69
Effect of Heat Shock on Viability of Oviductal Epithelial Cell and Porcine Oocytes Supat Kuanwang and Payungsuk Intawicha.....	70-79
Development of Multiplex Polymerase Chain Reaction for Simultaneous Detection of <i>Ehrlichia canis</i>, <i>Hepatozoon canis</i> and <i>Babesia canis</i> in Canine Blood Chamaiporn Nithikadpanich, Pennapa Takam and Wasin Charerntantanakul.....	80-90
The Study of Jewelry Making from Metallic Woodboring Beetle's Wings and Conservation Guidelines in Phu Phan District, Sakon Nakhon Province Anurak Khruetakham, Rattiyaporn Boonthaveepaisarn and Phutthisun Kruekum.....	91-100
Study of Green Arabica Coffee Bean Production Process of PhaMee Community Enterprise in Wiang Pang Kum Sub-district, Mae Sai District, Chiang Rai Province Piya Palapanya and Nathitakarn Pinthukas.....	101-105
Factors Affecting to Farmers Adoption of Rice Production Technology under Good Agricultural Practices System at Champhone District Savannakhet Province, Lao People's Democratic Republic Inta Chanthavong, Phutthisun Kruekum, Phahol Sakkatat and Nakarate Rungkawat.....	106-117
Factors Effecting Needs for Resource Development to be Eco-Tourism Attractions of People in Baan DongHuayYen, BaanHong Sub-district BaanHong District, Lamphun Province Siriluck Saikub, Nakarate Rungkawat, Phutthisun Kruekum and Saisakul Fongmul.....	118-129

AGRICULTURAL RESEARCH AND EXTENSION